COMPUESTOS ORGANICOS DE MONOBACTAM PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES BACTERIANAS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Esta invención se refiere a nuevos compuestos de β-lactama, y su preparación y uso. En particular, la invención se refiere a nuevos compuestos de β-lactama donde el anillo de lactama es monocíclico, y sus usos para tratar infecciones bacterianas, especialmente las causadas por bacterias Gram-negativas.

FUNDAMENTO

Durante las últimas décadas, la frecuencia de resistencia antimicrobiana y su asociación con enfermedades infecciosas graves han aumentado a tasas alarmantes. El aumento de la prevalencia de la resistencia entre patógenos nosocomiales es particularmente desconcertante. De los más de 2 millones de infecciones nosocomiales que ocurren cada año en los Estados Unidos, 50 a 60% son causadas por cepas de bacterias resistentes a agentes antimicrobianos. La alta tasa de resistencia a agentes antibacterianos de uso común aumenta la morbilidad, mortalidad y los costos asociados con infecciones nosocomiales. En los Estados Unidos, se cree que las infecciones nosocomiales contribuyen o causan más de 77.000 muertes al año y cuestan aproximadamente $5 a $10 mil millones de dólares anuales.

Otras causas importantes de resistencia Gram-negativa incluyen β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), carbapenemasas de serina (KPCS) y metalo-β-lactamasas (por ejemplo NDM-1), en *Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*, la alta resistencia a β –lactamasa (AmpC) de las cefalosporinas de tercera generación entre las especies de Enterobacter y Citrobacter Freundii, y los genes de resistencia a múltiples fármacos observados en *Pseudomonas, Acinetobacter* y *Stenotrophomonas.* El problema de la resistencia antibacteriana se agrava por la existencia de cepas bacterianas resistentes a múltiples antibacterianos. Por ejemplo, *la neumonía Klebsiella que alberga* la metalo-β-lactamasa *NDM-1* frecuentemente lleva serina-β-lactamasas adicionales en el mismo plásmido que lleva el NDM-1.

Así, existe una necesidad de nuevos antibacterianos, particularmente compuestos antibacterianos que son eficaces contra microbios resistentes a los fármacos existentes, o que son menos susceptibles al desarrollo de una nueva resistencia bacteriana. La presente invención proporciona tales compuestos.

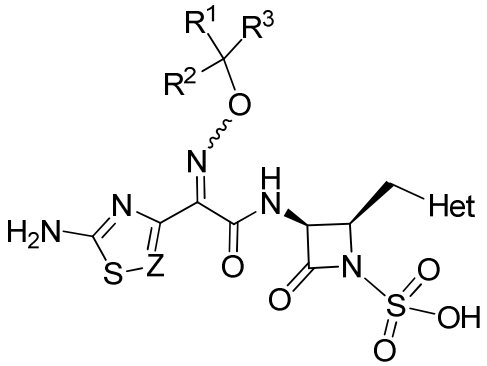
BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La invención incluye nuevos compuestos, formulaciones farmacéuticas que incluyen los compuestos, y métodos de uso de tales compuestos y composiciones para el tratamiento de pacientes con infecciones bacterianas. Los compuestos son monobactamas, que comprenden un anillo de beta-lactama monocíclico, y que normalmente actúan mediante la inhibición de proteínas de unión a penicilina (PBP), que están implicados en la biosíntesis de peptidoglicanos requeridos para las paredes celulares bacterianas normales. Algunos miembros conocidos de esta clase incluyen aztreonam y carumonam. Otros compuestos monobactámicos se revelan en WO2013/110643 y WO2012/073138. Los compuestos son principalmente eficaces contra bacterias Gram-negativas.

Los compuestos de la invención pueden usarse para tratar infección causada por Enterobacteriaceae, incluyendo *Salmonella, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus, Enterobacter, Serratia, y Citrobacter*, *incluyendo patógenos tales como Klbsiella pneumonia que produce KPC* que son menos susceptibles a las monobactamas anteriores como aztreonam, así como bacterias no fermentadoras, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter, Burkholderia, Moraxella* y *Stenotrophomonas.*

Los compuestos de la invención pueden usarse solos o en combinación con otros antibióticos, y se pueden utilizar en combinación con compuestos tales como inhibidores de beta-lactamasa que potencian la actividad de los compuestos de la invención contra ciertos patógenos o reducen la frecuencia o el grado de la resistencia bacteriana a los compuestos de la invención frente a ciertos patógenos. Inhibidores de beta-lactamasa adecuados para uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen avibactam, tazobactam, sulbactam y ácido clavulánico.

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de la Fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

en donde:

Z es CR^4 o N;

R^1 es H o alquilo C_1-C_4.

R^2 se selacciona del grupo que consta de H, alquiloC_1-C_4 y-COOH

o R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al cual están unidos forman un anillo seleccionado a partir de un anillo de cicloalquilo C_3-C_6 y un anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo;

R^3 se selecciona a partir de H,-COOH, y-L^1-W-$(CH_2)_{0-2}$-X-R^5;

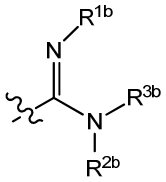
R^4 es H o halo;

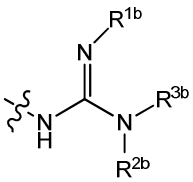
cada L^1 es independientemente un alquileno C_{1-4} de cadena lineal o ramificada;

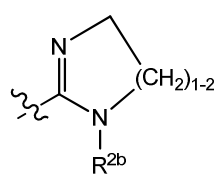
W es un enlace, O, NH o S;

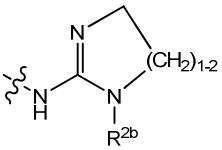
X es fenilo, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo; donde el fenilo y heteroarilo de 5-6 miembros están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos seleccionados a partir de alquiloC_{1-4}, hidroxilo,-CN, F, alcoxiloC_{1-4},-NH_2,-NH(alquiloC_{1-4}) y-N (alquiloC_{1-4})$_2$;

R^5 se selecciona a partir de:



;


;


y


;

en donde R^{1b}, R^{2b}, y R^{3b} son independientemente hidrógeno, hidroxilo, CN, alquilo(C_1-C_4), alcoxilo(C_1-C_4), cicloalquilo (C_3-C_6), o heterociclilo de 4-, 5-, 6-ó 7-miembros que contiene N, O o S como un miembro de anillo, en donde cada alquilo(C_1-C_4), alcoxilo(C_1-C_4), cicloalquilo(C_3-C_6), o heterociclilo de 4-, 5-, 6-o 7 miembros que contiene N, O o S como un miembro de anillo puede sustituirse por uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente apartir Y,

y en donde R^{2b} y R^{3b} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos pueden formar opcionalmente un heterociclilo de 5 a 7 miembros que incluye 0 o 1 heteroátomos adicionales seleccionados a partir de N, O y S, dicho heterociclilo opcionalmente sustituido por Y;

Y se selecciona a partir de F, CN,-NH_2, Q,-L^2-C(O)NR^{10}-L^2-Q,-L^2-NR^{10}-C(O)-L^2-Q, -L^2–OR^{10},-L^2-N(R^{10})$_2$,-L^2-N^+(R^{11})$_3$, -L^2-NR^{10}-C(O)R^{10},-L^2-NR^{10}–L^2-N(R^{10})$_2$, -L^2-O-C(O)OR^{10}, -L^2-O-C(O)-N(R^{10})$_2$, -L^2-NR^{10}-C(O)-N(R^{10})$_2$, -L^2-NR^{10}-C(O)-OR^{11},-L^2-C(=NR^{10})-N(R^{10})$_2$,-CON(R^{10})$_2$, -L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-R^{10}, -L^2-C(O)N(R^{10})$_2$,, -L^2-O-SO_3R^{10} ;

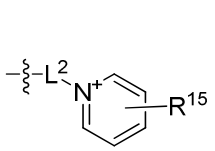
L^2 es independientemente en cada caso un enlace o un alquileno C_{1-4} de cadena lineal o ramificada, opcionalmente sustituido por NH_2, OH, o F;

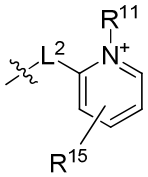
Het es un anillo heterocíclico o heteroarilo de 4-6 miembros, donde el anillo heteroarilo contiene 1 a 4 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo y está opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados a partir de Y, OH, NH_2,-C(O)$NR^{10}{}_2$, y alquiloC_{1-4} opcionalmente sustituido por uno o dos Y; y el anillo heterocíclico contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo y está opcionalmente sustituido por hasta tres grupos seleccionados a partir de halo, Y, alquiloC_{1-4} sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados a partir de Y, = NR^{10}, = N-OR^{10}, =N-CN, y oxo;

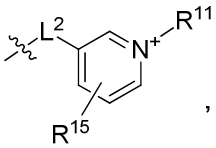
y Het está opcionalmente fusionado a un anillo heterocíclico o heteroarilo de 5 o 6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados a partir de NR^{10}, O y S como miembros del anillo, y opcionalmente sustituido por uno o dos R^{16};

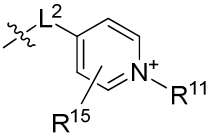
R^{10} y R^{12} son independientemente H o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados a partir de OH, NH_2 o Q;

Q se selecciona a partir de –L^2–N(R^{13})$_2$, -L^2-N^+(R^{14})$_3$, -L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-N(R^{13})$_2$, -L^2-NR^{13}-CR^{13}(=NR^{13}), -L^2-NR^{13}-L^2-Cy, -L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-NR^{13}-L^2-Cy, -L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-L^2-Cy, -L^2-Cy-L^2-R^{13}, -L^2-Cy-L^2-N(R^{13})$_2$, -L^2-NR^{13}-SO_2-N(R^{13})$_2$, -L^2-SO_2-N(R^{13})$_2$, -L^2-NR^{13}-SO_2-R^{13}, -L^2-NR^{13}-L^2-Ar, -L^2-S-L^2-Cy, -L^2-NR^{13}-(C=O)-O-R^{13},



,


,


,


,

cada Cy es independientemente un cicloalquilo de 3-6 miembros o heterociclilo de 3-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como un miembro del anillo y opcionalmente fusionado a un anillo arilo o heteroarilo de 5-6 miembros, en donde cada Cy es opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados de halógeno, haloalquilo C_{1-3}, R^{14}, hidroxilo, alcoxiloC_{1-4},-NH_2,-NH(alquilC_{1-4}) o-N(alquilC

$_{1-4})_2$;

Ar es fenilo, opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados a partir de halógeno, haloalquiloC_{1-3}, $R^{14,}$ hidroxilo, alcoxilo$C_{1-4,}$-NH $_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N (alquilo$C_{1-4})_2$;

R^{11} es independientemente en cada caso alquilo C_{1-4};

y dos R^{10}, o dos R^{11}, o dos R^{12} en el mismo N pueden ciclarse para formar un anillo heterocíclico de 4-6 miembros opcionalmente sustituido por alquilo$C_{1-4,}$ alcoxilo$C_{1-4,}$ hidroxilo, u oxo;

R^{13} es independientemente en cada caso H o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por hidroxilo, alcoxilo $C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N (alquilo$C_{1-4})_2$;

R^{14} es independientemente en cada caso alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por hidroxilo, alcoxilo $C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N (alquilo$C_{1-4})_2$;

en donde dos R^{13}, o dos R^{14}, en el mismo N pueden ciclarse para formar un anillo heterocíclico de 4-6 miembros opcionalmente sustituido por alquilo$C_{1-4,}$ alcoxilo$C_{1-4,}$ hidroxilo, u oxo;

R^{15} es H, halógeno, alquilo C_{1-4} CN, o-O(alquiloC_{1-4});

cada R^{16} es independientemente halógeno, alquiloC_{1-4}-NH_2, CN, o-O(alquiloC_{1-4});

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

que incluye variantes de tales compuestos descritos en la presente.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para inhibir el crecimiento bacteriano o la modulación de la virulencia de una infección bacteriana, en donde el método comprende administrar a un paciente en necesidad de tal inhibición, un compuesto de la fórmula (I).

En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar un sujeto que tiene una infección bacteriana Gram-negativa, que comprende la administración al sujeto en necesidad del mismo una cantidad antibacterianamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I), opcionalmente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas modalidades, el sujeto es un mamífero y en algunas modalidades, el sujeto es un humano.

Las bacterias Gram-negativas pueden ser de un género seleccionado entre *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas, Acinetobacter, Bacteroides, Burkholderia, Campilobacter, Neisseria,* y *Stenotrophomonas.* En particular, una infección bacteriana causada por una especie de *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella,*

Serratia, Pseudomonas, o Acinetobacter es tratable. Especies bacterianas particulares para tal tratamiento incluyen *Citrobacter freundii, Citrobacter koseri, Enterobacter cloacae, Enterobacter faecalis, Enterobacter faecium, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxitoca, Morganella morganii, Proteus mirabilis, especies de Salmonella, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa,* y *Acinetobacter baumannii,* así como *Bacteroides bivius, Bacteroides fragilis, Burkholderia cepacia, Campilobacter jejuni, Neisseria gonorrhoeae, y Stenotrophomonas maltophilia.*

En otro aspecto, la invención proporciona un método de administración de una cantidad inhibidora de un compuesto de la fórmula (I) para fermentar o no fermentar bacterias Gram-negativas. En ciertas modalidades del método de administrar una cantidad inhibidora de un compuesto de la fórmula (I) para la fermentación o no fermentación de bacterias Gram-negativas, las bacterias Gram-negativas son especies de *Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Neisseria, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas y Acinetobacter.* Especies bacterianas particulares para tales métodos incluyen *Citrobacter freundii, Citrobacter koseri, Enterobacter cloacae, Enterobacter faecalis, Enterobacter faecium, Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Klebsiella oxitoca, Neisseria meningiditis y Burkholderia cepacia, Morganella morganii, Proteus mirabilis, especies de Salmonella, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa,* y *Acinetobacter baumannii,* así como *Bacteroides bivius, Bacteroides fragilis, Burkholderia cepacia, Campilobacter jejuni, Neisseria gonorrhoeae, y Stenotrophomonas maltophilia.*

En otra modalidad, la invención proporciona un método de administración de una cantidad inhibidora de un compuesto de la fórmula (I) a bacterias Gram-negativas, tales como un Enterobacteriaceae; en algunas modalidades la bacteria Gram-negativa se selecciona del grupo que consta de especies de *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas,* y *Acinetobacter.*

Otra modalidad, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) en combinación con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Una "cantidad eficaz" como se usa en la presente se refiere a una cantidad suficiente para reducir la severidad o síntomas de una infección, o una cantidad eficaz para reducir la carga de bacterias en el paciente.

Se proporcionan composiciones farmacéuticas según la presente invención, que incluyen cualquiera de los compuestos descritos en este documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición incluye un agente terapéutico adicional o un inhibidor de la beta lactamasa.

En otro aspecto, la invención proporciona una combinación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un agente terapéutico adicional o un inhibidor de la beta lactamasa u opcionalmente ambos.

La presente invención proporciona nuevos compuestos, métodos para inhibir la supervivencia y el crecimiento de la población de bacterias Gram-negativas, y nuevos métodos y composiciones para el tratamiento de infecciones bacterianas en mamíferos, particularmente en seres humanos. Los compuestos proporcionados en este documento se pueden formular en formulaciones farmacéuticas y medicamentos que son útiles en métodos para inhibir el crecimiento bacteriano o la gravedad o duración de una infección bacteriana, o para tratar un sujeto que tiene una infección bacteriana que es susceptible a la inhibición por los compuestos de la Fórmula (I). La invención también proporciona el uso de los compuestos en la preparación de medicamentos y formulaciones farmacéuticas, para uso de los compuestos para inhibir el crecimiento bacteriano, y para el uso de los compuestos en el tratamiento de infecciones bacterianas en un sujeto en necesidad de tal tratamiento, por ejemplo, un sujeto infectado con una bacteria Gram-negativa o en riesgo especialmente alto para tal infección.

Otros aspectos de la invención se discuten en este documento.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Para efectos de interpretar esta especificación, las siguientes definiciones se aplican a menos que se especifique lo contrario o se contradiga claramente por el contexto. Cuando proceda, los términos utilizados en singular también incluyen el plural y viceversa.

Definiciones

Los términos utilizados en la especificación tienen los siguientes significados:

Como se utiliza en la presente, el término “sujeto” se refiere a un animal. En ciertos aspectos, el sujeto es un mamífero. Un sujeto también se refiere a por ejemplo, primates (*ej.*, humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un humano.

Como se utiliza en la presente, el término "inhibir" o "inhibición" se refiere a la reducción o supresión de una condición, síntoma, o trastorno, o enfermedad dada, o una disminución significativa en la actividad inicial de una actividad o proceso biológico, o disminución en la viabilidad, número o tasa de crecimiento de una población bacteriana.

Como se utiliza en la presente, el término “tratar”, o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (es

decir, retardar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización “tratar” o “tratamiento” se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico incluyendo aquellos los cuales pueden ser no discernibles por el paciente. En aún otra realización, “tratar” o “tratamiento” se refiere a modular la enfermedad o trastorno, bien sea físicamente, (*ej.*, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (*ej.*, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En aún otra realización, “tratar” o “tratamiento” se refiere a prevenir o retardar el comienzo o desarrollo o progresión de la enfermedad o trastorno.

Como se utiliza en la presente, el término "un,” "una,” "el”, “los” y términos similares se utilizan en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) para cubrir formas tanto singulares como plurales a menos que se indique lo contrario o claramente sea contradicho por el contexto.

Todos los métodos descritos en la presente pueden realizarse en cualquier orden apropiado a menos que se indique lo contrario en la presente o de otra manera sea contradicho claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los Ejemplos, o terminología de ejemplo (*ej.,* "tal como”) proporcionada en la presente pretende solamente ilustrar mejor el invento y no implica limitación sobre el alcance del invento de otra manera reivindicado.

El término "agente antibacteriano" se refiere a agentes sintetizados o modificados en el laboratorio que tienen ya sea actividad bactericida o bacteriostática. Un agente "activo" en este contexto inhibirá el crecimiento de *P. aeruginosa* y/o otras bacterias Gram-negativas. El término "inhibir el crecimiento" indica que la tasa de aumento en los números de una población de una bacteria en particular se reduce. Por lo tanto, el término incluye situaciones en las que la problación de bacterias aumenta pero a una tasa reducida, así como situaciones donde el crecimiento de la población se detiene, así como las situaciones en que se reducen los números de las bacterias en la población o la población incluso se elimina.

“Opcionalmente sustituido” significa el grupo citado que puede sustituirse en una o más posiciones por cualquier radical o cualquier combinación de los radicales listados a continuación. Dicha sustitución implica la sustitución de un átomo de hidrógeno del grupo no sustituido por otra fracción; así, el número de sustituyentes que pueden ser añadidos a cualquier grupo sustituido es igual al número de átomos de hidrógeno en el grupo no sustituido. Si no se especifica lo contrario, 'opcionalmente sustituido' significa que hasta tres grupos sustituyentes que no son hidrógeno se pueden añadir.

“Halo” o “halógeno”, como se utiliza en la presente, puede ser flúor, cloro, bromo o yodo.

"AlquiloC_1-C_6", como se utiliza en la presente, denota alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono. Si se específica un número diferente de átomos de carbono, tal como C_8 o C_3, entonces la definición tiene que interpretarse consecuentemente, tal que “alquilo C_1-C_4 incluirá metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo.

"AlcoxiloC_1-C_6", o “alcoxiloC_{1-6}” como se utiliza en la presente, denota alcoxilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono. Si se específica un número diferente de átomos de carbono, tal como C_8 o C_3, entonces la definición tiene que interpretarse consecuentemente, ej., “alcoxilo C_1-C_4” representará metoxilo, etoxilo, propoxilo, isopropoxilo, butoxilo, isobutoxilo, sec-butoxilo y terc-butoxilo.

"Haloalquilo C_1-C_4", o "haloalquilo C_{1-4}" como se utiliza en la presente, denota alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1-4 átomos de carbono, en donde al menos un hidrógeno se ha sustituido por un halógeno. Si se específica un número diferente de átomos de carbono, tal como C_6 o C_3, entonces la definición tiene que interpretarse consecuentemente, así “haloalquilo C_1-C_4 representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo con al menos un hidrógeno sustituido por halógeno, tal como cuando el halógeno es flúor. CF_3CF_2-, $(CF_3)_2CH$-, CH_3-CF_2-, CF_3CF_2-, CF_3, CF_2H-, $CF_3CF_2CHCF_3$ or $CF_3CF_2CF_2CF_2$-.

“Cicloalquilo C_3-C_8-” o “cicloalquilo C_{3-8}” tal como se utiliza en la presente, se refiere a un anillo hidrocarburo monocíclico saturado de 3 a 8 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C_3-C_6, entonces la definición debe interpretarse consecuentemente.

“Heterociclilo de 4-a 8-miembros”, “heterociclilo de 5-a 6-miembros”, “heterociclilo de 3-a 10-miembros”, “heterociclilo de 3-a 14-miembros”, “heterociclilo de 4-a 14-miembros” y “heterociclilo de 5-a 14-miembros”, se refieren, respectivamente a anillos heterocíclicos de 4-a 8-miembros, de 5-a 6-miembros, de 3-a 10-miembros, de 3-a 14-miembros, de 4-a 14-miembros y de 5-a 14-miembros que contienen al menos 1 a 7, 1 a 5 o 1 a 4 heteroátomos seleccionados a partir del grupo que consta de nitrógeno, oxigeno, y azufre, el cual puede ser saturado, o parcialmente saturado. "Heterocíclico" se puede usar de forma intercambiable con "heterociclilo". El grupo cicloheteroalquilo puede fijarse en un heteroátomo o un átomo de carbono. El término “heterociclilo” incluye grupos cíclicos

sencillos, grupos cíclicos fusionados y grupos puenteados. Ejemplos de tal heterociclilo incluyen, pero no se limitan a pirrolidina, piperidina, piperazina, oxazolidina, pirrolidina, pirrolidinona, morfolina, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, tetrahidrotiopirano, tetrahidropiran, 1,4-dioxano, 1,4 oxatiano, 8-aza-biciclo [3.2. 1] octano, 3,8-diazabiciclo [3.2.1] octano, 3-oxa-8-aza-biciclo [3.2.1] octano, 8-oxa-3-aza-biciclo [3.2.1] octano, 2-oxa-5-aza-biciclo [2.2.1] heptano, 2,5-diaza-biciclo [2.2.1] heptano, azetidina, etilendioxo, oxetano o tiazolidina. Preferiblemente, un grupo heterocíclico o heterociclilo es un grupo monocíclico saturado o parcialmente saturado a menos que se especifique lo contrario, y contiene 5-7 átomos en el anillo con hasta dos heteroátomos seleccionados de N, O y S como miembros del anillo. En algunas modalidades, un grupo heterocíclico incluye además sistemas de anillo bicíclico que contiene 1 o 2 heteroátomos tales como N, O o S como miembros del anillo y que comprende dos anillos condensados de 3-, 4-, 5-, o 6 miembros, tales como 3-azabiciclo [3.1.0] hexano, 8-aza-biciclo [3.2.1] octano, 3,8-diazabiciclo [3.2.1] octano, 3-oxa-8-aza-biciclo [3.2.1] octano, 8-oxa-3-aza-biciclo [3.2.1] octano, 2-oxa-5-aza-biciclo [2.2.1] heptano, 2,5-diaza-biciclo [2.2.1] heptano.

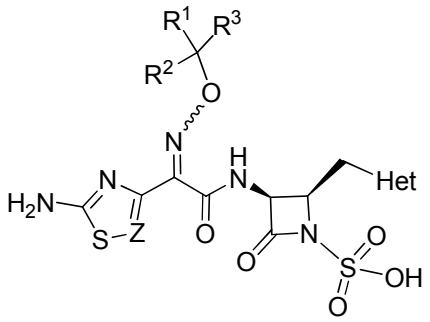
"Heteroarilo" es un anillo completamene insaturado (aromático). El término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillo monocíclico o bicíclico-o tricíclico-aromático de 5-14 miembros, que tiene 1 to 8 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S. Típicamente, el heteroarilo es un sistema de anillo de 5-10 miembros (ej., monociclo de 5-6 miembros o un biciclo de 8-10 miembros) o un sistema de anillo de 5-6 miembros. A menos que se especifique lo contrario, un heteroarilo es preferiblemente un anillo aislado de 5-6 miembros que contiene hasta 4 heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo. Grupos heteroarilo típicos incluyen furano, isotiazol, tiadiazol, oxadiazol, indazol, indol, quinolina, 2-o 3-tienilo, 2-o 3-furilo, 2-o 3-pirrolilo, 1-, 2-, 4-, ó 5-imidazolilo, 1-, 3-, 4-, o 5-pirazolilo, 2-, 4-, o 5-tiazolilo, 3-, 4-, o 5-isotiazolilo, 2-, 4-, o 5-oxazolilo, 3-, 4-, o 5-isoxazolilo, 3-o 5-(1,2,4-triazolilo), 4-o 5-(1,2, 3-triazolilo), tetrazolilo, triazina, pirimidina, 2-, 3-, o 4-piridilo, 3-o 4-piridazinilo, 3-, 4-, o 5-pirazinilo, 2-pirazinilo, y 2-, 4-, o 5-pirimidinilo.

El término "hidroxilo" o "hidroxilo" se refiere al grupo-OH, o cuando se usa como parte de un nombre de grupo tal como hidroxialquilo, se refiere al grupo nombrado sustituido por un-OH.

Varias realizaciones de la invención se describen en la presente. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización pueden combinarse con otras características

especificadas para proporcionar realizaciones adicionales. Las siguientes modalidades enumeradas son representativas de algunos aspectos de la invención.

1. Un compuesto de la Fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

en donde:

Z es CR^4 o N;

R^1 es H o alquilo C_1-C_4.

R^2 se selacciona del grupo que consta de H, alquiloC_1-C_4 y-COOH

o R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al cual están unidos forman un anillo seleccionado a partir de un anillo de cicloalquilo C_3-C_6 y un anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo;

R^3 se selecciona a partir de H,-COOH, y-L^1-W-$(CH_2)_{0-2}$-X-R^5;

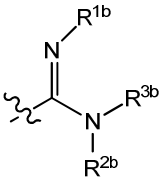
R^4 es H o halo;

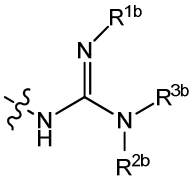
cada L^1 es independientemente un alquileno C_{1-4} de cadena lineal o ramificada;

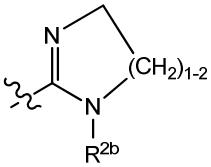
W es un enlace, O, NH o S;

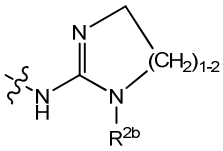
X es fenilo, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo; donde el fenilo y heteroarilo de 5-6 miembros están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos seleccionados a partir de alquiloC_{1-4}, hidroxilo,-CN, F, alcoxiloC_{1-4},-NH_2,-NH(alquiloC_{1-4}) y-N (alquiloC_{1-4})$_2$;

R^5 se selecciona a partir de:



; 

; 

y 

;

en donde R^{1b}, R^{2b}, y R^{3b} son independientemente hidrógeno, hidroxilo, CN, alquilo(C_1-C_4), alcoxilo(C_1-C_4), cicloalquilo (C_3-C_6), o heterociclilo de 4-, 5-, 6-ó 7-miembros que contiene N, O o S como un miembro de anillo, en donde cada alquilo(C_1-C_4), alcoxilo(C_1-C_4), cicloalquilo(C_3-C_6), o heterociclilo de 4-, 5-, 6-o 7 miembros que contiene N, O o S como un miembro de anillo puede sustituirse por uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente apartir Y,

y en donde R^{2b} y R^{3b} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos pueden formar opcionalmente un heterociclilo de 5 a 7 miembros que incluye 0 o 1 heteroátomos adicionales seleccionados a partir de N, O y S, dicho heterociclilo opcionalmente sustituido por Y;

Y se selecciona a partir de F, CN,-NH_2, Q,-L^2-C(O)NR^{10}-L^2-Q,-L^2-NR^{10}-C(O)-L^2-Q, -L^2–OR^{10},-L^2-N(R^{10})$_2$,-L^2-N^+(R^{11})$_3$, -L^2-NR^{10}-C(O)R^{10},-L^2-NR^{10}–L^2-N(R^{10})$_2$,-L^2-O-C(O)OR^{10},-L^2-O-C(O)-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(O)-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(O)-OR^{11},-L^2-C(=NR^{10})-N(R^{10})$_2$,-CON(R^{10})$_2$, -L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-R^{10}, -L^2-C(O)N(R^{10})$_2$,, -L^2-O-SO_3R^{10} ;

L^2 es independientemente en cada caso un enlace o un alquileno C_{1-4} de cadena lineal o ramificada, opcionalmente sustituido por NH_2, OH, o F;

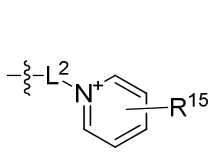
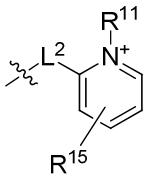
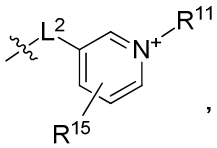
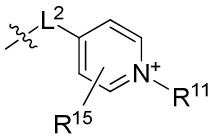
Het es un anillo heterocíclico o heteroarilo de 4-6 miembros, donde el anillo heteroarilo contiene 1 a 4 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo y está opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados a partir de Y, OH, NH_2,-C(O)$NR^{10}$$_2$, y alquilo$C_{1-4}$ opcionalmente sustituido por uno o dos Y; y el anillo heterocíclico contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo y está opcionalmente sustituido por hasta tres grupos seleccionados a partir de halo, Y, alquiloC_{1-4} sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados a partir de Y, = NR^{10}, = N-OR^{10}, =N-CN, y oxo;

y Het está opcionalmente fusionado a un anillo heterocíclico o heteroarilo de 5 o 6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados a partir de NR^{10}, O y S como miembros del anillo, y opcionalmente sustituido por uno o dos R^{16};

R^{10} y R^{12} son independientemente H o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por uno o

dos grupos seleccionados a partir de OH, NH_2 o Q;

Q se selecciona a partir de $–L^2–N(R^{13})_2$,$-L^2-N^+(R^{14})_3$,$-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-N(R^{13})_2$,$-L^2-NR^{13}-CR^{13}(=NR^{13})$,$-L^2-NR^{13}-L^2-Cy$,$-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-NR^{13}-L^2-Cy$,$-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-L^2-Cy$, $-L^2-Cy-L^2-R^{13}$,$-L^2-Cy-L^2-N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-SO_2-N(R^{13})_2$,$-L^2-SO_2-N(R^{13})_2$,$-L^2-NR^{13}-SO_2-R^{13}$,$-L^2-NR^{13}-L^2-Ar$,$-L^2-S-L^2-Cy$,$-L^2-NR^{13}-(C=O)-O-R^{13}$,


,

,

,

,

cada Cy es independientemente un cicloalquilo de 3-6 miembros o heterociclilo de 3-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como un miembro del anillo y opcionalmente fusionado a un anillo arilo o heteroarilo de 5-6 miembros, en donde cada Cy es opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados de halógeno, haloalquilo C_{1-3}, $R^{14,}$ hidroxilo, alcoxilo$C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquilC_{1-4}) o-N(alquil$C_{1-4})_{2;}$

Ar es fenilo, opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados a partir de halógeno, haloalquiloC_{1-3}, $R^{14,}$ hidroxilo, alcoxilo$C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N (alquilo$C_{1-4})_{2;}$

R^{11} es independientemente en cada caso alquilo C_{1-4};

y dos R^{10}, o dos R^{11}, o dos R^{12} en el mismo N pueden ciclarse para formar un anillo heterocíclico de 4-6 miembros opcionalmente sustituido por alquilo$C_{1-4,}$ alcoxilo$C_{1-4,}$ hidroxilo, u oxo;

R^{13} es independientemente en cada caso H o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por hidroxilo, alcoxilo $C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N (alquilo$C_{1-4})_{2;}$ opcionalmente, cuando R^{13} es alquilo C_{1-4} puede ser sustituido por-$OR^{14,}$-$NHR^{14,}$ hidroxilo, alcoxilo$C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N(alquilo$C_{1-4})_{2;}$

R^{14} es independientemente en cada caso alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por hidroxilo, alcoxilo $C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC_{1-4}) o-N (alquilo$C_{1-4})_{2;}$

en donde dos R^{13}, o dos R^{14}, en el mismo N pueden ciclarse para formar un anillo heterocíclico de 4-6 miembros opcionalmente sustituido por alquilo$C_{1-4,}$ alcoxilo$C_{1-4,}$ hidroxilo, u oxo;

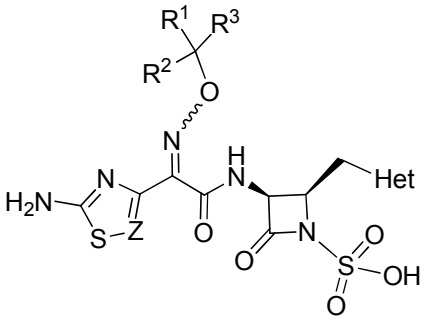
R^{15} es H, halógeno, alquilo C_{1-4} CN, o-O(alquiloC_{1-4});

cada R^{16} es independientemente halógeno, alquiloC_{1-4}-NH_2, CN, o-O(alquiloC_{1-4});

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se entiende que cada uno de los compuestos de la Tabla B, que incluyen los compuestos de los Ejemplos 1-156, es una modalidad de la invención y se pretende que estén dentro del alcance de la modalidad 1.

2. Un compuesto de la Fórmula (IA):



(IA)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

en donde:

Z es CR^4 o N;

R^1 es H o alquilo C_1-C_4.

R^2 se selacciona del grupo que consta de H, alquiloC_1-C_4 y-COOH

o R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al cual están unidos forman un anillo seleccionado a partir de un anillo de cicloalquilo C_3-C_6 y un anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo;

R^3 se selecciona a partir de H,-COOH, y-L^1-W-$(CH_2)_{0-2}$-X-R^5;

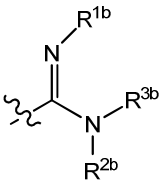
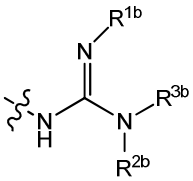
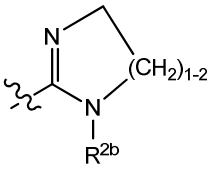
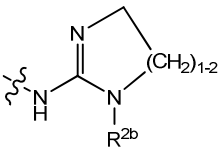
R^4 es H o halo;

cada L^1 es independientemente un alquileno C_{1-4} de cadena lineal o ramificada;

W es un enlace, O, NH o S;

X es fenilo, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo; donde el fenilo y heteroarilo de 5-6 miembros están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos seleccionados a partir de alquiloC_{1-4}, hidroxilo,-CN, F, alcoxiloC_{1-4},-NH_2,-NH(alquiloC_{1-4}) y-N (alquiloC_{1-4})$_2$;

R^5 se selecciona a partir de:


; 
; 
y 
;

en donde R^{1b}, R^{2b}, y R^{3b} son independientemente hidrógeno, hidroxilo, CN, alquilo(C_1-C_4), alcoxilo(C_1-C_4), cicloalquilo (C_3-C_6), o heterociclilo de 4-, 5-, 6-ó 7-miembros, en donde cada alquilo(C_1-C_4), alcoxilo(C_1-C_4), cicloalquilo(C_3-C_6), o heterociclilo de 4-, 5-, 6-o 7-miembros pueden sustituirse por uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente apartir Y,

y en donde R^{2b} y R^{3b} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos pueden formar opcionalmente un heterociclilo de 5 a 7 miembros que incluye 0 o 1 heteroátomos adicionales seleccionados a partir de N, O y S, dicho heterociclilo opcionalmente sustituido por Y;

Y se selecciona a partir de F, CN,-NH_2, Q,-L^2-C(O)NR^{10}-L^2-Q,-L^2-NR^{10}-C(O)-L^2-Q, -L^2–OR^{10},-L^2-N(R^{10})$_2$,-L^2-N^+(R^{11})$_3$, -L^2-NR^{10}-C(O)R^{10},-L^2-NR^{10}–L^2-N(R^{10})$_2$,-L^2-O-C(O)OR^{10},-L^2-O-C(O)-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(O)-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(O)-OR^{11},-L^2-C(=NR^{10})-N(R^{10})$_2$,-CON(R^{10})$_2$, -L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})$_2$,-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-R^{10}, -L^2-C(O)N(R^{10})$_2$,, -L^2-O-SO_3R^{10} ;

L^2 es independientemente en cada caso un enlace o un alquileno C_{1-4} de cadena lineal o ramificada;

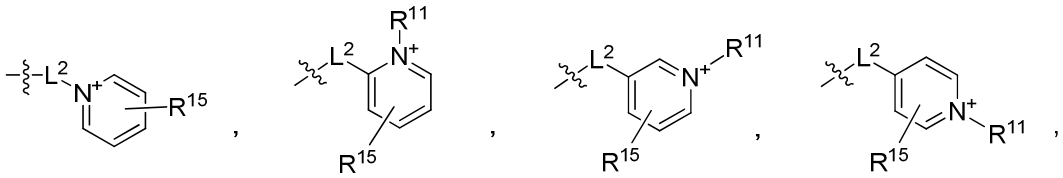
Het es un anillo heterocíclico o heteroarilo de 5-6 miembros, donde el anillo heteroarilo contiene 1 a 4 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo y está opcionalmente sustituido por uno o dos grupos seleccionados a partir de Y, alquiloC_{1-4} opcionalmente sustituido por uno o dos Y, NH_2, y-C(O)$NR^{10}{}_2$; y el anillo heterocíclico contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo y está opcionalmente sustituido por hasta tres grupos seleccionados a partir de halo, Y, alquiloC_{1-4} sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados a partir de Y, = NR^{10}, = N-OR^{10}, =N-CN, y oxo;

y Het está opcionalmente fusionado a un anillo heterocíclico o heteroarilo de 5 o 6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo, y opcionalmente sustituido por uno o dos R^{16};

R^{10} y R^{12} son independientemente H o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido por Q;

Q se selecciona a partir de –L^2–N(R^{13})$_2$,-L^2-N^+(R^{14})$_3$,-L^2-NH-C(=NH)-NH_2,-L^2-

C(=NH)-NH_2,



R^{11} es independientemente en cada caso alquilo C_{1-4};

y dos R^{10}, o dos R^{11}, o dos R^{12} en el mismo N pueden ciclarse para formar un anillo heterocíclico de 4-6 miembros opcionalmente sustituido por alquiloC $_{1-4,}$ alcoxilo$C_{1-4,}$ hidroxilo, u oxo;

R^{13} es independientemente en cada caso H o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por hidroxilo, alcoxilo $C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC $_{1-4}$) o-N (alquilo$C_{1-4})_{2;}$

R^{14} es independientemente en cada caso alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por hidroxilo, alcoxilo $C_{1-4,}$-$NH_{2,}$-NH(alquiloC $_{1-4}$) o-N (alquilo$C_{1-4})_{2;}$

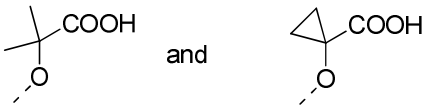
en donde dos R^{13}, o dos R^{14}, en el mismo N pueden ciclarse para formar un anillo heterocíclico de 4-6 miembros opcionalmente sustituido por alquiloC $_{1-4,}$ alcoxilo$C_{1-4,}$ hidroxilo, u oxo;

R^{15} es H, halógeno, alquilo C_{1-4} CN, o-O(alquiloC_{1-4});

cada R^{16} es independientemente halógeno, alquiloC_{1-4}-NH_2, CN, o-O(alquiloC_{1-4});

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En ciertas modalidades de los compuestos de la Fórmula (I) o (IA), el grupo representado por-O-$CR^1R^2R^3$ se selecciona a partir de



.

3. El compuesto de la modalidad 1 o la modalidad 2, en donde R^1 y R^2 son cada uno metilo y R^3 es-COOH.

4. El compuesto de la modalidad 1 o la modalidad 2, en donde R^1 y R^2 junto con el carbono al cual están ambos unidos forman un anillo de ciclopropano y R^3 es-COOH.

5. El compuesto de la modalidad 1 o la modalidad 2, en donde R^1 y R^2 son ambos metilo y R^3 es-COOH.

6. El compuesto de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde Z es CH.

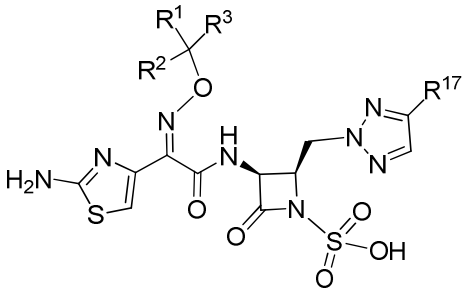
7. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1-6, en donde Z es N.

8. El compuesto de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde Het es un anillo heteroarilo de 5 miembros que contiene 1-4 átomos de nitrógeno como miembros de anillo y está opcionalmente sustituido por Y. En algunas de tales modalidades, Het es triazol opcionalmente sustituido por Y.

9. El compuesto de la modalidad 8, en donde Het se selecciona a partir de pirrol, pirazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, 1,3,4-triazol, y 1,2,3,4-tetrazol y es opcionalmente sustituido como se proporciona en la modalidad 8.

10. El compuesto de la modalidad 8, en donde Het es un grupo 1,2,3-triazol-2-ilo que está opcionalmente sustituido por-L^2-$N(R^{10})_2$ o L^2-NR^{10}-$C(=NR^{10})$-$N(R^{10})_2$.

11. El compuesto de la realización 8, que es de la Fórmula



en donde R^{17} se selecciona a partir de-CH2-G1-(CH2)1-4-G2 y-CH2-G1-Rx-(CH 2)0-2-G2, G1 se selecciona a partir de-NH-,-NMe-,-NH-C(=NH)-, y-NH-C(=NH)-NH-,
G^2 se selecciona a partir de-NH_2,-NHMe,-NH-C(=NH)-NH_2, azetidina, y pirrolidina;
y R^x es un anillo seleccionado a partir de ciclobutilo, azetidina, y pirrolidina.

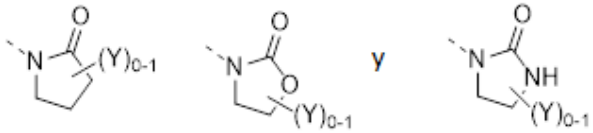
12. El compuesto de la modalidad 8, en donde Het es un grupo 1,2,3-triazol-2-il que

está opcionalmente sustituido por-L^2-$N(R^{10})_2$ o L^2-NR^{10}-$C(=NR^{10})$-$N(R^{10})_2$.

13. El compuesto de la modalidad 8, en donde Het es un grupo 1,2,4-triazol-2-il que está opcionalmente sustituido por-L^2-$N(R^{10})_2$ o L^2-NR^{10}-$C(=NR^{10})$-$N(R^{10})_2$.

14. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1-7, en donde Het es un anillo saturado sustituido con oxo y opcionalmente sustituido además con Y.

15. El compuesto de la modalidad 14, en donde Het se selecciona a partir de pirrolidina-2-ona, oxazolidin-2-ona, y imidazolidin-2-ona, y es opcionalmente sustituido por Y. En modalidades particulares de estos compuestos, Het se selecciona a partir de:

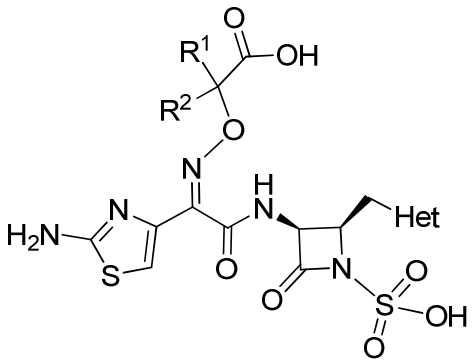


, donde el enlace de trazos indica el punto de unión de Het al resto de la Fórmula (I) o (IA), y (Y)0-1 representa un sustituyente opcional de Y que puede estar unido a cualquier posición disponible en el anillo.

16. El compuesto de la modalidad 14, en donde Het es oxazolidin-2-ona y está opcionalmente sustituido por-L^2-$N(R^{10})_2$ o L^2-NR^{10}-$C(=NR^{10})$-$N(R^{10})_2$.

17. El compuesto de la modalidad 14, en donde Het es oxazolidin-2-ona que está opcionalmente sustituido en la posición 5 por-L^2-$N(R^{10})_2$ o L^2-NR^{10}-$C(=NR^{10})$-$N(R^{10})_2$ en la configuración-*R*.

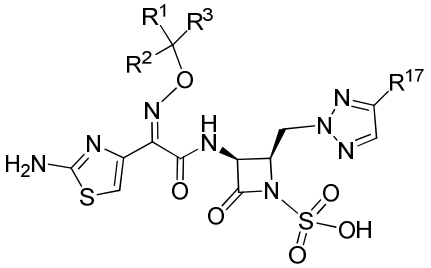
18. El compuesto de cualquiera de las modalidades anteriores, que tiene la estructura de la Fórmula (II):



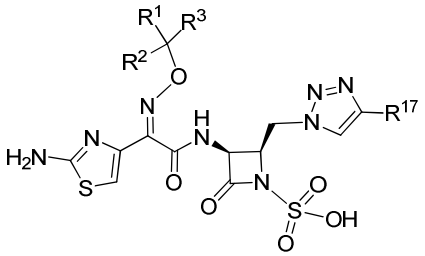
(II).

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

19. El compuesto de la modalidad 1 o modalidad 2, que es de la fórmula (IIIa) o (IIIb):



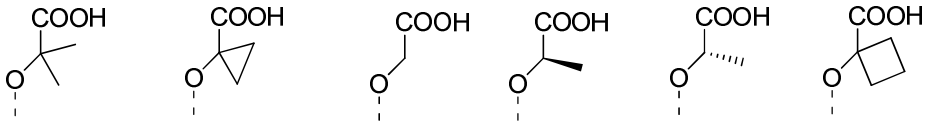
(IIIa) o

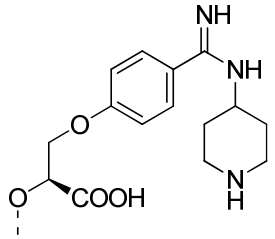


(IIIb)

en donde R^{17} es Y o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido por una o dos Y.

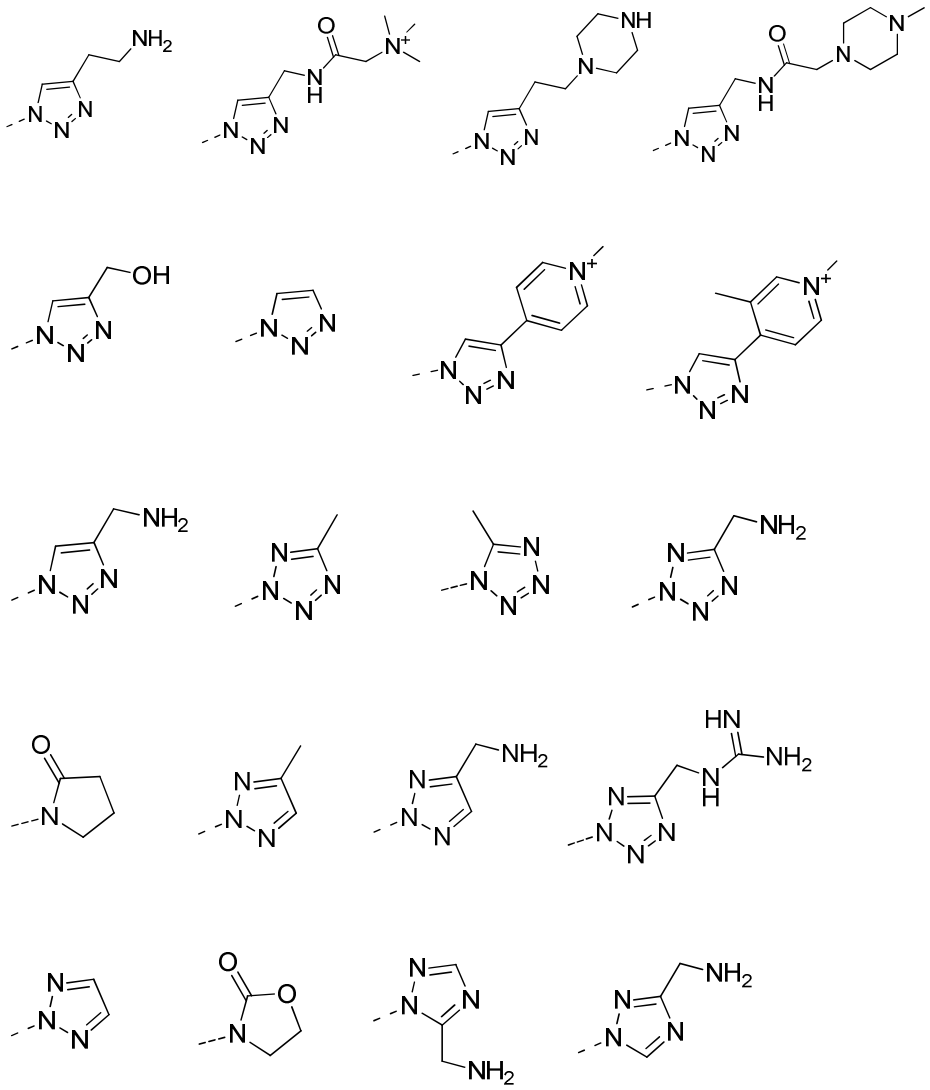
20. El compuesto de la modalidad 1 o modalidad 2, en donde-O-$CR^1R^2R^3$ se selecciona a partir de

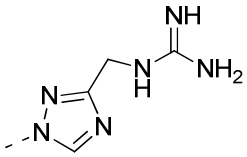
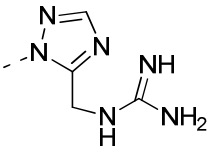
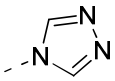
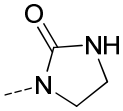
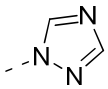
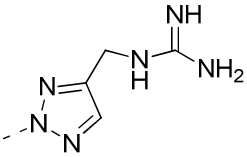
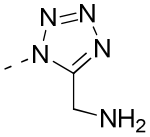
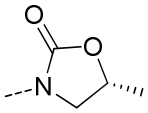
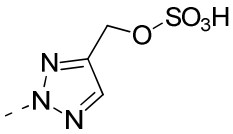
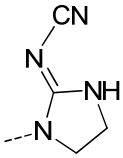
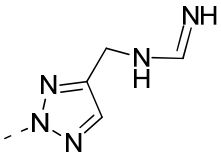
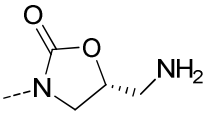
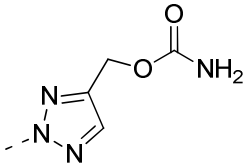
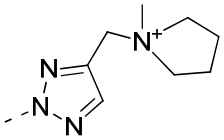
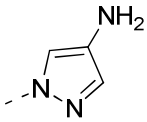
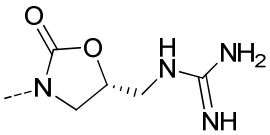
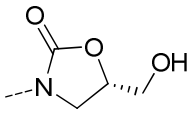
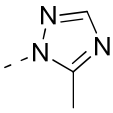
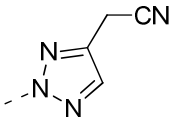
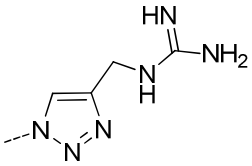
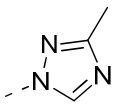
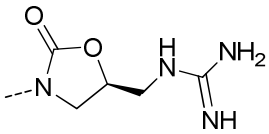
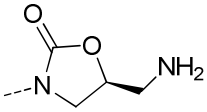
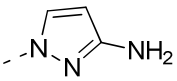
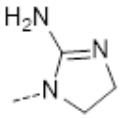
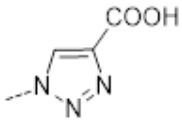
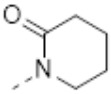
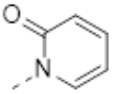




y .

21. El compuesto de la modalidad 1 o modalidad 20, en donde Het se selecciona a partir de

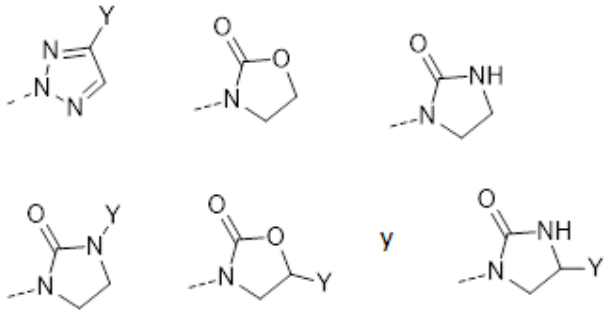





























y


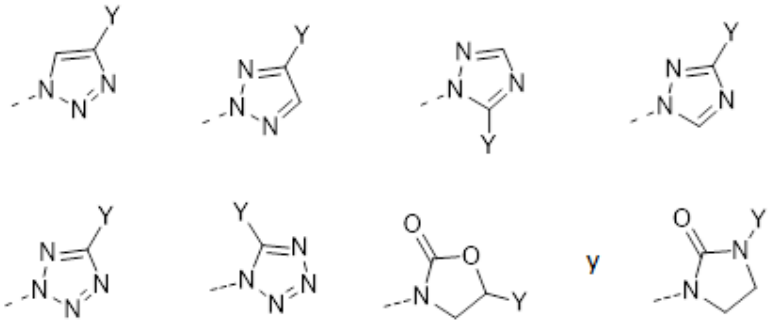
.

22. El compuesto de cualquiera de las modalidades 1-16 en donde L^2 es $-(CH_2)_{1-3}-$.

23. El compuesto de la modalidad 18 en donde Het se selecciona a partir de:



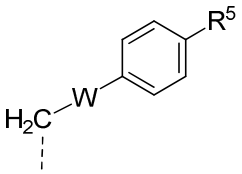
24. El compuesto de la modalidad 18 en donde Het se selecciona a partir de



25. El compuesto de la modalidad 19, 23, o 25, en donde Y se selecciona a partir de Q,-L^2–OR^{10},-L^2-$N(R^{10})_2$,-L^2-$N^+(R^{11})_3$, -L^2-NR^{10}-$C(O)R^{10}$,-,-L^2-O-$C(O)OR^{10}$,-L^2-O-C(O)-$N(R^{10})_2$,-L_2-NR^{10}-C(O)-$N(R^{10})_2$,-L^2-C(=NR^{10})-$N(R^{10})_2$,-$CON(R^{10})^2$, -L^2-NR_{10}-C(=NR^{10})-$N(R^{10})_2$, y-L^2-NR_{10}-C(=NR^{10})-R^{10}.

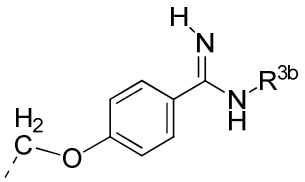
Alternativamente, el compuesto de la modalidad 19, 23 o 24 en donde Y es de la fórmula-L^2-NR^{10}-L^2-$N(R^{10})_2$, por ejemplo Y puede ser un grupo tal como-CH_2-NR^{10}-$(CH_2)_{2-3}$-$N(R^{10})_2$; en modalidades particulares de estos compuestos, R^{10} es H.

26. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 6-25, en donde R^3 es



de la Fórmula .

27. El compuesto de la modalidad 26, en donde R^3 es



,

donde R^{3b} se selecciona a partir de H, azetidina, pirrolidina y piperidina.

28. El compuesto de cualquiera de las modalidades anteriores, que es una sal farmacéuticamente aceptable.

29. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30. Un método para tratar una infección bacteriana Gram-negativa, que comprende administrar a un sujeto en necesidad de tal tratamiento un compuesto de cualquiera de las modalidades 1-27, o una composición farmacéutica de la modalidad 29.

31. El método de la modalidad 30, en donde la infección bacteriana es causada por una especie de bacteria *Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Meningitidis, Morganella, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Campilobacter, Neisseria,* o *Stenotrophomonas.*

32. El método de la modalidad 30, en donde la infección bacteriana es neumonía nosocomial, infección intraabdominal, o una infección del tracto urinario causada por una especie de Enterobacteriaceae.

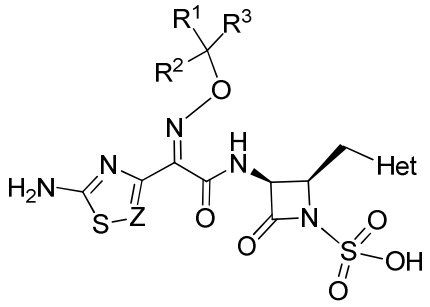
33. Un compuesto según cualquiera de las modalidades 1-27, para utilizar como un medicamento.

34. El compuesto de la modalidad 33, en donde el medicamento es un agente antibacteriano.

35. El compuesto de la modalidad 33, en donde el agente antibacteriano es para el tratamiento de una infección bacteriana Gram-negativa es causada por una especie de bacteria *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Meningitidis, Morganella, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Burkholderia, Campilobacter, Neisseria,* o *Stenotrophomonas.*

36. Una combinación farmacéutica, que comprende un compuesto según cualquiera de las modalidades 1-27 como un segundo agente terapéutico.

En compuestos de la Fórmula (I) y diversas modalidades descritas anteriormente, la oxima es preferiblemente de la configuración mostrada aquí:

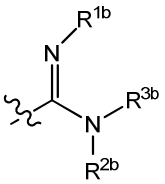


.

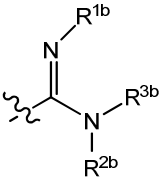
En algunos casos de cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, a menos que se especifique lo contrario, uno pero no ambos de R^2 y R^3 representan-COOH.

En muchas modalidades de los compuestos descritos anteriormente, Het no es piridina. En modalidades preferidas, Het es un anillo heterocíclico o heteroarilo de 5 miembros.

Cuando R^3 en cualquiera de las modalidades anteriores es de la Fórmula-L^1-W-$(CH_2)_{0-2}$-XR^5, X puede ser fenilo. En algunas de estas modalidades, L^1 es CH_2. En algunas de tales modalidades, W es O. En algunas de estas modalidades, R^5 es un grupo de la Fórmula



,

en donde R^{1b}, R^{2b} y R^{3b} son como se describen para la modalidad 1 anterior. En ciertas de estas modalidades, R^5 es de la Fórmula  en donde R^{1b} y R^{2b} representan cada uno H, y R^{3b} puede ser H, o un grupo heterocíclico tal como 4-piperidinilo. Adecuadamente, en estas modalidades R^1 es H y R^2 es H o COOH.

En un aspecto adicional, la invención proporciona:

- Una combinación farmacéutica que comprende (a) un primer agente terapéutico que es un compuesto de la invención, por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o cualquier subfórmula de la misma descrita en este documento, y (b) un segundo agente terapéutico como se describe anteriormente.

Un método como se define anteriormente que comprende la co-administración, por ejemplo concomitantemente o en secuencia, de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (I) o cualquier subfórmulas de la misma que se describe en la presente, y un segundo agente terapéutico como se describe anteriormente.

Los términos "co-administración" o "administración combinada" o similares como se utilizan en la presente pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un paciente individual, y pretenden incluir los regímenes de tratamiento en los que los agentes no son necesariamente administrados por la misma vía de administración o al mismo tiempo. Las combinaciones fijas están también dentro del alcance de la presente invención. La administración de una combinación farmacéutica de la invención resulta en un efecto beneficioso, por ejemplo un efecto terapéutico sinérgico, en comparación con una monoterapia que aplica sólo uno de sus ingredientes farmacéuticamente activos.

Cada componente de una combinación de acuerdo con esta invención se puede administrar por separado, juntos, o en cualquier combinación de los mismos.

Un compuesto del invento y cualquier agente adicional pueden formularse en formas

de dosificación separadas. Alternativamente, para disminuir el número de formas de dosificación administradas a un paciente, el compuesto del invento y cualquier agente adicional pueden formularse juntos en cualquier combinación. Por ejemplo, el compuesto del inhibidor del invento puede formularse en una forma de dosificación y el agente adicional pueden formularse juntos en otra forma de dosificación. Cualquiera de las formas de dosificación separadas puede administrarse al mismo tiempo o en momentos diferentes.

Alternativamente, una composición de esta invención comprende un agente adicional como se describe en la presente. Cada componente puede estar presente en composiciones individuales, composiciones de combinación, o en una única composición.

Los compuestos de la invención pueden sintetizarse mediante las rutas sintéticas generales siguientes, ejemplos especificos de las mismas se describen en detalle en los ejemplos

Los compuestos de la presente invención y los intermediarios también se pueden convertir unos a otros según métodos generalmente conocidos por expertos en el estado de la técnica.

Dentro del alcance de este texto, solamente un grupo fácilmente removible que no es un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención se designa un "grupo protector", a menos que el contexto indique lo contrario. La protección de grupos funcionales mediante tales protectores de grupo, los protectores de grupo mismos, y sus reacciones de escisión se describen por ejemplo en trabajos de referencia estándar, tal como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London y New York 1973, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera edición, Wiley, New York 1999, en "Los Péptidos "; Volume 3 (editors: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, London y New York 1981, en "Methoden der organischen Chemie" (Métodos de Química Orgánica), Houben Weil, 4th edición, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Aminoacidos, Péptidos, Proteínas), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basel 1982, y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Quimica de Carbohidratos: Monosacaridos y Derivados), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que se pueden quitar fácilmente (es decir, sin la aparición de reacciones secundarias indeseadas) por ejemplo por solvólosis, reducción, fotólisis o, alternativamente bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo, mediante escisión enzimática).

Las sales de los compuestos de la presente invención que tiene al menos un grupo formador de sal pueden prepararse de una manera conocida por los expertos en la técnica. Por ejemplo, pueden formarse sales de compuestos de la presente invención que tienen grupos ácidos, por ejemplo, al tratar los compuestos con compuestos metálicos, tal como sales de metales alcalinos de ácidos carboxílicos orgánicos apropiados, ej., la sal de sodio de ácido 2-etilhexanóico, con compuestos orgánicos de metales alcalinos o alcalinotérreos, tal como los hidróxidos correspondientes, carbonatos o carbonatos de hidrógeno, tales como hidróxido de sodio o potasio, carbonato o carbonato de hidrógeno, con compuestos de calcio correspondientes o con amoniaco o una amina orgánica apropiada, cantidades estoiquiométricas o solamente un pequeño exceso del agente formador de sales preferiblemente siendo utilizados. Las sales de adición ácida de los compuestos de la presente invención son obtenidas en forma habitual, ej., al tratar los compuestos con un ácido o un reactivo de intercambio aniónico apropiado. Las sales internas de compuestos del presente invento que contienen grupos formadores de sales ácidas y básicas, *ej.,* un grupo carboxilo libre y un grupo amino libre, pueden formarse, *ej.,* mediante la neutralización de sales, tales como sales de adición ácida, hacia el punto isoeléctrico, *ej.,* con bases débiles, o mediante tratamiento con intercambiadores de iones.

Las sales se pueden convertir en los compuestos libres de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica. Las sales metálicas y de amonio se pueden convertir, por ejemplo, mediante tratamiento con ácidos adecuados, y sales de adición de ácido, por ejemplo, por tratamiento con un agente básico adecuado.

Las mezclas de isoméros obtenibles según la invención pueden separarse generalmente en una forma conocida por aquellos con experiencia en el estado de la técnica en los isómeros individuales; los diastereoisómeros pueden separarse, por ejemplo, al particionar entre mezclas solventes polifásicas, recristalización y/o separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o por *ej.,* cromatografía líquida de mediana presión sobre una columna de fase invertida, y los racematos pueden separarse, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos formadores de sales ópticamente puras y separación de la mezcla de diastereoisómeros así obtenibles, por ejemplo por medio de cristalización fraccional, o mediante cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activa.

Intermediarios y productos finales pueden purificarse según métodos estándar, ej., utilizando métodos cromatográficos, métodos de distribución, (re)- cristalización, y similares.

Lo siguiente aplica en general a todos los procesos mencionados en la presente antes y de aquí en adelante.

Todos los pasos de proceso para preparar los compuestos de la invención pueden realizarse bajo condiciones de reacción que son conocidas por los expertos en el estado de la técnica, incluyendo aquellas específicamente mencionadas, en ausencia o, comúnmente, en presencia de solventes o diluyentes, incluyendo, por ejemplo, solventes o diluyentes que son inertes a los reactivos utilizados y disolverlos, en ausencia o presencia de catalizadores, agentes de condensación o neutrolizadores, por ejemplo intercambiadores de iones, tales como intercambiadores de cationes, *ej.,* en la forma H+, dependiendo de la naturaleza de la reacción y/o de los reactivos a temperatura reducida, normal o elevada, por ejemplo en un rango de temperatura dentro-100 ºC y 190 ºC aproximadamente, incluyendo, por ejemplo, desde-80 ºC a 150 ºC aproximadamente, por ejemplo entre-80 y-60 ºC aproximadamente, a temperatura ambiente, desde-20 a 40 ºC aproximadamente o a temperatura de reflujo, bajo presión atmosférica o en un recipiente cerrado, donde sea apropiado bajo presión, y/o en una atmósfera inerte, por ejemplo bajo una atmósfera de argón o nitrógeno.

En todas las etapas de las reacciones, las mezclas de isoméros que se forman pueden separarse en los isómeros individuales, por ejemplo diastereoisómeros o enantiomeros, o en cualquiera de las mezclas deseadas de isoméros, por ejemplo racematos o mezclas de diastereoisómeros.

Los solventes desde los cuales estos solventes que son apropiados para cualquier reacción particular pueden seleccionarse incluyen aquellos específicamente mencionados o, por ejemplo, agua, ésteres, tales como alquilo inferior- alcanoatos inferiores, por ejemplo acetato de etilo, éteres, tal como éteres alifáticos, por ejemplo éter dietílico, o éteres cíclicos, por ejemplo tetrahidrofurano o dioxano, hidrocarburos aromáticos líquidos, tales como benceno o tolueno, alcoholes, tales como metanol, etanol o 1- o 2- propanol, nitrilos, tal como acetonitrilos, hidrocarburos halogenados, tales como cloruro de metileno o cloroformo, amidas ácidas, tales como dimetilformamida o acetamida de dimetilo, bases, tales como bases de nitrógeno heterocíclico, por ejemplo piridina o *N*- metilpirrolidin- 2- ona, anhidridos de ácido carboxílicos, tales como anhidridos de ácido alcanoico inferior, por ejemplo anhídrido acético, hidrocarburos cíclicos, lineales o ramificados, tales como ciclohexano, hexano o isopentano, meticiclohexano, o mezclas de estos solventes, por ejemplo soluciones acuosas, a menos que se indique lo contrario en la descripción de los procesos. Tales mezclas solventes también pueden utilizarse en tratamientos finales, por ejemplo mediante cromatografía o particionamiento.

Los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también pueden obtenerse en la forma de sus hidratos, o sus cristales pueden, por ejemplo, incluir el solvente utilizado para cristalización. Diferentes formas cristalinas pueden estar presentes.

Todos los materiales de inicio, precursores de síntesis, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, solventes y catalizadores utilizados para sintetizar los compuestos de la presente invención están comercialmente disponibles o pueden ser producidos por métodos de síntesis orgánica conocidos por los expertos en el estado de la técnica..

El término “isómero óptico” o “un estereoisómero” como se utiliza en la presente, se refiere a cualquiera de las diferentes configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención e incluyen isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente puede estar unido a un centro quiral de un átomo de carbono. El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no poder ser superpuestas sobre su imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a las moléculas que son superpuestas sobre su imagen especular. Por lo tanto, el invento incluye enantiómeros, diastereoisómeros o racematos del compuesto. Los “enantiómeros” son un par de estereoisómeros que son imágenes especulares que no pueden ser superpuestas entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica”. El término se utiliza para designar una mezcla racémica donde sea apropiado. Los "diaestereoisómeros” son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero los cuales no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta es especificada según el sistema R-S de Cahn- lngold- Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro la estereoquímica de cada carbono quiral puede especificarse por cualquiera R o S. Compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce pueden designarse (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro- o levorotatoria) que rotan el plano de luz polarizada según la longitud de onda de la línea D del sodio. Ciertos compuestos descritos la presente contienen uno o más centros asimétricos o ejes y pueden así dar origen a enantiómeros, diastereoisómeros, y otras formas estereoisoméricas que serán definidas, en términos de la estereoquímica absoluta, como (*R*)- o (*S*)-.

Dependiendo de la elección de los materiales de inicio y los procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en la forma de uno de los posibles isómeros o como mezclas de los mismos, por ejemplo, como isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tales como racematos y mezclas de diastereoisómeros, en función del número de átomos de carbono asimétricos. La presente invención se entiende incluye todos los estereoisómeros posibles, incluyendo mezclas racémicas, mezclas diasterioméricas y formas

ópticamente puras. Isómeros (R)-y (S)-ópticamente activos pueden prepararse utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o resolverse utilizando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un enlace doble, el sustituyente puede ser de configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente cicloalquilo puede tener una configuración cis- o- trans. Todas las formas tautoméricas también son incluidas.

Cualquier mezcla resultante de isómeros puede ser separada sobre la base de las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, diastereoisómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccional.

Cualquiera de los racematos resultantes de los productos finales o intermediarios pueden ser resueltos en los antípodas ópticos mediante métodos conocidos, ej., mediante separación de las sales diastereoisoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base óptimamente activos, y liberando el compuesto ácido o alcalino ópticamente activo. En particular, una fracción alcalina puede emplearse para separar los compuestos del presente invento en sus antípodos ópticos, *ej.*, mediante cristalización fraccional de una sal formada con un ácido ópticamente activo, *ej.*, ácido tartárico, ácido dibenzoil tartárico, ácido diacetil tartárico, ácido di-O,O'-*p*-toluoil tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido canfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también pueden separarse mediante cromatografía quiral, *ej.*, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) utilizando un absorbente quiral.

Además, los compuestos del presente invento, incluyendo sus sales, también pueden obtenerse en la forma de sus hidratos, o incluir otros solvatos utilizados para su cristalización. Los compuestos del presente invento pueden inherentemente o por diseño formar solvatos con solvatos farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por lo tanto, se pretende que el invento incluya formas tanto solvatadas como no solvatadas.. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto del presente invento (incluyendo sales farmacéuticamente aceptables de los mismos) con una o más moléculas solventes. Tales móleculas solventes son las comúnmente utilizadas en la técnica farmacéutica, que son conocidas por ser inocuas para el receptor, ej., agua, etanol, y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula solvente es agua.

Los compuestos del presente invento, incluyendo sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden inherentemente o por diseño formar polimorfos.

Como se utiliza en la presente, los términos “sal” o “sales” se refieren a una sal de adición ácida o adición alcalina de un compuesto de la presente invención. "Sales" incluyen en particular "sales farmacéuticamente aceptables". El término “sales farmacéuticamente

aceptables" se refiere a sales que retienen la efectividad biológica y propiedades de los compuestos de este invento y, que típicamente son biológicamente o de otra manera deseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales ácidas y/o alcalinas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares de los mismos.

Sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, ej., acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/hidrobromuro, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfornato, cloruro/hidrocloruro, clorteofilonato, citrato, etanodisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato de hidrógeno/fosfato de dihidrógeno, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y sales de trifluoroacetato.

Ácidos inorgánicos a partir de los cuales las sales pueden derivarse incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido hidrobrómico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares.

Ácidos orgánicos de las cuales pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maléico, ácido manólico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluensulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares. Las sales de adición alcalina farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases inorgánicas y orgánicas.

Bases inorgánicas a partir de las cuales las sales pueden derivarse incluyen, por ejemplo, sales y metales de amonio de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas modalidades, las sales se derivan a partir de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc, y cobre; sales particularmente apropiadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

Bases orgánicas a partir de las cuales pueden derivarse las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas de ocurrencia natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio de iones alcalinos, y similares. Ciertas aminas orgánicas incluyen esopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

Las sales farmacéuticamente aceptables del presente invento pueden sintetizarse a partir de una fracción alcalina o ácida, mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse al reaccionar formas ácidas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tales como hidróxido, carbonato, bicarbonato de Na, Ca, Mg, o K o similares), o al reaccionar formas alcalinas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Típicamente, tales reacciones se realizan en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, el uso de medios no acuosos tipo éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo es deseable, donde pueda realizarse. Sales apropiadas adicionales pueden encontrarse, ej., en "*Remington's Farmaceutical Sciences*", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Farmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Cualquiera fórmula dada en la presente también tiene el propósito de representar formas no rotuladas así como también formas isotópicamente rotuladas de los compuestos de la presente invención. Los compuestos isotópicamente rotulados tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en la presente excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene un número de masa o masa atómica seleccionados. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos del invento incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxigeno, fósforo, flúor, y cloro, tales como ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{125}I respectivamente. La invención incluye diferentes compuestos isotópicamente rotulados de la presente invención, por ejemplo aquellos en los cuales isótopos radioactivos, tales como ^{3}H, y ^{14}C, o aquellos en los cuales isotopos no radioactivos, tales como ^{2}H y ^{13}C están presentes. Tales compuestos rotulados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios cinéticos de reacción (con, por ejemplo ^{2}H o ^{3}H), técnicas de detección o visualización, tales como tomografía de emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada de emisión de fotones individuales (SPECT) incluyen ensayo de distribución tisular de sustratos o fármacos, o tratamientos radioactivos de pacientes. En particular, un compuesto ^{18}F rotulado de la presente invención puede ser particularmente deseado para estudios PET o SPECT. Los compuestos isotopicamente rotulados de la presente invención generalmente pueden prepararse mediante técnicas convencionales conocidas por aquellos con experiencia en el estado de la técnica o mediante procesos análogos a aquellos descritos en las Secciones de Ejemplos y Preparaciones anexas utilizando un reactivo isotópicamente rotulado apropiado en cambio del reactivo no rotulado empleado anteriormente.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (es decir,., ^{2}H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan a partir de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo vida media in vivo aumentada o requerimientos de dosificación reducidos o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que deuterio en este contexto es considerado como un sustituyente de un compuesto de la presente invención. La concentración de tal isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede definirse por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico" como se utiliza en la presente se refiere a la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo específico. Si un sustituyente en un compuesto de este invento se denota deuterio, tal compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52.5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67.5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82.5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), al menos 6333.3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466.7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio), o al menos 6633.3 (99.5% de incorporación de deuterio).

Solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en donde el solvente de cristalización puede sustituirse isotópicamente, ej. D2O, d_6-acetona, d_6-DMSO.

Compuestos de la presente invención que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores para enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar co-cristales con procedimientos de formación de co-cristales apropiados. Estos co-cristales pueden prepararse a partir de compuestos del presente invento mediante procedimientos de formación de co-cristales conocidos. Tales procedimientos incluyen solubilidad diferencial, calentamiento, co-sublimación, co-fundición, o poner en contacto solución a compuestos del presente invento con el formador co-cristales bajo condiciones de cristalización y aislamiento de co-cristales así formados. Los formadores de co-cristales adecuados incluyen los descritos en el documento WO 2004/078163. Por lo tanto la invención proporciona además co-cristales que comprenden un compuesto de la presente invención.

Todos los métodos descritos en la presente pueden realizarse en cualquier orden apropiado a menos que se indique lo contrario en la presente o de otra manera sea contradicho claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los Ejemplos, o terminología de ejemplo (*ej.,* "tal como") proporcionada en la presente pretende solamente

ilustrar mejor el invento y no implica limitación sobre el alcance del invento de otra manera reivindicado.

La presente invención proporciona nuevos compuestos, formulaciones farmacéuticas que incluyen los compuestos, y métodos de tratamiento de infecciones bacterianas Gram-negativas. En particular, los compuestos son adecuados para su uso para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias de *Burkholderia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, meningitidis, Morganella, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Serratia, Acinetobacter, Bacteroides, Campilobacter, Neisseria,* o *Stenotrophomonas*, incluyendo especies citadas en el presente documento.

La sustitución con isótopos más pesados, tal como deuterio, es decir, ^{2}H puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan a partir de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo vida media in vivo aumentada o requerimientos de dosificación reducidos, y por lo tanto puede ser preferida en algunas circunstancias. Por ejemplo, la sustitución de deuterio en enlaces de hidrocarburos no intercambiables (por ejemplo, CH) puede retardar la epimerización y/o oxidación metabólica *in vivo.*

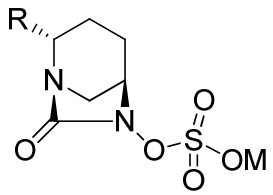
Compuestos isotópicamente marcados de la invención, es decir compuestos de la fórmula (I), pueden generalmente prepararse mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a aquellos descritos en las Secciones de Ejemplos y Preparaciones adjuntas utilizando un reactivo isotópicamente rotulado apropiado en cambio del reactivo no rotulado previamente empleado.

En aún otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar un sujeto con una infección bacteriana Gram-negativa, el método que comprende la etapa de administrar al sujeto en necesidad del mismo una cantidad antibacteriana eficaz de un compuesto de la invención, por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I o una sal del mismo con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento de pacientes que padecen o son susceptibles a neumonía, sepsis, fibrosis quística, heridas, pie diabético complicado o infecciones complicadas del tracto urinario y enfermedades de transmisión sexual causadas por patógenos Gram-negativos. Los compuestos de la invención también son útiles en las condiciones que son causadas por una especie de *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas, Acinetobacter, Bacteroides, Burkholderia, Campilobacter, Neisseria,* o *Stenotrophomonas.* En particular, una infección bacteriana causada por una especie de *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Salmonella, Serratia, Pseudomonas, o*

Acinetobacter es tratable mediante métodos en la presente. Especies bacterianas particulares para tal tratamiento incluyen *Citrobacter freundii, Citrobacter koseri, Enterobacter cloacae, Enterobacter faecalis, faecium Enterobacter, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxitoca, Morganella morganii, Proteus mirabilis, especies de Salmonella, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii y,* así como *también Bacteroides bivius, Bacteroides fragilis, Burkholderia cepacia, Campilobacter jejuni, Neisseria gonorrhoeae, y Stenotrophomonas maltophilia.*

Un compuesto de la presente invención también puede usarse en combinación con otros agentes, *por ejemplo,* un agente antibiótico adicional que es o no de la Fórmula I, para el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto, o un compuesto que potencia la actividad antibacteriana de los compuestos de la invención, que incluye potenciadores tales como inhibidores de beta-lactamasa (BLIs). BLIs adecuados para uso en combinación con los compuestos de la invención, incluyendo compuestos de la Fórmula (I) y subgéneros de los mismos, incluyen avibactam, ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam, y otros compuestos de la Fórmula



en donde M es H o un catión farmacéuticamente aceptable, y R representa CN,-C(O)NR^{1}R^{2,} o un grupo heterocíclico o heteroarilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido. Amidas adecuadas incluyen aquellas donde R^1 es H o alquiloC$_{1-4}$, y R^2 es opcionalmente alquiloC$_{1-4}$ sustituido, alcoxiloC$_{1-4}$ opcionalmente sustituido, alquilamino C$_{1-4}$ opcionalmente sustituido, un grupo heterocíclico C$_{5-6}$ opcionalmente sustituido, o-NH-C(O)-R^3, donde R^3 es alquilo C$_{1-4}$ opcionalmente sustituido, alcoxilo C$_{1-4}$ opcionalmente sustituido, alquilamino C$_{1-4}$ opcionalmente sustituido, un grupo heterocíclico C$_{5-6}$ opcionalmente sustituido. Cada grupo heterocíclico o heteroarilo en estos compuestos contiene 1-2 heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S como miembros del anillo, y cada grupo opcionalmente sustituido puede ser sustituido por 1-2 grupos seleccionados a partir de CN, halógeno,-OH, alquilo C$_{1-4}$, alcoxilo C$_{1-4,}$ amino, alquilamino C$_{1-4,}$ di(alquiloC$_{1-4)}$ amino,-COO (alquilo C$_{1-4),}$ y grupos heterocíclicos de 5-6 miembros. Compuestos adecuados de esta fórmula se describen en WO2008/039420, WO2009/091856, WO2013/122888,

WO2010/126820, WO2009/091856, WO2013/038330, US2013/0225554, WO2013149121, WO2013149136, WO2014141132 y WO2014/033560.

Mediante el término "combinación" se quiere indicar bien sea una combinación fija en una forma unitaria de dosificación, o un kit o instrucciones para la administración combinada donde un compuesto de la presente invención y un socio de combinación pueden administrarse independientemente al mismo tiempo o de manera separada dentro de intervalos de tiempo que permiten específicamente que los socios de combinación muestren un efecto cooperativo, *ej.*, sinérgico, o cualquier combinación de los mismos.

Una modalidad de la presente invención proporciona compuestos de la presente invención en una combinación farmacéutica con un segundo agente terapéutico. En algunas modalidades, el segundo agente terapéutico es un agente antibacteriano. Ejemplos no limitantes de agentes antibacterianos para su uso en las combinaciones farmacéuticas de la invención pueden seleccionarse a partir de los siguientes grupos:

(1) Macrólidos o cetólidos tales como eritromicina, azitromicina, claritromicina y telitromicina;

(2) Beta-lactámicos, que incluyen penicilina tal como penicilina G, penicilina V, meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, mezlocilina, piperacilina, azlocilina, temocillin, cefalosporina tal como cepalotin, cefapirina, cefradina, cefaloridina, cefazolina, cefamandol, cefuroxima, cefalexina, cefprozil, cefaclor, loracarbef, cefoxitina, cefinetazol, cefotaxima, ceftriaxona, ceftizoxima, cefoperazona, ceftazidima, cefixima, cefpodoxima, ceftibuteno, cefdinir, cefpiroma, cefepima, y carbapenemas tales como doripenem, imipenem, meropenem y PZ-601;

(3) Glicopéptidos tales como vancomicina y teicoplanina;

(4) Quinolonas tales como ácido nalidíxico, ácido oxolínico, norfloxacina, pefloxacina, enoxacina, ofloxacina, levofloxacina, ciprofloxacina, temafloxacina, lomefloxacina, fleroxacina, grepafloxacino, esparfloxacino, trovafloxacina, clinafloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina, sitafloxacina, ganefloxacina, gemifloxacina y pazufloxacina;

(5) Sulfonamidas antibacterianas y sulfanilamidas antibacterianas, que incluyen ácido para-aminobenzoico, sulfadiazina, sulfisoxazol, sulfametoxazol y sulfatalidina;

(6) Aminoglucósidos tales como estreptomicina, neomicina, kanamicina, paromicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, espectinomicina, sisomicina, dibekalin e isepamicina;

(7) Tetraciclinas tales como tetraciclina, clortetraciclina, demeclociclina, minociclina, oxitetraciclina, metaciclina, doxiciclina, tigeciclina;

(8) Rifamicinas tales como rifampicina (también llamada rifampina), rifapentina, rifabutina, bezoxazinorifamicina y rifaximina;

(9) Lincosamidas tales como lincomicina y clindamicina;

(10) Estreptograminas tales como quinupristina y dafopristina;

(11) Oxazolidinonas tales como linezolid o tedizolid;

(12) Polimixina, colistina y colimicina;

(13) Trimetoprima y bacitracina;

(14) Inhibidores de bomba de Eflujo;

(15) inhibidores de beta-lactamasa, que incluyen avibactam y análogos de los mismos, y los descritos anteriormente.

El segundo agente antibacteriano se puede administrar en combinación con los compuestos de las presentes invenciones en donde el segundo agente antibacteriano se administra antes de, simultáneamente, o después del compuesto o compuestos de la presente invención. Cuando se desea administración simultánea de un compuesto de la invención con un segundo agente y la vía de administración es la misma, entonces un compuesto de la invención puede formularse con un segundo agente en la misma forma de dosificación. Un ejemplo de una forma de dosificación que contiene un compuesto de la invención y un segundo agente es una administración intravenosa. Un ejemplo alternativo es una administración intramuscular de una solución que comprende un compuesto de la invención y un segundo agente.

Los compuestos y composiciones descritos en la presente pueden utilizarse o administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos que actúan como inmunomoduladores, por ejemplo, un activador de una molécula coestimuladora, o un inhibidor de una molécula inmuno-inhibitoria, o una vacuna. La proteína de Muerte Programada 1 (PD-1) es un miembro inhibitorio de la familia CD28/CTLA4 extendida de reguladores de células T (Okazaki (2002) Curr Opin Immunol 14: 391779-82; Bennett (2003) J. Immunol. 170:711-8). PD-1 se expresa sobre células B activadas, células T, y monocitos. PD-1 es una proteína inmunoinhibitoria que disminuye las señales de TCR (Ishida, Y. (1992) EMBO J. 11:. 3.887 a 3895; Blank, C. (Epub 29 de diciembre 2006) *Immunol. Immunother.* 56 (5): 739-745), y se incrementa en infecciones crónicas. La interacción entre PD-1 y PD-L1 puede actúar como un punto de comprobación inmune, que puede llevar a, por ejemplo, una disminución de infiltración de linfocitos, una disminución en la proliferación mediada

por receptores de células T, y/o evasión immune por celulas cancerígenas o infectadas (Dong, (2003) J Mol Med 81:281-7; Blank, (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314; Konishi, (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100). La supresión inmune puede revertirse mediante la inhibición de la interacción local de PD-1 o PD-L1; el efecto es aditivo cuando la interacción de PD-1 con PD-L2 es bloqueada también (Iwai, (2002) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 99:12293-7; Brown (2003) J. Immunol. 170:1257-66). La inmunomodulación puede lograrse mediante la unión a ya sea la proteína inmuno-inhibitoria (por ejemplo, PD-1) o las proteínas de unión que modulan la proteína inhibitoria (por ejemplo, PD-L1, PD-L2).

En una modalidad, las terapias de combinación de la invención incluyen un inmunomodulador que es un inhibidor o antagonista de una molécula inhibitoria de una molécula de punto de comprobación inmune. En otra modalidad, el inmunomodulador se une a una proteína que inhibe de forma natural la molécula de punto de comprobación inmuno-inhibitoria. Cuando se utiliza en combinación con compuestos antibacterianos, estos inmunomoduladores pueden mejorar la respuesta antimicrobiana, y por lo tanto mejorar la eficacia en relación al tratamiento con el compuesto antibacteriano solo.

El término "puntos de comprobación inmune" se refiere a un grupo de moléculas en la superficie celular de las células T CD4 y CD8. Estas moléculas pueden servir efectivamente como "frenos" para disminuir o inhibir una respuesta inmune adaptiva. Moléculas de punto de comprobación inmune incluyen, pero no se limitan a, muerte programada 1 (PD-1), Antígeno 4 de linfocito t citotóxico (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40, y LAG-3, que inhiben directamente las células inmunes. Agentes inmunoterapéuticos que pueden actuar como inhibidores de punto de comprobación inmune útiles en los métodos de la presente invención, incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM-3, LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta. La inhibición de una molécula inhibitoria puede realizarse mediante la inhibición a nivel de ADN, ARN o proteína. En algunas modalidades, un ácido nucleico inhibitorio (*ej.,* un ARNds, ARNsi, o ARNsh), puede utilizarse para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras modalidades, el inhibidor de una señal inhibitoria es un polipéptido por ejemplo, un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibitoria.

Por "en combinación con", no se pretende dar a entender que la terapia o los agentes terapéuticos deben ser administrados al mismo tiempo y/o formulados para administrarse juntos, aunque estos métodos de administración están dentro del alcance descrito en la presente. El inmunomodulador puede administrarse simultáneamente con, antes de, o

posteriormente a, uno o más compuestos de la invención, y opcionalmente una o más terapias o agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos en combinación pueden administrarse en cualquier orden. En general, cada agente será administrado a una dosis y/o en un esquema de tiempo determinado para ese agente. Además, se apreciará que los agentes terapéuticos utilizados en esta combinación pueden administrarse juntos en una única composición o pueden administrarse por separado en diferentes composiciones. En general, se espera que cada uno de los agentes terapéuticos adicionales utilizados en combinación se utilice a niveles que no excedan los niveles en los que se utilizan individualmente. En algunas modalidades, los niveles utilizados en combinación serán más bajos que los utilizados individualmente.

En ciertas modalidades, los compuestos antibacteriales descritos en la presente se administran en combinación con uno o más inmunomoduladores que son inhibidores de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2. Cada inhibidor puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión, o un oligopéptido. Ejemplos de tales inmunomoduladores son conocidos en la técnica.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 seleccionado a partir de MDX-1106, Merck 3475 o CT-011.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es una inmunoadhesina (por ejemplo, una inmunoadhesina que comprende una porción extracelular o de unión a PD-1 de Ll-PD o PD-L2 fusionada a una región constante (por ejemplo, una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina).

En algunas modalidades, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-1 tal como AMP-224.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-1 tal como un anticuerpo anti-PD-Ll.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es un antagonista de unión a anti-PD-Ll elegido a partir de YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, o MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-Ll descrito en WO2007/005874. El anticuerpo YW243.55.S70 es un anti-PD-Ll descrito en WO 2010/077634.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es Nivolumab (Número de Registro CAS: 946414-94-4). Nombres alternativos para nivolumab incluyen MDX-1106, MDX-1106/04, ONO-4538, o BMS-936558. Nivolumab es un anticuerpo monoclonal completamente humano IgG4 que específicamente bloquea PD-1. Nivolumab (clón 5C4) y

otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se divulgann en EE.UU 8,008,449, y WO2006 / 121168.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es un Pembrolizumab de anticuerpo anti-PD-1. Pembrolizumab (también conocido como Lambrolizumab, MK-3475, MK03475, SCH-900475 o KEYTRUDA®; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD-1. Pembrolizumab y otros anticuerpos anti-PD-L1 humanizados se describen en Hamid, O. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134–44, US 8,354,509, WO2009/114335, y WO2013/079174.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es Pidilizumab (CT-011; Cure Tech), un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en WO2009 / 101611.

Otros anticuerpos anti-PD1 útiles como inmunomoduladores para su uso en los métodos descritos en la presente incluyen AMP 514 (Amplimmune), y anticuerpos anti-PD1 descritos en US 8609089, US 2010028330, y/o US 20120114649. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-L1 es MSB0010718C. MSB0010718C (también conocido como A09-246-2; Merck) es un anticuerpo monoclonal que se une a PD-L1.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es MDPL3280A (Genentech / Roche), un anticuerpo monoclonal IgG1 optimizado de Fc humana que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen a PD-L1 se describen en la patente de EE.UU. No: 7.943.743 y Publicación EE.UU. No.: 20120039906. Otros agentes de unión a anti-PD-L1 útiles como inmunomoduladores para métodos de la invención incluyen YW243.55.S70 (véase WO2010 / 077634), MDX-1105 (también conocido como BMS-936559), y agentes de unión a anti-PD-L1 descritos en WO2007/005874.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es AMP-224 (B7-DCIG; Amplimmune; por ejemplo, divulgado en WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble PD-L2 Fc de fusión que bloquea la interacción entre PD1 y B7-H1.

En algunas modalidades, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-LAG-3 tal como BMS-986016. BMS-986016 (también conocido como BMS986016) es un anticuerpo monoclonal que se une a LAG-3. BMS-986016 y otros anticuerpos anti-LAG-3 humanizados se describen en EE.UU 2011/0150892, WO2010/019570, y WO2014/008218.

En ciertas modalidades, las terapias de combinación divulgadas en la presente incluyen un modulador modulador de una molécula coestimulatoria o una molécula inhibitoria, *ej.,* un ligando o receptor co-inhibitorio.

En una modalidad, el modulador coestimulatorio, por ejemplo, agonista, de la molécula coestimulatoria se elige a partir de un agonista (por ejemplo, un anticuerpo agonista o fragmento de unión a antígeno del mismo, o fusión soluble) de ligando OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o CD83.

En otra modalidad, las terapias de combinación descritas en la presente incluyen un inmunomodulador que es una molécula coestimulatoria, *ej.*, un agonista asociado con una señal positiva que incluye un dominio coestimulatorio de CD28, CD27, ICOS y/o GITR.

Agonistas GITR de ejemplo incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos anti-GITR bivalentes), tales como una proteína de fusión GITR descrita en la patente de EE.UU. No: 6,111,090, Patente Europea No.: 090505B1, Patent EE.UU. No.: 8,586,023, Publicación PCT Nos.: El documento WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR se describe, por ejemplo, en la Patente de EE.UU. No: 7,025,962, Patente Europea No.: 1947183B1, Patente EE.UU. No.: 7,812,135, Patent EE.UU. No.: 8,388,967, Patent EE.UU. No.: 8,591,886, Patente Europea No.: EP 1866339, Publicación PCT No.: WO 2011/028683, Publicaciónn PCT No.:WO 2013/039954, Publicación No.: WO2005/007190, Publicación PCT No.: WO 2007/133822, Publicación PCT No.: WO2005/055808, Publicación PCT No.: WO 99/40196, Publicación PCT No.: WO 2001/03720, Publicación PCT No.: WO99/20758, Publicación PCT No.: WO2006/083289, Publicación PCT No.: WO 2005/115451, Patente EE.UU. No.: 7,618,632, y Publicación PCT No.: WO 2011/051726.

En una modalidad, el inmunomodulador utilizado es un ligando soluble (por ejemplo, un CTLA-4-Ig), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a PD-L1, PD-L2 o CTLA4. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 puede administrarse en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab. Anticuerpos anti-CTLA4 de ejemplo incluyen Tremelimumab (lgG2 anticuerpo monoclonal disponible en Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206), y ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS No. 477202-00-9);

En una modalidad, una molécula de anticuerpo anti-PD-1 se administra después del tratamiento con un compuesto de la invención como se describe en la presente.

En otra modalidad, una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 o un fragmento de unión a antígeno de la misma. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En aún otras modalidades, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-TIM-3, o fragmentos de unión a antígeno del mismo. La combinación de anticuerpos citados en la presente puede administrarse por separado, *ej.,* como anticuerpos separados, o enlazados, *ej.,* como una molécula de anticuerpo biespecífico o triespecífico. En una modalidad, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 y un anticuerpo anti-TIM-3 o anti-LAG-3, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas modalidades, la combinación de anticuerpos citados en la presente se usa para tratar un cáncer, *ej.,* un cáncer como se describe en la presente (*ej.,* un tumor sólido). La eficacia de las combinaciones anteriormente mencionadas puede ser probada en modelos animales conocidos en la técnica. Por ejemplo, los modelos animales para probar el efecto sinérgico de anti-PD-1 y anti-LAG-3 se describen, por ejemplo, en Woo, (2012) Cancer Res. 72 (4): 917-27). 72(4):917-27).

Inmunomoduladores de ejemplo que se pueden utilizar en las terapias de combinación incluyen, pero no se limitan a, *ej.,* afutuzumab (disponible en Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimid (CC4047); y citoquinas, *ej.,* IL-21 o IRX-2 (mezcla de citoquinas humanas, que incluyen interleucina 1, interleucina 2, e interferón γ, CAS 951209-71-5, disponible de IRX Therapeutics).

Dosis de ejemplo de tales inmunomoduladores que se pueden utilizar en combinación con los compuestos antibacteriales de la invención incluyen una dosis de molécula de anticuerpo anti-PD-1 de 1 a 10 mg/kg aproximadamente, por ejemplo, 3 mg/kg, y una dosis de un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab de 3 mg/kg aproximadamente.

Ejemplos de modalidades de los métodos de utilización de los compuestos antibacterianos de la invención en combinación con un inmunomodulador incluyen los siguientes:

i. Un método para tratar una infección bacteriana en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto de la Fórmula (I) como se describe en la presente, y un inmunomodulador.

ii. El método de la modalidad i, en donde el inmunomodulador es un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula de punto de comprobación inmune.

iii. El método de cualquiera de las modalidades i y ii, en donde el activador de la molécula coestimuladora es un agonista de uno o más de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1,

LFA-1 (CD11a /CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 y ligando CD83.

iv. El método de cualquiera de las modalidades i-iii anteriores, en donde el inhibidor de la molécula de punto de comprobación inmune se elige a partir de PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y TGFR beta.

v. El método de cualquiera de las modalidades i-iii, en donde el inhibidor de la molécula de punto de comprobación inmune se selecciona a partir de un inhibidor de PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3 o CTLA4, o cualquier combinación de los mismos.

vi. El método de cualquiera de las modalidades i-v, en donde el inhibidor de la molécula de punto de comprobacón inmune es un ligando soluble o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula de punto de comprobación inmune.

vii. El método de cualquiera de las modalidades i-vi, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es de IgG1 o IgG4 (por ejemplo, IgG1 o IgG4 humana).

viii. El método de cualquiera de las modalidades i-vii, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es alterado, por ejemplo, mutado, para aumentar o disminuir uno o más de: unión al receptor Fc, glicosilación de anticuerpos, el número de residuos de cisteína, función de células efectoras, o función de complemento).

ix. El método de cualquiera de las modalidades i-viii, en donde la molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo biespecífica o multiespecífica que tiene una primera especificidad de unión a PD-1 o PD-L1 y una segunda especificidad de unión a TIM-3, LAG-3, o PD-L2.

x. El método de cualquiera de las modalidades i-ix, en donde el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 elegido a partir de Nivolumab, Pembrolizumab o Pidilizumab.

xi. El método de cualquiera de las modalidades i-x, en donde el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-L1 elegido a partir de YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, o MDX-1105.

xii. El método de cualquiera de las modalidades i-x, en donde el inmunomodulador es una molécula de anticuerpo anti-LAG-3.

xiii. El método de la modalidad xii, en donde la molécula de anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016,

xiv. El método de cualquiera de las modalidades i-x, en donde el inmunomodulador es una molécula de anticuerpo anti-PD-1 administrada por inyección (ej., por vía subcutánea

o intravenosa) a una dosis de 1 a 30 mg/kg aproximadamente, ej., 5 a 25 mg/kg aproximadamente,10 a 20 mg/kg aproximadamente, 1 a 5 mg/kg aproximadamente, o 3 mg/kg aproximadamente, ej., una vez a la semana a una vez cada 2, 3 o 4 semanas.

xv. El método de la modalidad xiv, en donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de 10 a 20 mg/kg aproximadamente cada dos semanas.

xvi. El método de la modalidad xv, en donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1 ej., nivolumab, se administra por vía intravenosa a una dosis de 1 a 3 mg/kg aproximadamente ej., 1 mg/kg, 2 mg/kg or 3 mg/kg aproximadamente cada dos semanas.

xvii. El método de la modalidad xv, en donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1 ej., nivolumab, se administra por vía intravenosa a una dosis de 2 mg/kg aproximadamente a intervalos de 3 semanas.

La expresión "cantidad eficaz" del compuesto es aquella cantidad necesaria o suficiente para tratar o prevenir una infección bacteriana y/o una enfermedad o condición descrita en la presente. En un ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto es una cantidad suficiente para tratar la infección bacteriana en un sujeto. En otro ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto es una cantidad suficiente para tratar una infección bacteriana, tal como, pero no limitado a *Pseudomonas aeruginosa* y similares en un sujeto. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como el tamaño y el peso del sujeto, el tipo de enfermedad, o el compuesto particular de la invención. Por ejemplo, la elección del compuesto de la invención puede afectar lo que constituye una "cantidad eficaz". Un experto ordinario en la técnica sería capaz de estudiar los factores contenidos en este documento y hacer la determinación con respecto a la cantidad efectiva de los compuestos de la invención sin experimentación indebida.

El régimen de administración puede afectar o que constituye una cantidad eficaz. El compuesto de la invención puede administrarse al sujeto ya sea antes o después de la aparición de una infección bacteriana. Típicamente, el compuesto se administra a un sujeto diagnosticado con una infección bacteriana y en necesidad de tratamiento para la misma. Además, varias dosis divididas, así como las dosis escalonadas, se pueden administrar diariamente o secuencialmente, o la dosis puede ser infundida continuamente, o puede ser una inyección en bolo. Además, las dosificaciones de los compuesto (s) de la invención se pueden aumentar o disminuir proporcionalmente como se indica por las exigencias de la situación terapéutica o profiláctica. Típicamente, el compuesto de la invención se administra durante un curso de al menos 5 días, más comúnmente al menos 7 días o al menos 10 días o

al menos 14 días.

Los compuestos de la invención pueden usarse en el tratamiento de estados, trastornos o enfermedades como se describe en el presente documento, o para la fabricación de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento de estas enfermedades. La invención proporciona métodos de uso de los compuestos de la presente invención en el tratamiento de estas enfermedades o preparaciones farmacéuticas que tienen los compuestos de la presente invención para el tratamiento de estas enfermedades.

El término "composición farmacéutica" incluye preparaciones adecuadas para la administración a mamíferos, *ej.,* seres humanos. Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos, a mamíferos, ej., humanos, se pueden administrar per se o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, de 0,1 a 99,5% (más preferiblemente, de 0.5 a 90%) de ingrediente activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La frase "vehículo farmacéuticamente aceptable" es reconocida en la técnica e incluye un material farmacéuticamente aceptable, composición o vehículo, adecuado para la administración de compuestos de la presente invención a mamíferos. Los vehículos incluyen relleno líquido o sólido, diluyente, excipiente, solvente o material encapsulante, implicados en llevar o transportar el presente agente desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja y aceite de maíz; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones amortiguadas por fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en las formulaciones farmacéuticas. En algunas modalidades, un vehículo farmacéuticamente aceptable se esteriliza antes de la combinación con el compuesto de la invención.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica de la invención comprende un compuesto de cualquiera de las modalidades numeradas y al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas modalidades, la composición farmacéutica de la invención comprende un compuesto de cualquiera de las modalidades numeradas y al menos dos vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

Ejemplos de antooxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, hidrocloruro de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, α-tocoferol, y similares, y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las formulaciones de la presente invención incluyen las adecuadas para administración oral, nasal, por inhalación, tópica, transdérmica, bucal, sublingual, rectal, vaginal y/o parenteral. Típicamente, los compuestos de la invención se administran por vía intravenosa, en forma de una solución que es a menudo isotónica, tal como una solución salina o solución de glucosa. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una única forma de dosificación será generalmente la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente, de 100% aproximadamente, esta cantidad variará de 1% a 99% aproximadamente de ingrediente activo, preferiblemente de 5% a 70% aproximadamente, más preferiblemente de 10% a 30% aproximadamente.

Métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en asociación un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo uniforme e íntimamente en asociación un compuesto de la presente invención con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dando

forma al producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, grageas, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base aromatizada, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite-en-agua o agua-en-aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como lavados bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como un ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: agentes de relleno o de carga, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; humectantes, tales como glicerol; agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; agentes retardantes de solución, tales como parafina; aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos, y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes amortiguadores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas blandas y duras de gelatina usando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas pueden prepararse usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, glicolato sódico de almidón o carboximetilcelulosa de sodio entrecruzada), agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden hacer moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido

con un diluyente líquido inerte.

Las tabletas, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden opcionalmente estar marcadas o preparadas con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que liberen el ingrediente activo sólo, o preferentemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de incorporación de composiciones que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma micro-encapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Formas de dosificación líquidas para la administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino, y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar

y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que puede prepararse mezclando uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes adecuados no irritantes o vehículos que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen tales vehículos como se conocen en la técnica por ser apropiados.

Formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de este invento incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. El compuesto activo puede mezclarse bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquiera de los preservativos, buffers, o propelentes que puedan requerirse.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de este invento, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, glicoles de polietileno, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

Polvos y aerosoles pueden contener, además de un compuesto de este invento, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja agregada de proporcionar liberación controlada de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Tales formas de dosificación pueden prepararse al disolver o dispersar el compuesto en el medio apropiado. También pueden utilizarse mejoradores de absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La tasa de tal flujo puede controlarse mediante cualquiera proporcionando una membrana controladora de tasa o dispersar el compuesto activo en una matriz o gel polimérico.

También se contemplan dentro del alcance de este invento las formulaciones

oftalmicas, ungüentos oculares, polvos, soluciones y similares.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención apropiadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones farmacéuticamente aceptables, estériles, isotónicas, acuosas o no acuosas, o polvos estériles que pueden ser reconstituidos en soluciones o dispersiones estériles inyectables justo antes de utilizar, las cuales pueden contener antioxidantes, buffers, bacteriostatos, solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes de suspensión o espesantes.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la descripción incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada puede mantenerse por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de particula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede ser asegurada mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido sórbico de fenol, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como, monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr por el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La tasa de absorción del fármaco depende entonces de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas de depósito inyectables se elaboran formando matrices microencapsuladas de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, la tasa de liberación del fármaco puede ser controlada. Ejemplos de otros

polímeros biodegradables incluyen poli (ortoésteres) y poli (anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica, o por vía rectal. Éstas, por supuesto, se dan en formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, etc., administración por inyección, infusión o inhalación; tópica por loción o pomada, y rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración intravenosa.

Como se utilizan en la presente, las expresiones “administración parenteral” y “administrada de manera parenteral” se refieren a modos de administración distintos de administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal, epidural e intraesternal.

Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente" como se utiliza aquí significa la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entra en el sistema del paciente y, por lo tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Estos compuestos se pueden administrar a seres humanos y otros animales para terapia por cualquier vía de administración adecuada, incluyendo por vía oral, por vía nasal, por ejemplo, por un aerosol, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, tal como mediante polvos, ungüentos o gotas, incluyendo bucalmente y sublingualmente.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que pueden usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales conocidos por los de expertos en la técnica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, composición, y modo de administración, sin ser tóxica para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención, o el éster, sal o amida del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, sexo, peso, condición, salud general e historia médica anterior del paciente a tratar, y factores de este tipo bien conocidos en las técnicas médicas.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que es la dosis eficaz para producir un efecto terapéutico. Tal dosis eficaz dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis intravenosas y subcutáneas de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utilizan para los efectos antibacterianos indicados, variarán de 5 a 150 mg aproximadamente por kilogramo de peso corporal por día, más preferiblemente de aproximadamente 15 a aproximadamente 115 mg por kg por día, y aún más preferiblemente de 20 a 85 mg por kg aproximadamente por día. Una cantidad eficaz es aquella cantidad que trata una infección bacteriana.

Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo puede administrarse como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas separadamente a intervalos apropiados a lo largo del día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias o como infusión continua.

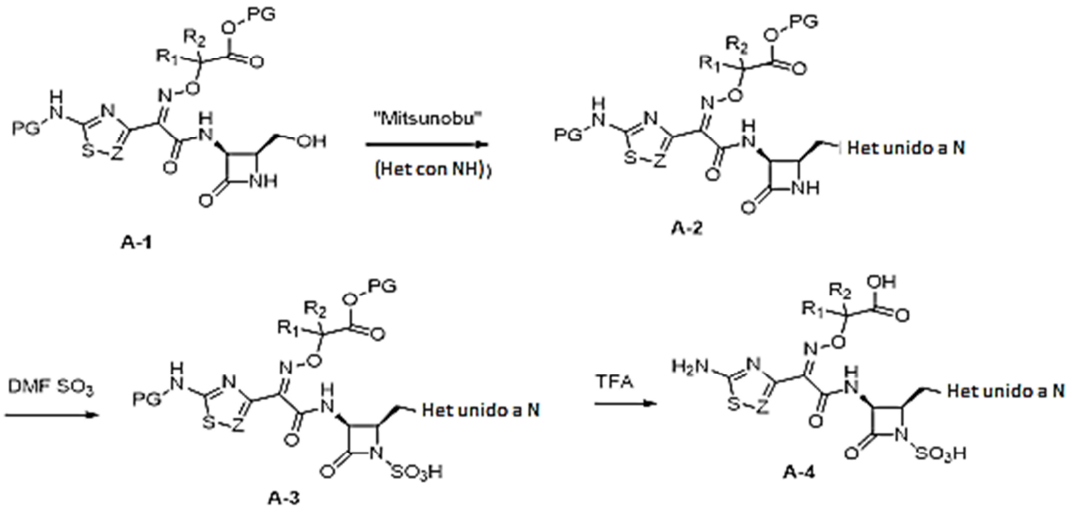
Mientras que es posible que un compuesto de la presente invención se administre solo, es preferible administrar el compuesto como una composición farmacéutica.

Los compuestos tal como se definen en las realizaciones pueden sintetizarse mediante las siguientes rutas sintéticas generales, ejemplos especificos de las mismas se describen en detalle en los ejemplos.

Esquemas Sintéticos Generales

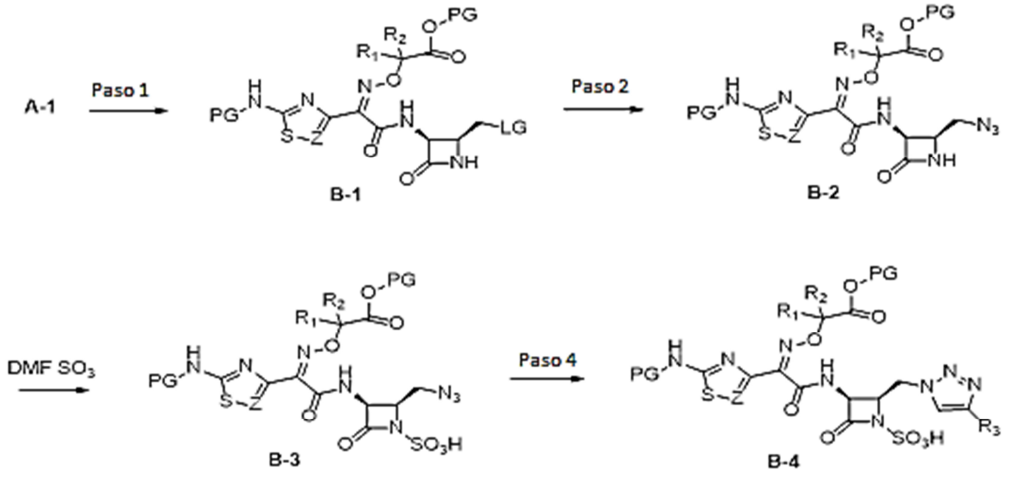
Un método para la síntesis de compuestos con la Fórmula (I) se describe en el **Esquema A.** Un alcohol **A-1** puede ser convertido en **A-2** siguiendo el protocolo "Mitsunobu", siempre que el heterociclo sea suficientemente ácido para engancharse en una reacción de Misunobu. La sulfonilación de **A-2** proporciona **A-3**, que puede desprotegerse con TFA o ácido fórmico para producir **A-4.**

Esquema A



Se puede lllegar a los análogos 1,2,3 triazol 1 unidos del intermediaro A-3 como se representa en el **esquema B.** El alcohol en **A-1** se convierte en un grupo saliente y el grupo saliente se sustituye por azida para proporcionar **B-2,** que puede ser sulfonilado y se hace reaccionar con un alquino bajo condiciones de química "clic" según el método de Sharpless, para proporcionar **B-4.** Alternativamente, "química clic " se puede realizar con **B-2,** antes de sulfonilación.

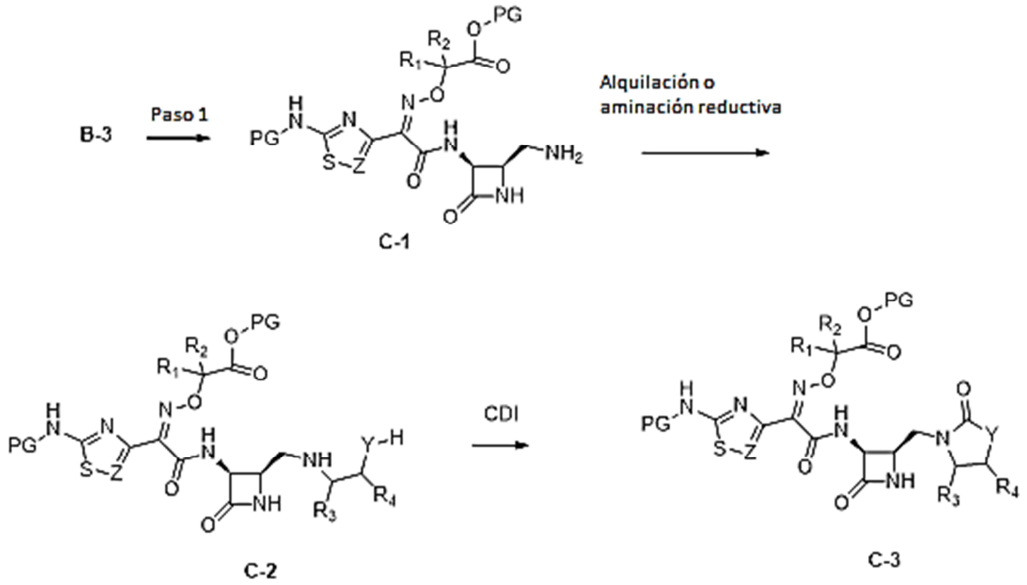
Esquema B



Intermediarios heterocíclicos **A-2** también podrían obtenerse como se describe en **el Esquema C,** mediante la alquilación de una amina tal como **C-1.** Reactivos de alquilación adecuados incluyen haluros de alquilo o epóxidos. La alquilación de **C-1** también podría

llevarse a cabo por aminación reductora con un aldehído apropiadamente funcionalizado y protegido. La ciclación de **C-2** podría efectuarse utilizando un agente de carbonilación como CDI. Ejemplos del grupo Y en estos compuestos incluyen oxígeno o NR^5, por ejemplo, NH.

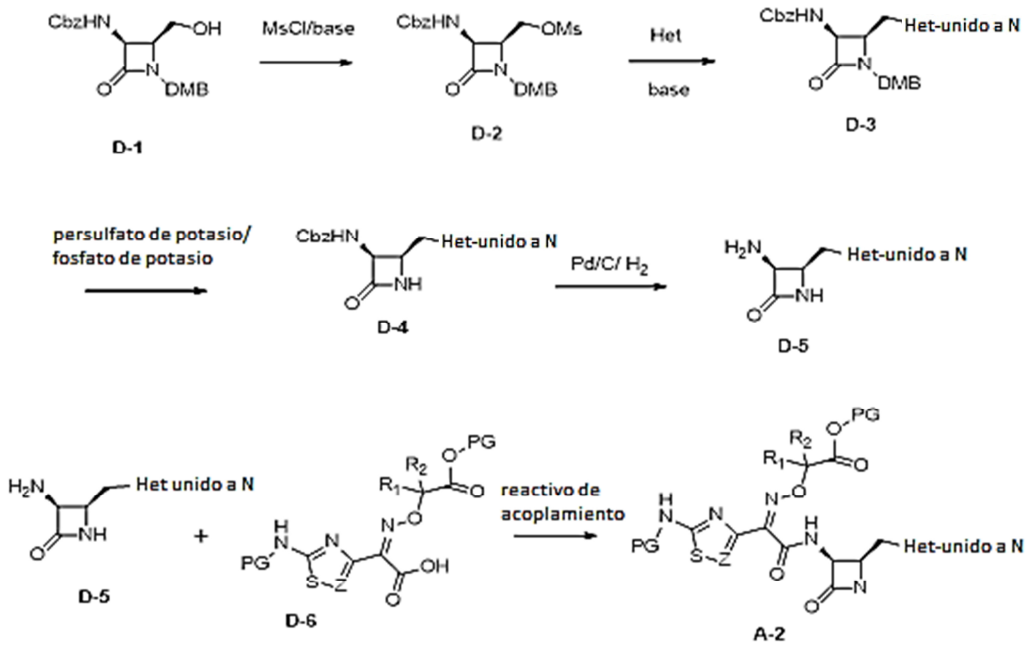
Esquema C



Las aminas funcionalizadas **C-2** se obtuvieron de forma alternativa a partir de **B-1** mediante alquilación con una amina funcionalizada. Un heterociclo de lactama puede obtenerse de manera análoga mediante la alquilación de **C-1** con ésteres carboxílicos bromados, seguido por la ciclación catalizada de base.

Un heterociclo puede ser introducido para proporcionar el intermediario **A-2,** mediante la sustitución de un grupo saliente en un intermediario de azetidinona apropiadamente protegido. Grupos de protección adecuados incluyen Cbz para la amina y DMB para la azetidinona. La desprotección del grupo Cbz seguido por acilación con ácidos apropiadamente funcionalizados y protegidos **D-6** proporcionó **A-2,** como se indicó en **el Esquema D.**

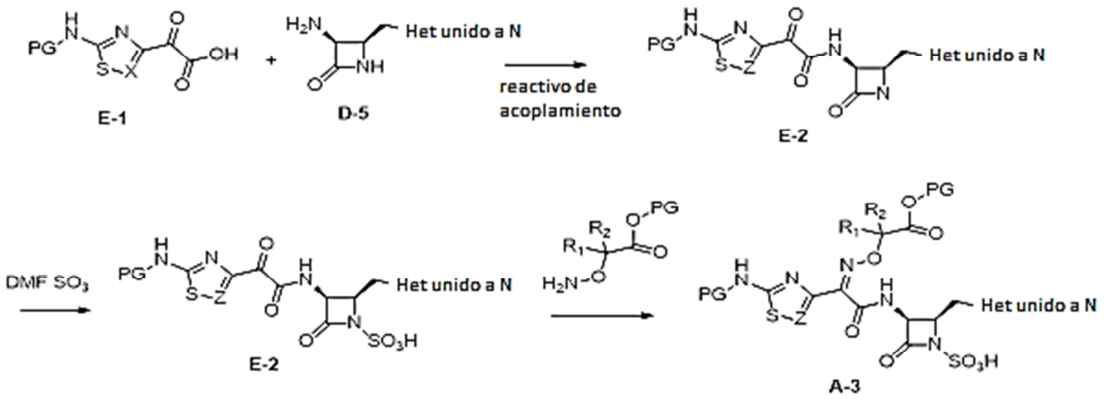
Esquema-D



Intermediarios protegidos tales como **D-1** también se utilizaron para la introducción del heterociclo en condiciones de Mitsunobu, como se indica en el **Esquema A. D-1** también se convirtió en la azida correspondiente, que se utilizó para "químicaclic" para introducir 1,2,3 triazoles 1 unidos siguiendo una secuencia similar como se indica en **el Esquema B. D-1** también puede utilizarse para producir los derivados de amina funcionalizados que pueden ser convertidos en heterociclos, como se describe en **el Esquema C.**

Los intermediarios del tipo **A-3** también pueden ensamblarse por la secuencia que se indica en **el Esquema E,** mediante lo cual la fracción de oxima se introduce después de la etapa de acoplamiento.

Esquema-E



Los compuestos de la Fórmula (I) se preparan a partir de compuestos comúnmente disponibles utilizando estos esquemas y procedimientos generales conocidos por los expertos en la técnica junto con los métodos y ejemplos proporcionados en la presente.

EJEMPLOS

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, los cuales no debe interpretarse como limitantes adicionales. Se aceptan los ensayos utilizados a lo largo de los Ejemplos. La demostración de eficacia en estos ensayos es predictiva de la eficacia en los sujetos.

Condiciones Generales

Los espectros de masas se adquirieron en sistemas LC-MS, SFC-EM, o GC-MS usando electro spray, métodos de ionización química y por impacto de electronesde una gama de instrumentos de las siguientes configuraciones: El sistema Waters ACQUITY UPLC y equipado con un sistema ZQ 2000 o SQD MS donde (M+1) se refiere al ion molecular protonado de las especies químicas, (M+) se refiere al catión de amonio cuaternario no protonado, (M+Na) se refiere al ion incorporado de sodio y (M-1) se refiere al ion molecular desprotonado de las especies químicas.

Los espectros de RMN corrieron sobre espectrometros RMN Bruker AVANCE 500MHz o Varian 400MHz utilizando ICON-RMN, bajo control de programa TopSpin. Los espectros se midieron a 298 K, a menos que se indique lo contrario, y se hizo referencia con relación a la resonancia del disolvente.

Instrumentación

Métodos MS: El uso de sistemas de HPLC Agilent 1100 con un Espectrómetro de Masas Agilent 6110

Método 2m_acídico:

Columna	Kinetex C18 50 x 2.1 mm, 2.6 µm
Temperatura de Columna	50° C
Eluyentes	A: H_2O, B: acetonitrilo, ambos conteniendo TFA al 0.1%
Tasa de Flujo	1.2 mL/min
Gradiente	2% a 88% B en 1.30 min, 0.15 min 95% B

Método 2m_acídico_polar:

Columna	Kinetex C18 50 x 2.1 mm, 2.6 µm
Temperatura de Columna	50° C
Eluyentes	A: H_2O, B: acetonitrilo, ambos conteniendo TFA al 0.1%
Tasa de Flujo	1.2 mL/min
Gradiente	1% a 30% B en 1.30 min, 0.15 min 98% B

Abreviaturas:

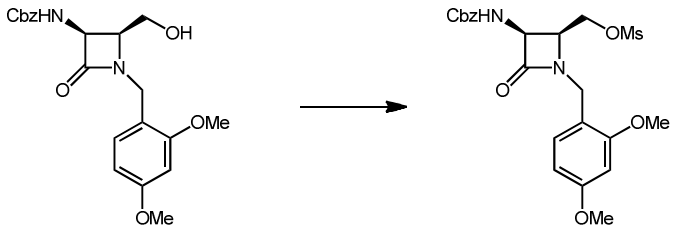
ACN	acetonitrilo
aq	acuoso
app	aparente
ATP	adenosina 5'-trifosfato
BINAP	2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo racémico
Boc	carboxilo de butilo terciario
br	amplio
brs	singulete amplio
BSA	albúmina de suero bovino
CDI	1,1′-carbonildiimidazol
d	doblete
dd	doblete de dobletes
DCM	diclorometano
DCE	1,2-dicloroetano

DIAD	diisopropilazodicarboxilato
DIPEA	diisopropiletilamina
DME	1,4-dimetoxietano
DMF	*N*,*N*-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfoxido
EDTA	ácido etilendiamina tetraacético
ESI	ionización por electroatomización
EtOAc	acetato de etilo
g	gramo
h	hora(s)
HATU	3-oxido-hexafluorofosfato de 1-[bis (dimetilamino)metileno]-1*H*-1,2,3-triazolo [4,5-b] piridinio
HBTU	(1-)3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-benzotriazolio-hexafluorofosfato
HCl	ácico clorhidrico
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
LCMS	cromatografía líquida y espectrometria de masas
m	multiplete
m-CPBA	ácido 3-cloroperbenzoico
MeOH	metanol
MS	espectrometria de masas
mg	miligramo
min	minutos
ml	mililitro
mmol	milimol
m/z	relación masa a carga
NMR	resonancia magnética nuclear
p	pentaplete
$PdCl_2(dppf)\text{-}CH_2Cl_2$	Complejo 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio(II) dicloruro de diclorometano
PPh_3	trifenilfosfina
ppm	partes por millón
PyBOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio

q	cuarteto
rac	racemico
rt	tempratur ambiente
R_t	tiempo de retención
s	singulete
satd	saturado
t	tripleta
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
TBME	Éter Metil terc-butílico
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
Tris·HCl	hidrocloruro de aminotris(hidroximetil)metano

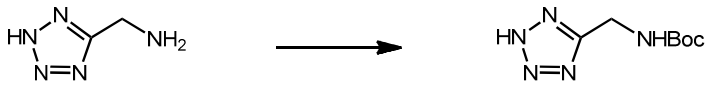
<u>Preparación de Intermediarios</u>

Intermediario A: Metanosulfonato de *((2S, 3S)*-3-(((benciloxi) carbonil) amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metilo.



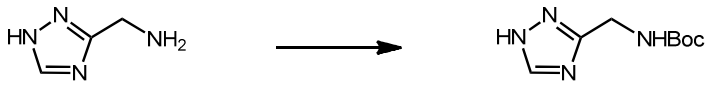
A una solución de *((2S, 3S)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencil o (5.37 g, 13.41 mmol) y TEA (3.72 ml, 26.8 mmol) en DCM a 0° C se añadió MsCl (1.15 mL, 14.75 mmol). Después de agitar a 0° C 1 h, esto se diluyó con agua/DCM y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo fue recolectado en tolueno y concentrado (2x), proporcionando el compuesto del título como un sólido blanco. Se utilizó como tal en reacciones posteriores. LCMS: R_t = 0.86 min, m/z = 479.2 (M+1) Método 2m_acidico.

Intermediario B: ((2H-tetrazol-5-il) metil) carbamato de *terc*-butilo.



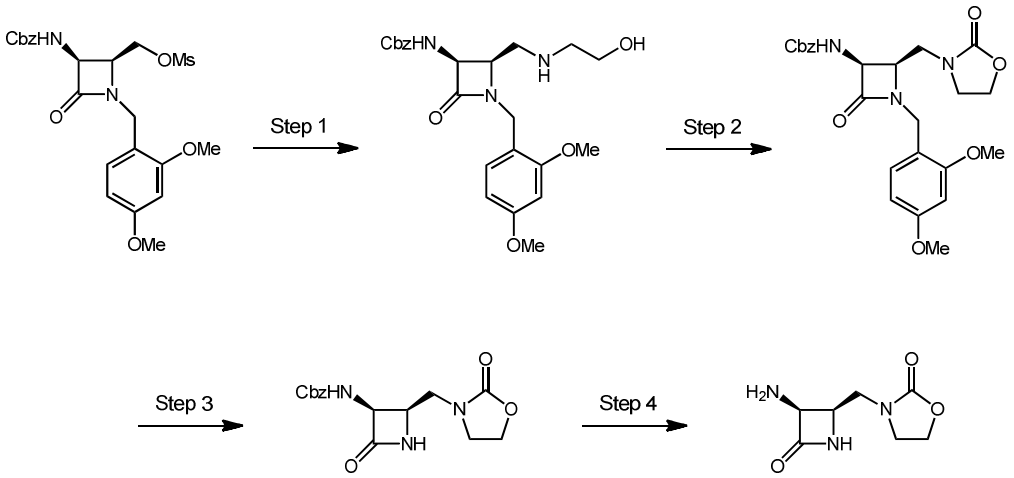
A un matraz cargado con (2H-tetrazol-5-il) metilamina (1.67 g, 16.85 mmol), anhídrido Boc (3.86, 17.70 mmol) y agua (16.85 ml) se añadió NaOH (4 N, 4.42 ml, 17.70 mmol) . La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h luego se enfrió a 0° C, tras lo cual se añadió HCl (1N) hasta pH = 4-5. El precipitado se recolectó mediante filtración y las aguas madre se enfriaron a 0° C y se acidificaron con HCl (1 N) hasta pH = 4-5. Más del precipitado se recolectó y se combinó con el primer lote, lavando el lote con heptano para proporcionar el compuesto del título (2.74 g, 82%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.38 min, m/z = 200.2 (M+1) Método 2m_acidico.

Intermediario C: ((1H-1,2,4-triazol-3-il)metil)carbamato de terc-butilo.



A una solución de hidrocloruro de 2H-[1,2,4] triazol-3-il-metilamina (583 mg, 4.33 mmol) y Boc-anhídrido (993 mg, 4.55 mmol) en agua (5.78 ml) se añadió NaOH (4N, 1.137 ml, 4.55 mmol). Después de agitar durante 48 horas el precipitado blanco se recolectó mediante filtración. El sólido fue suspendido en heptano, sonicado luego filtrado, lavando la torta de la filtración con heptano. LCMS: R_t = 0.41 min, m/z = 199.2 (M+1) Método 2m_acidico.

Intermediario D: 3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil) oxazolidin-2-ona.



Paso 1: **((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-(((2-hidroxietil) amino) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.** A una solución de metanosulfonato de ((2*S,* 3*S)*-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metilo (6.43 g, 13.4 mmol) en acetonitrilo (44.8 ml) se añadió etanolamina (8.13 ml, 134 mmol) seguido por DIPEA (7.0 ml, 40 mmol). La solución se calentó a 80° C durante 20 h, tras lo cual se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (4.47 g, 75%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.60 min, m/z = 444.2 (M+1).

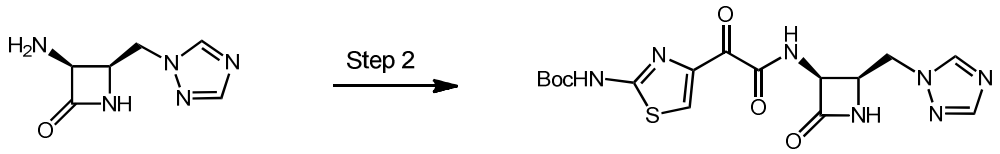
Paso 2: **((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)carbamato de bencilo.** A una solución de ((2*R,* 3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-(((2-hidroxietil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (4.47 g, 10.08 mmol) en cloroformo (50 ml) se añadió CDI (4.90 g, 30.2 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), proporcionando el compuesto del título (3.84 g, 81%) como una espuma blanca. LCMS: R_t = 0.76 min, m/z = 470.1 (M+1).

Paso 3: **((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)carbamato de bencilo.** Preparado de una manera análoga al del ejemplo 4, etapa 2 utilizando *(S* (3, 4 *R)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il) metil) azetidin-3-il)carbamato de bencilo (3.84 g, 8.18 mmol), $K_2S_2O_8$ (3.10 g, 11.5 mmol) y K_2HPO_4 (1.852 g, 10.6 mmol) en ACN:agua (2:1, 136 mL) mientras se calienta durante 40 min a 90° C. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (663 g, 2.45 mmol) y K_2HPO_4 (370 mg, 2.13 mmol) y se calentó durante otras 3 horas. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (332 mg, 1.23 mmol) y K_2HPO_4 (185 mg, 1.06 mmol), y se calentó durante 2 h adicionales, tras lo cual se concentró al vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se diluyó con salmuera/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, luego MeOH-DCM al 0-100%, 10%), proporcionando el compuesto del título (1.61 g, 62%) como una espuma blanca. LCMS: R_t = 0.51 min, m/z = 320.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4: **3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)oxazolidin-2-ona.** Preparado de una manera análoga al el ejemplo 4, etapa 3 utilizando ((3*S,* 4*R)*-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il) metil) azetidin-3-il) carbamato de bencilo (96 mg, 0.30 mmol) y Pd/C 10% tipo Degussa 101 (10%, 64 mg) en EtOH: MeOH (4: 1, 1.5 ml) durante 1 h. El residuo

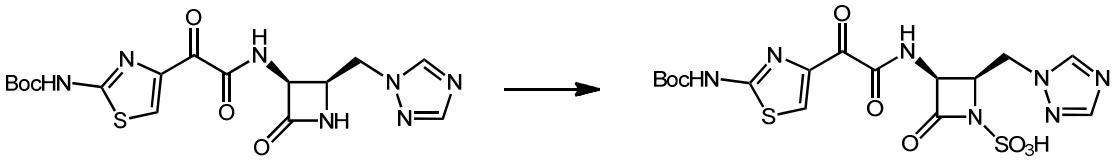
crudo se utilizó como tal en la etapa siguiente. LCMS: R_t = 0.11 min, m/z = 186.0 (M+1) Método 2m_acidico.

IntermediarioE:(4-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoacetil)tiazol-2-il)carbamato *de terc*-butilo.



A una suspensión de ácido 2-(2-*((terc-butoxicarbonil)* amino) tiazol-4-il)-2-oxoacético (2.72 g, 9.99 mmol) y HATU (3.80, 10.0 mmol) en DCM: DMF (3: 1, 33.3 ml) a 0° C se añadió DIPEA (2.91 ml, 16.7 mmol). Una solución de (3*S,* 4 *R)*-4-((1 *H*-1,2,4-triazol-1-il) metil)-3-aminoazetidin-2-ona (1.39 g, 8.33 mmol) en DCM: DMF (1:1, 32 ml) se añadió seguido por un lavado con DMF (3 ml). Después de agitar durante 48 h, la solución oscura se diluyó con EtOAc (150 mL salmuera (140 mL) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera (70 mL). La capa de salmuera fue extraída de Nuevo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), proporcionando el compuesto del título (2.38 g, 68%) como un sólido de color rojo. LCMS: R_t = 0.59 min, m/z = 422.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□□□□□□□□□□,□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 9.3 Hz, 1H), 8.52 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 5.28 (ddd, *J* = 9.3, 5.2, 1.5 Hz, 1H), 4.45 (dd, *J* = 14.2, 5.3 Hz, 1H), 4.36 (dd, *J* = 14.1, 7.6 Hz, 1H), 4.18 (dt, *J* = 7.6, 5.3 Hz, 1H), 1.47 (s, 9H).

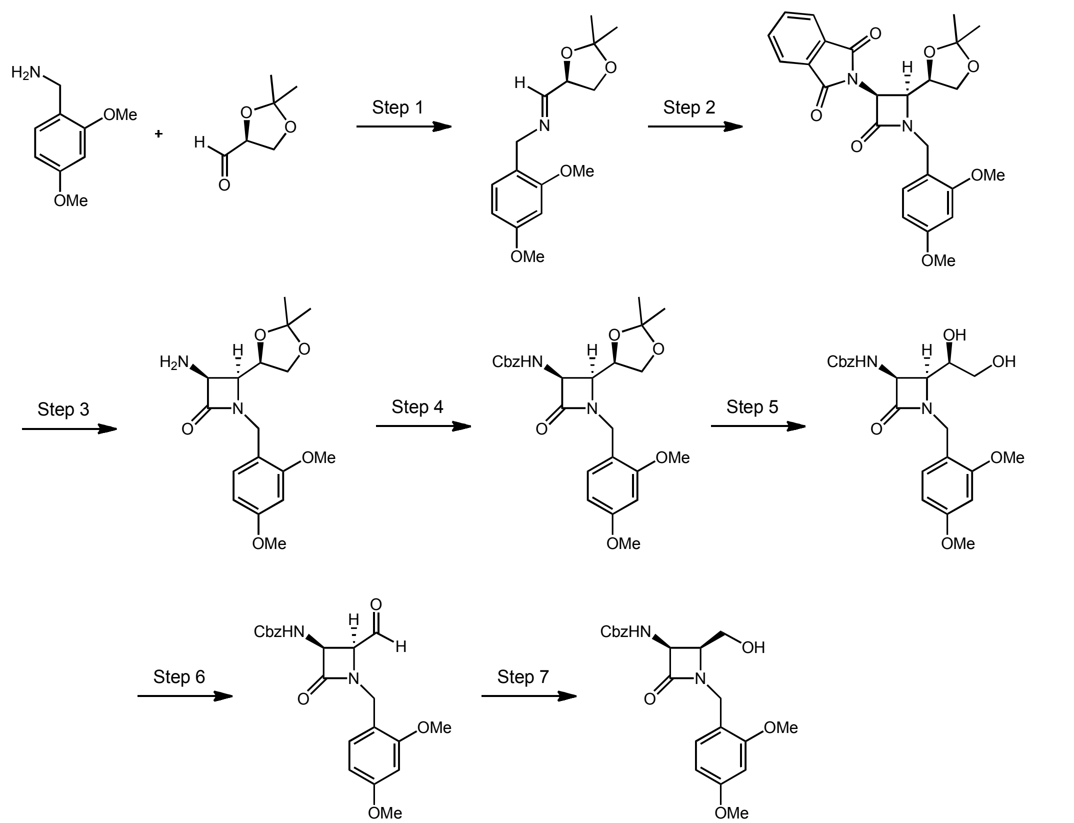
Intermediario F: ácido (2 *R*,3 *S*)-2-((1 *H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-(2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoacetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.



A una solución de (4-(2-(((2 *R*,3 *S*)-2-((1 *H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoacetil)tiazol-2-il)carbamato de *terc*-butilo (200 mg, 0.475 mmol) en DMF

(4.75 ml) a 0° C se añadió SO_3 •DMF (367 mg, 2.40 mmol). Después de 16 horas de agitación se concentró al vacío y se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 0-50%), proporcionando el compuesto del título (110 mg, 46%) como un sólido de color amarillo pálido. LCMS: R_t = 0.54 min, m/z = 501.9 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□□□□□□□□s□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 9.2 Hz, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 5.25 (dd, *J* = 9.1, 5.4 Hz, 1H), 4.75 (dd, *J* = 14.3, 4.9 Hz, 1H), 4.61 (dd, *J* = 14.4, 7.6 Hz, 1H), 4.43 (dt, *J* = 7.6, 5.2 Hz, 1H), 1.49 (s, 9H).

Intermediario G: ((*2S,3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo



<u>Paso 1:</u> *(R,E)*-1-(2,4-dimetoxifenil)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metileno)metanamina. Preparado de acuerdo con el procedimiento descrito por Hubschwerlen, C. y Schmid, G. *Helv. Chim. Acta* **1983,** *66,* 2206-2209 con la adición de $MgSO_4$. A una suspensión de (S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carbaldehído (Carbosynth LLC, 346 g, 43% en DCM, 1.143 mol) y $MgSO_4$ (278 g) en DCM (1.5 L) a 0° C se añadió 2,4-dimetoxibencilamina (193 g, 1.154 mol) durante 20 min. Después de agitar a temperatura

ambiente durante 2 horas se filtró, lavando la torta del filtro con DCM (2 x 250 ml). Las aguas madre se utilizaron directamente en el paso 2.

Paso 2: **2-((*2S*,*3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-4-oxoazetidin-3-il)isoindolina-1,3-diona.** Preparado de acuerdo con el procedimiento descrito por Hubschwerlen, C. y Schmid, G. *Helv. Chim. Acta* **1983,** *66,* 2206-2209. Después de la adición de TEA (322 ml, 2.31 mol) a las aguas madre crudas de la etapa 1, se enfriaron a 0° C seguido por la adición de una solución de cloruro de 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)acetilo (284.3 g, 1.272 mol) en DCM (1 L) durante un período de 30 min. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante un período adicional de 16 h, tras lo cual se lavó con agua (2 x 1 L), $NaHCO_3$ saturado (aq, 1 L), salmuera (1 L), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título crudo (631 g, se presume que fue cuantitativo) como un sólido amarillo pálido. El ^{1}H RMN de una muestra purificada (EtOAc-heptano, 40-60%) fue una correspondencia idéntica a los datos reportados en la literatura.

Paso 3: **(*3S*,*4S*)-3-amino-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)azetidin-2-ona.** A una solución de 2-((*2S*, *3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((*R*)-2,2-dimetill-1,3-dioxolan-4-il)-4-oxoazetidin-3-il)isoindolina-1,3-diona crudo (631 g, 1.143 mol, conversión cuantitativa asumida a partir de la etapa 2) en EtOH (8.2 L) se añadió hidrato de hidrazina (235 ml, 50-60%, ~ 4 mol) durante 20 min. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 3 h, se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, se lavó con EtOH y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en EtOAc (4 L), se filtró y se lavó con agua (2 x 1 L).

Paso 4: **((*2S*,*3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo.** A la solución orgánica cruda de la etapa 3 (EtOAc, 4 L) enfriada a 0° C Se añadió por goteo $NaHCO_3$ saturado (aq, 2.05 L), seguido de cloroformiato de bencilo (205 ml, 1,43 mol), durante 1 h. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se trató con MeOH (2 L), se filtró y se lavó con MeOH (2 x 200 ml) para proporcionar el compuesto del título puro (155 g) como un sólido blanco. Las aguas madre se enfriaron a-20° C durante 12 horas y el precipitado resultante se recolecto mediante filtración, proporcionando el compuesto del título adicional (90 g) para un rendimiento combinado de 45% en las 4 etapas. LCMS: m/z = 471.1 (M+1) .

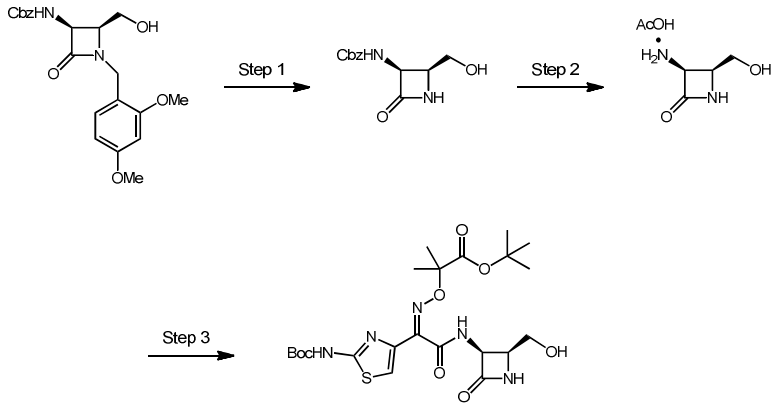
Paso 5: **((*2S*,*3S*)-2-((*R*)-1,2-dihidroxietil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo.** A una solución de*((2S, 3S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-*((R)*-2,2-

dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (267 g, 0.567 mol) en THF (3 L) se añadió una solución de $TsOH•H_2O$ (43.6 g, 0.229 mol) en agua (0.75 L). La bicapa se calentó a 70° C durante 16 horas, luego se enfrió a temperatura ambiente, se neutralizó a pH = 7 con $NaHCO_3$ saturado (aq) y se concentrado al vacío. La mezcla resultante se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (240 g) como un sólido amarillo. LCMS: m/z = 431.1 (M+1).

<u>**Paso 6:**</u> **((*2S*,*3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-formil-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo.** A una solución de *((2S, 3S)*-2-*((R)*-1,2-dihidroxietil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (240 g, 0,557 mol) en EtOAc (4.5 L) se añadió una solución de peryodato de sodio (132 g, 0.617 mol) en agua (1.125 L) y la bicapa se calentó a 50° C durante 2 horas, tras lo cual se enfrió a temperatura ambiente y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (500 mL) y las capas organicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (218 g, 98%) como un sólido amarillo palido. LCMS: m/z = 399.0 (M+1). ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□□□□□□□□□□*J* = 3.2 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.39-7.23 (m, 5H), 7.16 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.47 (dd, *J* = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.00-4.96 (m, 2H), 4.90 (dd, *J* = 8.5, 5.8 Hz, 1H), 4.38 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H), 4.29 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H), 4.05 (dd, *J* = 5.9, 3.3 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.70 (s, 3H).

<u>**Paso 7:**</u> **((*2S*,*3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo** A una solución de *((2S, 3S)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-formil-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (218 g, 0.546 mol) en una mezcla de DCM: MeOH (4: 1, 2.25 L) a 0° C se añadió borohidruro de sodio (41.3 g, 1.09 mol), en porciones. La mezcla resultante se agitó a 0° C durante 2 horas, tras lo cual se inactivó con agua fría (1 L) durante 30 minutos y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 200 mL) y las capas organicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (208 g, 95%) como un sólido blancuzco. LCMS: m/z = 401.2 (M+1); ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) □□ □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 9.6 Hz, 1H), 5.18-5.08 (m, 3H), 4.45 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.76-3.72 (m, 1H), 3.63-3.52 (m, 2H), 1.87 (dd, *J* = 9.6, 4.0 Hz, 1H).

Intermediario H: 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2S*,*3S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo



<u>Paso 1:</u> ((*2S*,*3S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. Preparado de acuerdo con Mastalerz *Chem.* 1988, 31, 1190. A una solución del intermediario G (208 g, 0.529 mol) en ACN (4 L) se añadió persulfato de potasio (243 g, 0.899 mol) seguido por una solución de fosfato de dipotasio (147.4 g, 0.846 mol) en agua (2 L): La mezcla resultante se calentó a 90° C durante 4 horas después se enfrió a temeratura ambiente y se concentró al vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se extrajo con EtOAc (1 L, 2x 200 mL) y las capas organicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 50-100%), proporcionando el compuesto del título (86g, 65%) como un sólido de color blanco. Los datos analíticos fueron una correspondencia identica a aquella reportada en la literatura.

<u>Paso 2:</u> acetato de (*2S*,*3S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-amonio. A una solución de *((2S, 3S)*-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (25 g, 100 mmol) en MeOH (350 ml) se añadió en Pd sobre C (10% húmedo, 2.5 g) seguido por AcOH (11.4 ml, 200 mmol). La mezcla se evacuó y se recargó con H_2 (3x), llevando la presión final a 50 psi. Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se descargó, se filtró sobre celite y se concentró al vacío, produciendo el compuesto del título en crudo (22 g) como un aceite de color marrón claro, que se utilizó directamente en el paso 3.

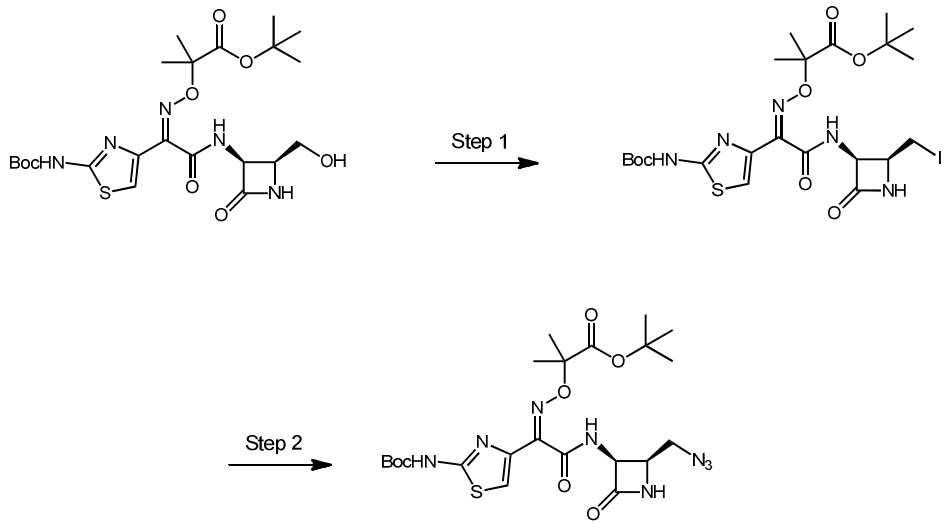
<u>Paso 3:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2S*,*3S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo A una solución de 2-(((2-(benzo[d]tiazol-2-iltio)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de (Z)-*terc*-

butilo (85 g, 116.4 mmol) en DMF (200 mL) a 0° C se añadió una solución de acetato de *(2S, 3S)*-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-amonio (22 g, 100 mmol, se presume cuantitativo a partir del paso 2) en DMF (100 ml) seguido por DIPEA (52.2 ml, 300 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante un período adicional de 16 hora, tras lo cual se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 25-100%), proporcionando el compuesto del título crudo (44 g, 83%) como un sólido de color amarillo pálido. LCMS: m/z = 526.1 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 8.94 (s, 1H), 8.02 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.43 (dd, *J* = 7.4, 4.7 Hz, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.02 (dd, *J* = 8.6, 4.3 Hz, 1H), 3.86 (m, 2H), 1.56 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.44 (9H, s).

Intermediario I: 2-(((2-(benzo[d]tiazol-2-iltio)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de (Z)-*terc*-butilo

A una suspensión de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (50g, 116.4mmol) y disulfuro de 2,2'-dibenzotiazolilo (54.2 g, 163 mmol) en DCM (1 L) se añadió trifenilfosfina (44.3 g, 168.8 mmol) seguido por la adición por goteo de TEA (22.7 ml, 163 mmol). Después de agitar durante 16 horas, la mezcla se concentró y se usó directamente en la preparación del intermediario H. LCMS: m/z = 579.0 (M+1).

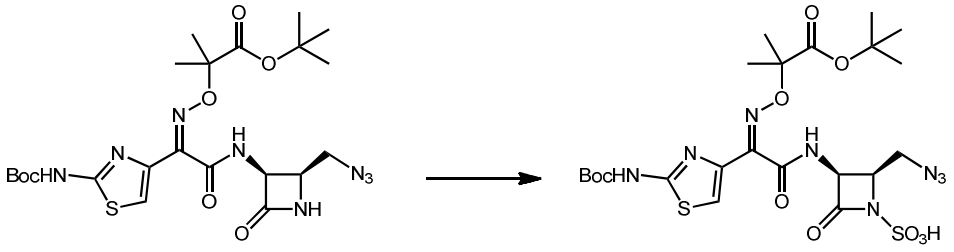
Intermediario J: 2-(((*Z*)-(2-(((*2R,3S*)-2-(azidometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato



<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2S*,*3S*)-2-(iodometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. A una solución del intermediario H (44.0 g, 83.4 mmol), trifenilfosfina (43.7 g, 166.8 mmol) e imidazol (11.4 g, 166.8 mmol) en DCM se añadió yodo (42.3 g, 166.8 mmol) en porciones durante 5 min. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 h se diluyó con DCM (300 ml), se lavó con $Na_2S_2O_3$ saturado (aq, 200 mL), agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc-Hexanos, 25-75%), proporcionando el compuesto del título (33 g, 62%) como un sólido de color blanco. LCMS: m/z = 638.0 (M-1). Los datos de ^{1}H RMN fue una correspondencia idéntica a la descrita en WO2012073138 (A1).

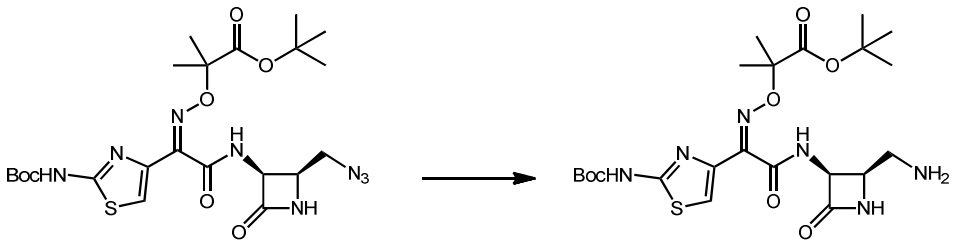
Paso 2: 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(azidometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo A una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2S*, *3S*)-2-(yodometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (24.0 g, 37.6 mmol) en THF (200 ml) a 0° C se añadió TEA (10.5 ml, 75.2 mmol) seguido de azida de tetrabutilamonio (13.9 g, 48.9 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante un período adicional de 16 horas, tras lo cual se vertió en agua helada (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, proporcionando el compuesto (17.0 g, 82%) como un sólido amarillo palidado. LCMS: m/z = 551.0 (M-1). Los datos ^{1}H RMN fueron una correspondencia idéntica a la descrita en WO2012073138 (A1).

Intermediario K: Ácido (*2R*,*3S*)-2-(azidometil)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidino-1-sulfonico



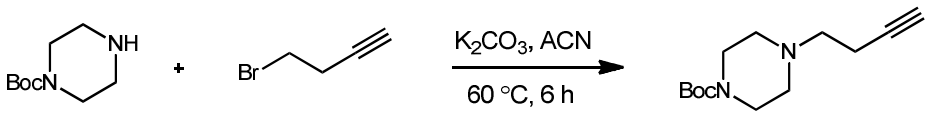
A una solución del intermediario J (500 mg, 0.905 mmol) en DMF (8 mL) se añadió SO_3•DMF. (1.38 g, 9.05 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 4 h, se diluyó con EtOAc (50 ml) y se lavó con agua, seguido por salmuera hasta pH = 7. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, produciendo el compuesto del título (500 mg, 87%) como un sólido de color amarillo claro. LCMS: m/z = 629.85 (M-1) ; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 11.85 (s, 1H), 9.10 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.27 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.37 – 5.13 (m, 1H), 3.83 – 3.54 (m, 2H), 1.46 – 1.41 (m, 4H), 1.43 – 1.35 (m, 7H).

Intermediario L: 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(aminometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo



A una solución del intermediario J (17.0 g, 30.8 mmol) en EtOH (300 mL) se añadió Pd sobre C (10% humedad, 2.0 g) bajo nitrogeno. La mezcla se evacuó y se recargó con H_2 (3x), llevando la presión final a 50 psi. Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, luego se descargó, se filtró sobre celite y se concentró al vacío, proorcionando el compuesto del título crudo (15.5 g) como un sólido amarillo palido. LCMS: m/z = 527.1 (M-1). Los datos de ^{1}H RMN fue una correspondencia idéntica a la descrita en WO2012073138 (A1).

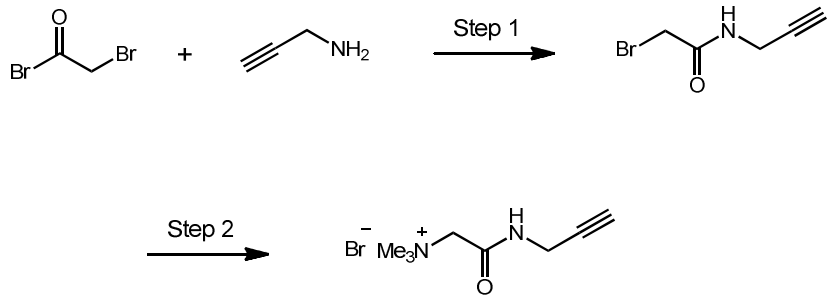
Intermediario M: 4-(but-3-in-1-il) piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo



A una solución de 1-Boc-piperarizina (0.5 g, 2.68 mmol) en acetonitrilo (2.5 mL) se añadió K_2CO_3 (0.55 g, 4.02 mmol) seguido por 4-bromo-2-butino (0.39 g 2.95 mmol). La mezcla se calentó a 60° C durante 6 h, se dejó llegar a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 15 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con

agua, salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (0.55 g, 86%); LCMS: m/z = 239.10 (M+1). Método 2minLowp.

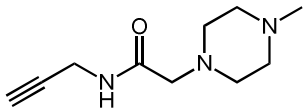
Intermediario N: Bromuro de *N, N, N* trimetil-2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)etanaminio



<u>Paso 1:</u> ***2-bromo-N*-(prop-2-in-1-il)acetamida** A una solución de bromuro de bromoacetilo (2.1 g, 10.34 mmol) y trietilamina (1.5 ml, 10.34 mmol) en DCM (20 ml) se enfrió a 0° C, se añadió por goteo una solución de propargilamina (0.57 g, 10.34 mmol) en DCM (10 ml) durante un período de 5 min, manteniendo la agitación durante todo el proceso. La mezcla se agitó a 0° C durante 2 h, tras lo cual los sólidos se filtraron y el filtrado se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna (sílice malla 60-120, 50% EtOAc: hexano), proporcionando el compuesto del título (1.3 g, 72%) como un sólido blancuzco; LCMS: m/z = 176.2 (M+1); ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) □ 6.68 (brs, 1H), 4.09 (dd, *J* = 5.4, 2.6 Hz, 2H), 3.90 (s, 2H), 2.28 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H)

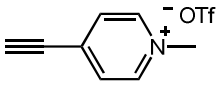
<u>Paso 2:</u> **Bromuro de *N, N, N* trimetil-2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)etanaminio** A una solución de *2-bromo-N*-(prop-2-in-1-il) acetamida (0.6 g, 3.4 mmol) en acetonitrilo (5 mL) se añadió trimetilamina (30% en MeOH, 5 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y se concentró al vacío. El residuo resultante se trituró con éter, produciendo el compuesto del título (780 mg, 97%); LCMS: m/z = 155.1 (M+1); ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) □□□□□□□□□□□□□*J* = 5.3 Hz, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.95 (dd, *J* = 5.4, 2.6 Hz, 2H), 3.23 (s, 9H), 2.09 (s, 1H).

Intermediario O: 2-(4-metilpiperazin-1-il)-*N*-(prop-2-in-1-il) acetamida



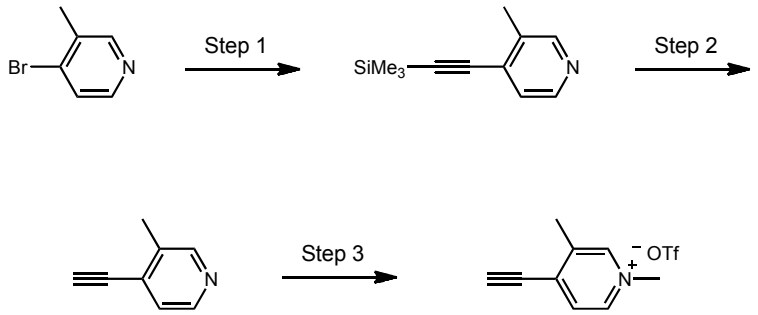
A una solución de *2-bromo-N*-(prop-2-in-1-il) acetamida (0.7 g, 3.98 mmol) en DCM (10 mL) se añadió por goteo piperazina de N-metilo (0.66 mL, 5.96 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, se diluyó con DCM y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo resultante se trituró con éter, produciendo el compuesto del título (0,38 g, 49%); LCMS: m/z = 196.15 (M+1); ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) □8.06 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 3.86 (dd, J = 5.9, 2.5 Hz, 2H), 3.07 (t, J = 2.5 Hz, 1H), 2.91 (s, 2H), 2.47 – 2.25 (m, 8H), 2.15 (s, 3H).

Intermediario P: Trifluorometanosulfonato de 4-etinil-1-metilpiridin-1-io



Preparado de acuerdo con Rubinsztajn *Tetrahedron Lett.* **1992,** *33,* 14, 1821-1824. A una suspensión de clorhidrato de 4-etinilpiridina (500 mg, 3.58 mmol) en DCM (50 mL) a 0° C se añadió lentamente una solución de $NaHCO_3$ (acuosa, saturada, 10 ml). Después de agitar durante 5 min, las capas se separaron y la acuosa se extrajo con DCM (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se concentró al vacío y se sometió a alto vacío durante 10 min. El residuo crudo se disolvió en DCM (10 ml), se enfrió a 0° C y se añadió por goteo triflato de metilo (450 □L, 3.94 mmol). Después de agitar durante 30 min a 0° C, se añadió éter y el precipitado se recolectó y se secó, produciendo el compuesto del título (870 mg, 91%) como un sólido de color marrón claro. Los datos analíticos fue una correspondencia identica a los valores reportados en la literatura.

Intermediario Q: Trifluorometanosulfonato de 4-etinil-1-metilpiridin-1-io



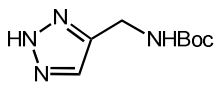
Paso 1: 3-metil-4-((trimetilsilil)etinil)piridina. A una solución de clorhidrato de 4-bromo-3-metil-piridina (5.0 g, 24.0 mmol) en THF (desgasificado, 80 ml) se añadió yoduro de cobre (450 mg, 2.40 mmol) y trietilamina (20.0 ml, 143.9 mmol). Después de la desgasificación durante 15 min, se añadió tetraquis trifenilfosfina de paladio (830 mg, 0.72 mmol) y trimetilsililacetileno (6.10 ml, 43.16 mmol). La mezcla se agitó a 50° C durante 16 h, después se enfrió a temperatura ambiente. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos,10%), para proporcionar el compuesto del título (3.95 g, 87%) como un sólido de color blanco.

Paso 2: 4-etinil-3-metilpiridina. Preparado de acuerdo con el método descrito en WO2013/028590. A una solución de 4-etinil-3-metilpiridina (3.79 g, 20 mmol) en THF (50 ml) se añadió TBAF (1 M en THF, 40 mL, 40 mmo). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 20-40%), proporcionando el compuesto del título (1.70 g, 72%) como un sólido blancuzco.

Paso 3: Trifluorometanosulfonato de 4-etinil-1-metilpiridin-1-io

Preparado de acuerdo con Rubinsztajn *Tetrahedron Lett.* **1992,** *33,* 14, 1821-1824. A una solución de 4-etinil-3-metilpiridina (420 mg, 3.58 mmol) en DCM (10 ml) a 0° C se añadió por goteo triflato de metilo (450 □L, 3.94 mmol). Después de agitar durante 30 min a 0° C, se añadió éter y el precipitado se recolectó y se secó, produciendo el compuesto del título (863 mg, 86%) como un sólido de color marrón claro.

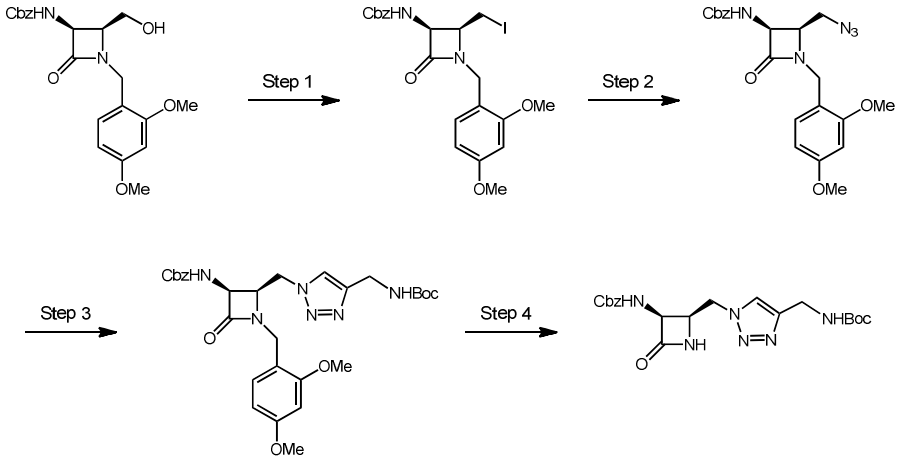
Intermediario R: ((2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)carbamato de terc-butilo.



A una solución de la amina *N-Boc-propargilo* (1.60 g, 10.3 mmol) en una mezcla de DMF:MeOH (4:1, 10 mL) se añadió trimetilsililazida (2.0 ml, 15.2 mmol) y CuI (95 mg, 0.50

mmol). La mezcla resultante se calentó a 100° C durante 16 h, tras lo cual se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (2.0 g, 99%) como un aceite de color amarillo claro; LCMS: m/z = 196.9 (M-1).

Intermediario S:



<u>Paso 1:</u> ((*2S*,*3S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-(yodometil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo A una solución del intermediario G (10 g, 25 mmol), trifenilfosfina (19.6 g, 75 mmol) e imidazol (5.1 g, 75 mmol) en DCM (150 mL) a 0° C se añadió yodo (19 g, 75 mmol) en porciones durante 10 min. Después de agitar a temperatura ambiente durante 4 h, se lavó con solución saturada (aq) de $Na_2S_2O_3$, agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se suspendió en EtOAc (150 mL) y se agitó durante 16 horas tras lo cual se filtró luego se lavó con acetona y MeOH, produciendo el compuesto del título (9.8 g, 77%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 510.8 (M+1).

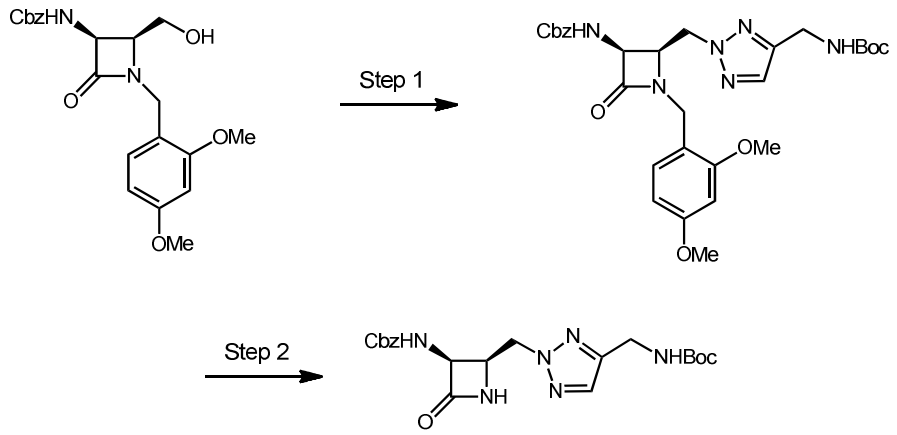
<u>Paso 2:</u> ((*2R*,*3S*)-2-(azidometil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo A una solución de ((2*S*, 3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-(yodometil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (5.00 g, 9.80 mmol) en THF (100 ml) a 0° C se añadió TEA (2.73 g, 19.6 mmol) seguido por una solución de azida de tetrabutilamonio (3.62 g, 12.7 mmol) en THF. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, se filtró y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 2%), proporcionando el compuesto del título (3.4 g, 81%) como un sólido de color blanco.

<u>Paso 3:</u> A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-(azidometil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (3.00 g, 7.06 mmol) en DCM (6 ml) se añadió DMSO: agua *terc-butanol* (1: 1: 1, 6 mL) but-3-in-1-ilcarbamato de *terc-butilo* (2.19 g, 14.1 mmol), $CuSO_4$ (56 mg, 0.35 mmol) y L-ascorbato sódico (2.01 mg, 10.6 mmol). Después de

agitar a temperatura ambiente durante 3 horas la mezcla se concentró parcialmente y se añadió agua, tras lo cual los sólidos se recolectaron mediante filtración. La torta del filtro se suspendió en DCM, se filtró y el filtrado se concentró, proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido amarillo claro.

Paso 4: A una solución del producto a partir del paso 3 (7.06 mmol) en ACN (50 L) se añadió persulfato de potasio (3.82 g, 14.1 mmol) seguido por una solución de fosfato de dipotasio (3.08 g, 17.7 mmol) en agua (25 mL): La mezcla resultante se calentó a 90° C durante 4 horas después se enfrió a temeratura ambiente y se filtró, eliminando la mayor parte del ACN. El filtrado se extrajo con EtOAc y se concentró al vacío. El residuo crudo se lavó con hexanos y acetona, proporcionando el compuesto del título (1.72 g, 57% en 2-etapas) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 431.1 (M+1).

Intermediario T:

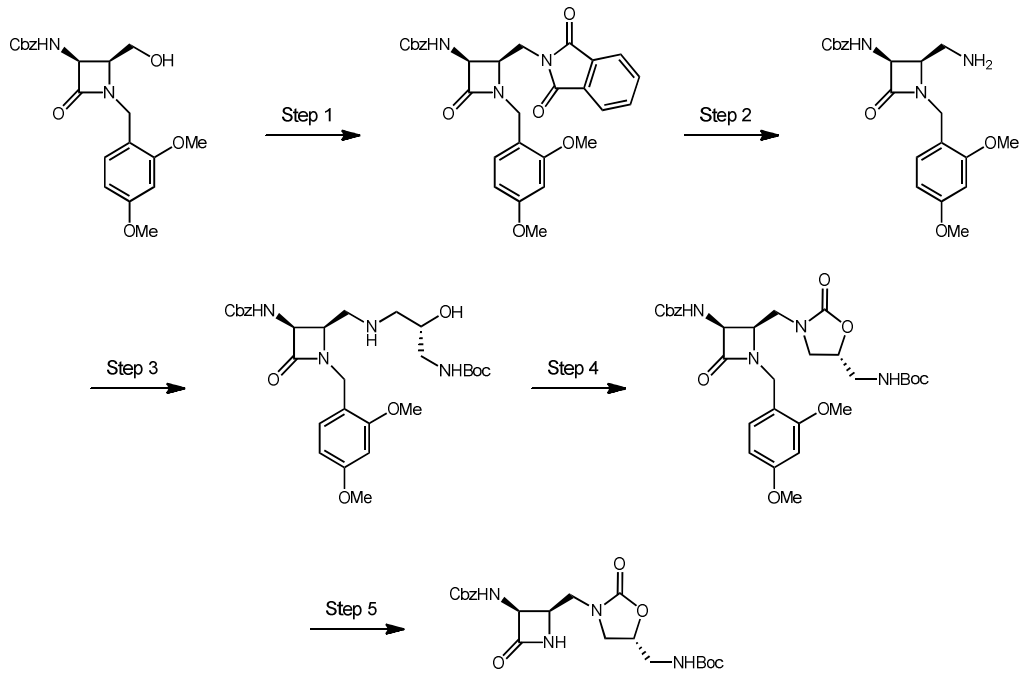


Paso 1: Se siguió el procedimiento general para la reacción de Mitsunobu. A una solución del intermediario G (5.00 g, 12.5 mmol), ((2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (2.97 mg, 15.0 mmol), trifenilfosfina (3.93 mg, 15.0 mmol) y DIAD (3.0 ml, 15 mmol) en THF (100 mL). Se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-5%), proporcionando el compuesto del título (12.6 g, contaminado con óxido de trifenilfosfina) como una espuma blanca.

Paso 2: A una solución del producto a partir del paso 1 (12.5 mmol) en ACN (150 mL) se añadió una solución de persulfato de potasio (6.76 g, 25.0 mmol) y fosfato de dipotasio (5.44 g, 31.2 mmol) en agua (75 mL). La mezcla resultante se calentó a 60° C

durante 4 h luego se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se concentró al vacío y el residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (2.23 g, 41% en 2-etapas) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 428.9 (M-1).

Intermediario U:



<u>Paso 1:</u> ((2 *R*, 3 *S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((1,3-dioxoisoindolin-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. El procedimiento general para la reacción de Mitsunobu se siguió utilizando el intermediario G (5.00 g, 12.5 mmol), ftalimida (1.83 g, 12.5 mmol), trifenilfosfina (3.93 g, 15.0 mmol), DIAD (3.03 g, 15.0 mmol) y THF (150 ml). Después de agitar durante 16 h, el precipitado formado se filtró, proporcionando el compuesto del título (5.67 g, 85%) como un sólido blanco.

<u>Paso 2:</u> ((*2R,3S*)-2-(aminometil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo A una solución de ((2*R,* 3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((1,3-dioxoisoindolin-2il)metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (4.40 g, 8.31 mmol) en DCM:MeOH (5:1, 60 mL) se añadió hidrato de hidrazina (1.50 g, 25.0 mmol). Después de agitar durante 16 h el precipitado se separó mediante filtración y el filtrado se concentró, proporcionando el compuesto del título (cuantitativo) como un sólido blanco.

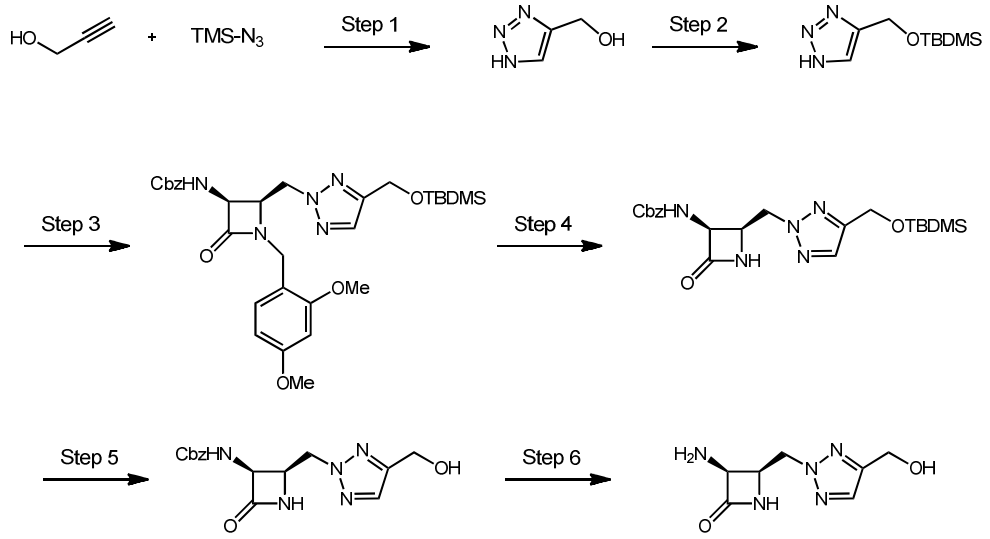
<u>Paso 3:</u> A una solución de ((2 *R,* 3 *S)*-2-(aminometil)-1-(2,4-dimetoxibencilo)-3-il-4-oxoazetidin)carbamato de bencilo (8.31 mmol) en DCM: MeOH (13: 1.43 ml) se añadió (oxiran-2-ilmetil) carbamato de *(R)-terc-butilo*. Después de agitar durante 16 h, se concentró

al vacío y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-10%), proporcionando el compuesto del título (2.2 g, 46%) como una espuma blanca.

Paso 4: A una solución del producto de la etapa 3 (2.20 g, 3.85 mmol) en DCM (100 ml) a 0° C se añadió CDI (1.12 g, 6.92 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 hora, la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 1-5%), proporcionando el compuesto del título (2.10 g, 91%) como una espuma blanca.

Paso 5: A una solución del producto del paso 4 (2.10 g, 3.51 mmol) en ACN (40 mL) se añadió una solución de persulfato de potasio (1.89 g, 7.02 mmol) y fosfato de dipotasio (1.52 g, 8.75 mmol) en agua (20 mL). La mezcla se agitó a 50° C durante 4 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. El filtrado se concentró, se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se concentró. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-5%), proporcionando el compuesto del título (660 mg, 42%) como un sólido de color amarillo palido. LCMS: m/z = 449.09 (M+1).

Intermediario V:



Paso 1: **(1H-1,2,3-triazol-4-il) metanol.** A una solución de alcohol propargílico (11.2 g, 200 mmol) en DMF (160 ml) y MeOH (40 ml) se añadió CuI (1.9 g, 10 mmol) y azida de trimetilsililo (34.6 g, 300 mmol). Después de calentar a 100° C durante 16 h, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

<u>Paso 2:</u> 4-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-1H-1,2,3-triazol. A una solución de (1H-1,2,3-triazol-4-il)metanol (30 g, 200 mmol) en DCM (160 ml) se añadió imidazol (20.4 g, 300 mmol) seguido de TBDMS-Cl (33.3 g, 220 mmol) como un sólido en porciones. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite, y el filtrado se concentró al vacío. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-hexanos, 5-30%), para proporcionar el compuesto del título (30.2 g, 71%) como un sólido de color amarillo palido.

<u>Paso 3:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*ter*c-butildimetilsilil)oxi)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*S,*3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (0.94 g, 2.34 mmol), 4-(*((terc-butildimetilsililo)* oxi) metil)-1H-1,2,3-triazol (0.5 g, 2.34 mmol), y PPh_3 (0.74 g, 2.81 mmol) en THF (20 ml) a 0° C se añadió lentamente DIAD (0.57 g, 2.81 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-hexanos, 20-30%), para proporcionar el compuesto del título (1.25 g, 89%) como un sólido de color amarillo palido. LCMS: m/z = 594.3 (M-1).

<u>Paso 4:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*ter*c-butildimetilsilil)oxi)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butildimetilsilil)oxi)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (1.25 g, 2.1 mmol) en CH_3CN (20 ml) se añadió $K_2S_2O_8$ (0.73 g, 2.7 mmol) seguido por una solución de K_2HPO_4 (0.84 g, 4.8 mmol) en agua (10 mL). Después de agitar a 90° C durante 1 h, se añadió más $K_2S_2O_8$ (0.23 g, 0.84 mmol). Después de calentar a 90° C durante 2 horas adicionales, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se extrajo con EtOAc (2 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-DCM, 1-3%), para proporcionar el compuesto del título (0.44 g, 47%) como un sólido de color amarillo palido. LCMS: m/z = 446.2 (M+1).

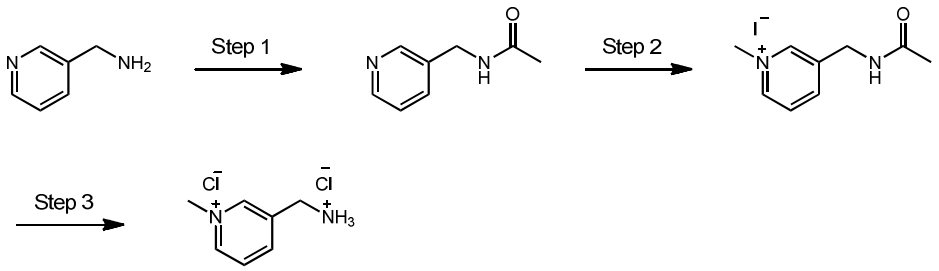
<u>Paso 5:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butildimetilsilil)oxi)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (10.8 g, 24.4 mmol) en THF (100 ml) se añadió lentamenteTBAF (1 M en THF, 26.6 ml, 26.6 mmol) durante un período de 15 min. Después de agitar a temperatura ambiente

durante 1.5 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 1-5%), para proporcionar el compuesto del título (6.8 g, 85%) como un sólido de color amarillo palido. LCMS: m/z = 330.0 (M+1).

<u>Paso 6:</u> (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) azetidin-2-ona.

A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((-1,2,3-triazol-2-il 2H) metil)-4-oxoazetidin-3-il 4-(hidroximetil))carbamato de bencilo (1.54 g, 4.65 mmol) en EtOH (50 ml) y EtOH (25 mL) se añadió Pd/C (10%, 0.51 g, 4.65 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 4 h, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celita, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). El residuo crudo se utilizó tal cual para el siguiente paso. LCMS: R_t = 0.12 min, m/z = 198.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Intermediario W: cloruro de 3-(amoniometil)-1-metilpiridin-1-io



<u>Paso 1:</u> *N*-(piridin-3-ilmetil) acetamida

Preparado de acuerdo con Plater *Org. Biomol. Chem.* **2009,** *7,* 1633. A una solución de piridin-3-ilmetanamina (9.42 ml, 92 mmol) en agua (103 ml) a 10° C se añadió anhídrido acético (10.47 ml, 111 mmol), se agitó a una tasa donde la temperatura interna no subió por encima 25° C. Después de un adicional de 18 h de agitación, la solución se concentró al vacío y después se co-evaporó con tolueno (3x) para proporcionar el compuesto del título (14.22 g, cuantitativo) como un aceite claro. LCMS: R_t =0.12 min, m/z = 151.1 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) □□□□□□□□□□□□□*J* = 2.4 Hz, 2H) 7.65 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H) 7.30-7.24 (m, 1 H) 6.59-6.49 (m, 1 H) 4.43 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H) 2.02 (s, 3H).

<u>Paso 2:</u> yoduro de 3-(acetamidometil)-1-metilpiridin-1-io

A una solución de *N*-(piridin-3-ilmetil)acetamida (13.9 g, 92 mmol) en DCM a 0° C se añadió yoduro de metilo (8.10 ml, 129 mmol). El baño de enfriamiento se retiró después de 10 min y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 19 h, tras lo cual se concentró al vacío y se utilizó como material crudo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.18 min, m/z =

164.9 (M+) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 8.91-8.87 (m, 2H) 8.58 (brs, 1H) 8.42 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H) 8.09 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H) 4.43 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H) 4.35 (s, 3H) 1.92 (s, 3H)

<u>Paso 3:</u> cloruro de 3-(amoniometil)-1-metilpiridin-1-io

Una suspensión de yoduro de 3-(acetamidometilo)-1-metilpiridin-1-io (26.9 g, 92 mmol) en HCl (6 N, 307 ml, 1.84 mol) se calentó a 100° C durante 3 h. La solución se concentró bajo presión reducida (temperatura del baño 80° C). El aceite rojo resultante se solidificó durante la noche y se trituró con MeOH y se filtró para proporcionar el compuesto del título (8.76 g, 49%) como un sólido blanco. El filtrado se concentró en un aceite rojo, que después se dejo reposar durante 4 días, el sólido formado se recolectó y se lavó con MeOH frío, proporcionando una segunda cultivo (6.5 g, 36%). LCMS: R_t = 0.11 min, m/z = 123.0 (M+) Método 2m_acidico. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) d ppm 9.18 (s, 1H) 9.03 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H) 8.66 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H) 8.45 (br s, 3H) 8.24 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H) 4.38 (s, 3H) 4.30 (s, 2H).

Los intermediarios descritos anteriormente, y compuestos similares preparados por los mismos métodos, se pueden utilizar para preparar los compuestos de la fórmula (I) mediante los esquemas de síntesis proporcionados en este documento. Los siguientes ejemplos ilustran la síntesis de compuestos seleccionados de la Fórmula (I) y proporcionan métodos que pueden ser adaptados a la síntesis de otros compuestos de la Fórmula (I).

Ejemplo 1: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopirrolidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

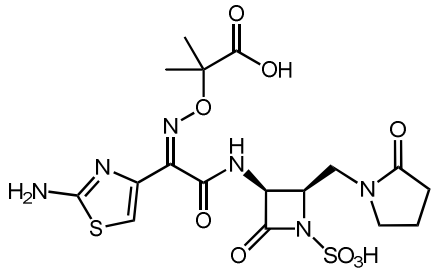
<u>Paso 1:</u>

2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxopirrolidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo. Una solución de Intermediario L (100 mg, 0.190 mmol), metil-4-bromobutirato (25 µL, 0.194 mmol) y TEA (27 µL, 0.194 mmol) en DMF (1.3 ml) se calentó a 70° C durante 16 h mientras se agitaba, luego tras lo cual el calor se elevó hasta 90° C. Después de 6 h de calentamiento adicional se diluyó con HCl (1N) y EtOAc. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, solución de LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío.

El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, luego MeOH-EtOAc, 0-7%), proporcionando el compuesto del título (21 mg, 18%) como una espuma. LCMS: R_t = 0.88 min, m/z = 595.4 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-oxo-4-((2-oxopirrolidin-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico. 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopirrolidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato (43 mg, 0.072 mmol) en DMF (725 □ L) se trató con SO_3•DMF (111 mg, 0.725 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y después se diluyó con EtOAc y se vertió en una solución de LiCl (5% acuosa). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío proporcionando el compuesto del título (55 mg) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.77 min, m/z = 675.3 (M+1) Método 2m_acidico. se usó sin purificación adicional.

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxopirrolidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxopirrolidin-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico (55 mg, 0.072 mmol), DCM (720 µL) y TFA (333 µL, 4.32 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 ml/min) proporcionando el compuesto del título (6 mg, 16%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.35 min, m/z = 519.0 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □7.17 (s, 1H), 5.46 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.71-4.64 (m, 1H), 3.92 (dd, *J* = 14.7, 8.7 Hz, 1H), 3.71-3.55 (m,

2H), 3.49 (dd, *J* = 14.7, 4.1 Hz, 1H), 2.42 (td, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 2H), 2.08 (p, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.54 (s, 3H).

Ejemplo 2: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*, *3S*)-2-(((2-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)etil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo. Una solución del Intermediario L (500 mg, 0.949 mmol) y (2-bromoetoxi)(*terc*-butil) dimetilsilano (204 µl, 0.949 mmol) en ACN (3.2 ml) se calentó a 80° C en un microondas durante 30 min y después se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 h. Se volvió a calentar a 100° C durante 45 min en el microondas después se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 h, tras lo cual se diluyó con EtOAc y se lavó con carbonato de sodio (2M, aq), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, luego MeOH-DCM, 10%), para proporcionar el compuesto del título (111 mg, 17%). LCMS: R_t = 1.03 min, m/z = 685.4 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) □8.17 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.30 (br s, 1H) 5.57-5.50 (m, 1H) 4.09-4.01 (m, 1H) 3.77-3.61 (m, 3H) 3.09 (dd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H) 2.87-2.71 (m, 3H) 1.56 (s, 6H) 1.53 (s, 9H) 1.44 (s, 9H) 0.86 (s, 9H) 0.03 (s, 3H), 0.03 (s, 3H).

<u>Paso 2:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-hidroxietil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. Preparado de acuerdo con Seki *Synlett* **1995,** 609-611.

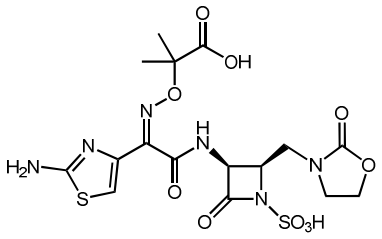
A una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*, *3S*)-2-(((2-((*ter*c-butildimetilsilil)oxi)etil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (111 mg, 0.162 mmol) en DMF:NMP (2.7: 1, 1.62 ml) se añadió hidrofloruro de amonio flúor (37.0 mg, 0.648 mmol). Después de agitar durante 65 horas, la solución se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (92 mg, 99%). El material crudo se utilizó directamente en el paso 3. LCMS: R_t = 0.76 min, m/z 571.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxozolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo. Preparado de acuerdo con PCT Int. Appl. 2011061760.

Una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*, *3S*)-2-(((2-hidroxietil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato (92 mg, 0.161 mmol) en cloroformo (806 µl) se trató con CDI (131 mg, 0.806 mmol) Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 h, se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), proporcionando el compuesto del título (91 mg, 95%) como un sólido de color naranja. LCMS: R_t = 0.86 min, m/z = 597.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico. Una solución de *terc-butilo* 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato (91 mg, 0.153 mmol) en DMF (volumen: 763 µl) se trató con SO_3•DMF (234 mg, 1.525 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera (3 x), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, produciendo el compuesto del título (100 mg, 97%) como un sólido de color naranja. LCMS: R_t = 0.78 min, m/z = 677.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (100 mg, 0.148 mmol), DCM (1.5 ml) y TFA (569 µl, 7.39 mmol). El residuo

crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 ml/min) proporcionando el compuesto del título (10 mg, 12%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.32 min, m/z = 521.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 9.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 5.22 (dd, *J* = 8.8, 5.7 Hz, 1H), 4.23-4.11 (m, 3H), 3.75-3.62 ((m, se asume 2H, oscurecido con agua)), 3.60-3.51 (m, se asume 1H; oscurecido con agua), 3.34 (dd, *J* = 14.6, 5.5 Hz, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.40 (s, 3H).

Ejemplo 3: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u>

2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. Una solución del Intermediario L (650 mg, 1.234 mmol) y (9H-fluoren-9-il)metil(2-oxoetil)carbamato (365 mg, 1.234 mmol) en DCE (12.3 ml) se trató con triacetoxiborohidruro de sodio (1.377 g, 6.17 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 18 horas se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (aq) y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), proporcionando el compuesto del título (435 mg, 45%) como un sólido de color blanco. LCMS: R_t = 1.00 min, m/z = 792.3 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 9.11 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.89 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.41 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.32 (td, *J* = 7.4, 1.2 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 7.19 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.20 (dd, *J* = 9.1, 5.0 Hz, 1H), 4.30 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.24-4.17 (m, 1H), 3.76 (ddd, *J* = 8.8, 5.3, 3.7 Hz, 1H), 3.11-2.97 (m, 2H), 2.76 (dd, *J* = 12.5, 3.7 Hz, 1H), 2.63-2.52 (m, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.42 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.38 (s, 9H).

<u>Paso 2:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-aminoetil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo

Una solución de 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo

(435 mg, 0.549 mmol) en DMF (2.75 mL) se trató con piperidina (1.1 mL, 11 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 horas, se diluyó con tolueno y se concentró (3x). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (238 mg, 64%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.68 min, m/z = 570.3 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.12 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.17 (dd, *J* = 8.3, 4.9 Hz, 1H), 3.76 (dt, *J* = 8.7, 4.7 Hz, 1H), 2.81-2.51 (m, 6H), 1.44 (s, 9H), 1.41 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.38 (s, 9H).

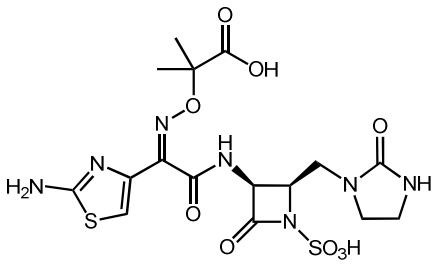
<u>Paso 3:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazollidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo.

A una solución de 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((2-aminoetil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato (100 mg, 0.151 mmol) en cloroformo (756 µl) se añadió CDI (98 mg, 0.604 mmol) seguido por TEA (105 µl, 0.756 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (73 mg, 81%) como un sólido de color blanco. Se utilizó como material crudo en el paso 4. LCMS: R_t = 0.70 min, m/z = 596.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxoimidazol-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico.

Una solución de *x* 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (73 mg, 0.123 mmol) en DMF (613 µl) se trató con SO_3•DMF (94 mg, 0.613 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 hora se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera (3x), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (99 mg) como un sólido de color blanco. LCMS: R_t = 0.74 min, m/z = 676.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico (99 mg, 0.147 mmol), DCM (1.5 ml) y TFA (566 µl, 7.35 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (4.8 mg) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 520.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □9.25 (dd, *J* = 9.0, 5.0 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 5.21 (dd, J = 9.0, 5.8 Hz, 1H), 4.06-4.00 (m, 1H), 3.65 (dd, J = 14.5, 4.7 Hz, 1H), 3.33-3.30 (m, se asume 1H; oscurecido con agua), 3.25 (dd, J = 14.5, 6.9 Hz, se asume 2H; oscurecido con agua), 3.17 (ddd, J=16.7, 8.6, 6.7 Hz, 2H), 1.43 (s, 3H), 1.42 (s, 3H).

Ejemplo 4: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminometil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> Un recipiente de presión de 75 mL se cargó con el intermediario A (1.50 g, 3.13 mmol), intermediario B (1.108g, 4.70 mmol), K $_2CO_3$ (1.733 g, 12.54 mmol), NaI (564 mg, 3.76 mmol) y DMF (10 mL) luego se calentó a 70° C con agitación. Después de 3 horas, se añadió más intermediario B (1.108g, 4.70 mmol), K_2CO_3 (1.733 g, 12.54 mmol) y NaI (394 mg, 2.63 mmol) y se continuó el calentamiento. Después de 8 horas de calentamiento total, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera (3x), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se combinó con otra muestra de escala y procedimiento idéntico y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM, 0-30%), proporcionando el isomero 2H-tetrazol (2.15 g, 60%) y el isomero 1H-tetrazol (443 mg, 12%) como sólidos blancos. A-

LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 582.3 (M+1) Método 2m_acidico; B-LCMS: R_t = 0.93 min, m/z = 582.3 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 2: Preparado de acuerdo con Mastalerz *Chem.* 1988, 31, 1190. A una solución del isomero 2H-tetrazol (2.15 g, 3.70 mmol) del paso 1 en ACN: agua (2:1, 61.5 ml) se añadió $K_2S_2O_8$ (1.40 g, 5.18 mmol) seguido por K_2HPO_4 (837 mg, 4.81 mmol). La mezcla resultante se calentó a 90° C durante 1.5 h, tras lo cual se añadió más $K_2S_2O_8$ (300 mg, 1.11 mmol) y K_2HPO_4 (167 mg, 0.961 mmol). Después de 3.5 h de calentamiento adicional a 90°C, se diluyó con ACN y se concentró al vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se diluyó con agua/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (5x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM, 450%), para proporcionar el compuesto del título (785 mg, 49%). LCMS: R_t = 0.77 min, m/z = 432.3 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, ACN-d_3) □ 7.49-7.30 (m, 5H), 6.76 (br s, 1H), 6.55-6.41 (m, 1H), 5.85 (br s, 1H), 5.03-5.21 (m, 3H), 4.88-4.71 (m, 2H), 4.52-4.43 (m, 3H), 4.39-4.24 (m, 1H), 1.50-1.35 (m, 9H).

Paso 3: ((2-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-tetrazol-5-il)metil) carbamato de *de terc*-butilo. Preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en Malmström *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012,** *22,* 5293. Una solución del compuesto de la etapa 2 (785 mg, 1.819 mmol) en EtOAc:MeOH (5:1, 65 mL) se evacuó y se llenó nuevamente con argón (2x) seguido por la adición de Pd sobre C (10%, 581 mg). El sistema se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3X). Después de 21 horas de agitación, la mezcla se filtró a través de celite, lavando con MeOH, se concentró al vacío, se recolectó en tolueno y se reconcentró (3x). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.37 min, m/z = 298.3 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4: 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((terc-(butoxicarbonil)amino)metil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*.

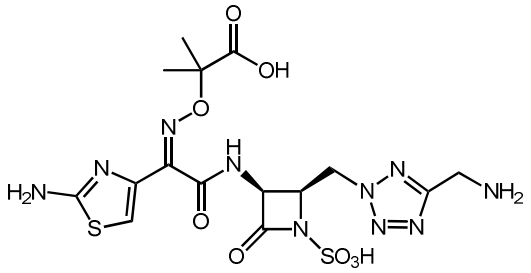
A una solución de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (938 mg, 2.18 mmol) en DCM:DMF (5:1, 8.5 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (953 µ L, 5.46 mmol) seguido por HATU (830 mg, 2.18 mmol). A la solución resultante se añadió una solución de ((2-*(((2R, 3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2 *H*-tetrazol-5-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (541 mg, 1.82 mmol) en DCM:DMF (5:1, 8.5 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y después se concentró al vacío, se disolvió en EtOAc y se lavó con salmuera. La capa

acuosa se extrajo con EtOAc y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera (3x), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM, 30-50%), proporcionando el compuesto del título (897 mg, 70%) como un sólido de color purpura. LCMS: R_t = 1.01 min, m/z = 709.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *ter*c-butilo (200 mg, 0.282 mmol) in DMF (2 mL) se trato con SO_3•DMF (432 mg, 2.82 mmol). La solución púrpura se tornó verde inmediatamente. Después de 20 minutos de agitación, se añadió más SO_3•DMF (432 mg, 2.82 mmol). Después de 20 minutos adicionales de agitación, se añadió más SO_3•DMF (432 mg, 2.82 mmol). Después de 20 min la solución se diluyó con EtOAc/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (185 mg, 83%). LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 789.1 (M+1) Método 2m_acidico.

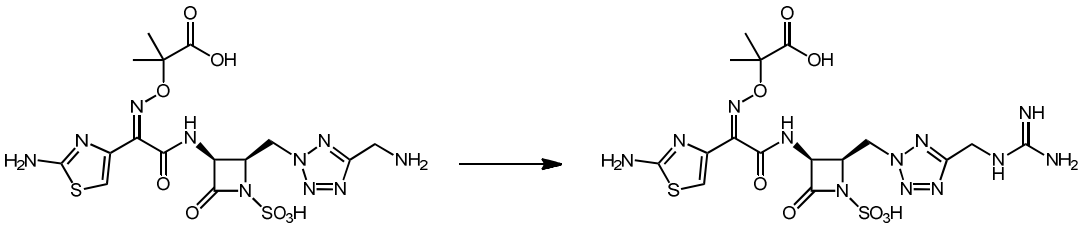
<u>Paso 6:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminometil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-ill)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (185 mg, 0.234 mmol), DCM (2.34 ml) y TFA (1.08 ml, 14.06 mmol) durante 1.5 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC prep de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna

C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/ min), proporcionando el compuesto del título (55.5 mg, 45%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 533.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 9.34 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.55 (br s, 3H), 7.34 (br s, 2H), 6.73 (s, 1H), 5.37 (dd, J = 8.7, 5.5 Hz, 1H), 5.19-5.13 (m, 1H), 5.01-4.94 (m, 1H), 4.62-4.57 (m, 1H), 4.43-4.37 (m, 2H), 1.38 (s, 3H) 1.34 (s, 3H).

Ejemplo 5: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(guanidinometil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R* ,3*S*)-2-((5-(aminometil)-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (20 mg, 0,038 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (11.6 mg, 0.079 mmol) en DMF (376 □ L) se añadió DIPEA (26.2 □ L, 0.150 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, la solución se concentró al vacío. Se añadió tolueno y se concentró nuevamente (3x). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (11 mg, 45%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 575.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 7.49-7.04 (m, 5H), 6.74 (br s, 1H), 5.26 (br s, 1H), 5.14-5.07 (m, 1H), 4.98-4.90 (m, 1H), 4.65 (br s, 2H), 4.59-4.52 (m, 1H), 1.36 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

Ejemplo 6: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminometil)-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> Preparado de una manera análoga al Ejemplo 4, paso 2 usando el isómero 1H-tetrazol apropiado obtenido en la Etapa 1 en el Ejemplo 4 (442 mg, 0.760 mmol), $K_2S_2O_8$ (288 mg, 1.064 mmol) y K_2HPO_4 (172 mg, 0.988 mmol) en ACN:agua (2:1, 12.6 ml) a 90° C

durante 1.5 h. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (62 mg, 0.228 mmol) y K_2 HPO_4 (42 mg, 0.198 mmol) y se calentó durante otras 3.5 h después se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con ACN y se concentró al vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se diluyó con agua/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (5x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM, 450%), para proporcionar el compuesto del título (179 mg, 54%). LCMS: R_t = 0.72 min, m/z = 432.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ((1-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-1H-tetrazol-5-il)metil) carbamato de *de terc*-butilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3, usando el producto de la Etapa 1 (179 mg, 0.415 mmol) y Pd sobre C (10%, 132 mg) en EtOAc:MeOH (10:1, 13.8 ml) durante 21 h. El residuo crudo se usó como tal en la etapa siguiente. LCMS: R_t = 0.37 min, m/z = 298.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((terc-(butoxicarbonil)amino)metil)-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*.

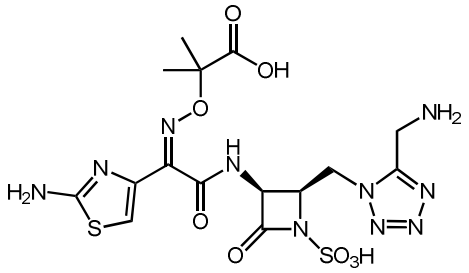
Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3 usando ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (214 mg, 0.498 mmol), DIPEA (953 µL, 5.46 mmol) y HATU (830 mg, 2.18 mmol) en DCM:DMF (5:1, 3.6 mL) a 0° C seguido de una solución de ((1-*(((2R, 3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-1H-tetrazol-5-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (123 mg, 0.415 mmol) en DCM:DMF (4.3:1, 3.7 mL). Después de agitar a temperature ambiente durante una hora se realizó un procedimiento idéntico luego se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (acetona-DCM), proorcionando el compuesto del título (174 mg, 59%) como un sólido de color púrpura claro. LCMS: R_t = 1.03 min, m/z = 709.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

Preparado de manera análoga al ejemplo 4, etapa 4, utilizando 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (100 mg, 0.141 mmol), SO_3•DMF (216 mg, 1.41 mmol), DMF (1.4 mL) durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se realizó un procedimiento idéntico para proporcionar

el compuesto del título (100 mg, 89%). LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 789.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminometil)-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (100 mg, 0.126 mmol), DCM (1.26 ml) y TFA (584 mL, 7.58 mmol) durante 1.5 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min), proporcionando el compuesto del título (18.7 mg, 28%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 533.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.28 (s, 2H), 6.79 (s, 1H), 5.35 (dd, *J* = 8.8, 5.8 Hz, 1H), 4.79-4.61 (m, 2H), 4.59-4.53 (m, 1H), 4.47-4.35 (m, 2H), 1.36 (br s, 6H).

Ejemplo 7: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1, Compuesto 1:</u> ((2 *R*, 3 *S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.

<u>Paso 1, Compuesto 2:</u> ((2 *R*, 3 *S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.

Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 1 usando el intermediario A (1.0 g, 2.1 mmol), 5-metil-2*H-tetrazol* (527 mg, 6.27 mmol), K_2CO_3 (1.44 g, 10.5 mmol), NaI (470 mg, 3.13 mmol) en DMF (10 ml) a 70° C durante 4 horas. Ninguna otra adición de

reactivo fue necesaria. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM) proporcionando el compuesto 1 del título (680 mg, 79%) y compuesto 2 del título (221 mg, 23%) como sólidos. LCMS: R_t = 0.87 min, m/z = 467.2 (M+1) Método 2m_acidico; 2-LCMS: R_t = 0.80 min, m/z = 467.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ((2*R*, 3 *S*)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 2 usando *((2R, 3S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((5-metil-2H-tetrazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (202 mg, 0.433 mmol), $K_2S_2O_8$ (164 mg, 0.606 mmol) y K_2HPO_4 (98 mg, 0.563 mmol) en ACN:agua (2:1, 7.4 ml) a 90° C durante 1.5 h. Se añadió más se $K_2S_2O_8$ (35 mg, 0.13 mmol) y K_2HPO_4 (20 mg, 0.11 mmol) y se calentó durante 30 minutos más y luego se enfrió a temperatura ambiente luego se concentró al vacío. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), para proporcionar el compuesto del título (111 mg, 81%). LCMS: R_t = 0.58 min, m/z = 317.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) □ 7.43-7.30 (m, 5H), 6.34 (br s, 1H), 6.01 (br s, 1H), 5.28-5.21 (m, 1H), 5.20-5.12 (m, 3H), 4.92 (dd, *J* = 14.3, 3.9 Hz, 1H), 4.68 (dd, *J* = 14.2, 7.9 Hz, 1H), 4.48-4.27 (m, 2H), 2.53 (s, 3H).

<u>Paso 3:</u> *(3S, 4R)*-3-amino-4-((5-metil-2H-tetrazol-2-il) metil) azetidin-2-ona. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3 utilizando ((3 *S,* 4 *R)*-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (111 mg, 0.351 mmol) y Pd sobre C (10%, 50 mg) en EtOH:MeOH (5:1, 7.0 mL) durante 3 h. El residuo crudo se utilizó como tal en la etapa siguiente. LCMS: R_t = 0.14 min, m/z = 183.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3 usando ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (130 mg, 0.302 mmol), DIPEA (158 µ L, 0.906 mmol) y HATU (138 mg, 0.362 mmol) en DCM:DMF (2:1, 3.0 mL) a 0° C seguido de una solución de *(3S,* 4R)-3-amino-4-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)az*etidin-2-ona* (55 mg, 0.30 mmol) en DCM:DMF (2:1, 3.0 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentró al vacío, se disolvió en EtOAc, se lavó con agua y después con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante

cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM), proporcionando el compuesto del título (179 mg, 99%) como un sólido. LCMS: R_t = 0.93 min, m/z = 594.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido (*2R,3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico

Preparado de manera análoga al ejemplo 4 paso 4, utilizando 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(5-dimetil-2-H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (179 mg, 0.302 mmol) y SO_3•DMF(462 mg, 3.02 mmol) en DMF (3.0 mL) durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) LCMS: R_t = 0.80 min, m/z = 674.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 6:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R,3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-ill)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (203 mg, 0.302 mmol), DCM (3.0 mL) y TFA (1.39 mL, 18.1 mmol) durante 2 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min), proporcionando el compuesto del título (37 mg, 24%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.35 min, m/z = 518.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.03 (s, 1H), 5.37 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.08-4.97 (m, 1H), 4.90-4.80 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.31 (s, 3H).

Ejemplo 8: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> ((2*R*, 3 *S*)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 2 usando *((2R, 3S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (221 mg, 0.474 mmol), $K_2S_2O_8$ (179 mg, 0.663 mmol) y K_2HPO_4 (107 mg, 0.616 mmol) en ACN:agua (2:1, 7.9 ml) a 90° C durante 1.5 h. Se añadió más se $K_2S_2O_8$ (38,4 mg, 0.142 mmol) y K_2HPO_4 (21.5 mg, 0.123 mmol) y se calentó durante 30 minutos más y luego se enfrió a temperatura ambiente luego se concentró al vacío. La mezcla se diluyó con

EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), para proporcionar el compuesto del título (97 mg, 65%). LCMS: R_t = 1.00 min, m/z = 317.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> *(3S, 4R)*-3-amino-4-((5-metil-1H-tetrazol-1-il) metil) azetidin-2-ona.

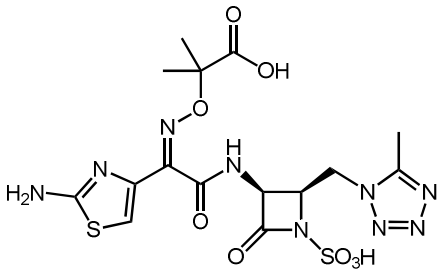
Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3 utilizando ((3*S*,4*R*)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (97 mg, 0.31 mmol) y Pd sobre C (10%, 50 mg) en EtOH:MeOH (5:1, 3.0 mL) durante 3 h. El residuo crudo se utilizó como tal en la etapa siguiente. LCMS: R_t = 0.11 min, m/z = 183.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3 usando ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (130 mg, 0.302 mmol), DIPEA (158 µL, 0.906 mmol) y HATU (115 mg, 0.302 mmol) en DCM:DMF (2:1, 3.0 mL) a 0° C seguido de una solución de *(3S,* 4R)-3-amino-4-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)az*etidin-2-ona* (55 mg, 0.30 mmol) en DCM:DMF (2:1, 3.0 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentró al vacío, se disolvió en EtOAc, se lavó con agua y después con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM), proporcionando el compuesto del título (133 mg, 74%) como un sólido. LCMS: R_t = 0.92 min, m/z = 594.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido (*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico

Preparado de manera análoga al ejemplo 4 paso 4, utilizando 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(5-dimetil-1-H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (133 mg, 0.224 mmol) y SO_3•DMF(343 mg, 2.24 mmol) en DMF (2.24 mL) durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) LCMS: R_t = 0.85 min, m/z = 674.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-utoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-metil-1H-tetrazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (151 mg, 0.224 mmol), DCM (2.24 mL) y TFA (1.04 mL, 13.45 mmol) durante 2 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min), proporcionando el compuesto del título (14,4 mg, 11%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.55 min, m/z = 518.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □*J* = 5.5 Hz, 1H), 4.83-4.77 (m, 1H), 4.76-4.54 (m, se asume 2H; oscurecido con solvente), 2.48 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.33 (s, 3H).

Ejemplo 9: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> ***((2R, 3S)*-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo.** Un vial de microondas de 20 mL se cargó con el intermediario A (250 mg, 0522 mmol), 1,2,4-triazol (54 mg, 0.784 mmol), K_2CO_3 (215 mg, 1.56 mmol), NaI (94 mg, 0.63 mmol) y DMF (2 mL) luego se calentó a 70° C con agitación. Después de 4 horas, se añadió más 1,2,4-(54 mg, 0.784 mmol), K_2CO_3 (215 mg, 1.56 mmol) y NaI (94 mg, 0.63 mmol) y se continuó el calentamiento. Después de 7 horas de calentamiento total, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con DCM/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. Se añadió tolueno y se concentró al vacío (baño de 40° C). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-Heptano, 50%), para proporcionar el compuesto del título (156 mg, 66%). LCMS: Rt = 0.77 min, m/z = 452.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ((2*R*, 3 *S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 2 usando *((2R, 3S)*-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-1-(2,4-dimetoxibencilo)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencil o (101 mg, 0,224 mmol), $K_2S_2O_8$ (85 mg, 0.313 mmol) y K_2HPO_4 (50.7 mg, 0.291 mmol) en ACN:agua (2:1, 61.5 ml) mientras se calienta durante 2 horas a 90° C. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (18.1 mg, 0.067 mmol) y K_2HPO_4 (10.1 mg, 0.058 mmol) y se calentó durante otra 1.5 h. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (18.1 mg, 0.067 mmol) y K_2HPO_4 (10.1 mg, 0.058 mmol) y se calentó durante otra hora. Se diluyó con ACN y se concentró al vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se diluyó con agua/DCM luego se añadió EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (5x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 10%), para proporcionar el compuesto del título (38 mg, 56%). LCMS: R_t = 0.50 min, m/z = 302.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, ACN-d_3) □ 8.17 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.49-7.31 (m, 4H), 6.82-6.74 (m, 1H), 6.67 (br s, 1H), 5.18-5.01 (m, 3H), 4.49-4.42 (m, 1H), 4.37-4.30 (m, 1H), 4.21 (q, J = 5.4 Hz, 1H).

<u>Paso 3:</u> (3S, 4R)-4-((1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-3-aminoazetidin-2-ona. A una solución de ((2R, 3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencil o (38 mg, 0.126 mmol) en MeOH (5 mL) se añadió negro de Pd (6.7 mg, 0.063 mmol) seguido por ácido fórmico (339 µL, 8.83 mmol). Después de 1 h de agitación, la mezcla se filtró sobre celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío. La solución se liofilizó y el material crudo se usó directamente en la etapa posterior. LCMS: R_t = 0.14 min, m/z = 168.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo A una suspensión de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (81 mg, 0.19 mmol) en DCM (800 µL) a 0 °C se añadió DIPEA (88 µL, 0.504 mmol) seguido por HATU (72 mg, 0.190 mmol). Se añadieron unas pocas gotas de DMF para homogeneizar la mezcla. A la solución resultante se añadió una solución de *(3S, 4R)*-4-((1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-3-aminoazetidin-2-ona (21 mg, 0.126 mmol) en DCM (1 ml). Después de 1.5 h de agitación se diluyó con agua/DCM y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM), para

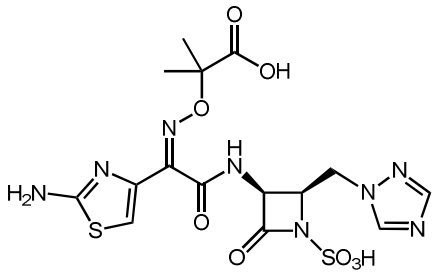
proporcionar el compuesto del título (47 mg, 65%). LCMS: R_t = 0.88 min, m/z = 579.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido (*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidino-1-sulfonico

2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (44 mg, 0.076 mmol) in DMF (760 mL) se trato con SO_3•DMF (116 mg, 0.760 mmol). Después de 1hora de agitación, la solución se diluyó con EtOAc/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un´sólido blanco. LCMS: Rt = 0.81 min, m/z = 659.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 6:</u>

Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilp1,2,4-ropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*,*4R*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxoazetidina-1-sulfonico (50.-1 mg, 0.076 mmol), DCM (760 µL) y TFA (351 µl, 4.56 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (14.8 mg, 34%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 503.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □*J* = 8.83 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 5.28 (dd, *J* = 8.8, 5.4 Hz, 1H), 4.74-4.64 (m, 1H), 4.58 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.32 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 1.37 (s, 3H) 1.41 (s, 3H).

Ejemplo 10: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

Paso 1: Se suspendio metanosulfonato de *((2S, 3S)*-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metilo (3.10 g, 6.48 mmol), ((1H-1,2,4-triazol-3-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (1.926 g, 9.72 mmol), K_2CO_3 (1.35 g, 9.72 mmol) y NaI (1.165 g, 7.78 mmol) en DMF (20 ml) y se calentaron a 70° C con agitación. Después de 3 h, se añadió más ((1H-1,2,4-triazol-3-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (1.926 g, 9.72 mmol), K_2CO_3 (1.35 g, 9.72 mmol) y NaI (777 mg, 8.10 mmol) y se calentaron un adicional de 4 h, tras lo cual se diluyó con EtOAc/agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera (3x), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-Heptano, 0-70%) para proporcionar el isomero 3 sustituido (1.16 g, 31%) y junto con el isomero 5 sustituido (375 mg, 10%). A-LCMS: R_t = 0.87 min, m/z = 581.2 (M+1) Método 2m_acidico; B-LCMS: R_t = 0.94 min, m/z = 581.2 (M+1) Método 2m_acidico; B-^{1}H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) □ 7.86 (s, 1H), 7.44-7.31 (m, 4H), 7.29 (s, 3H), 6.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.49-6.37 (m, 2H), 5.25-5.04 (m, 3H), 4.54-4.43 (m, 2H), 4.43-4.22 (m, 3H), 4.13 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.90-3.71 (m, 7H), 1.36-1.51 (m, 9H).

Paso 2: Preparado de una manera análoga al Ejemplo 4, paso 2 usando el isómero3 sustituido de la Etapa 1 (1.16 g, 2.00 mmol), $K_2S_2O_8$ (756 mg, 2,80 mmol) y K_2HPO_4 (452 mg, 2.60 mmol) en ACN:agua (2:1, 33,3 ml) mientras se calienta durante 1.5 horas a 90° C. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (162 mg, 0.599 mmol) y K_2HPO_4 (90 mg, 0.52 mmol) y se calentó durante otra 3,5 h, tras lo cual se concentról a vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se diluyó con agua/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (5x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM, 0-100%), para proporcionar el compuesto del título (416 mg, 48%). LCMS: R_t = 0.71 min, m/z = 431.3 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, ACN-d_3) □8.08 (s, 1H), 7.49-7.25 (m, 5H), 6.82-6.60 (m, 2H), 5.81-5.62 (m, 1H), 5.21-5.03 (m, 3H), 4.48-4.07 (m, 6H), 1.46-1.33 (m, 9H).

Paso 3: ((1-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-1H-1,2,4-triazol-3-il)metil) carbamato de *de terc*-butilo. Preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en Malmström *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012,** *22,* 5293. Una solución del producto de la etapa 2 (416 mg, 0.966 mmol) en EtOAc:MeOH (5:1, 32,2 mL) se evacuó y se llenó

nuevamente con argón (2x) seguido por la adición de Pd sobre C (10%, 103 mg). El sistema se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3x). Después de 21 h de agitación se añadió MeOH (282 µL). Después de 4 horas de agitación la mezcla se filtró a través de celite, se lavó con MeOH, se concentró al vacío, se recolectó en tolueno y se concentro nuevamente (3x). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.33 min, m/z = 297.2 (M+1) Método 2m_acidico.

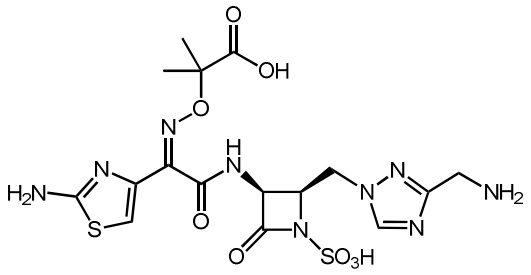
<u>Paso 4:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(((terc-(butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*.

A una suspensión de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (47 mg, 0.109 mmol) en DCM:DMF (12:1, 6.5 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (505 µ L, 2.89 mmol) seguido por HATU (440 mg, 1.16 mmol). A la solución resultante se añadió una solución de ((1-*(((2R, 3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,4-triazol-3-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (286 mg, 0.964 mmol) en DCM:DMF (14:1, 7.5 mL). Después de 1 h de agitación se diluyó con agua/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera (3x), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM, 70%), para proporcionar el compuesto del título (428 mg, 63%). LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 708.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.

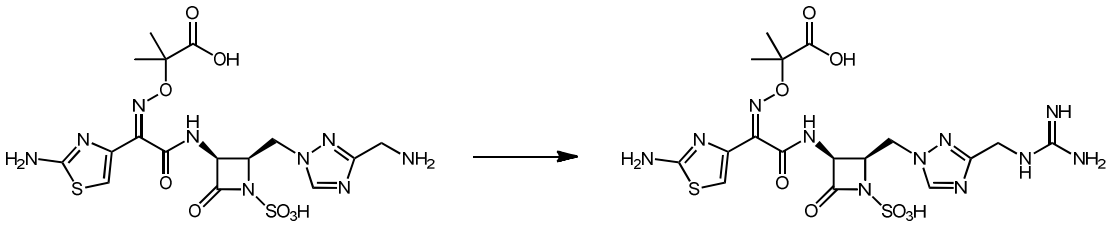
2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (200 mg, 0.283 mmol) in DMF (2.0 mL) se trato con SO3•DMF (433 mg, 2.83 mmol). Después de 20 minutos de agitación, la solución se diluyó con EtOAc/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un´sólido blanco. LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 788.4 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 6:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (223 mg,0.283 mmol), DCM (2.89 mL) y TFA (1.31 ml, 16.98 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (99 mg, 65%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 532.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 9.45 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.39 (br s, 3H), 7.32 (s, 2H), 6.74 (s, 1H), 5.23 (dd, *J* = 8.5, 5.7 Hz, 1H), 4.76-4.65 (m, 1H), 4.62-4.55 (m, 1H), 4.32-4.27 (m, 1H), 4.16-4.08 (m, 2H), 1.36 (s, 3H) 1.43 (s, 3H).

Ejemplo 11: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(guanidinometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (25 mg, 0.047 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (10.9 mg, 0.099 mmol) en DMF (470 μ L) se añadió DIPEA (33 □L□□□□□□□mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, la solución se concentró al vacío. Se añadió tolueno y se concentró nuevamente (3x). El residuo crudo se purificó mediante HPLC

preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (16 mg, 52%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 574.3 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 9.45 (br s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.86 (br s, 1H), 7.31 (br s, 3H), 6.74 (br s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.22 (br s, 1H), 4.69-4.59 (m, 1H), 4.60-4.50 (m, 1H), 4.45-4.36 (m, 2H), 4.34-4.26 (m, 1H), 1.35 (s, 3H) 1.41 (s, 3H).

Ejemplo 12: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,5*S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> Preparado de una manera análoga al Ejemplo 4, paso 2 usando el isómero 5 sustituido del Paso 1 en el Ejemplo 10 (361 mg, 0.622 mmol), $K_2S_2O_8$ (235 mg, 0.870 mmol) y K_2HPO_4 (115 mg, 0.808 mmol) en ACN:agua (2:1, 10.4 mL) mientras se calienta durante 1.5 horas a 90° C. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (50 mg, 0.187 mmol) y K_2HPO_4 (23 mg, 0.162 mmol) y se calentó durante otra 3.5 h, tras lo cual se concentró al vacío, eliminando la mayor parte de ACN. La mezcla se diluyó con agua/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (5x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM, 0-100%), para proporcionar el compuesto del título (155 mg, 58%). LCMS: R_t = 0.71 min, m/z = 431.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ((1-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,4-triazol-5-il)metil) carbamato de *de terc*-butilo. Preparado de acuerdo con el Ejemplo 7, paso 3. Una solución del producto de la Etapa 1 (134 mg, 0.311 mmol) en EtOAc:MeOH (5:1, 10.4 mL) se evacuó y se llenó nuevamente con argón (2x) seguido por la adición de Pd sobre C (10%, 33 mg). El sistema se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3x). Después de 21 h de agitación se añadió MeOH (282 µL). Después de 4 horas de agitación la mezcla se filtró a través de celite, se lavó con MeOH, se concentró al vacío, se recolectó en tolueno y se concentro nuevamente (3x). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.38 min, m/z = 297.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,5*S*)-2-((3-(((terc-(butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*.

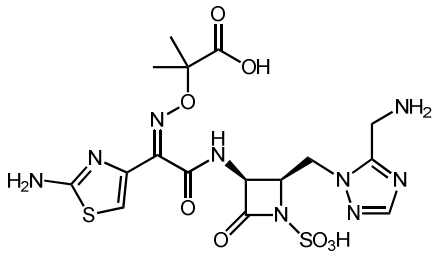
A una suspensión de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (160 mg, 0.373 mmol) en

DCM:DMF (30:1, 3.1 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (163 µL, 0.933 mmol) seguido por HATU (142 mg, 0.373 mmol). A la solución resultante se añadió una solución de ((1-*(((2R, 3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,4-triazol-5-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (92 mg, 0.311 mmol) en DCM:DMF (30:1, 3.1 mL). Después de 1 h de agitación se concentró al vacío y se recolectó en EtOAc/salmuera. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3x), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM, 70%), para proporcionar el compuesto del título (128 mg, 58%). LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 708.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido (2*R*,5*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *ter*c-butilo (128 mg, 0.181 mmol) in DMF (1.3 mL) se trato con SO3•DMF (277 mg, 1.81 mmol). Después de 20 minutos de agitación, la solución se diluyó con EtOAc/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un´sólido blanco. LCMS: Rt = 0.90 min, m/z = 788.3 (M+1) Método 2m_acidico.

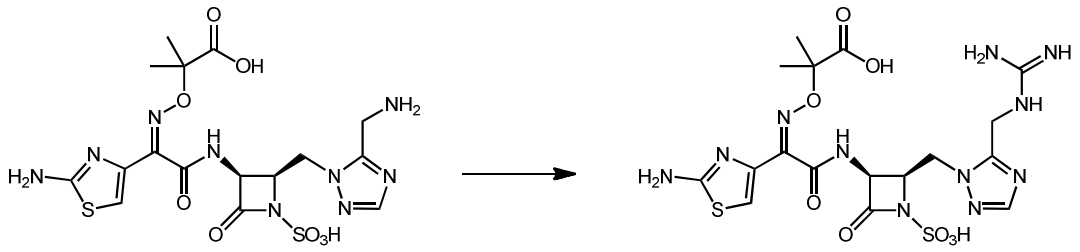
<u>Paso 5:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,5*S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,5*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (143 mg,0.181 mmol), DCM (1.81 mL) y TFA (837 ml, 10.9 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase

inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (60 mg, 62%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.28 min, m/z = 532.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 9.23 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.40 (br s, 3H), 8.06 (s, 1H), 7.59-7.27 (m, 2H), 6.84 (s, 1H), 5.37 (dd, *J* = 9.0, 5.5 Hz, 1H), 4.61-4.51 (m, 1H), 4.49-4.34 (m, 3H), 4.25 (dd, *J* = 15.3, 5.8 Hz, 1H), 1.37 (s, 6H).

Ejemplo 13: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,5*S*)-2-((3-(guanidinometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((5-(aminometil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (25 mg, 0.047 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (10.9 mg, 0.099 mmol) en DMF (470 µ L) se añadió DIPEA (33 µL, 0.188 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, la solución se concentró al vacío. Se añadió tolueno y se concentró nuevamente (3x). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (13 mg, 42%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 574.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 7.96-7.78 (m, 1H), 7.41-6.96 (m, 5H), 6.80-6.71 (m, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.42-5.32 (m, 1H), 4.75-4.63 (m, 1H), 4.62-4.42 (m, 1H), 4.39-4.28 (m, 1H), 1.38 (s, 3H) 1.34 (s, 3H).

Ejemplo 14: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)azetidin-3-il)carbamato de bencilo. Se suspendio metanosulfonato de *((2S, 3S)*-3-

(((benciloxi) carbonil) amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metilo (860 mg, 1.80 mmol), *piridin-2(1H)-ona* (855 mg, 8.99 mmol), K_2CO_3 (1.74 g, 12.6 mmol) y NaI (746 mg, 4.49 mmol) en DMF (6.9 mL) y se calentaron a 70° C con agitación. Después de 4 h, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM), para proporcionar el compuesto del título (304 mg, 35%). LCMS: R_t = 0.79 min, m/z = 478.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) □7.39-7.28 (m, 6H), 7.07 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 6.93-6.85 (m, 1H), 6.55 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.40 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.35 (dd, *J* = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 6.10-6.02 (m, 1H), 5.87 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.93 (br s, 1H), 4.63 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H), 4.27-4.10 (m, 1H), 3.97 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.88 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.76 (s, 3H).

<u>Paso 2:</u> ((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)azetidin-3-il)carbamato de bencilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 2 usando *((2R, 3S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)metil)azetidin-3-il) carbamato de bencilo (361 mg, 0.622 mmol), $K_2S_2O_8$ (225 mg, 0.833 mmol) y K_2HPO_4 (135 mg, 0.773 mmol) en ACN:agua (2:1, 9.9 ml) mientras se calienta durante 1.5 h a 90° C. Se añadió más $K_2S_2O_8$ (45 mg, 0.17 mmol) y K_2HPO_4 (26.9 mg, 0.155 mmol) y se calentó durante otros 30 minutos, tras lo cual se concentró, se disolvió nuevamente en EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), para proporcionar el compuesto del título (157 mg, 81%). LCMS: R_t = 0.56 min, m/z = 328.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3, Compuesto 1:</u> 1-(((2*R*, 3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil) piridin-2(1H)-ona.

<u>Paso 3, Compuesto 2:</u> 1-(((2 *R*, 3 *S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)piperidin-2-ona. Preparado de acuerdo con el ejemplo 7, paso 3. Una solución de ((3 *S*, 4 *R*)-2-oxo-4-(((2 *H*)-il) metil) azetidin-3-il-2-oxopiridin 1) carbamato de bencilo (157 mg, 0.480 mmol) en EtOH: MeOH (5: 1, 4.8 ml) se evacuó y se llenó nuevamente con argón (2x) seguido por la adición de Pd sobre C (10%, 33 mg). El sistema se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3x). Después de 3 h de agitación, la mezcla se filtró sobre celite, lavando con MeOH, y se concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

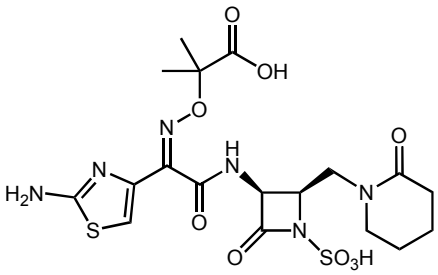
<u>Paso 4, Compuesto 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo.

<u>Paso 4, Compuesto 2:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo.

A una suspensión de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (60 mg, 0.14 mmol) en DCM:DMF (1:1, 1.4 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (73 µL, 0.42 mmol) seguido por HATU (63,7 mg, 0.168 mmol). A la solución resultante, después de 20 min, se añadió una solución de mezcla de 1-(((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) piridin-2 (1 *H)*-ona y 1-(((2 *R,* 3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) piperidin-2-ona (90 mg, ~ 0.46 mmol) en DCM (200 µL). Después de 1 h de agitación se concentró al vacío y se recolectó en EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM) para proporcionar el compuesto 1 del título (54 mg) y compuesto 2 del título (30 mg). 1-LCMS: R_t = 0.88 min, m/z = 605.2 (M+1) Método 2m_acidico; 2-LCMS: R_t = 0.90 min, m/z = 609.2 (M+1) Método 2m_acidico.

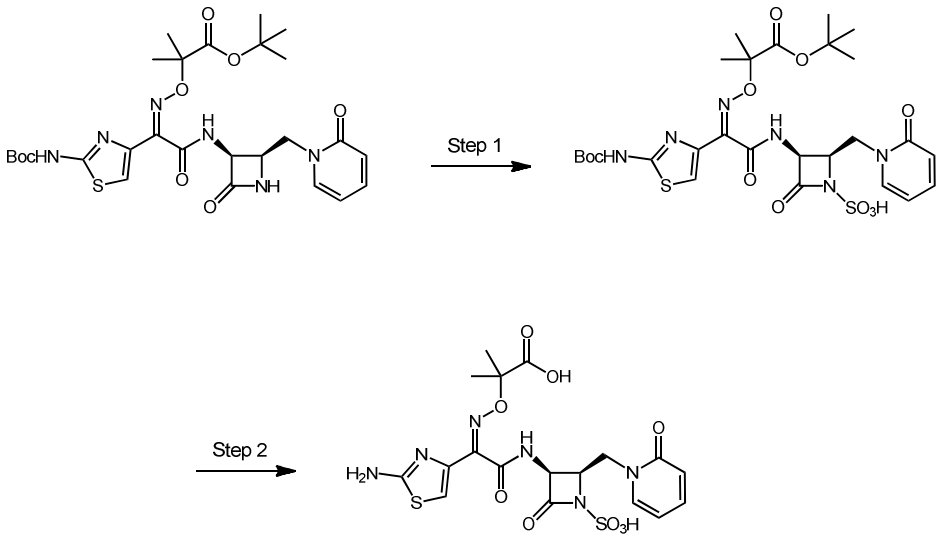
<u>Paso 5:</u> Ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico. Una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*R*)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (30 mg, 0.049 mmol) en DMF (493 µL) se trató con SO_3•DMF (151 mg, 0.986 mmol). Después de 1 hora de agitación, La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.78 min, m/z = 689.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 6:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico (34 mg, 0.049 mmol), DCM (494 L) y TFA (228 µ l, 2.96 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (5,2 mg, 17%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.63 min, m/z = 533.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) 7.02 (s, 1H), 5.27 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.59-4.48 (m, 1H), 3.61 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H), 3.48-3.37 (m, 1H), 3.32 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 2.34-2.13 (m, 2H), 1.78-1.57 (m, 4H), 1.39 (br s, 6H).

Ejemplo 15: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



<u>Paso 1:</u> Ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-

oxopiridin-1(2H)-il)metil)azetidina-1-sulfonico. 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de tercbutilo (54 mg, 0.089 mmol) en DMF (893 µL) se trató con SO_3•DMF (205 mg, 1.34 mmol). Después de 1 hora de agitación, La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.76 min, m/z = 685.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico. Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxopiridin-1(2H)-il)metil)azetidina-1-sulfonico (61 mg, 0.089 mmol), DCM (891 L) y TFA (412µl, 5.35 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (9,6 mg, 19%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.57 min, m/z = 529.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □□□□□□□□□□□□□*J* = 6.7 Hz, 1H), 7.56-7.48 (m, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.50 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.39 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 5.30 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.47 (dd, *J* = 14.5, 2.7 Hz, 1H), 4.07 (dd, *J* = 14.5, 8.6 Hz, 1H), 1.37 (s, 3H), 1.36 (s, 3H).

Ejemplo 16: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

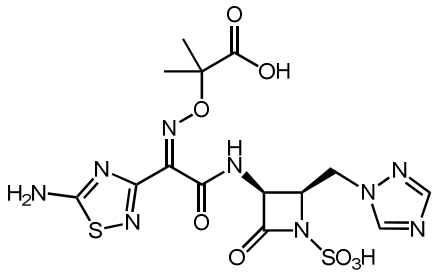
<u>Paso 1:</u> (3*S*,4*R*)-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-aminoazetidin-2-ona. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3 utilizando ((3*S*,4*R*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (250 mg, 0.830 mmol) y Pd sobre C (10%, 125 mg) en EtOH:MeOH (4:1, 8.3 mL) durante 3 h. El residuo crudo se utilizó como tal en la etapa siguiente. LCMS: R_t = 0.13 min, m/z = 168.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)4-oxoazeidin-3-il)amino)-1-(5-((terc-butoxicarbonil)amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo. A una suspensión de ácido (Z)-2-(((1-(terc-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(5-((*ter*c-

butoxicarbonil)amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)acetico (129 mg, 0.299 mmol) en DCM:DMF (1:1, 3 mL) a 0 °C se añadió DIPEA (157 µL, 0.897 mmol) seguido por HATU (136 mg, 0.359 mmol). A la solución resultante, después de 20 min, se añadió una solución de (3*S,*4*R)*-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-aminoazetidin-2-ona (50 mg, 0.299 mmol) en DCM. Después de 2 h de agitación se concentró al vacío y se recolectó en EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM), para proporcionar el compuesto del título (100 mg, 58%). LCMS: R_t = 0.82 min, m/z = 580.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido (*2R,3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(5-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico 2-(((*Z*)-(2-(((*2R,3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)amino)-1-(5-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (100 mg, 0.173 mmol) in DMF (1,7 mL) se trato con SO_3•DMF (396 mg, 2.59 mmol). Después de 1 hora de agitación, La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.74 min, m/z = 660.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*2R,3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(5-((terc-butoxicarbonil)amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (114 mg, 0.173 mmol), DCM (1.7 µL) y TFA (800 □L 10.4 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (46 mg, 46%) como un polvo

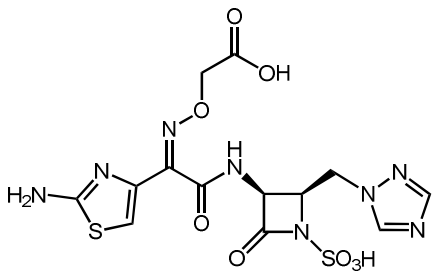
blanco. LCMS: R_t = 0.42 min, m/z = 504.0 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □9.42 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.21 (br s, 2H), 8.10 (s, 1H), 5.22 (dd, *J* = 8.6, 5.5 Hz, 1H), 4.67-4.58 (m, 1H), 4.56-4.47 (m, 1H), 4.28 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

Ejemplo 17: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)acetico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)4-oxoazeidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-acetato de terc-butilo. A una solución de ácido (*Z*)-2-((2-(*ter*c-butoxi)-2-oxoetoxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (108 mg, 0.269 mmol) en DCM (2.7 L) a 0° C se añadió DIPEA (141 µL, 0.808 mmol) seguido por HATU (113 mg, 0.296 mmol). A la solución resultante, después de 20 min, se añadió una solución de (3 *S,* 4 *R)*-4-((1 *H*-1,2,4-triazol-1-il) metil)-3-aminoazetidin-2-ona (50 mg, 0.299 mmol) en DCM. Después de 1 hora de agitación se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM), para proporcionar el compuesto del título (106 mg, 72%). LCMS: R_t = 0.78 min, m/z = 551.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido (*2R,3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-((2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)acetato de *terc*-butilo (100 mg, 0.182 mmol) in DMF (1.8 mL) se trato con SO_3•DMF (278 mg, 1.82 mmol). Después de 1 hora de agitación, La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.71 min, m/z = 631.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)acetico



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-3-((Z)-2-((2-(terc-butoxi)-2-oxoetoxi)imino)-2-(2-((terc -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (97 mg, 0.154 mmol), DCM (1.54 L) y TFA (711 □l, 9.23 mmol) El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (22,7 mg, 22%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.28 min, m/z = 475.0 (M+1) Método 2m_acidic0; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.50 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 5.25 (dd, *J* = 9.0, 5.9 Hz, 1H), 4.69-4.49 (m, 4H), 4.36 (dt, *J* = 7.4, 4.9 Hz, 1H).

Ejemplo 18: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico.

<u>Paso 1:</u>

1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una solución de ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (preparado de acuerdo con Yamawaki *Med. Chem. Lett.* **2007***, 15, 6716-6732) (150 mg, 0.279 mmol) en DCM:DMF (1:1, 2.8 mL) a 0° C se añadió DIPEA (146* µ*L, 0.837 mmol) seguido por HATU (127 mg, 0.335 mmol).* A la solución resultante, después de 20 min, se añadió una solución de (3 *S,* 4 *R)*-4-((1 *H*-1,2,4-triazol-1-il) metil)-3-aminoazetidin-2-ona (51 mg, 0.31 mmol) en DCM. Después de 1 hora de agitación se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM),

para proporcionar el compuesto del título (147 mg, 77%). LCMS: R_t = 0.98 min, m/z = 687.1 (M+1) Método 2m_acidico.

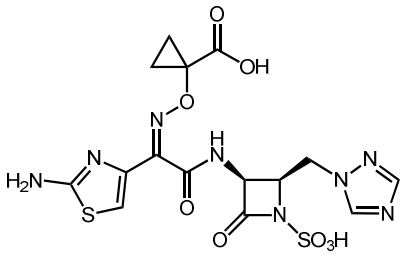
Paso 2:

Ácido (*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)-2-(2-((*terc*butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico

1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (147 mg, 0.214 mmol) in DMF (2.14 mL) se trato con SO_3•DMF (328 mg, 2.14 mmol). Después de 1 hora de agitación, La solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.89 min, m/z = 767.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 3:

Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-3-((Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (164 mg, 0.214 mmol), DCM (2.14 L) y TFA (989 µL, 12.8 mmol) El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (50 mg, 41%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 501.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.31 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.83 (s, 1H), 5.26 (dd, *J* = 9.0, 5.5 Hz, 1H), 4.67 (dd, *J* = 14.5, 4.3 Hz, 1H), 4.49-4.39 (m, 1H), 4.33 (ddd, *J* = 7.4, 5.5, 4.3 Hz, 1H), 1.34-1.27 (m, 4H).

Ejemplo 19: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

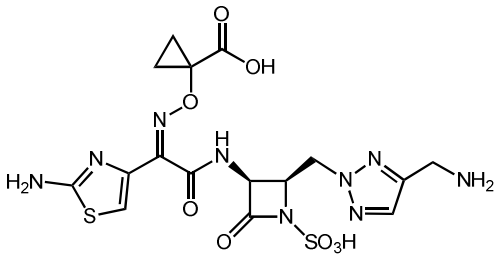
<u>Paso 1:</u> ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H-1,2,3-triazol*-4-il)metil) carbamato de *terc-butilo*. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3, usando el intermediario de la Etapa 1 (1.20 g, 2.79 mmol) y Pd sobre C (10%, 830 mg) en EtOAc:MeOH (5:1, 24 ml) durante 19 h. El residuo crudo se usó como tal en la etapa siguiente. LCMS: R_t = 0.41 min, m/z = 297.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)coclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una solución de ácido (Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (preparado de acuerdo con Yamawaki Med. Chem. Lett. 2007, 15, 6716-6732) (1.50 g, 2.79 mmol) en DCM (15 mL) a 0° C se añadió DIPEA (1,22 mL, 6.98 mmol) y HATU (1.11 g, 2.93 mmol). Después de calentar a temperatura ambiente, una solución de ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (827 mg, 2.79 mmol) en DCM:DMF (1.7: 1, 12.7 ml). Después de 1 hora de agitación se diluyó con DCM, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-Heptano, 0-90%), para proporcionar el compuesto del título (1.92 g, 84%) como un aceite de color púrpura. LCMS: R_t = 1.08 min, m/z = 816.5 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

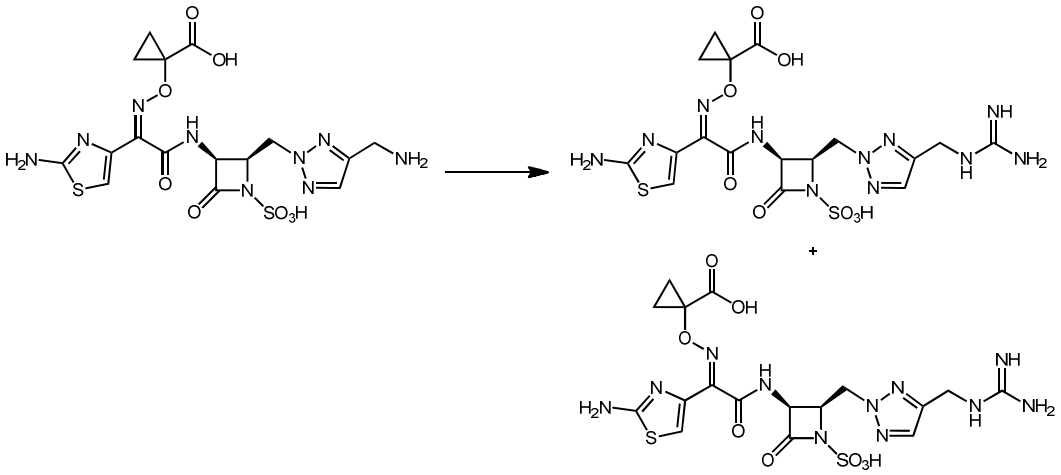
1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((terc-butoxicarbonil)metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (1.92 g, 2.35 mmol) in DMF (20 mL) se trato con SO_3•DMF (3.60 g, 23.5 mmol). Después de 30 minutos de agitación, la solución se diluyó con EtOAc/agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío proporcionando el compuesto del título (1.98 g, 94%) como una espuma púrpura. LCMS: Rt = 0.99 min, m/z = 896.4 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H -1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (1.98 g, 2.21 mmol), DCM (1.5 ml) y TFA (10.2 mL, 133 mmol). La mitad del residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (300 mg, 50%) como un polvo blancuzco. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 530.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.69 (s, 1H), 7.04 (br s, 1H), 5.43 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.93-4.78 (m, 2H), 4.74-4.67 (m, 1H), 4.22-4.12 (m, 2H), 1.36-1.20 (m, 2H), 1.20-1.00 (m, 2H).

Ejemplo 20: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(guanidinometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



A una solución de ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-ciclopropanocarboxílico (582 mg, 1.10 mmol) en DMF (12 mL) a 0° C se añadió hidrocloruro de pirazol-1-carboxamidina (322 mg, 2.20 mmol) y DIPEA (1.54 ml, 8.80 mmol). Después de 16 h de agitación a temperatura ambiente, la solución se diluyó con tolueno (60 mL), produciendo la separación de un aceite espeso. La capa superior se decantó y el aceite restantes se purificaron mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (240 mg, 37%) como un polvo blancuzco. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 572.2 (M+H) Metodo 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □7.59 (s, 1H), 6.99 (br s, 1H), *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.91-4.75 m, se assume 2H, oscurecido con un pico residual de solvente), 4.70 (dd, *J* = 8.2, 6.3 Hz, 1H), 4.41-4.34 (m, 2H), 1.20 (br s, 2H), 1.05 (br s, 2H). También se obtuvo isómero-*E.* LCMS: R_t = 0.33 min, m/z = 572.2 (M+H) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.58 (s, 1H), 7.46 (br. s., 1H), 5.45 (br. s., 1H), 4.84 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 1.33-1.08 (m, 4H). .

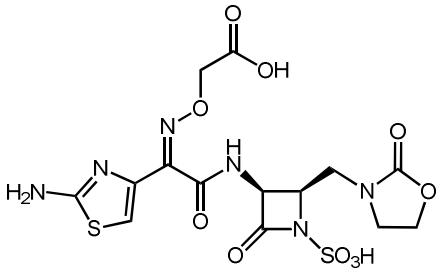
Ejemplo 21: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)acetico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)acetato *de terc*-butilo. A una solución de ácido *(Z)*-2-((2-*(terc-butoxi)*-2-oxoetoxi) imino)-2-(2-*((terc-butoxicarbonil)* amino) tiazol-4-il) acético (100 mg, 0.249 mmol), intermediario D (51 mg, 0.27 mmol) y HATU (123 mg, 0.324 mmol) en DMF (1.25 ml) se añadió DIPEA (131 □ L, 0.747 mmol). Después de 4 hora de agitación se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-10% MeOH-DCM), para proporcionar el compuesto del título (118 mg, 83%). LCMS: R_t = 0.81 min, m/z = 569.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-((2-(*terc*-butoxi)-2-oxoetoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico. 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)acetato de terc-butilo (118 mg, 0.208 mmol) en DMF (2.14 L) se trató con SO_3•DMF (159 mg, 1.04 mmol). Después de 1 hora de agitación, La solución se

diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera enfriada con hielo, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.72 min, m/z = 649.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)acetico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((2-(*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (135 mg, 0.208 mmol), DCM (1.04 mL) y TFA (801 µl, 10.4 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (25 mg, 23%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.25 min, m/z = 493.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 9.41 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H) 6.86 (s, 1H) 5.24 (dd, *J* = 9.0, 5.8 Hz, 1H) 4.62 (s, 2H) 4.20-4.11 (m, 3H) 3.72-3.63 (m, 2H) 3.40-3.31 (m, se asume 2H; oscurecido con agua).

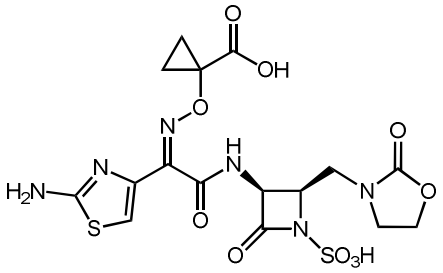
Ejemplo 22: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico

<u>Paso 1:</u> 1-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una solución de ácido *(Z)*-2-((1-((benzhidrilo)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il)acético (854 mg, 1.59 mmol), intermediario D (324 mg, 1.75 mmol) y HATU (785 mg, 2.07 mmol) en DMF (7.9 mL) se añadió DIPEA (832 □ L, 4.77 mmol). Después de 1 h de agitación, se vertió en agua y se extrajo con EtOAc. La salmuera se añadió a la capa acuosa, y se extrajo adicionalmente con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se

secaron sobre Na_2SO_4, y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-10% MeOH-DCM), para proporcionar el compuesto del título (1.09 g, 97%) como una espuma beige. LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 705.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-((1-((*benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)*imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico. 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato (1.00 g, 1.42 mmol) en DMF (7.0 mL) a 0° C se trató con SO_3•DMF (448 mg, 2.84 mmol). Después de 2 h de agitación, la solución se vertió en salmuera enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: Rt = 0.90 min, m/z = 785.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (1.10 g, 1.40 mmol), DCM (7.0 mL) y TFA (5.39 mL, 70.0 mmol). Se añadió TFA adicional (3.24 ml, 42.0 mmol) después de 1 h a temperatura ambiente y la solución se diluyó con DCM y se concentró al vacío después de 30 minutos adicionales. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min), proporcionando el compuesto del título (178 mg, 23%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 518.9 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □9.27 (d,

J = 9.0 Hz, 1H) 6.92 (s, 1H) 5.23 (dd, *J* = 9.1, 5.7 Hz, 1H) 4.12-4.23 (m, 3H) 3.72-3.62 (m, se asume 2H; oscurecido con agua) 3.61-3.52 (m, se asume 1H; oscurecido con agua) 3.26 (dd, *J* = 14.5, 5.9 Hz, 1H) 1.36 (s, 4H). ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.23 (s, 1H), 5.48 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.71-4.65 (m, 1H), 4.44 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 3.89-3.73 (m, 3H), 3.54 (dd, *J* = 14.9, 4.9 Hz, 1H), 1.65-1.56 (m, 2H), 1.56-1.46 (m, 2H).

Ejemplo 23: Ácido 2-(((*Z*)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-metil-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-((((R)-2-hidroxipropil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. Una solución del Intermediario L (500 mg, 0.949 mmol) y oxido *(R)*-propileno (996 µl, 14.2 mmol) en DCM (1.9 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas tras lo cual se observó precipitación. Se añadió más *óxido de (R)*-propileno (332 µl, 4.75 mmol). Después de 3 horas adicionales, se añadió más óxido de *(R)*-propileno (500 µl, 7.14 mmol). Después de otras 24 horas de agitación se concentraron al vacío y el residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (185 mg, 33%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.82 min, m/z = 585.2 (M+1) Método 2m_acidico.

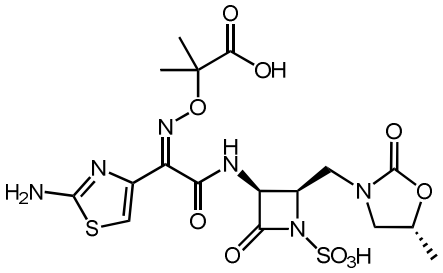
<u>Paso 2:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-(((R)-5-metil-2-oxoozolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo.

A una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-((((R)-2-hidroxipropil)amino9metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (185 mg, 0.316 mmol) en cloroformo (3.16 mL) se añadió CDl (257 mg, 1.58 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 min la solución se diluyó con EtOAc/agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-DCM, 0-100%), para proporcionar el compuesto del título (81 mg, 42%). LCMS: R_t = 0.92 min, m/z = 611.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido (*2R,3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(((R)-5-metil-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico

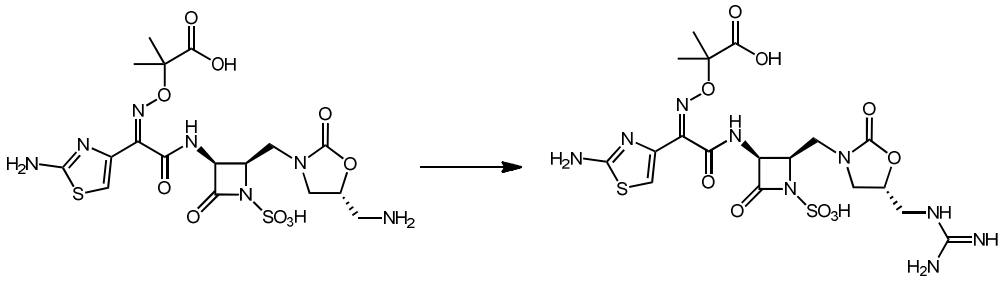
A una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-(((R)-5-metil-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (81 mg, 0.133 mmol) en DMF (1.33 mL) se trató con SO_3•DMF (203 mg, 1.33 mmol). Después de 20 minutos de agitación a temperatura ambiente, la solución se diluyó con EtOAc/salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un´sólido. LCMS: Rt = 0.84 min, m/z = 691.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido 2-(((*Z*)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-metil-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(((R)-5-metil-2-oxooxazolidin-3-il)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (92 mg,0.133 mmol), DCM (1.33 mL) y TFA (615 µL, 7.98 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (18,6 mg, 23%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 535.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □9.29 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 5.22 (dd, *J* = 8.8, 5.7 Hz, 1H), 4.55 (dt, *J* = 13.5, 6.5 Hz, 1H), 4.15 (q, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.72-3.63 (m, 2H), 3.34-3.27 (m, 2H), 1.46 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.28 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H).

Ejemplo 24: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(guanidinometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (30.1 mg, 0.055 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (16.1 mg, 0.110 mmol) en DMF (548 µ L) se añadió DIPEA (38.3 µl, 0.219 mmol). Después de otras 5 horas de agitación a temperatura ambiente, la solución se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (17.5 mg, 49%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 592.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □6.97 (s, 1H), 5.31 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.74 (dtd, *J* = 9.3, 5.9, 3.2 Hz, 1H), 4.55 (ddd, *J* = 9.2, 5.9, 3.1 Hz, 1H), 3.86 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.66 (dd, *J* = 15.0, 9.5 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 15.5, 3.2 Hz, 1H), 3.47-3.34 (m, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.37 (s, 3H).

Ejemplo 25: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> *(((R)*-3-(((2 *R,* 3 *S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-2-oxooxazolidin-5-il) metil)carbamato de *de terc*-butilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 3, usando el intermediario U (1.16 g, 2.28 mmol) y Pd sobre C (10%, 246 mg) en EtOAc:MeOH (5:1, 3 mL) durante 19 horas. El residuo crudo se usó como tal en la etapa siguiente.

<u>Paso 2:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-

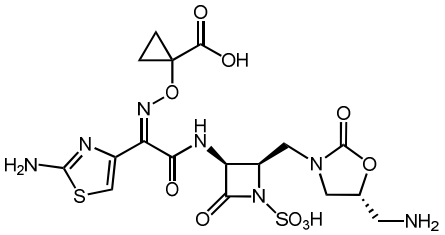
butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)coclopropanocarboxilato de benzhidrilo.

A una solución de ácido *(Z)*-2-((1-((benzhidrilo)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acético (1.29 g, 2.28 mmol) y HATU (909 mg, 2.39 mmol) en DMF:DCM (3:1 9.0 mL) a 0° C se añadió DIPEA (1.0 mL, 5.72 mmol). Después de 15 min de agitación a 0° C *(((R)*-3-(((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2-oxooxazolidin-5-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (715 mg, 2.28 mmol) se añadió como una solución en DMF:DCM (1:1, 9 ml) seguido por un lavado de DMF (1.5 mL) . Después de 1.2 h a temperatura ambiente se diluyó con EtOAc y se lavó con LiCl (5% acuoso). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso), $NaHCO_3$ (acuoso sturado), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 5-90%), para proporcionar el compuesto del título (1.357 g, 72%) como un sólido de color blanco. LCMS: R_t = 1.04 min, m/z = 834.4 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(((R)-5-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

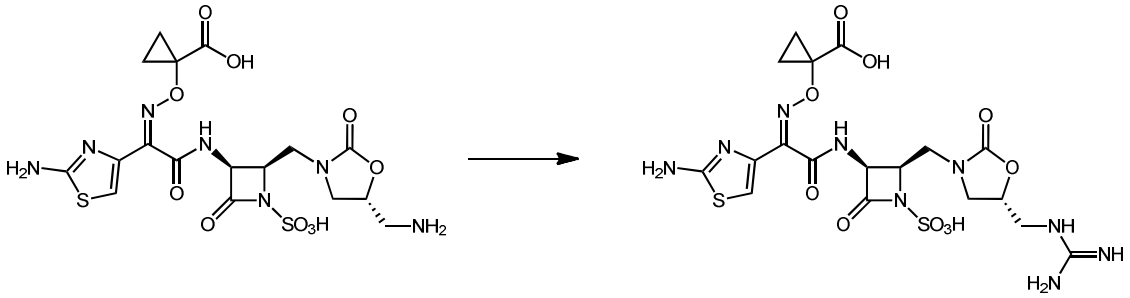
1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((R)-5-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)amino-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (1.357 g, 1.627 mmol) in DMF (8.1 mL) se trato con SO_3•DMF (748 mg, 4.88 mmol). Después de 2 horas de agitación a temperatura ambiente, la solución se diluyó con EtOAc/LiCl (5% acuoso) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un´sólido. LCMS: Rt = 0.96 min, m/z = 914.4 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(((R)-5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (725 mg, 0.794 mmol), DCM (8.0 mL) y TFA (3.7 mL, 48.0 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (231 mg, 52%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.41 min, m/z = 548.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□9.18 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.00 (t, *J* = 5.8 Hz, 3H), 6.83 (s, 1H), 5.22 (dd, *J* = 8.8, 5.9 Hz, 1H), 4.68 (tdd, *J* = 9.0, 5.8, 3.4 Hz, 1H), 4.24 (ddd, *J* = 9.3, 5.9, 3.6 Hz, 1H), 3.75 (t, *J* = 8.8 Hz, se asume 1H; oscurecido con agua), 3.61 (dd, J = 8.7, 5.8 Hz, se asume 1H; oscurecido con agua)), 3.41 (dd, *J* = 14.7, 9.0 Hz, 1H), 3.30 (dd, *J* = 14.7, 3.7 Hz, 1H), 3.25-3.05 (m, 2H), 1.40-1.27 (m, 4H). 1H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.18 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.45 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.02-4.93 (m, 1H), 4.70 (ddd, *J* = 9.2, 5.8, 3.7 Hz, 1H), 4.04 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.78 (dd, *J* = 15.0, 9.0 Hz, 1H), 3.60-3.56 (m, 1H), 3.54 (dd, J = 11.3, 3.6 Hz, 1H), 3.40 (s, 1H), 3.38 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 1.57-1.49 (m, 2H), 1.49-1.40 (m, 2H).

Ejemplo 26: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(guanidinometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-ciclopropanocarboxílico.



A una solución de ácido 1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-

3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-ciclopropano-carboxílico (0.795 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (234.8 mg, 1.602 mmol) en DMF (7.0 L) se añadió DIPEA (1.20 mL, 8.06 mmol). Después de otras 19 horas de agitación a temperatura ambiente, la solución se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (177 mg, 37%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.47 min, m/z = 590.1 (M+H) Método 2m_acidico_polar; ; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □.15 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.62 (br s, 1H), 7.24 (s, 3H), 6.81 (s, 1H), 5.23 (dd, *J* = 8.9, 5.9 Hz, 1H), 4.60-4.51 (m, 1H), 4.23 (ddd, *J* = 9.0, 5.8, 3.7 Hz, 1H), 3.70 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 3.52 (dd, *J* = 8.8, 5.4 Hz, 1H), 3.49-3.44 (m, 1H), 3.43-3.34 (m, 3H), 1.38-1.24 (m, 4H).

Ejemplo 27: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> ((1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1*H-1,2,3-triazol*-4-il)metil) carbamato de *terc-butilo*. A una suspensión de paladio sobre carbono (823 mg, 0.774 mmol) en EtOAc/MeOH (5:1, 16.8 mL) se añadió el intermediario S (1.11 g, 2.58 mmol) en una porción. El sistema se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3x). Después de agitar durante 19 h la mezcla se diluyó con EtOAc, se filtró a través de celite, lavando con MeOH-EtOAc (20%, 100 ml x 3) y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título crudo (730 mg) como un polvo blancuzco. LCMS: R_t = 0.37 min, m/z = 297.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,3-trizol-1-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-1-oxoetilideno)amino)oxi)coclopropanocarboxilato de benzhidrilo.

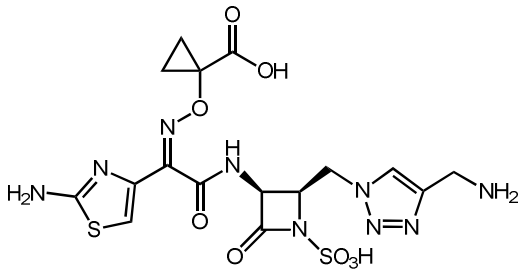
A una suspensión de ácido (*Z*)-2-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (1.32 g, 2.46 mmol) en DCM (12 mL) a 0° C se añadió DIPEA (1.08 mL, 6.16 mmol) seguido por HATU (0.984 g, 2.59 mmol). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y((1-(((2 *R,* 3 *S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-1 *H*-1,2,3-Se añadió triazol-4-il) metil) carbamato de *terc-butilo* (0.73 g, 2.5 mmol) como una solución en DCM:DMF (1.7: 1, 9.6 mL). Después de agitar durante 1.3 h, se observo un cambio de color de amarillo a púrpura oscuro, traslo lo cual se diluyó con DCM, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo

crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Acetona-Heptano, 0-90%), proporcionando el compuesto del título (1.62 g, 81%) como una espuma de color púrpura. LCMS: R_t = 1.05 min, m/z = 816.5 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.

A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (1.58 g, 1.94 mmol) in DMF (15 mL) se añadió complejo de SO_3•DMF (2.97 g, 19.4 mmol). Después de 45 min de agitación se diluyó con EtOAc (120 ml), salmuera (80 mL), agua (40 mL) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 mL) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como una espuma púrpura. LCMS: R_t = 0.96 min, m/z = 896.4 (M+1) Método 2m_acidico.

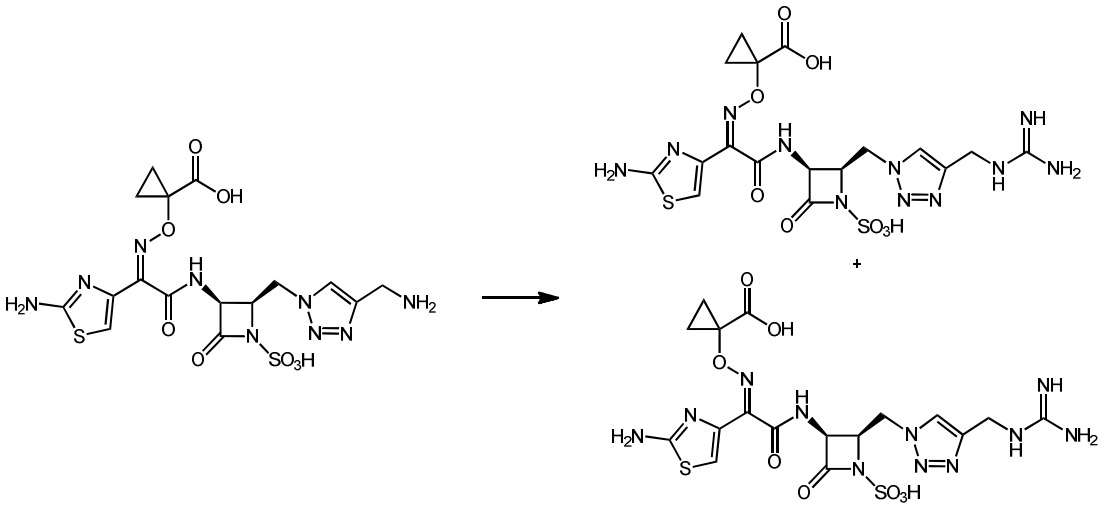
<u>Paso 4:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-ciclopropanocarboxílico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (1.74 g, 1.94 mmol), DCM (19.4 mL) y TFA (8.95 mL, 116 mmol). Después de 3 h a temperatura ambiente, se enfrió a 0° C y se añadió más TFA (200 µL, 2.6 mmol) tras lo cual se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de otra hora a temperatura ambiente, se enfrió a 0° C y se añadió más TFA (200µ L, 2.6 mmol), permitiendo de nuevo calentar a temperatura ambiente. Después de 1 hora a temperatura ambiente, se diluyó con DCM y se concentró al vacío. La mitad del residuo

crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (140 mg, 23% aproximadamente) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.27 min, m/z = 530.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 8.07 (s, 1H), 7.08-6.99 (m, 1H) 5.42-5.31 (m, 1H), 4.88-4.74 (m, asumiendo 2H; parcialmente oscurecido por un pico residual del solvente), 4.74-4.68 (m, 1H), 4.20 (s, 2H), 1.36-1.23 (m, 2H),1.23-1.07 (m, 2H).

Ejemplo 28: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(guanidinometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



A una solución de ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-ciclopropano-carboxílico (559 mg, 1.06 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (310 mg, 2.12 mmol) en DMF (12 mL) se añadió DIPEA (1.48 mL, 8.45 mmol). Después de 16 h de agitación a temperatura ambiente, la solución se diluyó con tolueno (20 mL), produciendo la separación de un aceite espeso. La capa superior se decantó y el aceite restantes se purificaron mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (240 mg, 39%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.28 min, m/z = 572.0 (M+H) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 8.09 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 5.52 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.97 (dd, *J* = 14.1, 5.5 Hz, 1H), 4.91 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.84-4.76 (m, se asume 1H; parcialmente oscurecido con un pico residual de

solvente), 4.55 (s, 2H), 1.49-1.36 (m, 2H), 1.34-1.23 (m, 2H). También se obtuvo isómero-*E.* LCMS: R_t = 0.32 min, m/z = 572.0 (M+H) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□9.37 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.13 (s, 2H), 6.50 (s, 1H), 5.18 (dd, *J* = 9.6, 5.3 Hz, 1H), 4.97 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 4.76-4.58 (m, 1H), 4.52 (dd, *J* = 16.11, 7.70 Hz, 1H), 4.26-4.05 (m, 2H), 1.86-2.08 (m, 1 H), 1.34-1.07 (m, 6 H).

Ejemplo 29: Ácido-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)propanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-cloropropanoato de (R)-*terc* butilo. Preparado de acuerdo con Wright *Tetrahedron Lett.* **1997,** *38,* 7345. Una bomba de vidrio de 500 mL se cargó con sulfato de magnesio (4.21 g, 35.0 mmol) y DCM (43,8 mL). A esta suspensión se añadió por goteo ácido sulfúrico (486 µL, 8.75 mmol), con agitación vigorosa. Después de 15 min de agitación, se añadió ácido *(R)*-2-cloropropanoico (950 mg, 8.75 mmol) seguido por *terc-butanol* (4.20 ml, 43.8 mmol). La bomba se selló y se agitó a temperatura durante 19 h, tras lo cual se añadió cuidadosamente bicarbonato de sodio (acuoso saturado, 100 mL), en cuyo punto todos los sólidos se habían disuelto. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2 SO_4 y se concentraron al vacío (baño a 20° C, 50 mbar) para proporcionar el compuesto del título (1.36 g, 94%) como un aceite rosado claro. ^{1}H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) □4.29 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H) 1.65 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H) 1.49 (s, 9H).

<u>Paso 2:</u> 2-((1,3-dioxoisoindolin-2-il)oxi)propanoato de *(S)-terc* butilo. Preparado de acuerdo con Yamawaki. *Bioorg. Med. Chem.* **2007***, 15, 6716.* A una suspensión de *N*-hidroxiftalimida (517 mg, 3.17 mmol) y carbonato de potasio (657 mg, 4.76 mmol) en DMF (4.5 mL) se añadió 2-cloropropanoato de (R)-*terc*-butilo (522 mg, 3.17 mmol). Se añadió DMF adicional (4.5 ml) después la suspensión se tornó viscosa. Después de agitar durante 5 días se diluyó con EtOAc y se vertió en solución LiCl (5% acuoso, 90 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 0-50%), proporcionando el compuesto del título (348 mg, 38%) como un sólido de color blanco. LCMS: R_t = 0.89 min, m/z = 314.0 (M+23) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) □ 7.87-7.81 (m, 2H), 7.75 (dd, *J* = 5.5, 3.1 Hz, 2H), 4.79 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.46 (s, 9H).

<u>Paso 3:</u> 2-(aminooxi)propanoato de *(S)-terc-butilo.* A una solución de 2-((1,3-dioxoisoindolin-2-il) oxi)propanoato de *(S)-terc* butilo (73.3 mg, 0.252 mmol) en CM

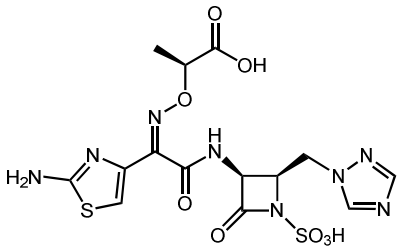
(Volumen: 500 µL) a 0° C se añadió hidrazina de metilo (13.5 µL, 0.252 mmol). Después de agitar durante 3 h a 0° C, los sólidos se separaron mediante filtración y el filtrado se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un aceite claro.

<u>Paso 4:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazeidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-propanoato de (S)-terc-butilo. A una solución del Intermediario E (62.2 mg, 0.148 mmol) en MeOH (1 ml) a 0° C se añadió una solución de 2-(aminooxi)propanoato de *(S)-terc*-butilo (24 mg, 0.15 mmol) en DCM (300 µL). Después de agitar durante 6 días se añadió ácido acético (8.5 µl, 0.15 mmol). Después de 4 días se añadió más ácido acético (8.5 µl, 0.15 mmol). Después de un período 24 horas adicionales, se concentró parcialmente al vacío luego se diluyó con EtOAc/agua. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10%), proporcionando el compuesto del título (20.2 mg, 24%) como un sólido de color blanco. LCMS: R_t = 0.81 min, m/z = 565.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-((((2)-1-(*terc*-butoxi)-1-oxoproán-2-il)imino)-2-(-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.

A una solución de 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)acetato de (S)-*terc*-butilo (20.2 mg, 0.036 mmol) in DMF (400 µl) se trato con SO_3•DMF (54.8 mg, 0.358 mmol). Después de 2.5 horas de agitación se diluyó con EtOAc/LiCl (5% acuoso) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.74 min, m/z = 645.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 6:</u> Ácido-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)propanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-3-((Z)-2-((((2)-1-(terc-butoxi)-1-oxopropan-2-il))imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (23 mg, 0.036 mmol), DCM (357 µL) y TFA (165 µL, 2.14 mmol) El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (7,9 mg, 36%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.40 min, m/z = 489.0 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 8.69 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 5.54 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.96-4.67 (m, se asume 4H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 1.44 (d, J = 7.0 Hz, 3H).

Ejemplo 30: Ácido (R)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)propanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-cloropropanoato de *(S)-terc* butilo. Preparado de acuerdo con Wright *Tetrahedron Lett.* **1997,** *38,* 7345. Una bomba de vidrio de 500 mL se cargó con sulfato de magnesio (21.7 g, 181 mmol) y DCM (182 mL). A esta suspensión se añadió por goteo ácido sulfúrico (2.5 mL, 45 mmol), con agitación vigorosa. Después de 15 min de agitación, se añadió ácido *(R)*-2-cloropropanoico (5.0 g, 45 mmol) seguido por *terc-butanol* (21.6 ml, 226 mmol). La bomba se selló y se agitó a temperatura durante 19 h, tras lo cual se enfrio a 0° C y se añadió cuidadosamente bicarbonato de sodio (acuoso saturado, 350 mL), en cuyo punto todos los sólidos se habían disuelto. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío (baño a 20° C, 50 mbar) para proporcionar el compuesto del título (7.64 g, 96%) como un aceite amarillo claro. Los datos de ^{1}H RMN fueron una correspondencia idéntica al enantiómero preparado previamente.

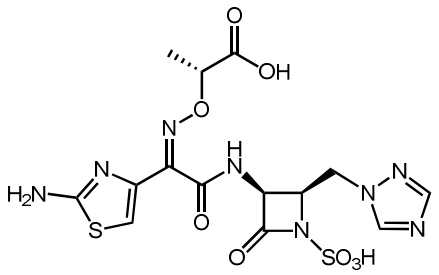
<u>Paso 2:</u> 2-((1,3-dioxoisoindolin-2-il) oxi)propanoato de *(R)* terc-butilo. A una suspensión de N-hidroxiftalimida (3.71 g, 22.1 mmol) y carbonato de potasio (4.58 g, 33.1 mmol) en DMF (55 mL) se añadió 2-cloropropanoato de (S)-*terc*-butilo (4.30 g, 24.3 mmol).

Después de 72 horas de agitación, la suspensión se calentó a 40° C durante 16 horas, en cuyo punto se diluyó con EtOAc/LiCl (5% acuoso) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío proporcionando el compuesto del título (5.45 g, 85%) como un sólido blancuzco. LCMS: R_t = 0.88 min, m/z = 313.9 (M+23) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> 2-(aminooxi)propanoato de *(R)-terc-butilo.* A una solución de 2-((1,3-dioxoisoindolin-2-il) oxi)propanoato de *(R)-terc* butilo (69.6 mg, 0.239 mmol) en DCM (478 µL) a 0° C se añadió hidrazina de metilo (12.8 µL, 0.239 mmol). Después de agitar durante 3 h a 0° C, los sólidos se separaron mediante filtración y el filtrado se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un aceite claro.

<u>Paso 4:</u> Ácido (*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-((((R)-1-(*terc*-butoxi)-1-oxopropan-2-il)imino)-2-(-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico A una solución del Intermediario F (110 mg, 0.219 mmol) en MeOH (2 mL) a 0° C se añadió una solución de 2-(aminooxi)propanoato de *(R)*-terc-butilo (38.5 mg, 0.239 mmol) en DCM:MeOH (2:1, 600 µL) seguido por un lavado de DCM (400 µL). Después de agitar durante 16 h, se concentró parcialmente al vacío luego se diluyó con EtOAc/agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.74 min, m/z = 645.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido (R)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)propanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-3-((Z)-2-((((R)-1-(terc-butoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-

oxoazetidina-1-sulfonico (141 mg, 0.219 mmol), DCM (2.19 mL) y TFA (1.0 L, 13 mmol) El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (35,5 mg, 29%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.42 min, m/z = 489.0 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 8.58 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.41 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.81-4.52 (m, se asume 4H; parcialmente oscurecido con un pico de solvente), 1.29 (d, J = 7.0 Hz, 3H).

Ejemplo 31: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(N-(piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.

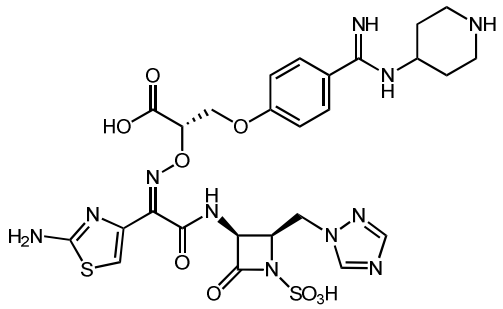
<u>Paso 1:</u> 4-(4-((*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(benzhidriloxi)-3-oxopropoxi)bencimidamida)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo. A una solución de ácido (*S*, *Z*)-2-(((1-(benzhidriloxi)-3-(4-(*N*-(1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (Preparado de acuerdo con WO2013110643, 72 mg, 0.085 mmol), (3*S*, 4*R*)-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-aminoazetidin-2-ona (15.7 mg, 0.094 mmol) y HATU (42,2 mg, 0,111 mmol) en DMF (854 µL) se añadió DIPEA (44.8 µ L, 0.256 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 hora se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, $NaHCO_3$ (acuoso saturado), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (82 mg, 87%) como uno pelicula de color verde oliva. LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 992.5 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ácido (2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-((((*S*)-1-(benzhidriloxi)-3-(4-(*N*-(1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.

4-(4-((*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(benzhidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamida)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (99 mg, 0.10 mmol) in DMF (500 µL) se trató con SO_3•DMF (45.9 mg, 0.299 mmol). Después de agitar durante 40 min se añadió más SO_3•DMF (45.9 mg, 0.299 mmol). Después de 1.3 h se añadió más SO_3•DMF (45.9 mg, 0.299 mmol). Después de agitar durante 30 minutos

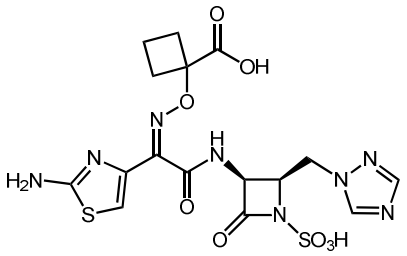
adicionales la solución se vertió en salmuera enfriada en hielo y se extrajo con EtOAc. Las capas se separaron y la capa organica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentro para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) como un sólido blancuzco. LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 1073.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(N-(piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



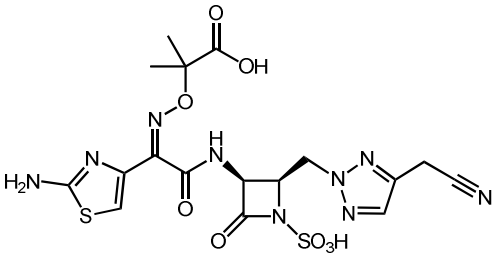
Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-((((*S*)-1-(benzhiydriloxi)-3-(4-(*N*-(1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (0.085 mmol), DCM (850 µL) y TFA (327 µL, 4.25 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (12 mg, 17%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.41 min, m/z = 706.2 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.55 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H) 9.40 (br s, 1H) 9.01 (br s, 1H) 8.53-8.71 (m, 1H) 8.41 (s, 1H) 7.92 (s, 1H) 7.67 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H) 7.21 (br s, 2H) 7.03 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H) 6.76 (s, 1H) 5.17-5.24 (m, 1H) 4.94 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H) 4.46-4.53 (m, 2H) 4.37-4.45 (m, 1H) 4.25-4.32 (m, 1H) 3.88 (br s, 1H) 3.39 (br s, 4H) 2.92 (t, *J* = 11.5 Hz, 2H) 2.05-2.14 (m, 2H) 1.79 (d, *J* = 11.0 Hz, 2H).

Ejemplo 32: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclobutanocarboxílico.



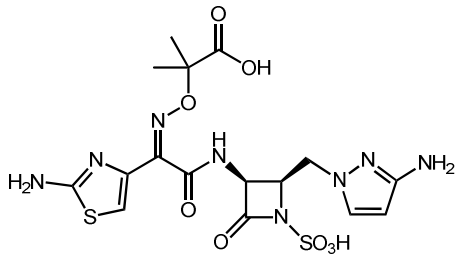
LCMS: R_t = 0.58 min, m/z = 515.0 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 8.75 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 5.56 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.95-4.85 (m, 2H), 4.86-4.82 (m, se asume 1H; parcialmente oscurecido con un pico de solvente), 4.78-4.70 (m, se asume 1H; parcialmente oscurecido con un pico de solvente), 2.61-2.46 (m, 2H), 2.38-2.27 (m, 2H), 2.00-1.89 (m, 2H).

Ejemplo 33: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(cianometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



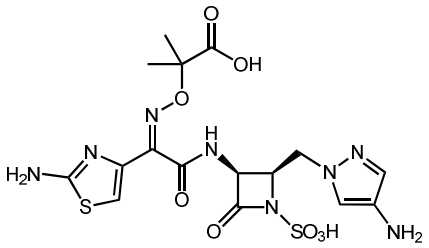
LCMS: R_t = 0.57 min, m/z = 542.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.19 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 6.65 (s, 1H), 5.43-5.23 (m, 1H), 4.93-4.84 (m, 1H), 4.76-4.67 (m, 1H), 4.47 (ddd, *J* = 8.71, 5.4, 3.5 Hz, 1H), 4.07 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H), 1.35 (s, 6H).

Ejemplo 34: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-amino-1H-pirazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



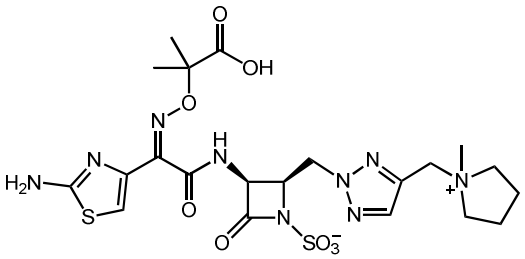
LCMS: R_t = 0.50 min, m/z = 517.3 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.54 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.00 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.40 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.69 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 1.31 (d, *J* = 1.8 Hz, 6H).

Ejemplo 35: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-amino-1H-pirazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 517.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □7.86 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.35 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.72-4.67 (m, 1H), 4.54-4.49 (m, 2H), 1.28 (s, 3H), 1.27 (s, 3H).

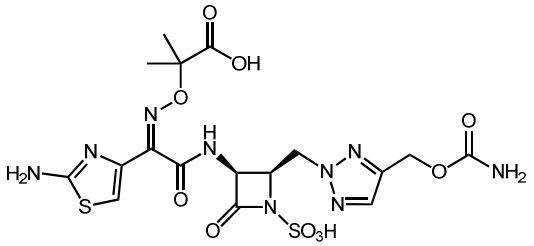
Ejemplo 36: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamido)-2-((4-((1-metilpirrolidin-1-io-1-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.



LCMS: R_t = 0.55 min, m/z = 600.3 (M+) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 12.50 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.27 (s, 2H), 6.72 (s, 1H), 5.33

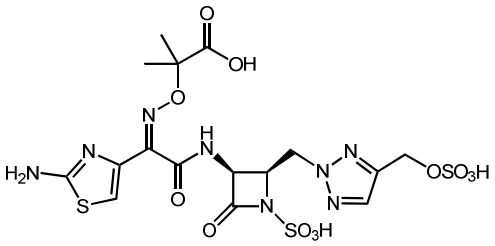
(dd, *J* = 8.6, 5.6 Hz, 1H), 4.82 (dd, *J* = 15.1, 9.2 Hz, 1H), 4.69-4.53 (m, 4H), 3.60-3.50 (m, 2H), 3.46-3.33 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.14-2.00 (m, 4H), 1.35 (s, 3H), 1.29 (s, 3H).

Ejemplo 37: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((carbamoiloxi)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



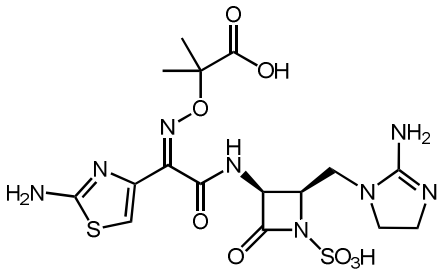
LCMS: R_t = 0.53 min, m/z = 576.0 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □9.23 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.59 (br s, 2H), 5.31 (dd, *J* = 9.2, 5.4 Hz, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.91 (dd, *J* = 14.3, 3.2 Hz, 1H), 4.72 (dd, *J* = 14.2, 9.0 Hz, 1H), 4.42 (ddd, *J* = 8.8, 5.5, 3.1 Hz, 1H), 1.38 (s, 3H), 1.37 (s, 3H).

Ejemplo 38: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-1-sulfo-4-((4-((sulfooxi)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



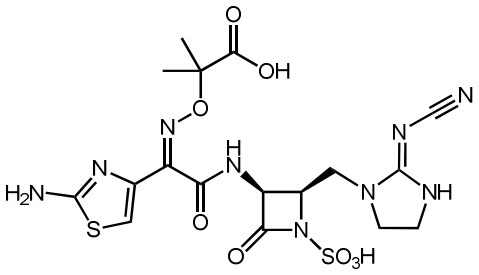
LCMS: R_t = 0.43 min, m/z = 612.9 (M+1) Método 2m_acidic_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.71 (s, 1H), 6.96-7.11 (m, 1H), 5.40 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.93-4.65 (m se asume 3H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 1.34 (s, 6H).

Ejemplo 39: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((2-amino-4,5-dihidro-1H-imidazol-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



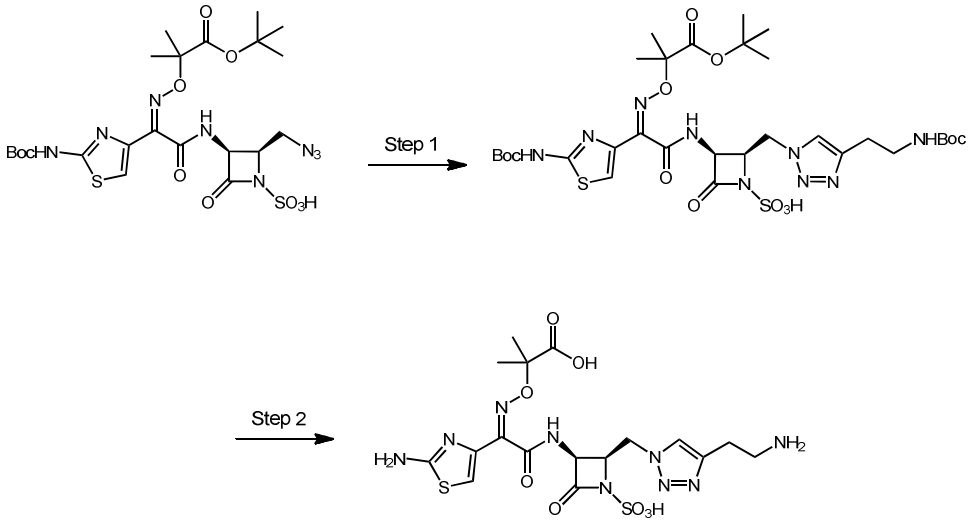
LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 520.1 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 12.63 (br s, 1H) 9.12 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H) 7.74 (d, *J* = 15.3 Hz, 3H) 7.31-7.49 (m, 2H) 6.77 (s, 1H) 5.22 (dd, *J* = 8.5, 5.8 Hz, 1H) 4.24 (dt, *J* = 7.1, 5.3 Hz, 1H) 3.76-3.85 (m, 1H) 3.59-3.73 (m, 2H) 3.43-3.55 (m, 3H) 1.43 (s, 3H) 1.41, (s, 3H).

Ejemplo 40: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((E)-2-(cianoimino)imidazolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



LCMS: R_t = 0.33 min, m/z = 544.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □ 9.29 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H) 7.74 (br s, 1H) 6.85 (s, 1H) 5.20 (dd, *J* = 8.8, 5.7 Hz, 1H) 4.10-4.17 (m, 1H) 3.72-3.81 (m, 1H) 3.62 (dd, *J* = 14.7, 6.8 Hz, 1H) 3.48-3.56 (m, 1H) 3.31-3.42 (m, 3H) 1.43 (s, 3H) 1.41, (s, 3H).

Ejemplo 41: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,4*S*)-2-((4-(2-aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



<u>Paso 1:</u> Ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. A una mezcla del Intermediario K (100 mg, 0.158 mmol) y but-3-in-1-ilcarbamato de *terc-butilo* (54 mg, 0.32 mmol) en DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1:1, 3 mL) se añadió $CuSO_4$ (13 mg, 0.079 mmol) y L-ascorbato sódico (32 mg, 0.16 mmol). Después de agitar durante la noche la mezcla se diluyó con EtOAc y agua. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se lavó con eter/pentano de dietilo, proporcionando el compuesto del título (80 mg, 63%) como un sólido de color blanco. LCMS: m/z = 799.8 (M-1).

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,4*S*)-2-((4-(2-aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico. A una solución ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (110 mg, 0.137 mmol) en DCM (1.4 mL) a 0° C se añadió TFA: DCM (1: 1, 4.2 ml) seguido por trietilsilano (65 µL) La mezcla de reacción se agitó a 0° C durante 30 min y luego se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 2 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío y se trituró con MTBE: Heptano (1:2) tras lo cual se observó un sólido. El sólido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (columna C18, acetonitrilo: sistema solvente acuoso con modificador de ácido fórmico al 0.1%) para proporcionar el compuesto del título (5 mg, 7%); LCMS: m/z = 543.9

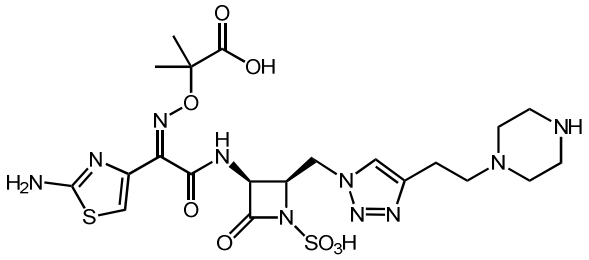
(M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, MeOH-d_4) J = 5.8 Hz, 1H), 4.66 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 4.95-4.83 (m, se asume 2H; oscurecido con agua), 3.29-3.24 (m, 2H), 3.07 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 1.54 (s, 3H), 1.52 (s, 3H).

Ejemplo 42: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((4-(2-(piperazin-1-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> Ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(2-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico.

A una solución del Intermediario K (90 mg, 0.142 mmol) y 4-(but-3-in-1-il) piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (34 mg, 0.14 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1:1, 2.16 mL) se añadió $CuSO_4$ (2.5 mg, 0.016 mmol) y L-ascorbato sódico (5mg, 0.15 mmol). Después de agitar durante la noche la mezcla se diluyó con EtOAc y agua. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se lavó con dietílico/pentano de eter, proporcionando el compuesto del título (120 mg, crudo); LCMS: m/z = 871.4 (M+1).

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((4-(2-(piperazin-1-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



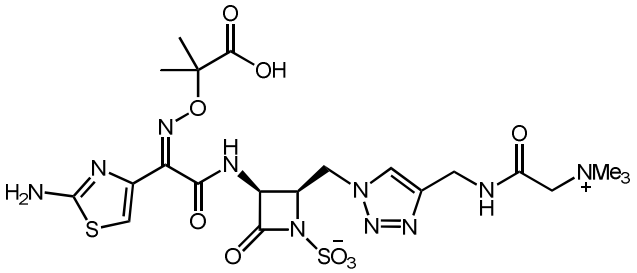
A una solución ácido (2*R*,4*S*)-3-((Z)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(2-(4-(*terc*-butoxicarbonil)piperazin-1-il))etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (120 mg, 0.138 mmol) en DCM (1.4 mL) a 0° C se añadió TFA: DCM (1: 1, 4.2 ml) seguido por trietilsilano (65 µL, 0.411 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0° C durante 30 min y luego se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 2 horas a temperatura

ambiente, se concentró al vacío y se trituró con MTBE: Heptano (1:2) tras lo cual se observó un sólido. El sólido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (columna C18, acetonitrilo: sistema solvente acuoso con modificador de ácido fórmico al 0,1%) para proporcionar el compuesto del título (9.3 mg, 11%); LCMS: m/z = 612.8 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.67 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.30 (s, 2H), 6.66 (s, 1H), 5.27 (dd, *J* = 8.8, 5.5 Hz, 1H), 4.82 (dd, *J* = 14.7, 4.0 Hz, 1H), 4.68 (dd, *J* = 14.7, 6.6 Hz, 1H), 4.24 (td, *J* = 5.9, 4.2 Hz, 1H), 3.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H), 2.76 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.64-2.54 (m, 6H), 1.37 (s, 3H), 1.30 (s, 3H)

Ejemplo 43: (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamido)-2-oxo-4-((4-((2-(trimetilammonio)acetamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)azetidina-1-sulfonato.

<u>Paso 1:</u> Bromuro de 2-(((1-(((*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-*N*,*N*,*N*-trimetil-2-oxoetanamonio. A una solución del Intermediario K (100 mg, 0.158 mmol) y bromuro de *N,N,N*-trimetil-2-oxo-2-(prop-2-in-1-ilamino)etanamonio (50 mg, 0.212 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1:1, 3 mL) se añadió $CuSO_4$ (2.5 mg, 0.016 mmol) y L-ascorbato sódico (5 mg, 0.15 mmol). La mezcla se agitó durante la noche y se inactivó con agua enfriada con hielo, tras lo cual los sólidos resultantes se filtraron y secaron al vacío para proporcionar el compuesto del título crudo (50 mg, 40%); LCMS: m / z = 784.85 (M-1).

<u>Paso 2:</u> (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamido)-2-oxo-4-((4-((2-(trimetilammonio)acetamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)azetidina-1-sulfonato.



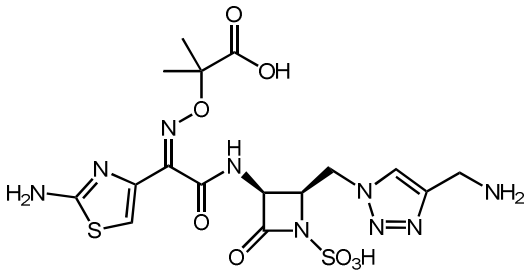
A una suspensión of bromuro de 2-(((1-(((*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-*N*,*N*,*N*-trimetil-2-

oxoetanaminio (50 mg, 0.0635 mmol) en DCM (640 µL) a 0° C se añadio TFA: DCM (1:1, 1.92 mL) seguido por trietilsilano (31 µL, 0.19 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0° C durante 30 min y luego se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 2 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío y se trituró con MTBE: Heptano (1:2) tras lo cual se observó un sólido. El sólido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (columna C18, acetonitrilo:sistema solvente acuoso con modificador de ácido fórmico al 0.1%) para proporcionar el compuesto del título (11 mg, 27%). LCMS: m/z = 630.9 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.40 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 9.06 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.32 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 5.28 (dd, J = 8.6, 5.5 Hz, 1H), 4.89-4.64 (m, 2H), 4.38 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 4.22 (q, J = 5.3 Hz, 1H), 4.08 (s, 2H), 3.22 (s, 9H), 1.33 (s,3H), 1.26 (s, 3H).

Ejemplo 44: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

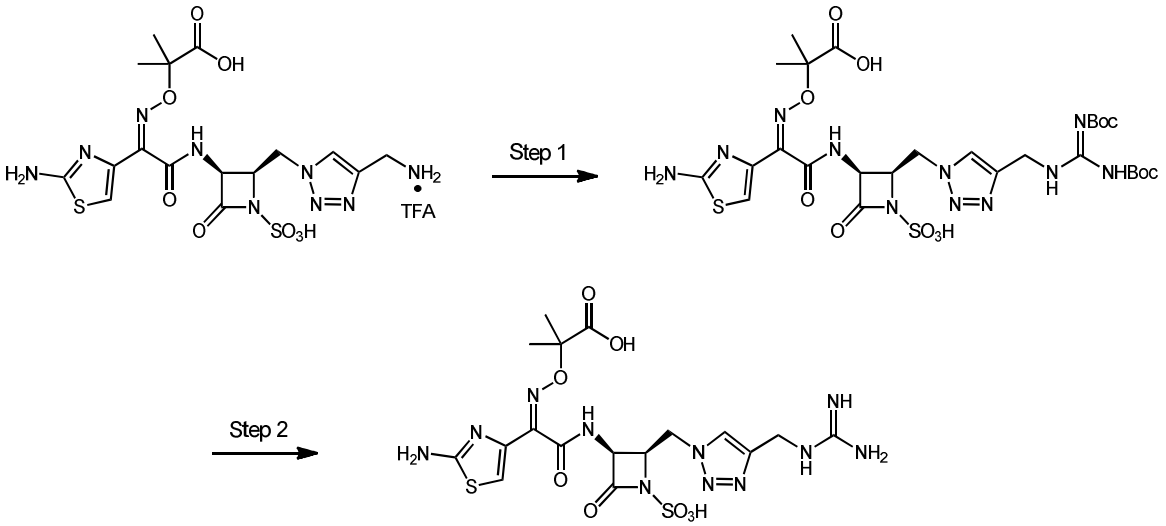
<u>Paso 1:</u> Ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. A una solución del Intermediario K (100 mg, 0.158 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1: 1, 1.5 ml) a 0° C se añadió amina de N-Boc-propargilo (50 mg, 0.321 mmol), $CuSO_4$ (13 mg, 0.079 mmol) y L-ascorbato sódico (48 mg, 0.237 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. Después se diluyó con EtOAc y salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, secaron sobre Na_2SO_4 y luego se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (120 mg, 96%). LCMS: m/z = 787.95 (M+1).

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(aminometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una suspensión de ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (120 mg, 0.15 mmol) en DCM (1.5 mL) a 0° C se añadió TFA: DCM (1:1, 4.5 mL) seguido por trietilsilano (72 μ L, 0.45 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0° C durante 30 min y luego se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 2 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío y se trituró con MTBE: Heptano (1:2) tras lo cual se observó un sólido. El sólido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (columna C18, acetonitrilo:sistema solvente acuoso con modificador de ácido fórmico al 0.1%) para proporcionar el compuesto del título (11.3 mg, 14%). LCMS: m/z = 528.9 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.47 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.30 (s, 2H), 6.75 (s, 1H), 5.27 (dd, *J* = 8.6, 5.6 Hz, 1H), 4.82 (qd, *J* = 14.9, 5.0 Hz, 2H), 4.23 (q, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.09 (s,2H), 1.37 (s, 3H), 1.32 (s, 3H).

Ejemplo 45: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(guanidinometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



<u>Paso 1:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4((2,3-bis(terc-butoxicarbonil)guanidino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico. A una solución de trifluoroacetato de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(ammoniometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (150 mg, 0.122 mmol) en DCM (10 ml) se añadió DIPEA (100 µL, 0.610mmol) seguido de *N, N*-di-Boc-1 *H-pirazol-1-carboxamidina* (42 mg, 0.134 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche tras lo cual se concentró al vacío, se añadió agua y se liofilizó durante 72 horas para proporcionar el compuesto del título crudo (210 mg, se presume conversión cuantitativa). LCMS: m/z = 772.1 (M-1).

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(guanidinometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

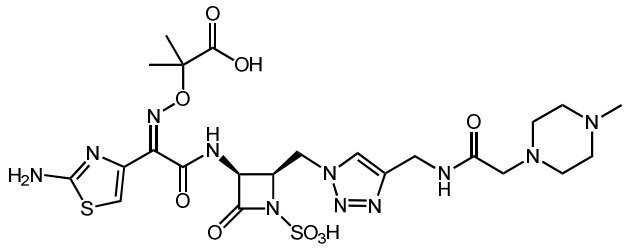
Procedimiento General para la Desprotección Mediada por Ácido. A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4((2,3-bis(terc-butoxicarbonil)guanidino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (0.15 mmol, se presume conversión cuantitativa). El baño helado se retiró después de 10 min. Después de 4 horas a Temperatura ambiente, se diluyó con DCM (1.5 ml) y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (X-Bridge, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; acetonitrilo-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min) para proporcionar el compuesto del título (2.7 mg, 3%). LCMS: m/z = 572.0 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □

^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.91 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 5.31 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.54 (s, 1H), 4.35 (s, 2H), 3.50-3.35 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.18 (s, 3H).

Ejemplo 46: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetamida)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

Paso 1: Ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-((2-(4-metilpiperazin-1-il)acetamido)metil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. A una solución del Intermediario K (100 mg, 0.158 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1: 1, 1.5 ml) a 0° C se añadió 2-(4-metilpiperazin-1-il)-*N*-(prop-2-in-1-il)acetamida (47 mg, 0.24 mmol), $CuSO_4$ (13 mg, 0.079 mmol) y L-ascorbato sódico (48 mg, 0.237 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. Después se diluyó con EtOAc y salmuera y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, secaron sobre Na_2SO_4 y luego se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (110 mg, 84%). LCMS: m/z = 829.1 (M+1).

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(4-metilpiperazin-1-il)acetamida)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



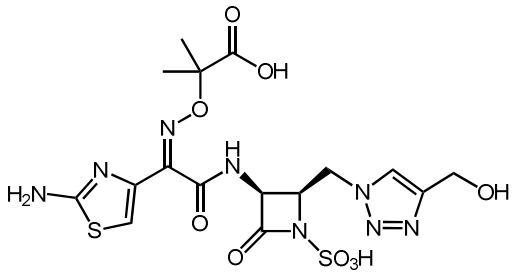
A una suspensión de ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-((2-(terc(4-metilpiperazin-1-il)acetamida)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil-4-oxoazetidina-1-sulfonico (120 mg, 0.13 mmol) en DCM (1.3 mL) a 0° C se añadió TFA: DCM (1:1, 3.9 mL) seguido por trietilsilano (62 µL, 0.39 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0° C durante 30 min y luego se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 2 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío y se trituró con MTBE: Heptano (1:2) tras lo cual se observó un sólido. El sólido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (columna

C18, ACN:sistema solvente acuoso con modificador de ácido fórmico al 0.1%) para proporcionar el compuesto del título (9 mg, 27%). LCMS: m/z = 669.75 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.40 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.33 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 5.29 (dd, *J* = 8.7, 5.6 Hz, 1H), 4.88-4.60 (m, 2H), 4.34 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 4.24 (q, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.20-2.87 (m, 8H), 2.77 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.30 (s, 3H).

Ejemplo 47: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-4-oxozetidina-1-sulfonico A una solución del Intermediario K (126 mg, 0.20 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1: 1, 1.5 ml) a 0° C se añadió amina de N-Boc-propargilo (24 µL, 0.40 mmol), $CuSO_4$ (16 mg, 0.10 mmol) y L-ascorbato sódico (59 mg, 0.30 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. luego se congeló y liofilizó. El residuo crudo se purificó con resina HP21 (agua ACN, 10-100%) para proporcionar el compuesto del título como un sólido marrón claro (100 mg, 73%); LCMS: m/z = 687.1 (M-1).

<u>Paso 2:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc* -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(hidroximetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)meti)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (100 mg,0.145 mmol), DCM (4 mL) y TFA (1 mL, 13 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa T3, 30 x 100 mm, 5 □

m, columna C18; acetronitrilo-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 ml/min) proporcionando el compuesto del título (22 mg, 29%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 530.9 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): □ 12.50 (br s, 1H), 9.36 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.50 (br s, 2H), 6.70 (s, 1H), 5.28 (dd, J = 8.8, 5.2, Hz, 1H), 4.86 (dd, J = 14.4, 4.0 Hz, 1H), 4.69 (dd, J = 14.8, 7.2 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.27-4.21 (m, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

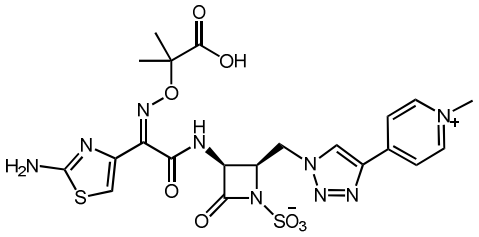
Ejemplo 48: (2 *R*,3 *S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamida)-2-((4-(1-metilpirrolidin-1-io-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.

<u>Paso 1:</u> trifluorometanosulfonato de 4-(((1-(((*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxozetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-1-metilpiridin-1-io.

A una solución del Intermediario K (85 mg, 0.134 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1:1, 1.0 mL) a 0° C se añadió trifluorometanosulfonato de 4-etinil-1-metilpiridin-1-io (72 µL, 0.27 mmol), $CuSO_4$ (11 mg, 0.067 mmol) y L-ascorbato sódico (40 mg, 0.201 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. tras lo cual se diluyó con agua (5mL). El precipitado resultante se lavó con agua (2 mL) y se secó mediante una corriente de N2, proporcionando el compuesto del título (80 mg) como una mezcla con su análogo de azetidinona N-sulfonilado como un sólido de color marrón claro; LCMS: m/z = 748.1 (M-1).

<u>Paso 2:</u> Ácido (*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(1-metilpiridin-1-io-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxozetidina-1-sulfonico trifluorometanosulfonato 4-(1-(((*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-1-metilpiridin-1-io (70 mg, 0.10 mmol) in DMF (1 mL) se trato con SO_3•DMF (80 mg, 0.52 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h y después se concentró al vacío y se purificó mediante resina HP21 (agua ACN, 10-100%), proporcionando el compuesto del título (24 mg, 31%) como un sólido beige. LCMS: m/z = 748.1 (M-1).

<u>Paso 3:</u> (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamida)-2-((4-(1-metilpirrolidin-1-io-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.



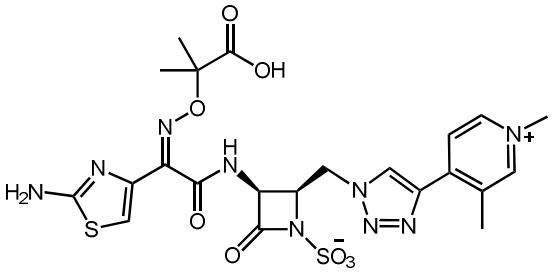
Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(1-metilpiridin-1-io-4-il))-1H-1,2,3-triazol-1-il)meti)-4-oxoazetidina-1-sulfonato (24 mg,0.032 mmol), DCM (1.2 mL) y TFA (0.3 mL, 3.9 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XBridge, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (7.9 mg, 41%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 592.0 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 8.76 (s, 1H), 8.62 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 8.19 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 6.76 (s, 1H), 5.42 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.98-4.81 (m, se asume 2H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 4.66-4.54 (m, se asume 1H: oscurecido con un pico residual de solvente), 4.22 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.27 (s, 3H).

Ejemplo 49: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamida)-2-((4-(1,3-dimetilpiridin-1-io-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.

<u>Paso 1:</u> Ácido (*2R,3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(1,3-dimetilpiridin-1-io-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxozetidina-1-sulfonico

A una solución del Intermediario K (120 mg, 0.19 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1:1, 1.5 mL) a 0° C se añadió trifluorometanosulfonato de 4-etinil-1,3-dimetilpiridin-1-io (107 mg, 0.38 mmol), $CuSO_4$ (15 mg, 0.095 mmol) y L-ascorbato sódico (56 mg, 0.285 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. tras lo cual se diluyó con agua (10mL). El precipitado resultante se lavó con agua (5 mL) y se secó. El residuo crudo se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 10-100%), proporcionando el compuesto del título (80 mg, 55%) como un sólido de color marrón claro; LCMS: m/z = 762.2 (M-1).

<u>Paso 2:</u> (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamida)-2-((4-(1,3-dimetilpiridin-1-io-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(1,3-dimetilpiridin-1-io-4-il))-1H-1,2,3-triazol-1-il)meti)-4-oxoazetidina-1-sulfonato (24 mg,0.032 mmol), DCM (1.2 mL) y TFA (0.3 mL, 3.9 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (T3, 30 x 150 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (12 mg, 62%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 606.1 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 8.65 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.74 (br s, 1H), 5.47 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.97-4.88 (m, 3H), 4.21 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.28 (s, 3H).

Ejemplo 50: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((4-(trimetilsilil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo. A una solución del Intermediario J (120 mg, 0.19 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1: 1, 1.5 ml) a 0° C se añadió trimetilsililacetileno (100 µL, 0.724 mmol), $CuSO_4$ (29 mg, 0.181 mmol) y L-ascorbato sódico (108 mg, 0.543 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. tras lo cual se diluyó con salmuera (5 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante

cromatografia en gel de silice (MeOH-DCM, 7%), proporcionando el compuesto del título (170 mg, 72%) como un sólido de color marrón claro; LCMS: m/z = 651.2 (M+1).

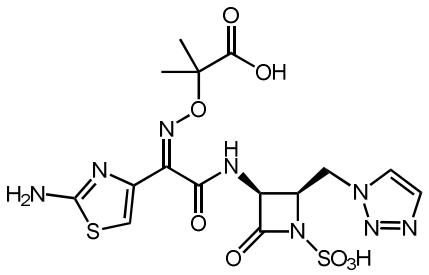
<u>Paso 2:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo

Preparado de acuerdo con el método descrito en WO2013/028590. Una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-(trimetilsilil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (140 mg, 0.261 mmol) en THF (4 mL) se añadió TBAF (1M in THF, 860 µL, 0.86 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, se añadió TBAF adicional (1 M en THF, 1.0 mL, 1.0 mmol). Después de agitar durante otras 48 horas, la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 7%) proporcionando el compuesto del título (84 mg, 68%) como un sólido de color blancuzco. LCMS: m/z = 579.2 (M+1).

<u>Paso 3:</u> Ácido (*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico

2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (84 mg, 0.145 mmol) in DMF (2 mL) se trato con SO_3•DMF (222 mg, 1.45 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas luego se diluyó con EtOAc (50 mL) y agua. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, proporcionando el compuesto del título crudo como un sólido amarillo claro (84 mg, 88%). LCMS: m/z = 657.1 (M-1).

<u>Paso 4:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

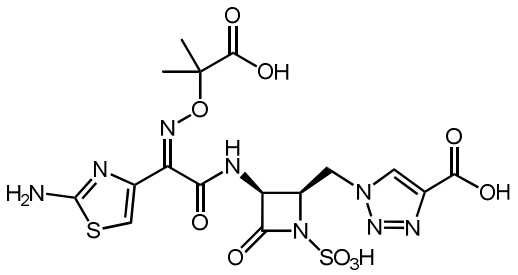


Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*2R*,*3S*)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (80 mg,0.121 mmol), DCM (4 mL) y TFA (1 mL, 13 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (T3, 30 x 150 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (12 mg, 20%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 500.9 (M-1) ; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.95 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 5.38 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.88-4.80 (m, 1H), 4.78-4.70 (m, se asume 2H; oscurecido con un pico residual de solvente), 1.34 (s, 6H).

Ejemplo 51: Ácido (2*R*,3*S*)-3-((Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamida)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico.

<u>Paso 1:</u> Ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. A una solución del Intermediario K (157 mg, 0.248 mmol) en una mezcla de DMSO: agua: *terc-butanol* (1:1:1, 2.0 mL) a 0° C se añadió propiolato de *terc*-butilo (68 µL, 0.496 mmol), $CuSO_4$ (20 mg, 0.124 mmol) y L-ascorbato sódico (198 mg, 0.372 mmol). La mezcla resultante se llevó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. tras lo cual se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL). Las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se concentró al vacío se disolvieron en agua y se liofilizaron, proporcionando el compuesto del título (180 mg, 96%) como un sólido de color amarillo claro; LCMS: m/z = 759.3 (M+1).

<u>Paso 2:</u> Ácido (2R,3S)-3-((Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-carboxipropan-2-il)oxi)imino)acetamida)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico.



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(terc-butoxicarbonil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)meti)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (180 mg,0.237 mmol), DCM (8 mL) y TFA (2 mL, 26 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (T3, 30 x 150 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (35 mg, 27%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 544.9 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 8.43 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.92-4.71 (m, 3H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 1.33 (s, 6H).

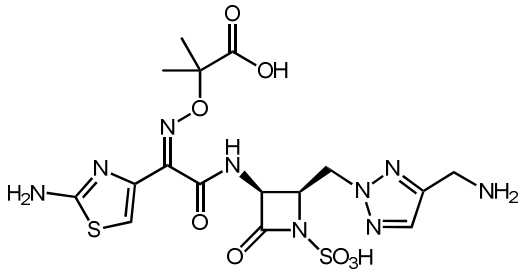
Ejemplo 52: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-4-((3-(((terc-(butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*.

Procedimiento general para la reacción de Mitsunobu. A una solución del Intermediario H (300 mg, 0.569 mmol), ((2H-1,2,3-triazol-4-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (135 mg, 0.682 mmol) y trifenilfosfina (178 mg, 0.682 mmol) en THF (10 ml) a 0 ° C se añadió por goteo DIAD (145 mg, 0,682 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 h, la solución se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-5%), proporcionando el compuesto del título (300 mg, 75%) como una espuma amarilla. LCMS: m/z = 706.2 (M+1).

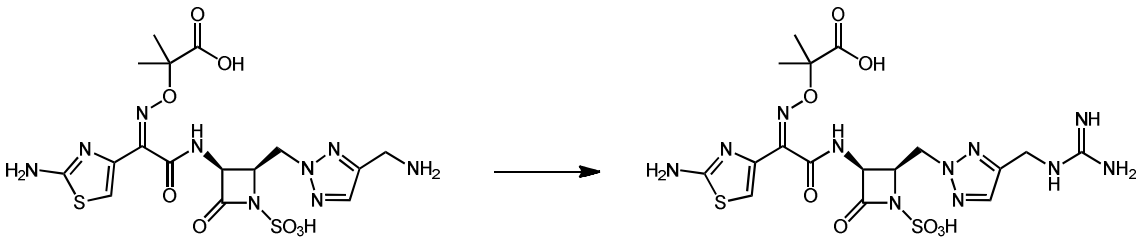
<u>Paso 2:</u> Ácido (2*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (220 mg, 0.311 mmol) in DMF (5 mL) se trato con SO_3•DMF (476 mg, 3.11 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas luego se concentró al vacío y se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 10-50%), proporcionando el compuesto del título (82 mg, 33%). LCMS: m/z = 786.2 (M-1).

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



(2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc* -butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (82 mg, 0.104 mmol) se agitó con ácido formico (2.0 mL) a temperatura ambiente durante 5 horas, el cual eliminó ambos grupos Boc. Después de la concentración al vacío, el material se disolvió en DCM (1.5 ml), se enfrió a 0° C y se trató con TFA (0.5 ml, 6.5 mmol) durante 1 h, tras lo cual se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (T3, 30 x 150 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (17,2 mg, 31%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 529.9 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.67 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.39 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.86-4.74 (m, se asume 3H; oscurecido con un pico residual de solvente), 4.16 (s, 2H), 1.25 (s, 3H), 1.23 (3H, s).

Ejemplo 53: Ácido 2-(((*Z*)-(1(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,4*S*)-2-((3-(guanidinometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R* ,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (60 mg, 0.089 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (16 mg,

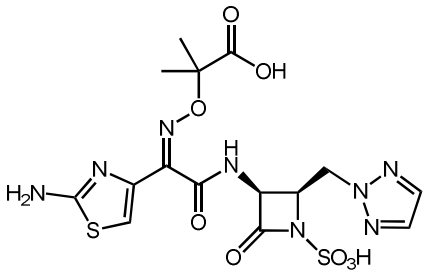
0.11 mmol) en DMF (3 mL) se añadió DIPEA (45 L, 0.27 mmol). Después de agitar durante 16 horas, la solución se concentró y se lavó con éter. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XBridge, 30 x 150 mm, 5 m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (7.5 mg, 15%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 571.9 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): 7.55 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.82-4.76 (m, se asume 1H ; oscurecido con un pico residual de solvente), 4.76-4.72 (m, se asume 2H; oscurecida con un pico residual de solvente), 4.32 (s, 2H), 1.15 (s, 3H), 1.14 (s, 3H).

Ejemplo 54: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo Se siguió el procedimiento general para la reacción de Mitsunobu utilizando el intermediario H (300 mg, 0.569 mmol) 1,2,3-triazol (47 mg, 0.682 mmol), trifenilfosfina (178 mg, 0.682 mmol), DIAD (145 mg, 0.682 mmol) y THF (10 mL). Se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-5%), proporcionando el compuesto del título (320 mg, 97%) como una espuma amarilla. LCMS: m/z = 579.2 (M+1).

<u>Paso 2:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-3-((Z)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (320 mg, 0.553 mmol) in DMF (5 mL) se trato con SO3•DMF (846 mg, 5.53 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas luego se concentró al vacío y se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 10-50%), proporcionando el compuesto del título (70 mg, 19%). LCMS: m/z = 657.1 (M-1).

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



(2*R*,3*S*)-2-((*Z*)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-3-((Z)-2-(((1-(terc-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (70 mg, 0.11 mmol) se agitó con ácido formico (2.0 mL) a temperatura ambiente durante 4 horas, luego se concnetro al vacío. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XBridge, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (8.1 mg, 15%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 500.9 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.60 (s, 2H), 6.94 (s, 1H), 5.39 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.83-4.78 (m, 2H), 4.78-4.68 (m, 1H asumidos; oscurecido por disolvente residual pico), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H).

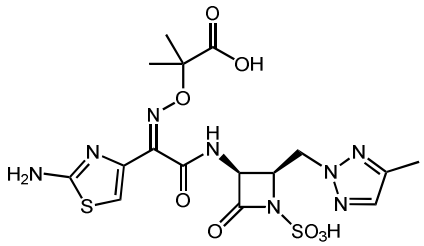
Ejemplo 55: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-((4-metil-2H-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. Se siguió el procedimiento general para la reacción de Mitsunobu utilizando el intermediario H (300 mg, 0.569 mmol) 4-metil-1,2,4-triazol (83 mg, 0.683 mmol), trifenilfosfina (179 mg, 0.683 mmol), DIAD (138 mg, 0.648 mmol) y THF (8 mL). Se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-4%), proporcionando el compuesto del título (160 mg, 47%) como una espuma amarilla. LCMS: m/z = 591 (M-1).

<u>Paso 2:</u> Ácido (*2R,3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-metil-2H-tetrazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico A una solución de 2-(((Z)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (160

mg, 0.270 mmol) en DMF (5 mL) se trató con SO3•DMF (413 mg, 2.70 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas luego se concentró al vacío y se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 10-50%), proporcionando el compuesto del título (77 mg, 43%). LCMS: m/z = 671.1 (M-1).

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



(2*R*,3*S*)-2-((*Z*)-2-(((1-(terc-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil-4-oxoazetidina-1-sulfonico (67 mg, 0.10 mmol) se agitó con ácido formico (1.5 mL) a temperatura ambiente durante 3.5 horas, luego se concnetro al vacío. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XBridge, 30 x 100 mm, 5 □M columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (13.7 mg, 27%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 514.9 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □*J* = 5.6 Hz, 1H), 4.80-4.60 (m, se asume 3H; oscurecido con un pico residual de solvente), 2.10 (s, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H).

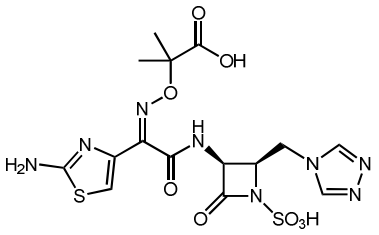
Ejemplo 56: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-il)metil)4-oxoazeidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo. Una solución de hidrazida de ácido fórmico (27.4 mg, 0.456 mmol) y ortoformiato de trietilo (67.6 mg, 0.456 mmol) en MeOH (5 mL) se calentó a reflujo durante 4 horas. Después de enfriar a 40° C, se añadió Intermediario L (120 mg, 0.228 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 20 horas adicionales. Después de enfriar a temperatura ambiente, el solvente se evaporó al vacío y el residuo resultante se disolvió en EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo

crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-10% MeOH-EtOAc), para proporcionar el compuesto del título (95 mg, 72%) como una espuma. LCMS: m/z = 529.1 (M+1).

<u>Paso 2:</u> Ácido (*2R,3S*)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-il)metil)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (95 mg, 0.16 mmol) in DMF (2 mL) se trato con SO3•DMF (251 mg, 1.64 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 h tras lo cual Se añadió más SO_3•DMF (502 mg, 3.28 mmol) y la solución se agitó durante 72 horas adicionales. Se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (77 mg) como un sólido. LCMS: m/z = 657.1 (M-1).

<u>Paso 3:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-il)metil-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R ,3S*)-2-((*4H-1,2,4-triazol-4-il)metil*)-3-((Z)-2-(((1-(*ter*c -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (77 mg, 0.117 mmol), DCM (3 mL) y TFA (1 mL, 13.0 mmol) durante 2 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XBridge, 30 x 100 mm, 5 □m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 1 mL/min), proporcionando el compuesto del título (5.6 mg, 10%) como un polvo blanco. LCMS: m/z = 500.8 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 8.52 (s, 2H), 6.90 (s, 1H), 5.30 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.56 (m, 2H), 4.42 (q, 1H), 1.30 (s, 6H).

Ejemplo 57: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico

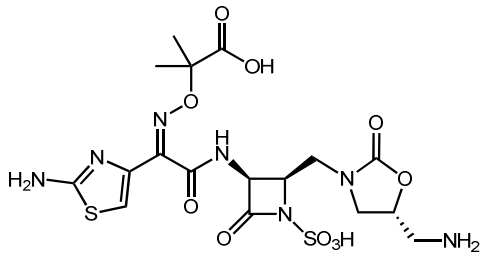
Paso 1:

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*S*)-3-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-hidroxipropil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoate de *terc-butilo*. Una solución de Intermediario L (250 mg, 0.475 mmol) y (oxiran-2-ilmetil)carbamato de *(R)-terc-butilo* (410 mg, 2.38 mmol) en DCM (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h luego se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 4-10%), proporcionando el compuesto del título (250 mg, 75%) como un sólido de color blanco. LCMS: m/z = 698.1 (M-1).

Paso 2: 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*R*)-5-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*. A una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((((R)-2-hidroxipropil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (250 mg, 0.357 mmol) en DCM (10 mL) se añadió CDl (104 mg, 0.643 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 hora, la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 3-5%), para proporcionar el compuesto del título (155 mg, 60%). LCMS: m/z = 724.0 (M-1).

Paso 3: Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-(((R)-5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((R)-5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (155 mg, 0.213 mmol) in DMF (1 mL) se trato con SO_3•DMF (130 mg, 0.854 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas tras lo cual se concentró al vacío y se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 10-50%), proporcionando el compuesto del título (160 mg, 93%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 804.0 (M-1).

<u>Paso 4:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,-5*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(((R)-5-(((*terc* -butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (160 mg,0.199 mmol), DCM (1.5 mL) y TFA (500 □L, 6.49 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (85,8 mg, 78%) como un polvo blanco. LCMS: m/z = 548.0 (M+1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ ppm 6.93 (s, 1H), 5.23 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.76-4.69 (m, 1H), 4.54-4.49 (m, 1H), 3.84 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.56 (dd, *J*=14.8, 9.6 Hz, 1H), 3.41-3.34 (m, 2H), 3.21-3.11(m, 2H), 1.34(s, 3H), 1.32 (s, 3H).

Ejemplo 58: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((S)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico

<u>Paso 1:</u>

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*R*)-3-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-hidroxipropil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoate de *terc-butilo*. Una solución de Intermediario L (400 mg, 0.760 mmol) y (oxiran-2-ilmetil)carbamato de *(S)-terc-butilo* (658 mg, 3.80 mmol) en DCM (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h luego se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 4-10%), proporcionando el compuesto del título (390 mg, 73%) como un sólido de color blanco. LCMS: m/z = 700.1 (M+1).

Paso 2:

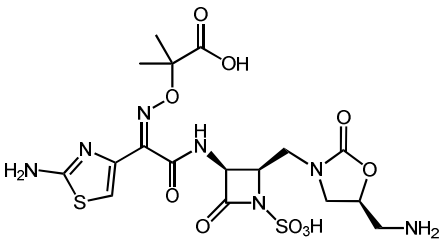
2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((S)-5-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-*butilo*.

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)-2-hidroxipropil)amino)metil)oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (390 mg, 0.557 mmol) in DMF (20 mL) a 0° C se añadió CDl (162 mg, 1.00 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 hora, la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 3-5%), para proporcionar el compuesto del título (168 mg, 41%). LCMS: m/z = 726.1 (M+1).

Paso 3:

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-(((s)-5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((S)-5-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (168 mg, 0.231 mmol) in DMF (1 mL) se trato con SO_3•DMF (142 mg, 0.926 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas tras lo cual se concentró al vacío y se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 10-50%), proporcionando el compuesto del título (155 mg, 83%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 804.0 (M-1).

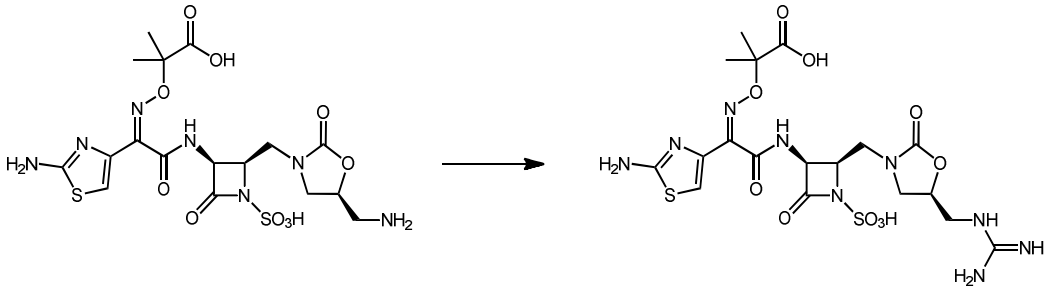
Paso 4: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((S)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico



Se siguió el procedimiento general para desprotección mediada por ácido utilizando ácido (2*R*,-5*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc* -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -

butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-(((S)-5-(((*terc* -butoxicarbonil)amino)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (155 mg,0.192 mmol), DCM (1.5 mL) y TFA (500 □L, 6.49 mmol). La mitad del residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (21,8 mg, 82% aproximadamente) como un polvo blanco. LCMS: m/z = 547.8 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ ppm 6.96 (s, 1H), 5.27 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.80-4.78 (m, 1H), 4.52-4.47 (m, 1H), 3.75-3.66 (m, 2H), 3.49-3.45 (m, 1H), 3.32-3.16 (m, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

Ejemplo 59: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(guanidinometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((Z)-(2-(((*2R* ,*3S*)-2-(((R)-5-(aminometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (0.096 mmol) y clorhidrato de pirazol-1-carboxamidina (21 mg, 0.144 mmol) en DMF (3 mL) se añadió DIPEA (100 mL, 0.576 mmol). Después de 16 horas de agitación a temperatura ambiente, la solución se concentró al vacío y se lavó con eter. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (29 mg, 51%) como un sólido blanco. LCMS m/z = 589.8 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ ppm 6.93 (s, 1H), 5.26 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.65-4.55 (m, 1H), 4.52-4.45 (m, 1H), 3.69-3.61 (m, 2H), 3.44-3.30 (m, 4H), 1.34 (s, 3H), 1.32 (s, 3H).

Ejemplo 60: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

Paso 1, Compuesto A: ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.

Paso 1, Compuesto B: ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((5-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.

Se suspendió metanosulfonato de *((2S, 3S)*-3-(((benciloxi) carbonil) amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metilo (3.74 g, 8.0 mmol), 3-metil-1H-1,2,4-triazol (2.00 g, 24.0 mmol), K_2CO_3 (6.64 g, 48.0 mmol) y NaI (2.88 g, 17.2 mmol) en DMF (16 mL) y se calentaron a 70° C con agitación. Despues de 24 h la mezcla se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2%), proporcionando el compuesto del título (1.64 g, 44%) como un sólido de color blancuzco (mezcla no separable). LCMS: m/z = 466.2 (M+1).

Paso 2, Compuesto A: ((2*R*,3*S*)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.

Paso 2, Compuesto B: ((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.

Preparado de acuerdo con Mastalerz *Chem.* 1988, 31, 1190. A una solución de los compuesto A/B, paso 1 (1.60 g, 3.44 mmol) en ACN: agua (2:1, 45 ml) se añadió $K_2S_2O_8$ (1.86 g, 6.88 mmol) seguido por K_2HPO_4 (1.50 g, 8.60 mmol). La mezcla resultante se calentó a 90° C durante 4 horas tras lo cual se enfrió a temperatura ambiente luego se diluyó con EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 10%), proporcionando el compuesto del título (670 mg, 62%) como un sólido de color blanco. La mezcla se purificó adicionalmente mediante HPLC quiral (Chiralcel-DO, 2 x 25 cm, EtOH-hexanos, 18%), proporcionando el compuesto A (250 mg) y el compuesto B (240 mg).

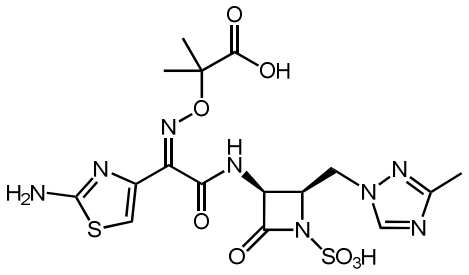
Paso 3: (3*S*, 4*R*)-3-amino-4-((3.metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-azetidin-2-ona.

Una suspensión de ((2 *R*, 3 *S*)-2-*((H*-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il-1 3-metil)carbamato de bencilo (250 mg, 0.79 mmol) y Pd sobre C (10%, 100 mg) en MeOH (20 mL) se evacuó y se llenó de nuevo con H_2 (3x), llevando la presión final a 35 psi. Después de 2 h de agitación, la mezcla se filtró sobre celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

<u>Paso 4:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. A una solución de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (310 mg, 0.72 mmol), (3*S,* 4*R)*-3-amino-4-((3-metil-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)azetidin-2-ona (130 mg, 0.72 mmol) y EDCI (150 mg, 0.79 mmol) en DMF (5 ml) a 0° C se añadió piridina (64 □ L, 0.79 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 24 h, se añadio más ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxiycarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (310 mg, 0,72 mmol) y EDCI (150 mg, 0,79 mmol), junto con HOBt (110 mg, 0.79 mmol) y DIPEA (250 □L, 1.44 mmol). Después de 16 h de agitación adicional, se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 5%), proporcionando el compuesto del título (230 mg, 54%) como un sólido de color blanco. LCMS: m/z = 593.0 (M+1).

<u>Paso 5:</u> Ácido (*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico Se trató 2-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (230 mg, 0.388 mmol) en DMF (4 mL) con SO_3•DMF (594 mg, 3.88 mmol). Despues de 24 horas de agitación la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 5-50%), proporcionando el compuesto del título (100 mg, 38%) como un sólido de color amarillo palido. LCMS: m/z = 673.1 (M+1).

<u>Paso 6:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R* ,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-

(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (100 mg, 0.149 mmol), DCM (4.0 mL) y TFA (1.0 mL, 13.0 mmol) durante 3 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min), proporcionando el compuesto del título (50 mg, 65%) como un polvo blanco. LCMS: m/z = 514.7 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.40 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.72 (br s, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.25 (dd, J = 8.8, 5.6 Hz, 1H), 4.61 (dd, J = 14.4, 5.2 Hz, 1H), 4.47 (dd, J = 14.4, 6.0 Hz, 1H), 4.33 (dd, J = 6.0, 5.2 Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.38 (s, 3H).

Ejemplo 61: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

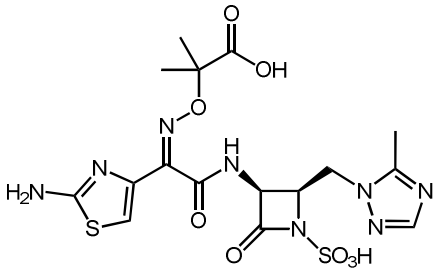
<u>Paso 1:</u> (3*S*, 4*R*)-3-amino-4-((5.metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-azetidin-2-ona. Una suspensión de ((2 *R*, 3 *S*)-2-((*H*-1,2,4-triazol-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il-1 5-metil)carbamato de bencilo (240 mg, 0.76 mmol) y Pd sobre C (10%, 100 mg) en MeOH (20 mL) se evacuó y se llenó de nuevo con H_2 (3x), llevando la presión final a 35 psi. Después de 2 h de agitación, la mezcla se filtró sobre celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

<u>Paso 2:</u> 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo. A una solución de ácido (*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (310 mg, 0.72 mmol), (3*S*, 4*R*)-3-amino-4-((5-metil-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)azetidin-2-ona (130 mg, 0.72 mmol) y EDCI (150 mg, 0.79 mmol) en DMF (5 ml) a 0° C se añadió piridina (64 □ L, 0.79 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 24 horas se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hexanos, 10%), proporcionando el compuesto del título (190 mg, 45%) como un sólido de color blanco. LCMS: m/z = 593.0 (M+1).

<u>Paso 3:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico Se trató 2-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (180

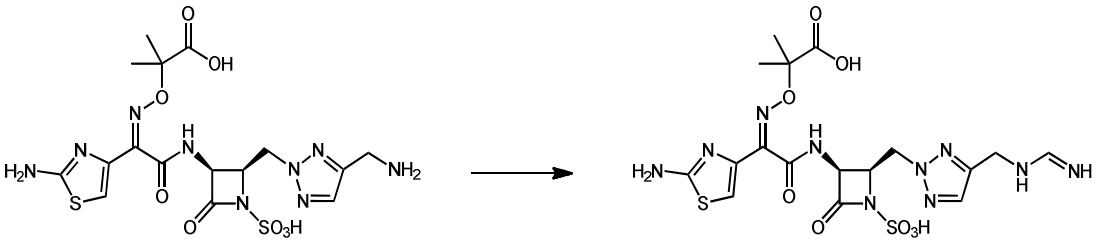
mg, 0.304 mmol) en DMF (4 mL) con SO_5•DMF (466 mg, 3.04 mmol). Despues de 24 horas de agitación la solución se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó con resina HP21 (ACN-agua, 0-50%), proporcionando el compuesto del título (80 mg, 39%) como un sólido blanco. LCMS: m/z = 671.0 (M+1).

<u>Paso 4:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R* ,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-metil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (80 mg, 0.119 mmol), DCM (4.0 mL) y TFA (1.0 mL, 13.0 mmol) durante 5 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min), proporcionando el compuesto del título (15 mg, 24%) como un polvo blanco. LCMS: m/z = 514.8 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.86 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 5.36-5.28 (m, 1H), 4.78-4.66 (m, se asume 1H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 4.54-4.44 (m, 1H), 4.42-4.30 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.25 (s, 6H).

Ejemplo 62: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(formimidamidometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



A una solución de ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R* ,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (100 mg, 0.159 mmol) y clorhidrato de etilformamidato (17.4 mg, 0.159 mmol) en DMF (1 mL) se añadió DIPEA (1.48 mL, 0.32 mmol). Después de 2 horas de agitación, se añadió más hidrocloruro de etilformamidato (9.0 mg, 0.082 mmol) y DIPEA (20 mg, 0.16 mmol). Después de otras 24 horas la solución se concentró y se lavó con eter. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (15.5 mg, 18%) como una mezcla de tautomeros de amidina.. LCMS: m/z = 556.8 (M-1); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.73 (s, 0.4H), 7.65 (s, 0.6H), 7.57 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 5.37 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.80-4.61(m, se asume 3H; oscurecido con un pico residual de solvente) 4.48 (s, 0.4H), 4.45 (s, 0.6H), 1.17 (s, 3H), 1.15 (s, 3H).

Ejemplo 63: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(hidroximetil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u>

2-(((Z)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-((S)-9-hidroxi-2,2-dimetil-5,7-dioxa-11-aza-2-siladodecan-12-il)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo.

A una solución de 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-aminoetil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *terc-butilo* (500 mg, 0.95 mmol) en DCM (5 mL) se añadió (2-((oxiran-2-ilmetoxi)metoxi)etil)silano de (*S*)-trimetilo (485 mg, 2.38 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, se añadió otro 2.5 equiv de (2-((oxiran-2-ilmetoxi)metoxi)etil)silano de *(S)*trimetilo. Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-10%), para proporcionar el compuesto del título (155 mg, 22%). LCMS: m/z = 731.4 (M+1).

<u>Paso 2:</u>

2-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-(((S)-2-oxo-5-(((-2-(trimetilsilil)etoxi)metoxi)metil)oxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *de terc*-butilo. A una solución de 2-

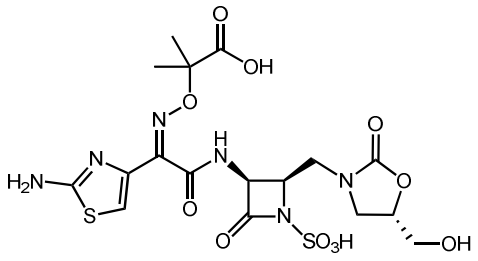
(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((((S)-9-hidroxi-2,2-dimetil-5,7-dioxa-11-aza-2-siladodecan-12-il)-4-xoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (155 mg, 0.21 mmol) en DCM (10 mL) a 0° C se añadió CDl (62 mg, 0.38 mmol). Después de agitar a <15 ˚C durante 2 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 3-5%), para proporcionar el compuesto del título (130 mg, 81%). LCMS: m/z = 755.3 (M-1).

Paso 3:

Ácido (*3S*, *4R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-(((S)-2-oxo-5-(((2-(trimetilsilil)etoxi)metoxi)metil)oxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico. Una solución de 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S 4R*)-2-oxo-4-(((S)-2-oxo-5-((2-(trimetilsilil)etoxi)metoxi)metil)oxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo (130 mg, 0.17 mmol) en DMF (1 mL) se añadió SO_3•DMF (105 mg, 0.69 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. La mezcla cruda se purificó mediante resina HP21 (ACN-agua, 10-50%) para proporcionar el compuesto del título (140 mg, 97%). LCMS: m/z = 705.42 (M-SEM).

Paso 4:

Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(hidroximetil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (*2R* ,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-(((S)-2-oxo-5-(((2-(trimetilsilil)etoxi)metoxi)metil)oxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (140 mg, 0.17 mmol), DCM (2 mL) y TFA (1 mL) durante 3 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua

con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min), proporcionando el compuesto del título (28 mg, 30%) LCMS: m/z = 549.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □ 7.00 (s, 1H), 5.23 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.45-4.40 (m, 1H), 4.10-3.95 (m, 2H), 3.77 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.49 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.39 (m, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.38 (s, 3H).

Ejemplo 64: Ácido-2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-3-(4-(N-(piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.

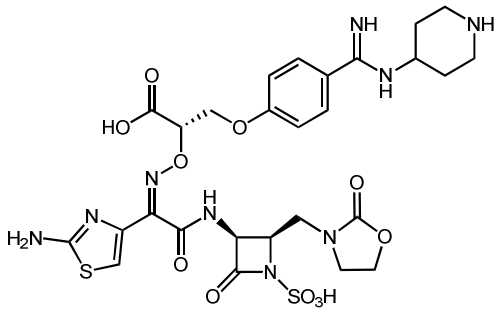
<u>Paso 1:</u> (4-(2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)acetil)tiazol-2-il)carbamato *de terc*-butilo. Preparado de una manera análoga al intermediario E, utilizando intermediario D (0.776 g, 4.19 mmol), ácido 2-(2-*((terc-butoxicarbonil)*amino)tiazol-4-il)-2-oxoacético (1.141 g, 4.19 mmol), HATU (3.071 g, 8.08 mmol) en DMF (20 mL) seguido por DIPEA (3.66 ml, 20.95 mmol). LCMS: R_t = 0.60 min, m/z = 440.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido (*3S*, *4R*)-3-(2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoacetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico. Preparado de una manera análoga al intermediario F, usando (4-(2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidin-3-il)amino)acetil)tiazol-2-il)carbamato (500 mg, 1.138 mmol),SO_3·DMF (523 mg, 3.41 mmol) en DMF (5.7 ml). LC/MS: Rt = 0.54 min; m/z = 520.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> ácido (3*R*,4*S*)-3-((Z)-2-((((S)-1-((benzhidriloxi)-3-(4-(*N*-(1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico. A una solución de ácido (*3S*,*4R*)-3-(2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoacetamida)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (170 mg, 0.328 mmol) en $CHCl_3$ (2 mL, relación:1) y EtOH (6 mL, relación:3) se añadió 4-(4-(2-(aminooxi)-3-(benzhidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamido)piperidina-1-carboxilato (preparado de acuerdo a WO2013110643, 193 mg, 0.328 mmol). Después de agitar durante 2 horas, se añadió AcOH (19 □L, 0.328 mmol). Después de 12 horas, se añadió más solución de ácido (3*S* ,4*R*)-3-(2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoacetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (170 mg, 0.328 mmol) en 3:1 $CHCl_3$:EtOH. Después de agitar durante 45 horas, se concentró al vacío y el residuo crudo se purificó con resina HP21 (10-

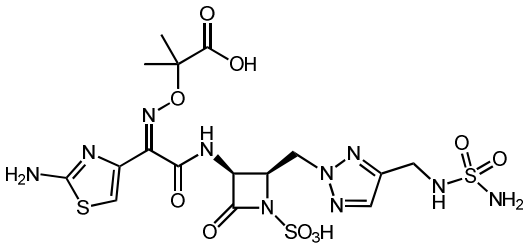
100% ACN-agua), proporcionando el compuesto del título (117 mg, 33%) como un sólido blancuzco. LCMS: Rt = 0.96 min, m/z = 1091.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido-2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-3-(4-(N-(piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido (*3S*,*4R*)-3-((*Z*)-2-((((S)-1-((benzhidriloxi)-3-(4-(N-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-il)metil)azetidina-1-sulfonico (117 mg, 0.107 mmol), DCM (5.3 mL) y TFA (0.413 mL, 5.37 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (23 mg, 28%) como un polvo blanco. LC/MS: R_t = 0.42 min, m/z = 724.5 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6) □□□□□□□□□□*J* = 7.57 Hz, 1 H), 9.43-9.36 (m, 2H), 9.01 (br s, 1 H), 8.53-8.36 (m, 2H), 7.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 3H), 7.26 (br s, 2H), 7.15 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.82 (s, 1H), 5.19 (dd, *J* = 8.7, 5.8 Hz, 1H), 5.02 (t, *J* = 3.8 Hz, 1H), 4.51-4.42 (m, 2H), 4.12-3.96 (m, 3H), 3.90-3.81 (m, 1H), 3.73 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.69-3.62 (m, 1H), 3.58-3.53 (m, 1H), 3.20-3.16 (m, 1H), 2.98-2.85 (m, 1H) 2.13-2.04 (m, 1H), 1.85-1.72 (m, 1H).

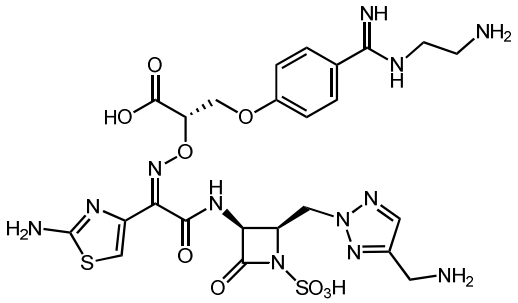
Ejemplo 65: Ácido 2-(((Z)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((sulfamoilamino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 53, utilizando ácido 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico (200 mg, 0.318 mmol), clorosulfonilcarbamato de *terc-butilo* (68 mg, 0.318 mmol), DIPEA (113 mL, 0.636 mmol), y DMF (1 mL). LCMS: m/z = 609.1 (M-1). ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □ 7.65 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.40 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.85-4.83 (m, 1H), 4.76-4.74 (m, 2H), 4.13 (s, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H).

Preparación de clorosulfonilcarbamato de *terc-butilo*: A una solución de terc-butanol (3.2 g, 36.9 mmol) en benceno (13 mL) se añadió clorhidrato de sulfurisocianatidoilo (3.5 mL, 36.6 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla de reacción se inactivo con hexano. La mezcla se enfrió en un baño de hielo, lo cual resultó en la precipitación de un sólido blanco. El sólido se filtró, se lavó con hexano, se secó y se usó en la siguiente etapa inmediatamente (3.2 g, 41%).

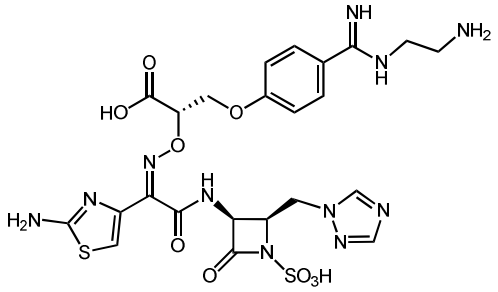
Ejemplo 66: Ácido (S)-3-(4-(N-(2-aminoetil)carbamimidoil)fenoxi)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 31, usando ácido ((2 - (((2*R, 3S)* -3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) -2*H* -1,2,3- triazol-4-il)metil)carbamato y (S,Z)-2-(((1-(benzhidriloxi)-3-(4-(*N* -(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)etil)carbamimidoil)fenoxi)-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (preparada

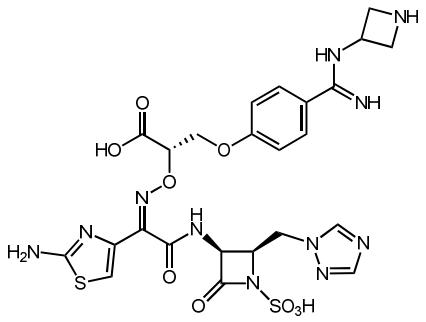
de acuerdo a WO2013110643). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.25 min, m/z = 695.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6)□□ 9.48 (s, 3H), 8.99 (s, 1H), 8.21 (s, 4H), 7.89 (s, 4H), 7.82-7.77 (m, 2H), 7.71 (s, 1H), 7.22 (dd, *J* = 10.5, 8.2 Hz, 4H), 6.72 (s, 1H), 5.33 (dd, *J* = 9.3, 5.5 Hz, 1H), 4.99 (dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, 1H), 4.90 (ddd, *J* = 12.8, 8.0, 3.9 Hz, 1H), 4.78-4.68 (m, 2H), 4.51-4.36 (m, 3H), 4.08 (s, 3H), 3.13 (s, 2H).

Ejemplo 67: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-(2-aminoetil)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



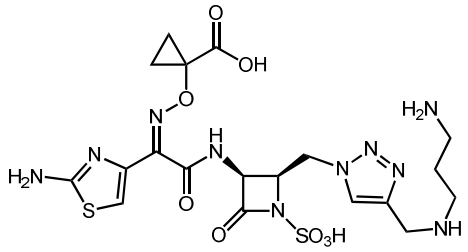
Preparado de manera análoga al ejemplo 66, utilizando (3*S*,4*R*)-4-((1*H* -1,2,4-triazol-1-il)metil)-3-aminoazetidin-2-ona. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.25 min, m/z = 666.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Ejemplo 68: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-(azetidin-3-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 64, usando el intermedio F y 3-(4-(2-(aminooxi)-3-(benzhidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamido) azetidina-1-carboxilato de *(S)-terc*-butilo (preparado de acuerdo con WO2013110643). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.35 min, m/z = 678.2 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): □□13.68-13.03 (m, 1 H), 10.02 (d, *J* = 5.9 Hz, 1 H), 9.57-9.51 (m, 2 H), 9.05 (br s, 1 H), 8.91-8.76 (m, 2 H), 8.39 (s, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H), 7.30 (br s, 2 H), 6.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 6.80 (s, 1H), 5.12-5.04 (m, 2H), 4.74-4.66 (m, 1H), 4.54 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.49-4.35 (m, 3H), 4.31-4.16 (m, 5 H).

Ejemplo 69: Compuesto del ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)amino)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico con ácido fórmico (1: 1).



Preparado de manera análoga al ejemplo 28, utilizando 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico ácido (20 mg, 0.038 mmol), (3 bromopropil) carbamato de *terc-butilo* (60 mg, 0.252 mmol), DIPEA (0.1 ml, 0.572 mmol), y DMF (0.5 ml). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min). LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 587.1 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1} H RMN (500 MHz, D_2O) □ 8,31 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 5,32 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 4,86-4,78 (m, 2H), 4,73-4,66 (m, se asume 1H; oscurecido con un pico residual de solvente), 4,29 (s, 2H), 3.4 - 3.1 (m, 2H), 2,97-2,92 (m, 2H), 1,96 (p, *J* = 7,9 Hz, 2H), 1.22 a 1.11 (m , 2H), 1,10-0,96 (m, 2H).

Ejemplo 70: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(2-aminoetil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

Paso 1:

2-(((Z)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-(11,11-dimetil-9-oxo-10-oxa-2,5,8-triazadodecil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo. A una solución de 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-aminoetil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato *terc-butilo* (100 mg, 0.176 mmol) en DCE (1.8 ml) se añadió (2-oxoetil) carbamato *terc-butilo* (27.9 mg, 0.176 mmol). Después de agitar durate 2 horas, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (112 mg, 0.527 mmol). Después de 12 h, la mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ (aq) saturado y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. Se utilizó como material crudo en el paso 2.

Paso 2:

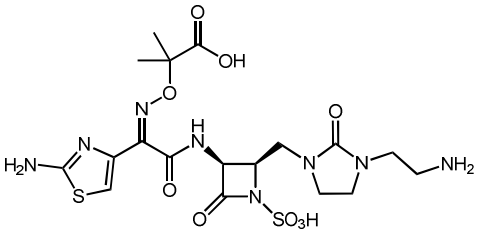
2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *Terc-butilo*. Preparado de manera análoga al ejemplo 3 paso 3, utilizando 2-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(11,11-dimetil-9-oxo-10-oxa-2,5,8-triazadodecil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (135 mg, 0.189 mmol), CDI (46.1 mg, 0.284 mmol), TEA (132 l, 0.947 mmol) y cloroformo (1.9 ml). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LC/MS: R_t = 1.02 min, m/z = 739.4 (M+1) Metodo 2m_acidico.

Paso 3:

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico. Preparado de manera análoga al ejemplo 3, etapa 4, utilizando 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (60 mg, 0.081 mmol), SO_3•DMF (124 mg, 0.812 mmol), DMF (812 l). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LC/MS: R_t = 0.94 min, m/z = 819.2 (M+1) Metodo 2m_acidico.

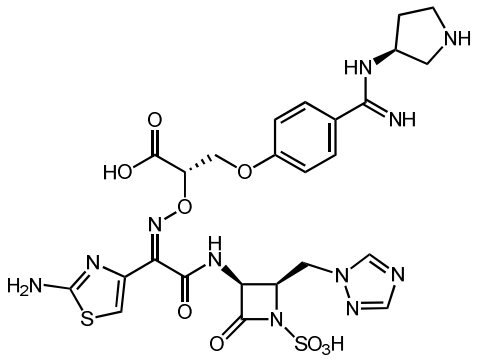
<u>Paso 4:</u>

Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(2-aminoetil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Siguiendo el procedimiento general para desprotección medida por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc* -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((3-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)etil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (42 mg, 0.051 mmol), TFA (237 µl, 3.08 mmol) en DCM (500 □L). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%, 60 ml / min) para proporcionar el compuesto del título (1.2 mg, 4%). LC/MS: R_t = 0.35 min, m/z = 563.2 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□ ^{1} H RMN 6.99 (s, 1 H), 5.32 (d, *J* = 5.9 Hz, 1 H), 4.56-4.50 (m, 1 H), 3.70 (dd, *J* = 15.1, 9.6 Hz, 1 H), 3.59-3.49 (m, 1 H), 3.46 3.30 (m, 4 H), 3.29-3.20 (m, 2 H), 3.08-3.02 (m, 2 H), 1.40 (s, 3 H), 1.38 (s, 3 H).

Ejemplo 71: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-((S)-pirrolidina-3-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 64, utilizando el intermedio F y (R)3-(4-((S)-2-(aminooxi)-3-(benzidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamido) pirrodilina-1-carboxilato de *terc*-butilo (preparado de acuerdo con WO2013110643). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 692.3 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): □□9.52 (d, *J* = 7.6 Hz, 3 H), 9.11 (br s, 1 H), 8.92-8.78 (m, 2 H), 8.40 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 7.30 (br s, 2 H), 6.90 (d, *J* = 9.1 Hz, 2 H), 6.80 (s, 1 H), 5.11-5.04 (m, 2 H), 4.58-4.51 (m, 1 H), 4.48-4.35 (m, 4 H), 4.25-4.20 (m, 1 H), 3.53-3.44 (m, 1 H), 2.35-2.25 (m, 1 H), 2.20-2.11 (m, 1 H).

Ejemplo 72: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-*R*)-5-(hidroximetil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u>

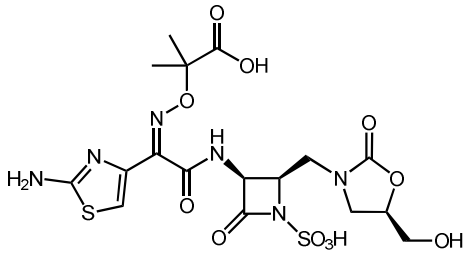
2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*R*)-3-(benziloxi)-2-hidroxipropil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoate de *terc-butilo*. Preparado de manera análoga al ejemplo 63 paso 1, usando 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(aminometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (200 mg, 0.38 mmol), *(R)*-2-((benciloxi) metil) oxirano (623 mg, 3.8 mmol), DCM (2 ml). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 4-10%), para proporcionar el compuesto del título (126 mg, 48%). LCMS: m/z = 691.3 (M+1).

<u>Paso 2:</u>

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*R*)-5-(benziloxi)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*. Preparado de manera análoga al ejemplo 63 paso 2, utilizando 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*R*)-3-(benziloxi)-2-hidroxipropil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metolpropanoate de *terc-butilo* (126 mg, 0,182 mmol), CDI (53 mg, 0.33 mmol), DCM (5 mL). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 3-5%), para proporcionar el compuesto del título (76 mg, 58%). LCMS: m/z = 715.3 (M-1).

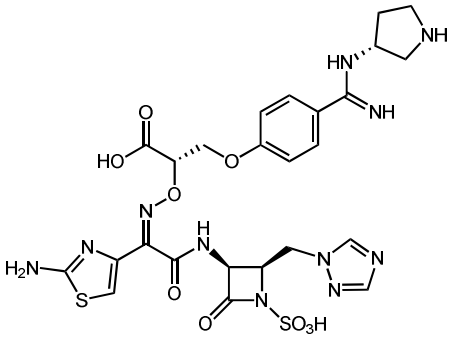
<u>Paso 3:</u> (2R,3S)-2-(((R)-5-((benzilox)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-3-((Z)-2-(((1-(terc-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfonato de 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-((benziloxi)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo Preparado de manera análoga al ejemplo 63 paso 3, utilizando 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((((*R*)-5-(benziloxi)metil-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metolpropanoate de *terc-butilo* (76 mg, 0,11 mmol), CDI (65 mg, 0.42 mmol), DCM (1 mL). El residuo crudo se purificó por medio de resina HP21 (CH_3CN-agua, 10-50%) para proporcionar el compuesto del título (80 mg, 95%). LCMS: m/z = 797.3 (M+1).

<u>Paso 4:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(hidroximetil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



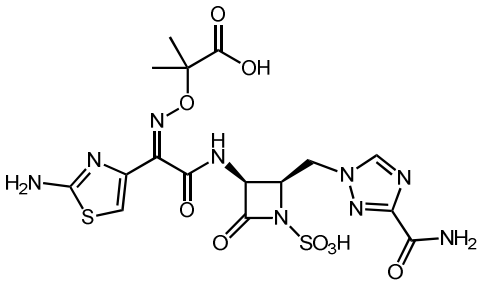
A una solución de (2R,3S)-2-(((R)-5-((bencloxi)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-3-((Z)-2-(((1-(terc-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-Il)acetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfonato de 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-((benciloxi)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato (80 mg, 0.1 mmol) in DCM (10 mL) se añadio BCl3 (1 M in DCM, 0.6 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 min, la mezcla de reacción se inactivó con EtOH y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%, 60 ml / min) proporcionando el compuesto del título (1.1 mg, 2%). LCMS: m/z = 549.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □ 6.96 (s, 1H), 5.29 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.48 (m, 2H), 3.73-3.35 (m, 6H), 1.36 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

Ejemplo 73: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-((R)-pirrolidina-3-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 64, utilizando el intermedio F y (S)3-(4-((S)-2-(aminooxi)-3-(benzidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamido) pirrodilina-1-carboxilato de *terc*-butilo (preparado de acuerdo con WO2013110643). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 692.3 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): □□9.52 (d, *J* = 7.6 Hz, 3 H), 9.11 (br s, 1 H), 8.92-8.78 (m, 2 H), 8.40 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H) 7.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 7.30 (br s, 2 H), 6.90 (d, *J* = 9.1 Hz, 2 H), 6.80 (s, 1 H), 5.11-5.04 (m, 2 H), 4.51-4.58 (m, 1 H), 4.48-4.35 (m, 4 H), 4.25-4.19 (m, 1 H), 3.53-3.44 (m, 1 H), 2.35-2.26 (m, 1 H), 2.29-2.11 (m, 1 H).

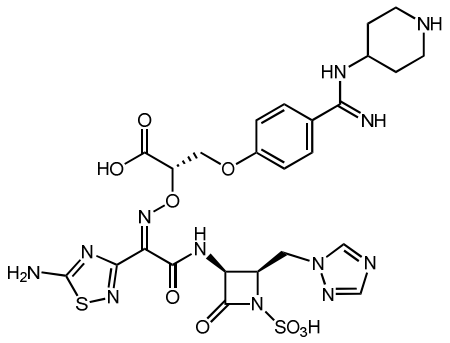
Ejemplo 74: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-carbamoil-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 4, utilizando (1-(((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1*H-1,2,4-triazol*-3-carbonil) carbamato de *terc-butilo*. LCMS: m/z =

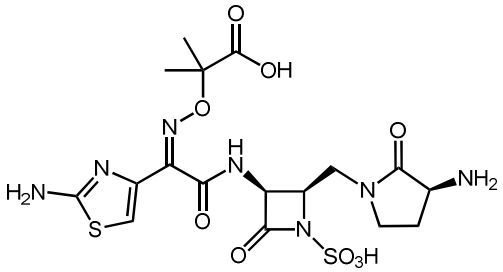
544.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □ 8.41 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 5.36-5.32 (m, 1H), 4.75-4.50 (m, 3H, parcialmente oscurecido por un pico residual de solvente), 1.23 (s, 6H).

Ejemplo 75: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-(piperidin-4-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 31, utilizando ácido 2-(5-*((terc-butoxicarbonil)*amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-oxoacético. LCMS: R_t = 0.305 min, m/z = 707.4 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O): □□8.02 (s, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.43 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 6.77 (d, *J* = 9.1 Hz, 2 H), 5.24 (d, *J* = 5.9 Hz, 1 H), 5.10-5.06 (m, 1 H), 4.44-4.29 (m, 4 H), 4.01-3.88 (m, 1 H), 3.49 (d, *J* = 13.6 Hz, 2 H), 3.21-2.99 (m, 2 H), 2.33-2.23 (m, 2H), 1.92-1.80 (m, 2 H).

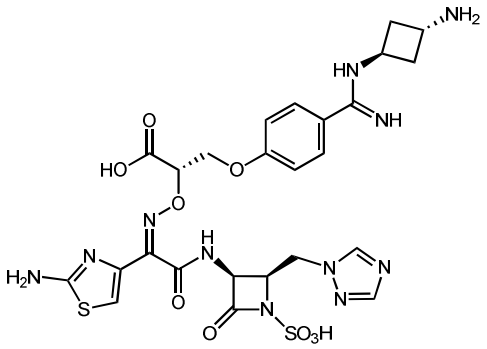
Ejemplo 76: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((S)(3-amino)-2-oxoxipirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 1, utilizando 4-bromo-2-*((terc-butoxicarbonil)* amino) butanoato de *(S)*-metil. LCMS: m/z = 532.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□□□□□□□□s□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 6.0 Hz, 1H), 4.70-4.58 (m,

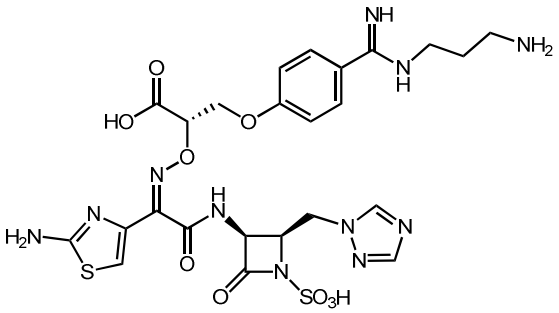
1H), 4.02 (t, *J* = 9.6 9.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 9.6 9.2 Hz, 1H), 3.59 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.34 (dd, *J* = 14.8 2.4 Hz, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.37 (s, 3H).

Ejemplo 77: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-((1r,3S)-3aminociclobutil)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 31, utilizando 2-aminooxi)-3-(4-(*N*-((1*r*,3*S*)-3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)ciclobutil)carbamimidoil)fenoxi)propanoato de *(S)*-benzhidrilo LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 692.1 (M+1) Metodo 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) *J* = 8.1 Hz, 1H), 9.33 (br s, 1H), 8.71 (br s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.05-7.97 (m, 3H), 7.91 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.30 (br s, 2H), 6.89 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 6.80 (s, 1H), 5.13-5.04 (m, 2H), 4.55-4.49 (m, 1H), 4.47-4.33 (m, 3H), 4.24-4.16 (m, 2H), 3.97-3.86 (m,1H), 2.69-2.52 (m, 4H).

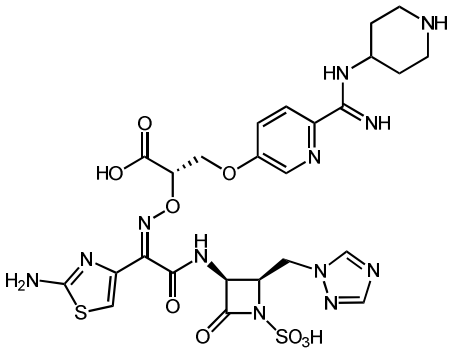
Ejemplo 78: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-(3-aminopropil)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 67, utilizando 2-(aminooxi)-3-(4-*(N*-(3-*((terc-butoxicarbonil)* amino) propil) carbamimidoil) fenoxi) propanoato de *(S)*-benzhidrilo

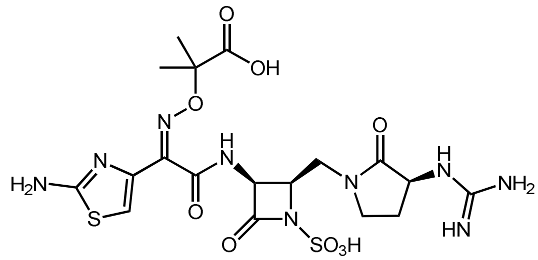
(preparado según WO2013110643). LCMS: R_t = 0.38 min, m/z = 680.2 (M+1) Metodo 2m_acidico_polar; □^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) □ 9.59-9.47 (m, 2H), 9.34 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.79-7.67 (m, 3H), 7.66-7.62 (m, 2H), 7.29 (s, 2H), 6.94-6.88 (m, 2H), 6.80 (s, 1H), 5.10 (dd, *J* = 8.1, 5.5 Hz, 1H), 5.06 (dd, *J* = 5.0, 2.7 Hz, 1H), 4.56-4.48 (m, 1H), 4.48-4.35 (m, 3H), 4.26-4.19 (m, 1H), 2.90 (dd, *J* = 8.9, 5.5 Hz, 3H), 1.96-1.83 (m, 2H).

Ejemplo 79: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(6-(*N*-(piperidin-4-il)carbamimidoil)piridin-3-il)oxi)propanoico.



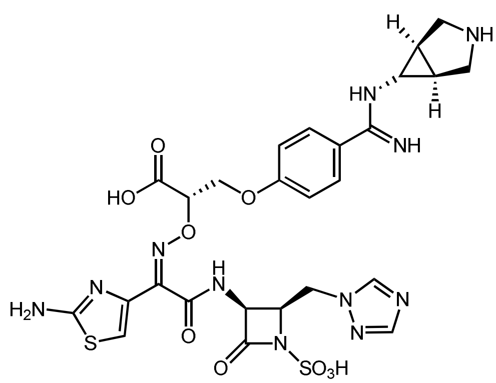
Preparado de manera análoga al ejemplo 68, usando el intermediario F y 4-(5-(2-(aminooxi)-3-(benzhidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamido) azetidina-1-carboxilato de *(S)-terc*-butilo (preparado de acuerdo con WO2013110643). LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 707.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): □□□□□□□□□□□□*J* = 7.8 Hz, 1 H), 9.58 (br s, 1 H), 9.24 (br s, 1 H), 8.45-8.40 (m, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.27-8.21 (m, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H), 7.84 (s, 1 H), 7.65-7.59 (m, 1H), 7.24 (br s, 2 H), 6.77 (s, 1 H), 6.50 (s, 1 H), 5.18-5.11 (m, 1H), 5.09-5.03 (m, 1H), 4.64-4.58 (m, 1H), 4.55-4.49 (m, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 4.23 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.96-3.85 (m, 1H), 3.45-3.40 (m, 2H), 2.94-2.83 (m, 2H), 2.10-2.02 (m, 2H), 1.92-1.81 (m, 2H).

Ejemplo 80: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((S)(3-guanidino-2-oxoxipirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 20, utilizando ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-3-amino-2-oxopirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico y HCl de 1H-pirazol-1-carboximidamida. LCMS: m/z = 576.2 (M+1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 6.0 Hz, 1H), 4.72-4.57 (m, 1H), 4.27 (t, *J* = 9.6 & 9.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.59 (t, *J* = 9.2, 8.8 Hz, 1H), 3.49 (q, 1H), 3.34 (dd, 1H), 2.46 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.33 (s, 3H).

Ejemplo 81: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-((1R,5S,6S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-6-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 31, utilizando 6-(4-((*R*)-2-(aminooxi)-3-(benzhidriloxi)-3-oxopropoxi)benzimidamido)-3-azabiciclo[3.1.0]hexane-3-carboxilato-hidrato de (1*R*,5*S*,6S)-*terc*-butilo. LCMS: R_t = 0.42 min, m/z = 704.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □ 9.70 (br s, 1H), 9.56-9.45 (m, 2H), 9.14-8.96 (m, 2H), 8.54 (br s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.63 (d,*J* = 7.9 Hz, 2H), 7.28 (br s, 2H), 6.88 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 6.78 (s, 1H), 5.10-5.02 (m, 2H), 4.54-4.48 (m, 1H), 4.45-4.35 (m, 3H), 4.23-4.17 (m, 1H), 3.61-3.54 (m, 4H), 2.73-2.68 (m, 1H), 2.25 (br s, 2H).

Ejemplo 82: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminoetil)isoxazol-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

Paso 1: **((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((E)-2-metoxivinil)-oxoazeditin-3-il)carbamato de bencilo.** A una suspensión de cloruro de (metoximetil) trifenilfosfonio (10.34 g, 30,2 mmol) en THF (100 ml) a-78° C se añadió lentamente KHMDS (en tolueno) (66.3 ml, 33.1 mmol). Después de agitar durante 30 min, la solución de iluro preparada anteriormente se añadio a una solución de bencilo ((2 *S,* 3 *S)*-1-(2.4-dimetoxibencilo)-2-formil-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de (3 g, 7.53 mmol) en THF (38 ml) a-78 ° C. Afer 3 h, la mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (aq, 60 ml), y se agitó durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 0-60%) para proporcionar el compuesto del título (1,6 g, 49%) junto con el isómero trans (0,8 g, 25%). LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 427.0 (M+1). Método 2m_acídico:

Paso 2:

((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-oxo-4-((2-oxoetil)azetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R,*3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-*((E)*-2-metoxivinil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (1.58 g, 3.70 mmol) en dioxano (37ml) se añadió HCl (7.4 ml, 7.4 mmol) y se calentó a 50° C durante 4 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO3 (aq) saturado y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (, EtOAc-Heptano-80%), para proporcionar el compuesto del título (0,89 g, 58%). LCMS: R_t = 0.86 min, m/z = 413.0 (M+1). Método 2m_acídico:

Paso 3: **((2*R*,3*S)*-1-2,4-dimetoxibencil)-2-((E)-2-hidroximino)etil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo.** A una solución de clorhidrato de hidroxilamina (160 mg, 2.25 mmol) y bicarbonato sódico (2,4 ml, 2.23 mmol) en agua (6 ml) se añadió una solución de((3 *S,* 4 *R)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-oxo-4-(2-oxoetil) azetidin-3-il) carbamato de bencilo (886 mg, 2.15 mmol) en EtOH (200 l), seguido por un lavado de EtOH (200 µL). Después de agitar durante 20 h, la mezcla de reacción se concentró parcialmente al vacío y se particióno entre DCM y salmuera. La capa acuosa se extrajo con DCM (2x). Las capas orgánicas

combinadas se lavaron con salmuera, se secaron,se filtraron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.76 min, m/z = 428.1 (M+1). Método 2m_acídico:

Paso 4: A una solución ((2*R,*3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-*((E)*-2-(hidroxiimino) etil)-3-il-4-oxoazetidin)carbamato de bencilo (403 mg, 0.94 mmol) y *N-Boc* propargilamina (156 mg, 0.97 mmol) en DCM (12 ml) a 0° C se añadió por goteo hipoclorito de sodio (5%, 2.6 ml, 1.89 mmol). Después de agitar durante 18 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y agua. La capa acuosa se extrajo con DCM (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (, EtOAc-Heptano-80%), proporcionando el compuesto del título (127 mg, 23%). LCMS: R_t = 0.96 min, m/z = 581.2 (M+1). Método 2m_acídico:

Paso 5:

A una solución del intermediario del paso 4 (279 mg, 0,48 mmol) en acetonitrilo (4.6 ml, relación: 2) y agua (2.3 ml, relación: 1) peroxidisulfato de potasio se añadió (169 mg, 0.62 mmol), y fosfato de potasio, dibásico (192 mg, 1.1 mmol) y se calentó a 90 ° C. Después de 3 h, se añadió más peroxidisulfato de potasio (81 mg, 0.3 mmol) y se calentó a 90 ° C. Después de 2 h de calentamiento adicional, la mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano-80%), proporcionando el compuesto del título (71 mg, 34%). LCMS: R_t = 0.77 min, m/z = 431.0 (M+1). Método 2m_acídico.

Paso 6: ***((Z)*-4-amino-5-((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)-2-oxopent-3-en-1-il) carbamato de *terc-butilo*.** A una solución del intermedio de la etapa 5 (84 mg, 0.20 mmol) en EtOH (1.9 mL, relación:2) y MeOH (0.93 ml, relación:1) se añadió Pd-C (22 mg, 20 □ mol) y se purgó con N_2. El matraz se equipó con un globo de H_2, se evacuó y se llenó de nuevo con H_2 (3x). Después de 1.5 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite con lavado de MeOH (3x). El filtrado se concentró al vacío y se formó el azeótropo con tolueno. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 229.1 (M+1). Método 2m_acídico:

Paso 7:

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((Z)-2-amino-5-((terc-butoxicarbonil)amino-4-oxopent-2-en-1-il)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoate de *terc-butilo*.

Preparado de manera análoga al ejemplo 4 paso 4, utilizando ácido (*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-l)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxcarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (100 mg, 0.23 mmol), HATU (89 mg, 0.23 mmol), DIPEA (68µl, 0.39 mmol), *((Z)*-4-amino-5-((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)-2-oxopent-3-en-1-il) carbamato de terc-butil (58 mg, 019 mmol) y DCM: DMF (3:1. 2 ml). 79 mg. LCMS: R_t = 0.98 min, m/z = 710.4 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 8:</u>

2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((terc-(butoxicarbonil)amino)metil)isoxazol-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*. A una solución de 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((*Z*)-2-amino-5-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-4-oxopent-2-en-1-il)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (77 mg, 0.108 mmol)) en etanol (0.4 mL) se añadió hidrocloruro de hidroxilamina (19 mg, 0,27 mmol) y carbonato de potasio (18 mg, 0.13 mmol) y se calentó a 60° C. Después de 6 h, la mezcla de reacción se concentró parcialmente al vacío y se particionó entre EtOAc y agua. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron,se filtraron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc-Heptano, 5-90%), para proporcionar el compuesto del título (13 mg, 17%). LCMS: R_t = 1.04 min, m/z = 708.3 (M+1). Método 2m_acídico:

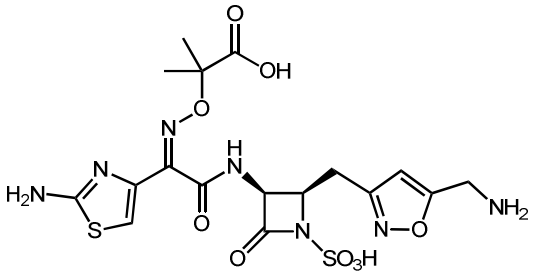
<u>Paso 9:</u>

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)isoxazol-3-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

Preparado de manera análoga al ejemplo 4, etapa 5, utilizando 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)isoxazol-3-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (13 mg, 18 mmol), SO_3 • DMF (16,8 mg, 0.11 mmol), DMF (200µl). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.94 min, m/z = 788.4 (M+1). Método 2m_acídico:

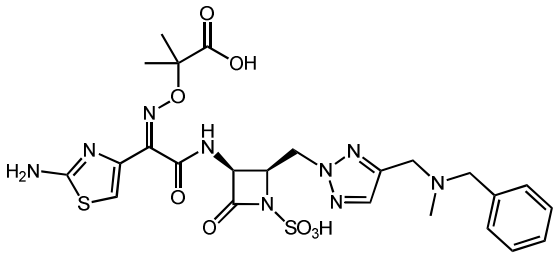
<u>Paso 10:</u>

Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminoetil)isoxazol-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



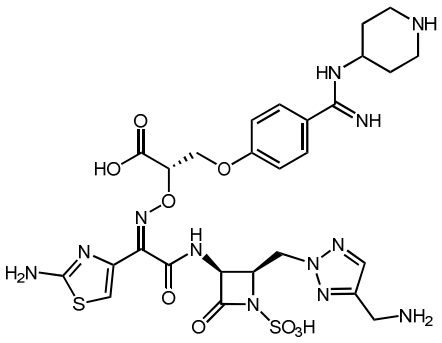
Siguiendo el procedimiento general para desprotección medida por ácido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc* -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((5-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)isoxazol-3-il)metil)-4-oxoazetidina-1- sulfonico (10.9 mg,14 mmol), TFA (70 µl, 0.91 mmol) y DCM (0.2 □L). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%, 24 ml/min) para proporcionar el compuesto del título (1.7 mg, 17%). LCMS: R_t = 0.48 min, m/z = 532.1 (M+1). Método 2m_acídico_polar. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 6.85 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.22 (dd, *J* = 16.2, 7.1 Hz, 2H), 3.10 (dd, *J* = 16.2, 6.0 Hz, 1H), 1.33 (s, 3H), 1.29 (s, 3H).

Ejemplo 83: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4 benzil)metil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 52, utilizando *N*-((2*H*- 1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N-metil-1-fenilmetanamina.* LCMS: m/z = 634.1 (M-1). ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) □□7.79 (s, 1H), 7.40-7.31 (m, 5H), 6.89 (s, 1H), 5.43 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.96-4.89 (m, 1H), 4.87-4.83 (m, 2H), 4.70-4.60 (m, 2H,parcialmente solapado con D 2 O señal), 4.36 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.27 (s, 3H).

Ejemplo 84: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-(*N*-(azetidin-3-il)carbamimidoil)fenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 31, utilizando (2-(((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H-1,2,3-triazol*-4-il)metil) carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.44 min, m/z = 735.3 (M+1). Método 2m_acídico: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□9.63-9.48 (m, 1H), 9.45-9.33 (m, 2H), 9.02 (s, 1H), 8.56 (br s,1H), 8.44 (br s, 1H), 8.22 (s, 3H), 7.74-7.67 (m, 3H), 7.26 (br s, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.72 (s, 1H), 5.38-5.30 (m, 1H), 5.01-4.96 (m, 1H), 4.93-4.86 (m, 1H), 4.77-4.68 (m, 1H), 4.49-4.35 (m, 3H), 4.08 (br s, 2H), 3.85 (br s, 2H), 2.96-2.84 (m, 2H), 2.13-2.03 (m, 2H), 1.83-1.70 (m, 2H).

Ejemplo 85: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4 (((azetidin-3ilmetil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> ***1-(((Z)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato.*** A una solución de ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (218 mg, 0.39 mmol) en DCM (5 mL) y DMF (1 ml) a 0ºC se añadió DIPEA (0.11 ml, 0.61 mmol), HATU (170 mg, 0.446 mmol), y (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) azetidina-2-ona (80 mg, 0.41 mmol). Después de agitar a 0° C durante 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), proporcionando el compuesto del título (250 mg, 86%). LCMS: Rt = 0.98 min, m/z = 717.3 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 2:</u> 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (440 mg, 0.614 mmol) en THF (4 mL) se añadió MnO_2 (1.2 g, 13.51 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 h, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite con lavado de THF (20 mL). El filtrado se concentro y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), para proporcionar el compuesto del título (300 mg, 68%). LCMS: R_t = 1.04 min, m/z = 715.3 (M+H). Método 2m_acídico:

<u>Paso 3:</u>

3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhIdrIloxI)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de*terc-butilo*. A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetlideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (150 mg, 0.21 mmol) en DCE (4 mL) a 0º C se añadió 3-(aminometil) azetidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (78 mg, 0.420 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (66,7 mg, 0.315 mmol), y DMF (0.4 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 h, la mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ (aq) saturado y se diluyó con 10% EtOH/DCM (40 ml). La capa orgánica se separó, se secó con (Na_2SO_4) se filtro y se concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.55 min, m/z = 885.5 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 4:</u>

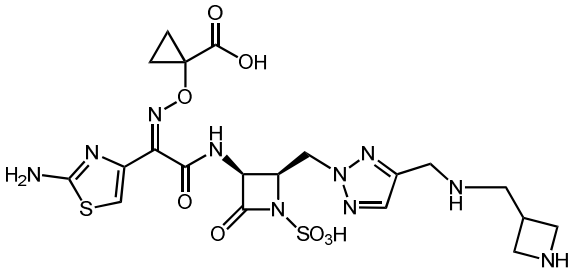
3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhIdrIloxI)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)terc-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de *terc-butilo*. A una solución de 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato *de terc-butilo* (186 mg, 0.21 mmol) y $NaHCO_3$ (aq) saturado (4 ml, 0.210 mmol) en DCM (4 mL) se añadió Boc_2O (137 mg, 0.630 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, las capas de mezcla de reacción se separaron. La capa acuosa se

extrajo con DCM y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano,50-80%), para proporcionar el compuesto del título (120 mg, 58%). LCMS: R_t = 1.24 min, m/z = 985.7 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 5:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)((1-(*terc*-butoxcarbonl)azetidin-3-il)metil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico. Preparado de manera análoga al ejemplo 19 etapa 3, usando 3-((((2-(((2R,3S)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhiIdriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)(*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (120 mg, 0.122 mmol), SO_3 • DMF (192 mg, 1.22 mmol), y DMF (1.2 ml). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 1.12 min, m/z = 1065.7 (M+1). Método 2m_acídico:

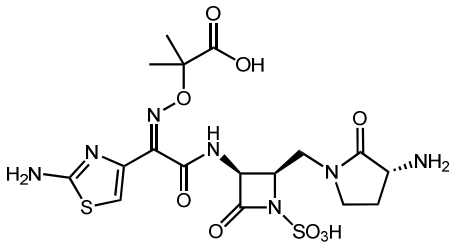
<u>Paso 6:</u>

Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4 (((azetidin-3ilmetil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección medida por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)((1-(*terc*-butoxicarbonil)azetidin-3-il)metil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (130 mg, 0.122 mmol), TFA (0.56 mL, 7.32 mmol), y DCM (1.5 ml). 6,3 mg. LCMS: R_t = 0.47 min, m/z = 599.3 (M+1). Método 2m_acídico_polar. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □□7.82 (s, 1 H), 7.10 (s, 1 H), 5.61 (d, *J* = 5.9 Hz, 1 H), 5.01 (q, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.95-4.85 (m, 2 H), 4.36 (s, 2 H), 4.26-4.15 (m, 2 H) 4.11-3.97 (m, 2 H), 3.46-3.30 (m, 3 H), 1.26 (s, 2 H), 1.20-1.05 (m, 2 H).

Ejemplo 86: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)(3-amino)-2-oxoxipirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 76, utilizando 4-bromo-2-*((terc-butoxicarbonil)* amino) butanoato de *(R)*-metil. LCMS: m/z = 532.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□□□□□□□□s□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 6.0 Hz, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.96 (t, *J* = 10.0 & 9.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 10.4 & 10.0 Hz, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.31 (dd, 1H), 2.47 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.34 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

Ejemplo 87: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazol-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.

<u>Paso 1:</u> ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((2,5-dioxoimidazolidin-1-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. El procedimiento general para la reacción de Mitsunobu se siguió utilizando el intermediario G (10.0 g, 25 mmol) imidazolidina-2, 4-diona (2.5 g, 25 mmol), trifenilfosfina (7.9 g, 30 mmol), DIAD (6.1 g, 30 mmol) y THF (150 ml). El precipitado resultante (8.3 g, 69%), el cual fue ligeramente contaminado con óxido de trifenilfosfina, se recolecto mediate filtración. LCMS: m/z = 481.0 (M-1).

<u>Paso 2:</u> 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyiloxi)carbonil)amino)-1-(2,4-dimetoxibenzil)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2,4-dioxoimidazolidine-1-carboxilato *de terc*-butilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((2,5-dioxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (4.60 g, 9.54 mmol) y di-terc-butidicarbonato(2.30 g,10.5mml) en DCM (55mL) se añadió DMAP (0.150 g, 1.33 mmol). Después de 3 h a temperatura ambiente, se añadió agua, tras lo cual se separaron las capas. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (4,20 g, 75%).

<u>Paso 3:</u> 3-(((2R,3S)-3-(((benzyiloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2,4-dioxoimidazolidine-1-carboxilato *de terc*-butilo. Preparado de una manera análoga al ejemplo 4, etapa 2 utilizando 3-(((2R,3S)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-1-(2,4-dimetoxibenzil)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2,4-dioxoimidazolidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (900 mg, 1.70 mmol) $K_2S_2O_8$ (280 mg, 2.89 mmol), y K_2HPO_4 (680 mg, 2.91 mmol) en ACN:agua (2:1, 30 mL) mientras se calienta a 90° C durante 4 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío, eliminando la mayor parte del ACN. La mezcla se diluyó con agua/EtOAc y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-6%), para proporcionar el compuesto del título (170 mg, 23%). LCMS: m/z = 431.0 (M-1).

<u>Paso 4:</u> 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-4-hidroxi-2-oxoimidazolidina-1-carboxilato *de terc*-butilo. A una solución de 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2,4-dioxoimidazolidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (170 mg, 0.390 mmol) en EtOH (10 mL) a 0° C se añadió borohidruro de sodio (30 mg, 0.78 mmol). Después de 3 h a 0° C, la mezcla se inactivó con solución saturada de NH_4Cl (acuoso) y se concentró parcialmente al vacío. La bicapa acuosa se extrajo con DCM y la capa orgánica se seco sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacio. El residuo resultante se utilizó como tal en el paso 5. LCMS: m/z = 457.1 (M+Na).

<u>Paso 5:</u> 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazol-1-carboxilato *de terc*-butilo. A una solución de 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-4-hidroxi-2-oxoimidazolidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (160 mg, 0.368 mmol) en DCM (5 mL) a 0° C se añadió cloruro de metanosulfonilo (31 µl, 0.41 mmol) seguido por TEA (0.15 ml, 1.1 mmol). Después de agitar durante 1 h a 0° C, la solución se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 2-5%), proporcionando el compuesto del título (100 mg, 65%). LCMS: m/z = 415.1 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): □*J* = 8.4 Hz, 1H), 6.61 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.15 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 5.21 a 5.9 (m, 3H), 4.30 (dd, *J* = 14.4, 9.6 Hz, 1H), 4.01-3.94 (m, 1H), 3.49 (dd, *J* = 14.8, 3.2 Hz, 1H), 1.46 (s, 9H).

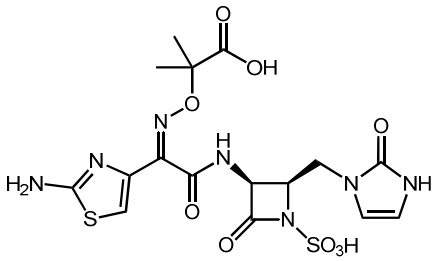
Paso 6; 3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazol-1-carboxilato de *terc* butil. Una mezcla de 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2-oxo-2,3-dihidro-1 *H*-imidazol-1-carboxilato de *terc*-butilo (490 mg, 1.18 mmol) y paladio sobre carbono (10% por peso, 140

mg) en MeOH (60 ml) se evacuó y se lleno nuevamente con H_2 (3x), llevando la presón final hasta 30 psi. Después de 2 h de agitación, la mezcla se filtró a través de celite y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 46%), proporcionando el compuesto del título (50 mg, 25%).

<u>Paso 7:</u> 3-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(terc-butoxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazol-1-carboxilato de-*terc-butilo*. Preparado de manera análoga al ejemplo 4 paso 4, utilizando ácido (*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-l)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxcarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (117 mg, 0.276 mmol), HATU (105 mg, 0.276 mmol), DIPEA (36 mg, 0.28 mmol), 3-((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2-oxo-2-3-dihidro-1H-imidazol-1-carboxilato de terc-butil (65 mg, 0.23 mmol) y DCM: DMF (5 mL). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 3%), proporcionando el compuesto del título (140 mg, 88%). LCMS: m/z = 694.0 (M+1).

<u>Paso 8:</u>

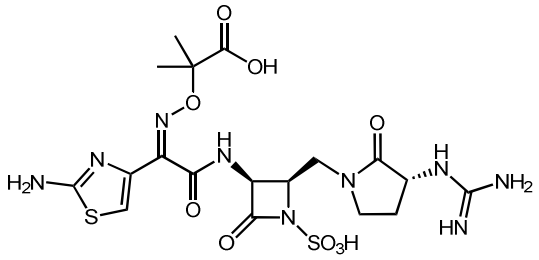
Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-Butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-2oxo-2,3-dihidro-1H-imidazol-1-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. A una solución de 3-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazol-1-carboxilato de *terc-butilo* (140 mg, 0.202 mmol) en DMF (1.0 ml) se añadió SO_3 • DMF (185 mg, 1.21 mmol). Después de 4 h a temperatura ambiente, la solución se concentró al vacío y se purificó sobre resina HP21 (ACN-agua, 10-50%), proporcionando el compuesto del título (90 mg, 58%). LCMS: m/z = 772.3 (M-1).



<u>Paso 9:</u> Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S,4R*)-2-oxo-4-((2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazol-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico. Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando 3-(((2*R,*3*S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) -2-oxo-2,3-dihidro- 1*H* -

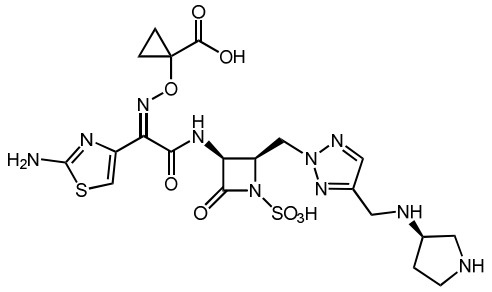
imidazol-1-carboxilato de *terc* butil (preparado a partir de 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benziloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2,4-dioxoimidazolidina-1-carboxilato de *terc-butilo*) (90 mg, 1.16 mmol), TFA (0.5 mL, 6.4 mmol) y DCM (1.5 ml). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) para proporcionar el compuesto del título (15.6 mg, 60%) como un sólido blancuzco. LCMS: m/z = 516.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □ 6.98 (s, 1H), 6.41 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.30 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 5.30 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.54-4.52 (m, 1H), 4.00-3.95 (m, 1H), 3.84-3.79 (m, 1H), 1.35 (s, 3H), 1.34 (s, 3H).

Ejemplo 88: Ácido 2-(((*Z*)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)(3-guanidino-2-oxoxipirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 20, utilizando ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-3-amino-2-oxopirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico y HCl de 1*H-pirazol-1-carboximidamida.* LCMS: m/z = 574.1 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□□□□□□□□s□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 5.6 Hz, 1H), 4.53 (m, 1H), 4.24 (t, *J* = 9.6 & 9.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 9.2 & 9.2 Hz, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.40 (t, *J* = 9.2 & 8.8 Hz, 1H), 3.32 (dd, 1H), 3.34 (dd, 1H), 2.43 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.36 (s, 3H), 1.32 (s, 3H).

Ejemplo 89: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4(((R)-pirrolidin-3-ilamino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetid-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 85, usando 3-aminopirrolidina-1-carboxilato de *(R)-terc*-butilo. LCMS: R_t = 0.46 min, m/z = 599.3 (M+1) Método 2m acidico polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□□□□□□□□s,□□□□□□□□□□□□□□(s,□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 5.5 Hz, 1 H), 4.99 (s, 1 H), 4.90 (d, *J* = 3.9 Hz, 2 H), 4.46 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 4.20-4.14 (m, 1 H), 3.82 (dd, *J* = 13.1, 8.0 Hz, 1 H), 3.65-3.38 (m, 2 H), 2.67-2.57 (m, 1 H), 2.31-2.20 (m, 1 H), 1.34 (t, *J* = 4.3 Hz, 3 H), 1.25-1.19 (m, 2 H).

Ejemplo 90: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> 1-(((Z)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato. A una solución de ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (2.5 g, 4.43 mmol) en DCM (78 mL) y DMF (15 ml) a 0ºC se añadió DIPEA (1.2 ml, 7.00 mmol), HATU (1.9 g, 5.13 mmol), y (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) azetidina-2-ona (0.92 g, 4.67 mmol). Después de agitar a 0° C durante 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), proporcionando el compuesto del título (2.5 g, 75%). LCMS: R_t = 0.98 min, m/z = 717.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> 1-(((Z)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2R,3S)-2-((4-formil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato. A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de

benzhidrilo (1,8 g, 2.57 mmol) en THF (21 ml) se añadió MnO_2 (4.9 g, 56.5 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 h, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite con lavado de THF (250 mL). El filtrado se concentro y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), para proporcionar el compuesto del título (1,4 g, 76%). LCMS: R_t = 1.04 min, m/z = 715.3 (M+H). Método 2m_acídico:

Paso 3:

1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)amino)metil)2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de terc-butilo.

A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetlideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (370 mg, 0.52mmol) en DCE (4 mL) a 0º C se añadió secuencialmente 3-(aminopropil) carbamato de *terc-butilo* (180 mg, 1.04 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (165 mg, 0.78 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM, se lavó con $NaHCO_3$ saturado (acuosa.), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 873.2 (M+1). Método 2m_acídico:

Paso 4:

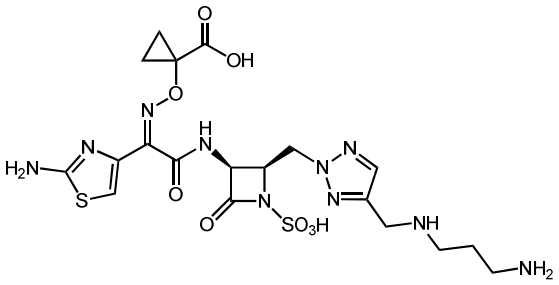
1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc-butoxicarbonil)(3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)amino)metil)2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de *terc-butilo*. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil)amino)metil)2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (0.45 g, 0.52 mmol) en DMF (6 mL) at 0 ºC se añadio Boc-anhidrido (0.24 mL, 1.04 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 18 h, se añadió DIPEA (0.18 ml, 1.04 mmol). Después de agitar durante 36 horas, la mezcla reación se vertió con agua y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con LiCl al 5%, salmuera, se secaron,se filtraron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía

en gel de sílice (EtOaC-Heptona, 0-60%), para proporcionar el compuesto del título (0,40 g, 80%). LCMS: R_t = 1.26 min, m/z = 973.3 (M+H). Método 2m_acídico:

Paso 5:

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)(3-((*terc*-butoxcarbonl)amino)propil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-((*terc*-butoxicarbonil)(3-((terc-butoxicarbonil)amino) propil)amino)metil)2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (0.40 g, 0.41 mmol) en DMF (5 mL) a 0 ºC se añadio SO_3•DMF (0.63 g, 4.12 mmol).. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con LiC al 5% (acuosa.), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (0.42 g, 97%) LCMS: R_t = 1.10 min, m/z = 1053.6 (M+H). Método 2m_acídico:

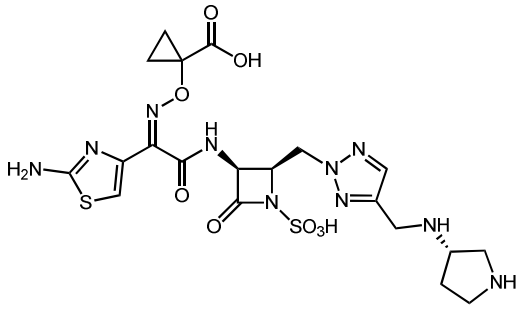
Paso 6: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*ter*c-butoxicarbonil)(3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil)amino)metil)-2*H* -1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (0.5 g, 0.48 mmol), DCM (2.5 mL) y TFA (1 mL, 13 mmol) durante 1.5 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 ml/min) proporcionando el compuesto del título (123 mg, 42%). LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 587.2 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): □□9.39 (br s, 1 H), 7.76 (s, 1 H), 7.22 (s, 2 H), 6.73 (s, 1 H), 5.33 (dd, *J* = 9.0, 5.5 Hz, 1 H), 4.84 (dd, *J* = 14.3, 4.5 Hz, 1

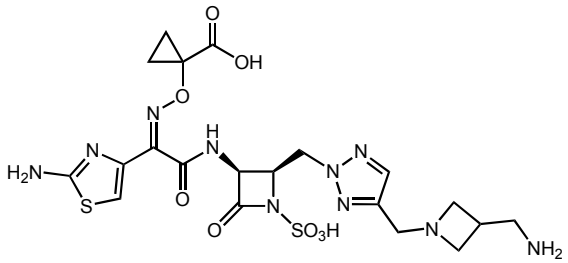
H), 4.73-4.61 (m, 1 H), 4.61-4.48 (m, 1 H), 4.27-4.14 (m, 2 H), 3.02-2,89 (m, 3 H), 2.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H), 1.85 (p, *J* = 7.5 Hz, 3H) 1.32-1.04 (m, 6 H); 1H NMR (400 MHz, D_2O) □ 7.90 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 5.67 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.12-5.04 (m, 1H), 5.04-4.88 (m, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.30-3.22 (m, 2H), 3.16 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.24-2.08 (m, 2H), 1.37-1.26 (m, 2H), 1.26-1.08 (m, 2H).

Ejemplo 91: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4(((R)-pirrolidin-3-ilamino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetid-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



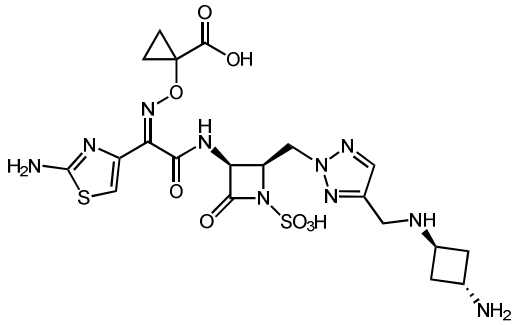
Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando 3-aminopirrolidina-1-carboxilato de benzhidrilo y 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-forml-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de *(S)-terc* butil en el paso 3. LCMS: R_t = 0.3 min, m/z = 599.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): □□□□□□□□□□□□□*J* = 9.0 Hz, 1 H), 9.04-8.59 (m, 2 H), 7.79 (s, 1 H), 7.24 (br s, 2 H), 6.72 (s, 1 H), 5.35 (dd, *J* = 9.0, 5.5 Hz, 1 H), 4.93-4.81 (m, 1 H), 4.68-4.60 (m, 1 H), 4.55 (s, 1 H), 4.24 (br s, 2 H), 3.95-3.79 (m, 1 H), 2.27-2.11 (m, 1 H), 2.04-1.90 (m, 1 H), 1.38-1.06 (m, 4 H).

Ejemplo 92: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(aminometil)azetidin-1-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



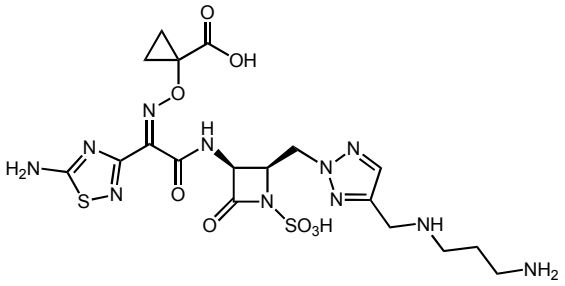
Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (azetidin-3-ilmetil)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.46 min, m/z = 599.4 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □*J* = 5.5 Hz, 1 H) 5.00 (m, 1 H) 4.89 (m, 2 H) 4.52 (s, 2 H) 4.35 (m, 2 H) 4.23-4.03 (m, 2 H) 3.38-3.21 (m, 3 H) 1.31 (m, 2 H) 1.18 (m, 2 H).

Ejemplo 93: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((((1r,3R)-3-aminociclobutil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



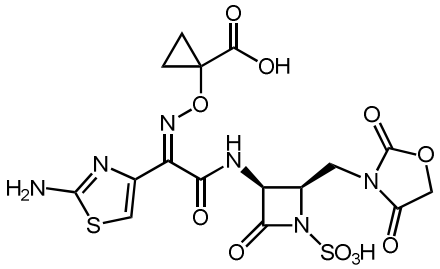
Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando ((1*r*,3*r*)-3-aminociclobutil)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.46 min, m/z = 599.3 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□□□□□□□(s,□□□□□□□□□□□□□□□(s□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 5.9 Hz, 1 H), 5.04-4.84 (m, 3 H), 4.31 (s, 2 H), 4.14-4.00 (m, 2 H), 2.81-2.60 (m, 4 H) 1.26 (s, 2 H), 1.19-1.06 (m, 2 H).

Ejemplo 94: Ácido(((*Z*)-(1-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4 (((3-aminopropil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



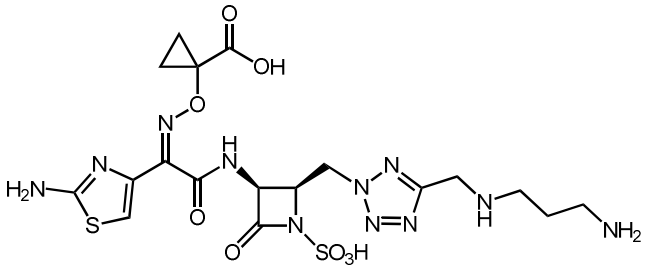
Preparado de manera análoga al Ejemplo 90, utiliuzando ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(5-((*terc* -butoxicarbonil)amino)-1,2,4-tiadiazol-3-il)acetico. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 588.0 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): □□9.53-9.29 (m, 1 H), 8.15 (s, 2 H), 7.75 (s, 1 H) 5.40-5.28 (m, 1 H), 4.82-4.69 (m, 1 H), 4.63 (s, 2 H), 4.21 (d, *J* = 5.1 Hz, 2 H), 3.00-2.91 (m, 2 H), 2.85 (s, 2 H), 1.91-1.74 (m, 2 H), 1.37-1.04 (m, 4 H).

Ejemplo 95: Ácido 1-(((*Z*)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((2,4-dioxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



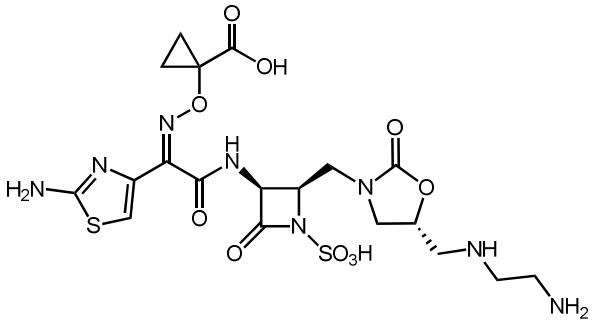
Preparado de manera análoga al ejemplo 54, utilizando 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo y oxazolidineo-2,4-diona. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 533.0 (M+1) Metodo 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □*J* = 5.9 Hz, 1 H), 4.86-4.83 (m, 3 H), 4.07 (dd, *J* = 14.5, 9.8 Hz, 1 H), 3.72 (dd, *J* = 14.5, 3.9 Hz, 1 H), 1.58-1.52 (m, 2 H), 1.51-1.45 (m, 2 H).

Ejemplo 96: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((3-aminopropil)amino)metil)-2*H*-tetrazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



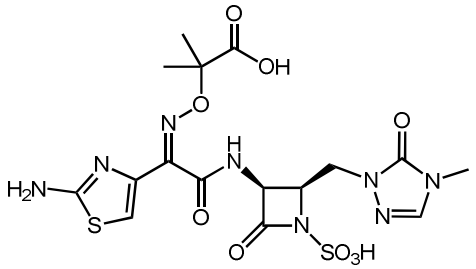
Preparado de manera análoga a los procedimientos descritos en los ejemplos 54 y 90, utilizada 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo y 5-*(((terc* butildimetilsilil)oxi)metil) -2H-tetrazol. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 588.4 (M+1) Metodo 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□9.41 (br s, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.24 (s, 1 H), 6.75 (s, 1 H), 5.38-5.32 (m, 1H), 4.86 (dd, *J* = 14.3, 4.5 Hz, 1 H), 4.72-4.63 (m, 1H), 4.61-4.55 (m, 1H), 4.28-4.16 (m, 1H), 3.01-2.94 (m, 1H), 2.87 (t, *J* = 7.4 Hz, 1 H), 1.92-1.82 (m, 1H), 1.33-1.18 (m, 2 H), 1.18-1.08 (m, 1 H).

Ejemplo 97: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(((2-aminoetil)amino)metil)-2*H*-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



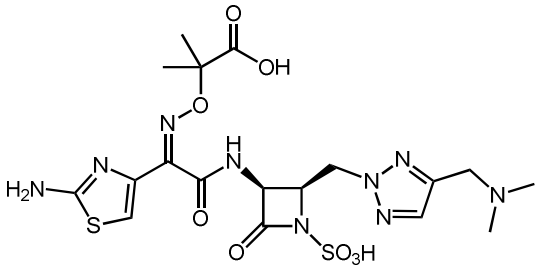
Preparado de una manera análoga al ejemplo 26, utilizando (2-bromoetil) carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.380 min, m/z = 591.1 (M+1) Metodo 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □*J* = 5.8 Hz, 1H), 3.85 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.68 (dd, *J* = 15.0, 8.1 Hz, 1H), 3.46-3.36 (m, 2H), 3.25-3.01 (m, 5H), 2.60 (s, 1H), 1.30-1.21 (m, 2H),1.18-1.09 (m, 2H).

Ejemplo 98: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-meti-5-oxo-4,5-dihidro-l-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



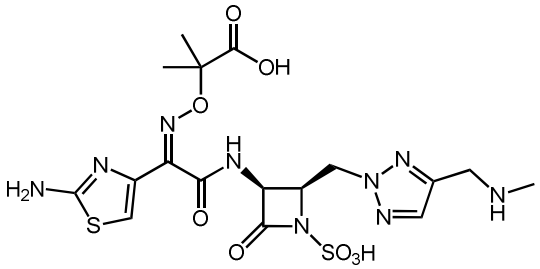
Preparado de manera análoga al ejemplo 31, utilizando ácido 1-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-4-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5(4H)-ona y (*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico. LCMS: m/z = 531.0 (M-1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □*J* = 5.6 Hz, 1H), 4.70 – 4.60 (m, 1H, parciamente oscurecido con un pico residual de solvente), 4.14 (dd, *J* = 15.2 y 7.6 Hz, 1H), 3.96 (dd, *J* = 15.2 and 4.8 Hz, 1H), 3.14 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

Ejemplo 99: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((dimetilamino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



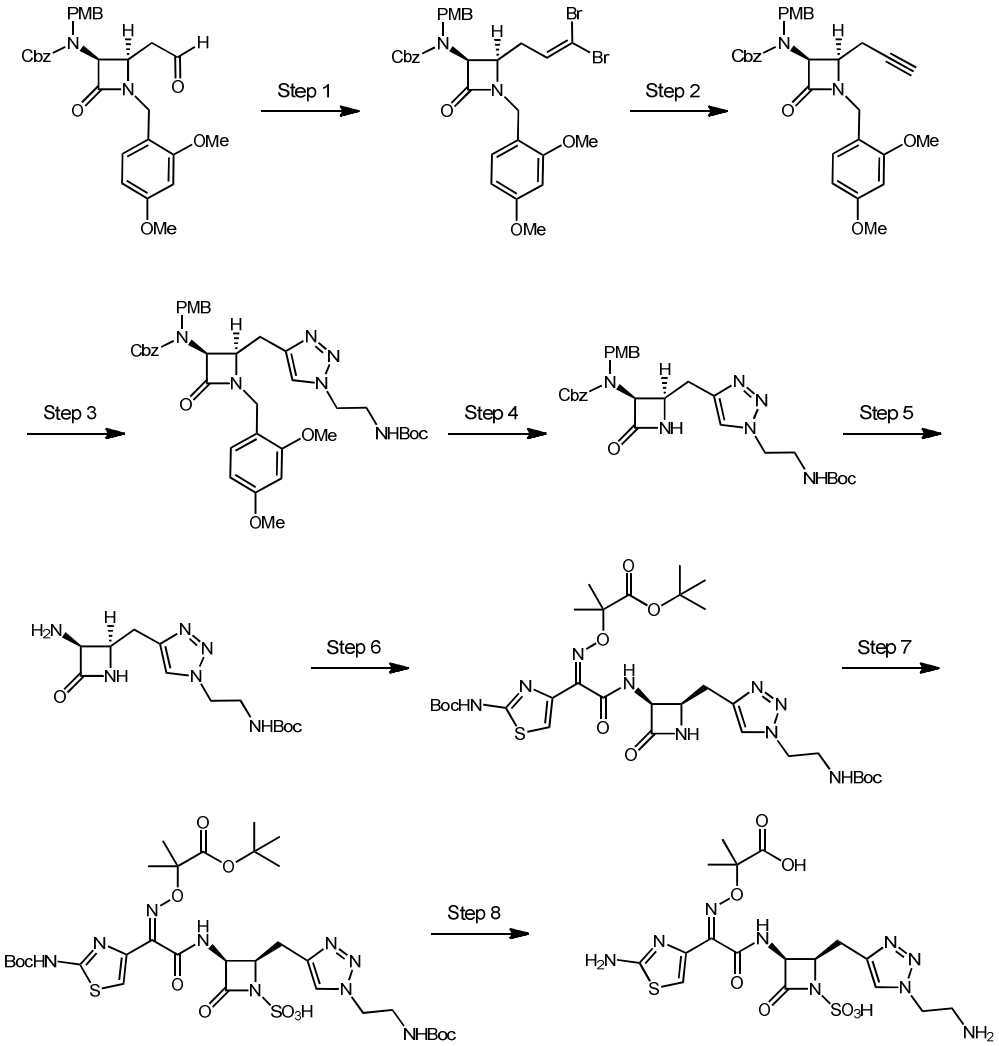
Preparado de manera análoga al ejemplo 54, usando *N,N*-dimetil-1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanamina. LCMS: m/z = 560.2 (M+1); ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.80 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.43 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.94-4.88 (m, 1H), 4.85-4.80 (m, 2H), 4.32 (s, 2H), 2.75 (s, 6H), 1.28 (s, 6H).

Ejemplo 100: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((metilamino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 54, usando ((2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)(metil)*carbamato de terc-butilo.* LCMS: m/z = 544.1 [M-H]; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) 7.73 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 5.42 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.92-4.86 (m, 1H), 4.82-4.78 (m, 2H), 4.22 (s, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.30 (s, 6H).

Ejemplo 101: 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1-(2-aminoetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



<u>Paso 1:</u> ((*2R,3S*)-2-(3,3-dibromoallil)-1-(2,4-dimetoxibenzil)-4-oxoazetidin-3-il)(4-metoxibenzil)carbamateo de bencilo. A una solución de PPh_3 (302.4 mg, 1.15 mmol) en DCM (1 mL) a 0 °C se añadió CBr_4 (192 mg, 0.58 mmol). Después de 10 min, se añadio por goteo una una solución de *((3S,4R)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-oxo-4-(2-oxoetil)azetidin-3-il)(4-metoxibencil)carbamato de bencilo (152.7 mg, 0,29 mmol) en DCM (800 µl) seguido de lavado de DCM (800 µl). Después de 20 min, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y agua, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron, se filtraron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hept,0-40%), para proporcionar el compuesto del título (162 mg, 82%). LCMS: R_t = 1.2 min, m/z = 689.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Preparación de bencil ((3S, 4R) -1- (2,4-dimetoxibencil) -2-oxo-4- (2-oxoetil) azetidin-3-il) (4-metoxibencil) carbamato A una solución de bencil ((2R, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencil) -2 -

((E) -2-metoxivinil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (ejemplo 82, paso 1, 1,44 g, 3,38 mmol) en DMF (33,8 ml) a -10 ° C (baño de hielo-sal) se añadió hidruro de sodio (60%, 162 mg, 4,05 mmol). Después de agitar durante 30 min, se añadió p-metoxibencilo (506,m L, 3,71 mmol). Después de calentar a 0 ° C y agitar durante 30 minutos más, se inactivó con NH_4Cl (acuoso, saturado) después se diluyó con EtOAc y LiCl (5% aq). Las capas se separaron y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con LiCl (5% aq), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y concentró a vacío. El material bruto se sometió a las condiciones descritas en el ejemplo 82, paso 2 a continuación, se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 70%) para proporcionar el compuesto del título (684 mg, 38%). LCMS: Rt = 0,97 min, m / z = 533,2 (M + 1) Método 2m_acídico.

<u>Paso 2:</u> ***((3S,4R)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-oxo-4-(prop-2-in-1-il) azetidin-3-il)(4-metoxibencil)carbamato de bencilo.** se añadió *terc-butil-litio* (0.291 ml, 0.494 mmol) a la solución de *((2R, 3S)*-2-(3,3-dibromoalll)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il) (4-metoxibencil)carbamato de bencilo (162 mg, 0.235 mmol) en THF (Volumen: 3.4 ml) a-78° C. Después de 15 min, la mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl, y se diluyó con agua y EtOAc. Las capas se separaron y la capa roganica se extrajo con EtOAc (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron, se filtraron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hept, 0-40%), para proporcionar el compuesto del título (98 mg, 79%). LCMS: R_t = 1.08 min, m/z = 529.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> **((*2R*,*3S*)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibenzil)-4-oxoazetidin-3-il)(4-metoxibenzil)carbamato de bencilo.** A una solución de *((3S,4R)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-oxo-4-(prop-2-in-1-il)azetidin-3-il)(4-metoxibencil)carbamato de bencilo (95.6 mg, 0.18 mmol) en una mezcla de DMSO (1.2 ml), terc-butanol (1.2 ml) y agua (1.2 ml), se añadió sulfato pentahidrato de cobre (II) (4.5 mg, 0.018 mmol), L-ascorbato de sodio (35.8 mg, 0.18 mmol) y *N-Boc-2-azidoetilamina* (76 mg, 0.39 mmol). Después de agitar durante 12 h, se añadio mas sulfato pentahidrato de cobre (II) (10.6 mg, 0.23 equiv), L-ascorbato de sodio (37.4 mg, 1.04 equiv) y N-Boc-2-azidoetilamina (82.1 mg, 2.44 equiv). Después de agitar durante 4 días en total, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con (LiCl al 5% acuoso), salmuera, se secaron, sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacio. El residuo se purificó mediante

cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hept, 0-40%), para proporcionar el compuesto del título (57,2 mg, 44%). LCMS: R_t = 1.06 min, m/z = 715.5 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> ((*2R,3S*)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxoacetidin)-4-oxoazetidin-3-il)(4-metoxibenzil)carbamato de bencilo. Preparado de manera análoga al ejemplo 82 etapa 5, utilizando ((*2R,3S*)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibenzil)-4-oxoazetidin-3-il)(4-metoxibenzil)carbamato de bencilo (57.2 mg, 0.080 mmol), CH_3CN (762 l), agua (381µl), peroxidisulfato de potasio (31 mg, 0.12 mmol), y fosfato de potasio, dibásico (19 mg, 0.109 mmol). 20,2 mg. LCMS: R_t = 0.89 min, m/z = 565.3 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 5:</u> (2-(4-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)carbamato de *terc-butilo*. A una suspensión de ((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)(4-metoxibenzil)carbamato de bencilo (20.2 mg, 0.036 mmol) en MeOH (0.68 ml) se añadió negro de Pd (19 mg, 0.018 mmol) y ácido fórmico (31 l, 0.711 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 h, se añadió más negro de Pd (9,7 mg). Después de agitar a temperatura ambiente durante 5,5 h adicionales, la mezcla de reacción se filtró a través de eluyente de MeOH,y el filtrado se concentró al vacío. se usó sin purificación adicional. LCMS: R_t = 0.396 min, m/z = 311.1 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 6:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((*2R,3S*)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo*.

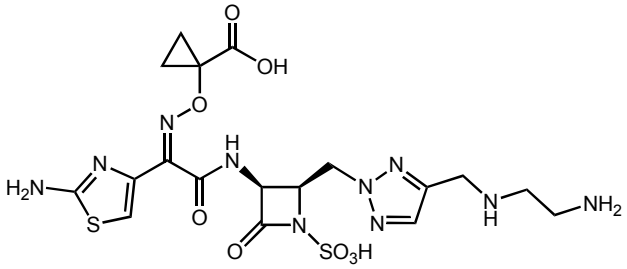
Preparado de manera análoga al ejemplo 82 paso 7, utilizando ácido (*Z*)-2-(((1-(*terc*-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxcarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (18,55 mg, 0.043 mmol), HATU (17,7 mg, 0.047 mmol), DCM:DMF (1:3, 800 µl), DIPEA (18.86 µl, 0.108 mmol), (2-(4-(((*2R,3S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (11.17 mg, 0.036 mmol). 6,5 mg. LCMS: R_t = 0.971 min, m/z = 722.4 (M+1). Método 2m_acídico: ^{1}H RMN (400 MHz, Metanol-d_4) □*J* = 4.9 Hz, 1H), 4.43 (t, *J* = 5.9 Hz, 3H), 4.19 (dt, *J* = 9.3, 4.5 Hz, 1H), 4.09 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.54-3.45 (m, 3H), 3.13 (ddd, *J* = 15.0, 11.8, 6.0 Hz, 2H), 2.93 (dd, *J* = 15.2, 9.6 Hz, 1H), 2.01 (s, 2H), 1.53 (d, *J* = 1.4 Hz, 14H), 1.49 (s, 7H), 1.46 (d, *J* = 1.7 Hz, 15H), 1.38 (s, 14H), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

<u>Paso 7:</u> Ácido (*2R,3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*ter*c-butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

Preparado de manera análoga al ejemplo 82, etapa 9, utilizando 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc-butilo* (6,5 mg, 9.00 µmol), SO_3 • DMF (5.8 mg, 0.037 mmol). (5,8 mg, 0.037 mmol, 27%). se usó en el paso 8 sin purificación adicional. LCMS: R_t = 0.911 min, m/z = 802.1 (M+1). Método 2m_acídico:

<u>Paso 8:</u> 2-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((1-(2-aminoetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico. Siguiendo el procedimiento general para desprotección medida por ácido utilizando ácido (*2R*,*3S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*terc* -butoxi)-2-metil-1-oxopropan-2-il)oxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-4-oxoazetidino-1- sulfonico (7.22 mg, 9.00 µmol), DCM (200 µl) and TFA (50 µl, 649 µmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (1.2 mg, 24%). LCMS: R_t = 0.487 min, m/z = 546.2 (M+1). Método 2m_acídico:

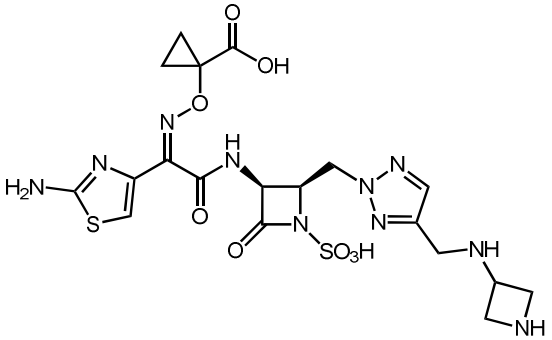
Ejemplo 102: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-aminoetil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (2-aminoetil)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 573.2 (M+1) Metodo 2m_acidico; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) d 9.24 (d, *J* = 9.0 Hz, 1.0 H), 7.75 (s, 1 H), 7.22 (s, 2 H), 6.71 (s, 1 H), 5.42-5.28 (m, 1 H), 4.86 (dd, *J* =

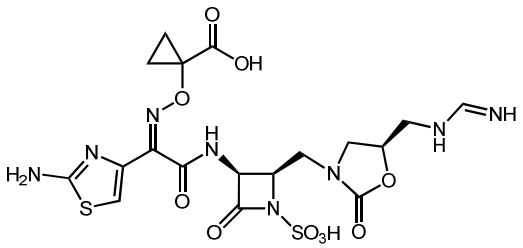
14.3, 4.1 Hz, 1 H), 4.72-4.59 (m, 1 H), 4.53 (ddd, *J* = 7.4, 5.5, 4.3 Hz, 1 H), 4.24-4.09 (m, 2 H), 3.10-2.97 (m, 5 H), 1.34-1.19 (m, 3 H), 1.19-1.06 (m, 1H).

Ejemplo 103: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((azetidin-3-ilamino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



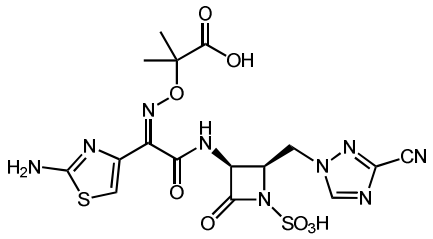
Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando 3-aminoazetidina-1-carboxilato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 585.2 (M+1) Metodo 2m_acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O) □□7.84 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 5.60 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.04-4.87 (m, 3H), 4.52-4.36 (m, 5H), 4.35 (s, 1H), 1.35-1.29 (m, 2H), 1.24-1.14 (m, 2H).

Ejemplo 104: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(formimidamidometil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-ciclopropanocarboxilico.



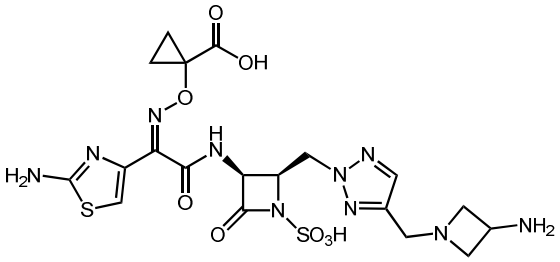
Preparado de manera análoga al ejemplo 26, usando acetato de formamidato-HCl. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 575.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Ejemplo 105: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-ciano-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



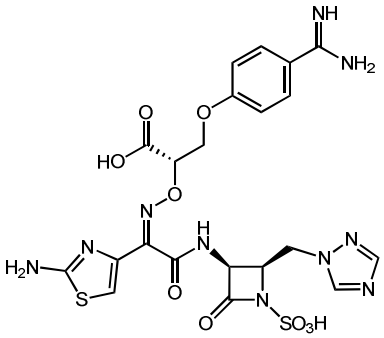
Preparado de manera análoga al ejemplo 54, utlizando 1*H*-1,2,4-triazol-3-carbonitrilo. LCMS: m/z = 526.0 [M-H]$^-$; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □□8.57 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.34 (br s, 1H), 5.20-4.77 (m, 3H), 1.31 (s, 6H).

Ejemplo 106: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((3*R*,3*S*)-2-((4-(((2-aminoazetidin-1-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (2-oxoetil)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3, Except que hubo un trabajo adicional en el paso de sulfonilación El producto de sulfonilación crudo se trato con piridina en MeOH a 40 ° C durante 1 hora para eliminar el exceso de producto en sulfonilación azetidina. LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 585.2 (M+1) Metodo 2m_acidicó; ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O) □*J* = 5.5 Hz, 1 H), 4.97-4.89 (m, 1 H), 4.89-4.77 (m, 2 H), 4.56-4.48 (m, 3 H), 4.46-4.35 (m, 3 H), 1.29-1.18 (m, 2 H), 1.15-1.08 (m, 2 H).

Ejemplo 107: Ácido (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-carbamimidoilpenoxi)propanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 68, utilizando 2-(aminooxi)-3-(4-*(N-(terc-butoxicarbonil)*carbamimidoil) fenoxi) propanoato de *(S)*-benzhidrilo (preparado según WO2013110643). LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 623.4 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): □□9.14 (s, 2 H), 8.68 (br s, 2 H), 8.37 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.77-7.70 (m, 2 H), 7.28 (br s, 2 H), 6.95 (br s, 1H), 6.79 (s, 1 H), 6.55 (br s, 1 H), 5.19-5.11 (m, 1H), 5.07-4.98 (m, 1H), 4.54-4.39 (m, 3H), 4.28-4.22 (m, 1H).

Ejemplo 108: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2S,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato. A una solución de ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (6.66 g, 12.38 mmol) a 0° C en DCM (61.9 ml, relación: 1) y DMF (61.9 ml, relación: 1) se añadio DIPEA (6.49 ml, 37.2 mmol) y HATU (5.65 g, 14.86 mmol). Después de 20 min, se añadió (3*S*,4*S*)-3-amino-4-(hidroximetil)azetidin-2-ona (1.44 g, 12.38 mmol) . Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentro al vacio se diluyó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetona-DCM), para proporcionar el compuesto del título (4,4 g, 56%). LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 636.1 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): 11.80 (br s, 1H), 9.08 (d, *J* = 9.0 Hz, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 7.48-7.32 (m, 5 H),

7.32-7.15 (m, 6 H), 6.84 (s, 1 H), 5.20 (ddd, *J* = 9.2, 5.1, 0.9 Hz, 1 H), 4.77 (t, *J* = 5.3 Hz, 1 H), 3.76-3.70 (m, 1H), 3.62-3.48 (m, 1 H), 3.47-3.33 (m, 1 H), 1.56-1.33 (m, 13 H).

<u>Paso 2:</u> 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2S,3*S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato. A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2S,3*S*)-2-(4-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropano carboxilato de benzhidrilo (1 g, 1.57 mmol) at 0_oC en THF (15,7 ml) se añadió TEA (0.66 ml, 4.7 mmol) y MsCl (25 □l, 0.32 mmol). Despues de 2 h, la mezcla reación se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtro y se concentró al vacio proporcionando el compuesto del título (se presume que fue cuantitativa) LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 714.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(azidometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de terc-butilo A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2S,3*S*)-2-(4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (1.3 g, 1.82 mmol) en DMF (20 ml) se añadió NaI (0.82 g, 5.5 mmol) y azida de sodio (0.83 g, 12.8 mmol) Después de agitar a 60 ° C durante 6 h, la mezcla de reacción se inactivó con agua helada y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua,salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano), para proporcionar el compuesto del título (689 mg, 57%). LCMS: R_t = 1.02 min, m/z = 661.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(aminometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de terc-butilo Una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(azidometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (689 mg, 1.04 mmol) en THF (10 mL) y MeOH (1.3 mL) se añadio Ph_3P (301 mg, 1.15 mmol). despues de 12 h la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-100%), para proporcionar el compuesto del título (369 mg, 56%). LCMS: R_t = 0.88 min, m/z = 635.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u>

1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-

butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de terc-butilo.

Una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(aminometil)-4-oxoazetidin-3-il)amino-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (199 mg, 0.29 mmol) DEC (2.9 mL) se añadio (9H-fluoren-9-il)metil (2-oxoetil)carbamato (84 mg, 0.30 mmol) y triacetoxiborohidroduro de sodio(181 mg, 0.86 mmol). Después de 12 h, la mezcla de reacción se inactivó con $NaHCO_3$ saturado, se diluyo con EtOAc acuosa y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con EtOAc, y las capas organicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-100%), para proporcionar el compuesto del título (150 mg, 58%). LCMS: R_t = 1.10 min, m/z = 900.0 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): 9.16 (d, *J* = 9.0 Hz, 1 H), 8.35 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.4 Hz, 2 H), 7.66 (d, *J* = 7.4 Hz, 2 H), 7.45-7.18 (m, 16 H), 6.83 (s, 1H), 5.24-5.17 (m, 1H), 4.28 (d, *J* = 6.7 Hz, 2 H), 4.19 (d, *J* = 6.3 Hz, 1 H), 3.79-3.67 (m, 1 H), 3.03-2.95 (m, 2H), 2.73-2.63 (m, 1H), 1.54-1.37 (m, 13H).

<u>Paso 6:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-aminometil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de terc-butilo Una solución de 1-(((Z)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoato de *terc*-butilo (150 mg, 0.167 mmol) en DCM (1.7 mL) se añadio piperidina (16.50 µl, 0.167 mmol). Después de 2 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se liofilizó en mezcla CH_3CN/agua para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). LCMS: R_t = 0.93 min, m/z = 678.5 (M+1) Método 2m_acidico.

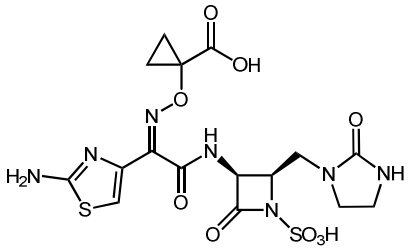
<u>Paso 7:</u> 1-(((*Z*)-(1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*, *4R*)-2-oxo-4-((2-oxooimidazolidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilate de terc-butilo. Una solución de 1-(((Z)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-(((2-(((2-aminoetil)amino)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-ciclopropanocarboxilato de *terc*-butilo (90 mg, 0.133 mmol) en cloroformo (2.7 mL) se añadio CDI (43.1 mg, 0.266 mmol) y TEA (111 µl, 0.797 mmol). Despues de 12 h la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-

100%), para proporcionar el compuesto del título (46 mg, 49%). LCMS: R_t = 0.95 min, m/z = 704.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 8:

Ácido (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico, ácido (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((3-oxo-1,2,4-triazinan-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico. Una solución de *x* 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)azetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilate de terc-butilo (46 mg, 65 mmol) en DMF (654 µl) se añadio SO_3•DMF (100 mg, 0.654 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na2SO4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (50 mg, 98%) LCMS: R_t = 0.84 min, m/z = 784.0 (M+1) Método 2m_acidico. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

Paso 9: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utizando ácido (3*R*,4*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-il)metil)azetdina-1-sulfonico (48 mg, 0.48 mmol), ácido (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-oxo-4-((3-oxo-1,2,4-triazinan-1-il)metil)azetidina-1-sulfonico DCM (0.61 mL) y TFA (0.28 mL, 3.7 mmol) durante 4 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 ml/min) proporcionando el compuesto del

título (3.6 mg, 10%). LCMS: R_t = 0.45 min, m/z = 518.1 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O): □□7.01 (s, 1 H), 5.32 (d, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 4.53-4.39 (m, 1 H), 3.61 (dd, *J* = 14.8, 6.9 Hz, 1 H), 3.56- 3.41 (m, 2 H), 3.35-3.21 (m, 3 H), 1.46-1.19 (m, 4 H).

Ejemplo 109: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4,5-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

Paso 1: A una solución de di-terc-butiliminocarbonato (1.02 g, 4.60 mmol) en DMF (14 mL) a 0° C se añadió hidruro de sodio (0.19 g, 4.83 mmol). El baño frío se retiró, y se agregó más DMF (20 ml). Después de agitar durante 15 min, se agregó rapidamente 1,4-diclorobut-2-ino (0.91 mL, 9.20 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, la mezcla de reacción se vertió en una solución fría de LiCl (5% acuoso). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas organicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtoAc-Heptano, 0-10%), para proporcionar el compuesto del título (467 mg, 33%). LCMS: R_t = 1.07 min, m/z = 326.0 (M+Na), Método 2m_acidico; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) □*J* = 1.9 Hz, 2 H) 4.40 (t, *J*=1.9 Hz, 2 H), 1.57-1.51 (m, 18H).

Paso 2: Preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en Sharpless, KB. *Synthesis* **2005,** *9,* 1514. A una solución del intermediario del paso 1 (466 mg, 1,53 mmol) en 1,4-dioxano (5,8 mL) y agua (1,9 mL) se agregó azida de sodio (401 mg, 6,17 mmol) seguido de cloruro de amonio (167,8 mg, 3,14 mmol). Después de calentar a 75° C durante 11 h, la mezcla de reacción se vertió en un embudo de decantación y se separaron las capas. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se concentraron al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hep, 0-40%), para proporcionar el compuesto del título (224 mg, 41%). LCMS: R_t = 0.90 min, m/z = 354.1 (M+1), Métode 2m_acidico; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) □□4.87 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 1.50 (s, 18H).

Paso 3:

1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((azidometil)-5-((bis(*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una suspensión de1-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-

oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (202 mg, 0,32 mmol), intermediario del paso 2 (136 mg, 0,38 mmol) y trifenilfosfina (100 mg, 0,38 mmol) en THF (4 mL) a 0° C se agregó por goteo DIAD (0.079 ml, 0.38 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Hep, 0-70%), para proporcionar el compuesto del título. LCMS: R_t = 1.27 min, m/z = 971.5 (M+1), Método 2m_acidico; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) □□□□□□□□□d,*J* = 9.1 Hz, 1H), 8.56 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.45 – 7.38 (m, 5H), 7.32 – 7.20 (m, 7H), 6.84 (s, 1H), 5.41 (dd, *J* = 9.0, 5.2 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 1.5 Hz, 2H), 4.51 (d, *J* = 1.2 Hz, 2H), 4.48 – 4.42 (m, 2H), 4.37 – 4.30 (m, 1H), 1.42 (d, *J* = 39.1 Hz, 31H).

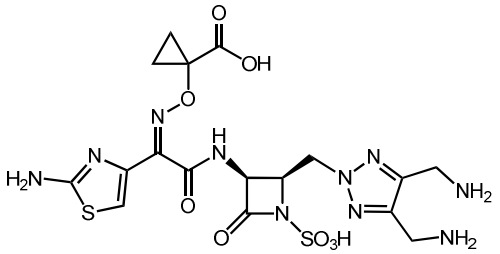
<u>Paso 4:</u> Ácido (2*R*,3S)-2-((4-(azidometil)-5-((bis(*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfónico. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-(azidometil)-5-((bis(terc-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (103 mg, 0.11 □mol) en DMF (530 μL) a 0° C se agregó SO_3•DMF (33.5 mg, 0.21 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con LiCl (5% acuoso), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativa). LCMS: R_t = 1.16 min, m/z = 1051.6 (M+1) Método 2m_acidico. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa.

<u>Paso 5:</u>

Ácido (2*R*,3S)-2-((4-(aminometil)-5-((bis(*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfónico. A una solución de ácido (2*R*,3S)-2-((4-(azidometil)-5-((bis(*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidina-1-sulfónico (111 mg, 0.11 mmol) en EtOAc (1.1 mL) y EtOH (0.22 mL) bajo N_2 se agregó Pd-C (22 mg, 0.021 mmol). El sistema se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3x). Después de agitar a temperatura ambiente durante 4 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite, con lavado de EtOAc y EtOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se

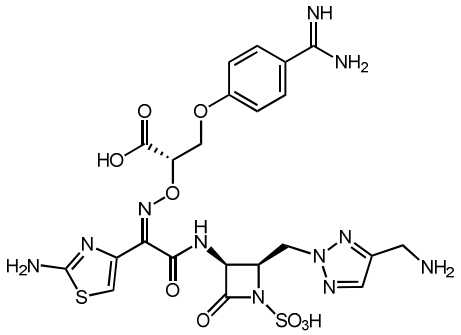
presume que fue cuantitativo). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 1.06 min, m/z = 1025.7 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 6:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4,5-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



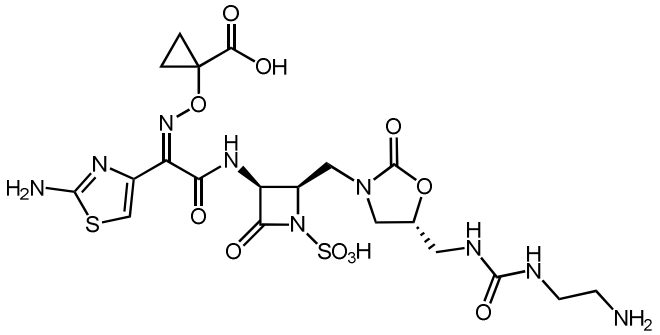
Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido (2R,3S)-2-((4-(aminometil)-5-((bis(terc-butoxicarbonil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-3-((Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (109 mg, 0.11 mmol), DCM (3 mL) y TFA (0,49 mL, 6.36 mmol) durante 2 h. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 m, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min), proporcionando el compuesto del título (12 mg, 19%). LCMS: R_t = 0.46 min, m/z = 559.2 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H 8RMN (400 MHz, D_2O): 7.16 (s, 1H), 5.61 (d,*J* = 5.6 Hz, 1H), 5.07 -4.87 (<u>m, 3H), 4.34 (s, 4H), 1.39-1.13 (m, 4H).</u>

Ejemplo 110: Ácido 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-3-(4-carbamimidoilfenoxi)propanoico.



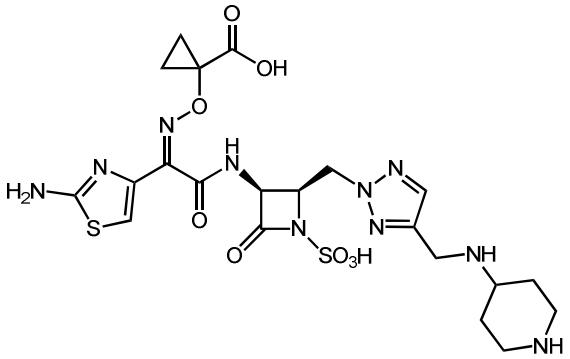
Preparado de manera análoga al Ejemplo 107, utilizando ((2-*(((2R,3S)*-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol 4-il) metil) carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 652.1 (M+1), Method 2m_acidic; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): d 7.53 (d, *J* = 8.9 Hz, 2 H), 7.43 (s, 1 H), 7.03 (s, 1 H), 6.82 (d, *J* = 8.9 Hz, 2 H), 5.35-5.28 (m, 1 H), 4.97-4.91 (m, 1 H), 4.77-4.70(m, 1 H), 4.61-4.55 (m, 2 H), 4.38-4.29(m, 1H), 4.27-4.19(m, 1H), 4.00(s, 2H).

Ejemplo 111: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)-5-(3-(2-aminoetil)ureido)metil)-2-oxooxazolidin-3-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



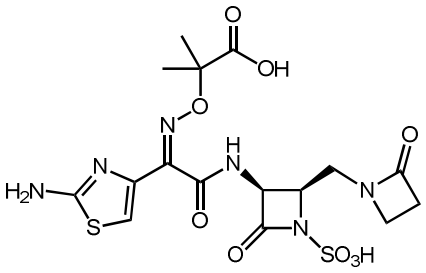
Preparado de manera análoga al Ejemplo 26, utilizando (2-(1H-imidazol-1-carboxamido)etil)carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 634.3 (M+1), Method 2m_acidic; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): d 9.18 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.68 (br s, 2 H), 7.28 (br s, 2 H), 6.82 (s, 1H), 6.41 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 6.31-6.20 (m, 1H), 5.23 (dd, *J* = 8.9, 5.83 Hz, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.24-4.12(m, 1H), 3.69-3.58(m, 1H), 2.90-2.75(m, 2H), 1.38-1.27 (m, 4H).

Ejemplo 112: Ácido 1-(((Z)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((piperidin-4-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico.



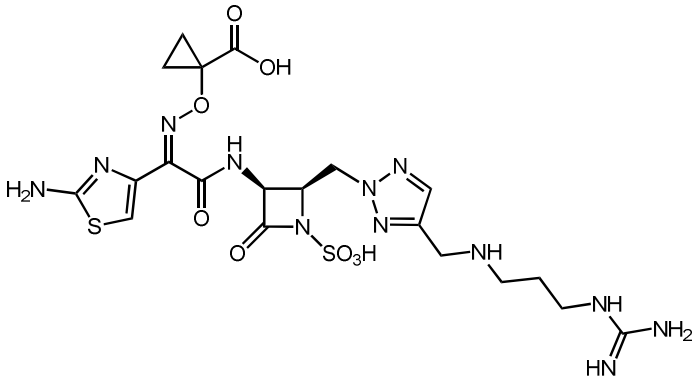
Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando 4-aminopiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo y 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 613.5 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): d *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.90 (q, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 4.85-4.74 (m, 2 H), 4.33 (s, 2 H), 3.53-3.37 (m, 2 H), 3.09-2.88 (m, 2 H), 2.29 (t, *J* = 12.5 Hz, 2 H), 1.87-1.66 (m, 2 H), 1.25-1.12 (m, 2 H), 1.11-0.95 (m, 2 H).

Ejemplo 113: Ácido 2-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((*3S*,*4R*)-2-oxo-4-((2-oxoazetidin-1-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



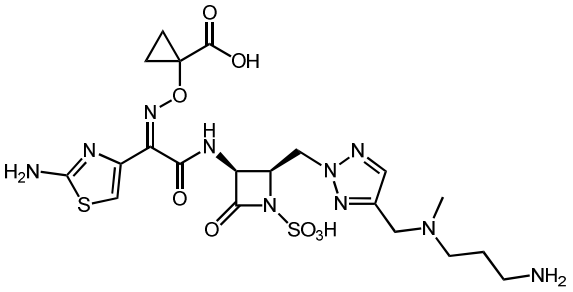
Preparado de manera análoga al Ejemplo 1, utilizando ácido 3-bromopropanoico. LCMS: m/z = 503.0 $[M-H]^-$; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) □□6.95 (s, 1H), 5.27 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 3.66-3.60 (m, 1H), 3.36-3.31 (m, 2H), 3.28 (m, 1H), 2.76 (t, *J* = 3.6 Hz, 2H), 1.36 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

Ejemplo 114: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(3-guanidinopropil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



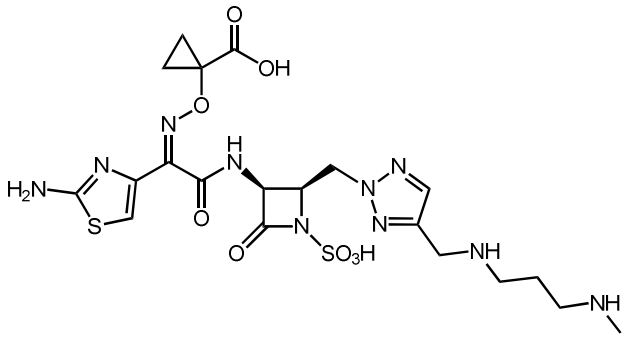
Preparado de manera análoga al Ejemplo 90, utilizando guanidina de N-(3-aminopropil)-N'-terc-butoxicarbonilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.55 min, m/z = 629.4 (M+1) Método 2m acidico polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □ 7.80 (s, 1 H), 7.05 (s, 1 H), 5.68-5.57 (m, 1 H), 5.05-4.90 (m, 2 H), 4.84-4.79 (m, 1 H), 4.34 (s, 2 H), 3.29-3.21 (m, 2 H), 3.19-3.08 (m, 2 H), 2.02-1.91 (m, 2 H), 1.29-0.94 (m, 4 H).

Ejemplo 115: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)(metil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



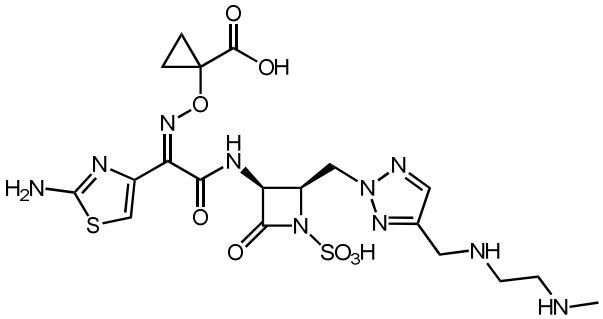
Preparado de manera análoga al Ejemplo 90, utilizando (3-metilamino)propil)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.53 min, m/z = 601.4 (M+1) Method 2m_acidic_polar; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □□7.91 (s, 1 H), 7.06 (s, 1 H), 5.55 (d, 1 H, *J* = 6.1 Hz), 5.06-4.88 (m, 3 H), 4.49 (s, 2 H), 3.26-3.15 (m, 2H), 3.06 (t, 2 H, *J* = 7.5 Hz), 2.89 (s, 3 H), 2.20-2.07 (m, 2H), 1.30-1.07 (m, 4H).

Ejemplo 116: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-(metilamino)propil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (3-aminopropilo)(metilo)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.48 min, m/z = 601.4 (M+1) Method 2m_acidic_polar; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.82 (s, 1 H), 7.09 (s, 1 H), 5.66-5.53 (m, 1 H), 5.03-4.87 (m, 3 H), 4.37 (s, 2 H), 3.21-3.05 (m, 4 H), 2.68 (s, 3H), 2.17-2.02 (m, 2 H), 1.30-1.04 (m, 4 H).

Ejemplo 117: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-(metilamino)etil)amino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

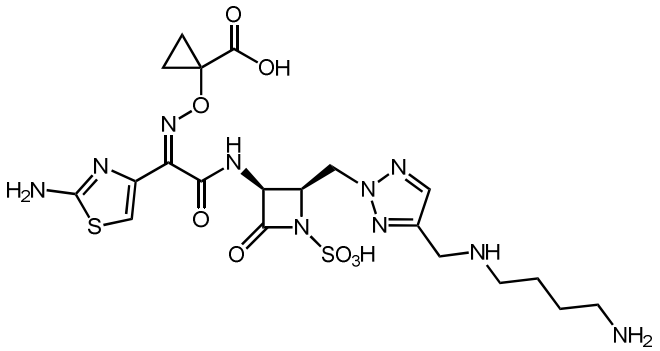


□

Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (2-aminoetil)(metilo)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en

el paso 3. LCMS: R_t = 0.44 min, m/z = 587.2 (M+1) Método 2m acidico polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): d, *J* = 5.5 Hz, 1 H), 5.02-4.82 (m, 3 H), 4.42 (s, 2 H), 3.55-3.40 (m, 4H), 2.75 (s, 3 H), 1.30-1.04 (m, 4 H).

Ejemplo 118: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((4-aminobutil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 90, utilizando (4-aminobutil)carbamato de terc-butilo y 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo en el paso 3. LCMS: R_t = 0.32 min, m/z = 601.3 (M+1) Método 2m acidico polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): d, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.95-4.69 (m, 3 H), 4.24 (s, 2 H), 3.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 2 H), 2.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 2 H), 1.77-1.51 (m, 4 H), 1.23-1.12 (m, 2 H), 1.12-0.90 (m, 2 H).

Ejemplo 119: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

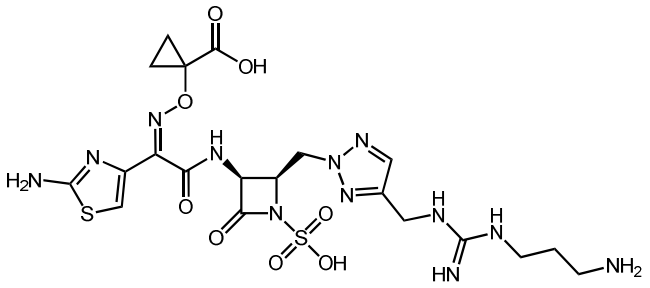
<u>Paso 1:</u> (3-(3-benzoiltioureido)propil)carbamato de *ter*c-butilo. Preparado de acuerdo con el procedimiento descrito por Jubian. *Angew.Chem,* **1995,** *107,* 1343 y Rasmussen. *Síntesis,* **1988,** 456. A una solución de isotiocianato de benzoilo (0.93 g, 5.70 mmol) en acetona (10 ml) se agregó (3-aminopropilo)carbamato de butilo (0.95 g, 5.45 mmoles). Después de calentar a 60° C durante 2,5 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtoAc-Heptano, 0-40%), proporcionando el compuesto del título (0,83 g, 43%). LCMS: R_t = 0.93 min, m/z = 338.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> (3-tioureidopropil)carbamato de *Terc-butilo*. A una solución de (3-(3-benzoiltioureido)propil)carbamato *de terc-butilo* (0,83 g, 2,45 mmol) en MeOH (15 ml) se agregó solución acuosa de hidróxido de sodio (1,96 mL, 2,45 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se formó el azeótropo con tolueno. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 09% con 1% NH_4OH), que proporciona el compuesto del título (0,83 g, 43%). LCMS: R_t = 0.47 min, m/z = 234.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> (3-((imino(metiltio)metil)amino)propil) carbamato de *Terc-butilo*. A una solución de (3-(tioureidopropil)carbamato *de terc-butilo* (0,29 g, 1,28 mmol) en MeOH (8 mL) se agregó iodometano (80 □L, 1,29 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 18 horas, bicarbonato en un soporte de polímero (0.5g, resina de 3.5 mmol NaCo3/g) a la mezcla de reacción. Después de 30 min, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el producto deseado junto con el producto *N*-metilado, (3-(3-metiltioureido)propil)carbamato de *terc-butilo* (0.28 g, 87% , relación 2:1). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.44 min y 0.49 min, m/z = 248.1 (M+1) Método 2m_acidico.

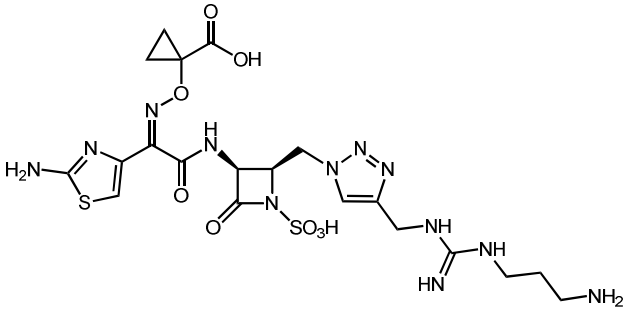
<u>Paso 4:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(3-imino-11, 11-dimetil-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodecil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico. A una solución de (3 - ((imino(metiltio)metil)amino)propil)carbamato de terc-butilo (32.1 mg, 87 mol) en dioxano (1 ml, relación:2) de trietilamina a temperatura ambiente se añadió (30 □L, 0.22 mmol),1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico ácido (ejemplo 19, 23 mg, 43 □mol), y DMF (0.5 mL, relación:1). Después de calentar a 60° C durante 17 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y agua. La capa acuosa se separó, se concentró al vacío, se destiló azeotrópicamente con tolueno, y se secó en alto vacío para para proporcionar el compuesto del título (se supresume que fue cuantitativo). LCMS: R_t = 0.51 min, m/z = 729.6 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada con ácido utilizando ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(3-imino-11,11-dimetil-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodecil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanacarboxílico (37 mg, 15 mmol), DCM (3 mL) y TFA (0.2 mL, 2.60 mmol) durante 1.5 horas. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 m, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 24 mL/min), proporcionando el compuesto del título (5.2 mg, 20%). LCMS: R_t = 0.39 min, m/z = 629.2 (M+1), Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.06-4.99 (m, 1H), 4.98-4.89 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.39-3.34 (m, 2H), 3.14-3.06 (m, 2H), 2.01 (p, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.39-1.29 (m, 2H), 1.26-1.15 (m, 2H).

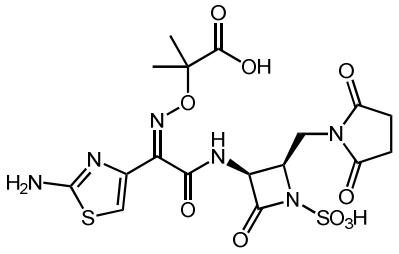
Ejemplo 120: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)guanidino)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 119, utilizando (3-((imino(metiltio)metil)amino)propil)carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.30 min, m/z = 629.1 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O) d, *J* = 5.4 Hz, 1 H), 4.87-4.78 (m, 1 H), 4.45 (s, 1 H), 3.24 (t, *J* = 6.9 Hz, 1 H), 2.98-2.93 (m, 1 H), 2.64 (s, 1 H), 1.87 (dt, *J* = 14.9, 7.18 Hz, 3 H), 1.33-1.25 (m, 3 H), 1.21-1.10 (m, 4 H).

Ejemplo 121:

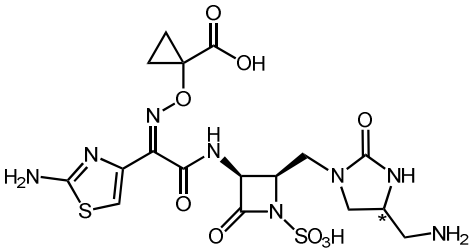
Ácido 2-(((*Z*)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((2,5-dioxopirrolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-metilpropanoico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 54, usando pirrolidina-2,5-diona. LCMS: R_t = 0.55 min, m/z = 533.3 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6:D_2O (1:1)): d, *J* = 5.9 Hz, 1 H), 4.53-4.43 (m, 1 H), 3.96-3.86 (m, 1H), 3.36-3.25 (m, 1 H) 2.53 (s, 4 H), 1.40 (s, 3 H) 1.37 (s, 3 H).

Ejemplo 122:

Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((R)4-(aminometil)-2-oxoimidazolidin-1-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

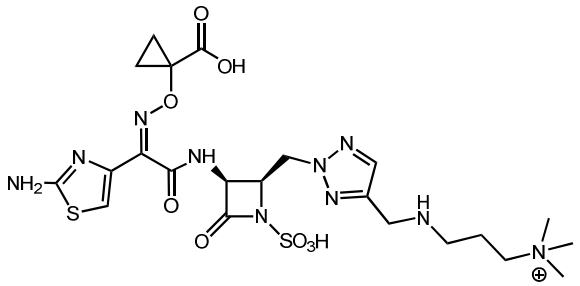


Preparado de manera análoga al ejemplo 108, usando1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)-3-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)propil)amino)metil)-4-oxoazetin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tIiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. Diastereómero A: 3,1 mg. LCMS: R_t = 0.65 min, m/z = 547.1 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □*J* = 6.8 Hz, 1H), 4.60-4.56 (m, 1H), 3.84 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 3.59-3.53 (m, 1H), 3.48-3.41 (m, 2H), 3.21-3.09 (m, 3H), 1.46 (br s, 3H), 1.36 (br s, 3H).

Diastereómero B: 2.9 mg, LCMS: R_t = 0.65 min, m/z = 547.1 (M+1) Method 2m_acidic; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □□7.12 (s, 1H), 5.42 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.61-4.54 (m, 1H), 4.16-4.08 (m, 1H), 3.82-3.72 (m, 2H), 3.55-3.49 (m, 1H), 3.27-3.15 (m, 3H), 1.47 (br s, 3H), 1.37 (br s, 3H).

Ejemplo 123:

3-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-((1-carboxiciclopropoxi)imino)acetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-il)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-*N*, *N*, *N*-trimetilpropan-1-aminio.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 90, usando 2,2,2-trifluoroacetato de *N*1,*N*1,*N1*-trimetilpropano-1,3-diaminio. LCMS: R_t = 0.51 min, m/z = 629.5 (M+1) Method 2m_acidic_polar; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): □ 7.81 (s, 1 H), 7.09 (s, 1 H), 5.70-5.63 (m, 1 H), 5.03-4.93 (m, 3 H), 4.83-4.82 (m, 1 H), 4.37 (s, 2 H), 3.44-3.37 (m, 2 H), 3.22-3.16 (m, 2 H), 3.07 (s, 9 H), 2.26-2.17 (m, 2 H), 1.29-1.10 (m, 4 H).

Ejemplo 124: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-aminobutanamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u>

1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil-2H-1,2,4-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato benzhidrilo. A una solución de 1-(((Z)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R*,*3S*)-2-((4-(hidroximetil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxlato de *benzhidrilo* (178 mg, 0.25 mmol) en DIPEA (65 µL, 0.37 mmol) en DCM (2.5 mL) a 0° C se agregó MsCl (25 □L, 0.32 mmol).

Después de 1 h a 0º C, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (10 ml), se lavó con 0,2 HCl N y $NaHCO_3$(aq) saturado. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (190 mg, 96%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 1.05 min, m/z = 795.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 2:

1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una solución de NH_4 OH acuosa (2 ml, 28-30% en peso) en EtOH (2 ml, relación :1) y THF (2 ml, relación :1) se agregó por goteo una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (190 mg, 0,24 mmol) en THF (1 ml) a-5° C. Después de agitar a-5° C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 12 h, la mezcla de reacción se diluyó con 40 mL de DCM y se lavó con 10 mL de $NaHCO_3$ (aq) saturada acuosa, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 5-10%), para proporcionar el compuesto del título (120 mg, 49%). LCMS: R_t = 0.87 min, m/z = 716.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 3:

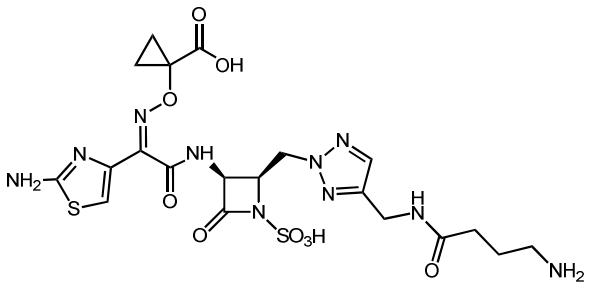
1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)butanamino)metil)-2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)coclopropanocarboxilato de benzhidrilo. A una solución de ácido 4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)butanoico (30.7 mg, 0.15 mmol) en DCM (2 mL) a 0° C se agregó DIPEA (35 □L, 0.20 mmol) y HATU (65 mg, 0.17 mmol). Despiés de 10 min, se agregó 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (90 mg, 0.10 mmol). Después de agitar a 0° C durante 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (40mL), se lavó con Na_2CO_3 2M acuoso (20 mL), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 5-10%), para proporcionar el compuesto del título (42 mg, 46%). LCMS: R_t = 1.07 min, m/z = 901.5 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4:

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-((4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)butanamido)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((terc-butoxicarbonil)amino)butanamido)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (42 mg, 47 □mol) en DMF (0,47 µL) se agregó SO_3•DMF (74 mg, 0.47 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 5 h, se agregaron otros 10 eq de SO_3•DMF y se agitaron durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (60 mL) y salmuera (40 mL), y se separaron las capas. La cpa acuosa se extrajo con EtOAc (40 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (45,3 mg, 99%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.96 min, m/z = 981.6 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u>

Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-aminobutanamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

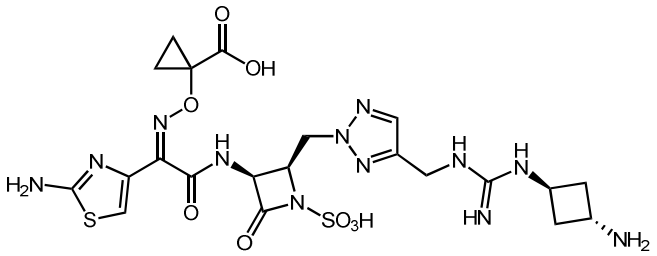


Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)butanamido)metil)-2H -1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (47 mg, 48 □mol), DCM (0.5 ml) y TFA (0.2 mL, 2,87 mmol) durante 2h. La mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se repartió entre DCM y agua con hielo. La capa de agua se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □m, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título LCMS: R_t = 0.53 min, m/z = 615.3 (M+1)

Método 2m acidico polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□7.63 (s, 1 H), 7.05 (s, 1 H), 5.58-5.49 (m, 1 H), 4.96-4.83 (m, 3 H), 4.41 (br s, 2 H), 3.06-2.90 (m, 2 H), 2.44-2.28 (m, 2 H), 1.98-1.83 (m, 2 H), 1.38-1.04 (m, 4 H).

Ejemplo 125:

Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-((1r,3R)-3-aminociclobutilo)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 119, utilizando ((1*r*,3*r*)-3-((imino(metiltio)metil)amino)ciclobutilo)carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.33 min, m/z = 641.0 (M+1) Método 2m_acídico; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) □□□□□□□(s, □□□□□□□□□□□□s,□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 5.5 Hz, 1 H), 5.01-4.95 (m, 1H), 4.89-4.85 (m, 2H), 4.53 (s, 2 H), 4.25-4.17 (m, 1H), 4.05-3.95 (m, 1H), 2.69-2.59 (m, 2H), 2.58-2.48 (m, 2H), 1.34-1.27 (m, 2H), 1.19-1.12 (m, 2H).

Ejemplo 126: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(azatidin-3-ilmetil)guanidino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u>

3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(*ter*c-butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de *Terc-butilo*.

preparación de 2,2,2-trifluoroacetato de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de NH-Boc[bencil((2R,3S)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato] (368 mg, 0,86 mmol) en DCM (4 ml) se agregó TFA (1,05 mL, 13,68 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 horas, la mezcla de reacción se concentró

al vacío para proporcionar el compuesto del título como sal de TFA (se presume que fue cuantitativo). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.43 min, m/z = 331.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Preparación de 3-*((N,N'*-bis*(t-butoxicarbonil)*-1*H-pirazol-1-carboximidamido)*metil)azetidina-1-carboxilato *de terc*-butilo. A una solución de *Bis*-Boc-pirazolcarboxamidina (2,49 g, 8.01 mmol), *N*-Boc-3-hidroximetilazetidina (1,50 g, 8.01 mmol) y trifenilfosfina (2,10 g, 8.01 mmol) en THF (80 mL) a 0° C se agregó DIAD (1,62 g, 8,01 mmol) por goteo. Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se disolvió en EtOAc/heptano al 10% para triturar el óxido de trifenilfosfina. El filtrado se concentró al vacío y se cromotograficó a través de cromatografía de columna de gel de sílice (EtOAc-heptano, 0-35%), para proporcionar el compuesto del título (1,6 g, 41%). LCMS: R_t = 1.12 min, m/z = 480.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Preparación de 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(*terc*-butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de *Terc-butilo*. A una solución de 2,2,2-trifluoroacetato de ((2*R,*3*S)*-2-((4-(aminometil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (340 mg, 0,77 mmol) en dioxano (6 ml) se agregó DIPEA (0,147 ml, 0,842 mmol) y una solución de 3-*((N, N* 'bis *(terc* butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboximidamido)metil) azetidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (367 mg, 0,765 mmol) en dioxano (1 mL). Despues de calentar a 60° C durante 12 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 0-95%), para proporcionar el compuesto del título (390 mg, 69%). LCMS: R_t = 0.94 min, m/z = 742.5 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u>

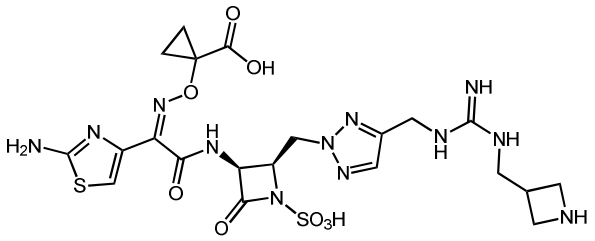
3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(*terc*-butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de *Terc-butilo*. A una solución de 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(*ter*c -butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (390 mg, 0,526 mmol) en EtOH (10 ml) y MeOH (10,00 ml) se agregó Pd/C (5%, 112 mg, 53 □mol) y globo de hidrógeno después de la evacuación y se llenó de nuevo con H2. Después de 1 h, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (302 mg, 95%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.74 min, m/z = 608.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 3:

3-((3-((2-(((2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido))-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(terc-butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de Terc-butilo. A una solución de 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(*ter*c-butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de *terc-butilo*(309 mg, 0,51 mmol) y ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (273 mg, 0,51 mmol) en DMF (6 mL, relación: 1) y DCM (6mL, relación: 1) se agregó HATU (232 mg, 0.61 mmol) seguido por DIPEA (0.22 mL, 1.27 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, EtOAc se agregó a la mezcla de reacción y se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se concentró al vacio. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-95%), para proporcionar el compuesto del título (330 mg, 58%). LCMS: R_t = 1.15 min, m/z = 1127.8 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4: Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((2,3-bis(*terc*-butoxicarbonil)-3-((1-(*terc*-butoxicarbonil)azetidin-3-il)metil)guanidino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico. A una solución de 3-((3-((2-(((2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido))-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(terc-butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de (330 mg, 0.29 mmol) en DMF (2 mL) a 0° C se agregó una solución de SO_3•DMF (359 mg, 2.34 mmol) en DMF (1 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 5 horas, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se concentró al vacio para proporcionar el compuesto del título (300 mg, 85%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 1.25 min, m/z = 1208.7 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 5: Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(azatidin-3-ilmetil)guanidino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((2,3-bis(*terc*-butoxicarbonil)-3-((1-(*terc*-butoxicarbonil)azetidin-3-il)metil)guanidino)metil)-2*H* -1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (300 mg, 0.248 mmol), DCM (3 mL) y TFA (1.90 mL, 24,85 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 19 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%, 24 mL/min) proporcionando el compuesto del título (19 mg, 12%). LCMS: R_t = 0.32 min, m/z = 641.3 (M+1), Método 2m_acídico; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) □ □10.26 (br s, 1 H), 8.79 (br s, 3 H), 7.78-7.54 (m, 3H), 7.14 (s, 2 H), 6.84 (s, 1 H), 5.06 (br s, 1 H), 4.88 (dd, *J* = 14.1, 3.94 Hz, 1 H), 4.70-4.59 (m, 1H), 4.54-4.46 (m, 1H), 4.35 (d, *J* = 3.8 Hz, 2 H), 4.00-3.89 (m, 2H), 3.76-3.65 (m, 2H), 3.08-2.94 (m, 1H), 1.30-1.09 (m, 4H).

Ejemplo 127: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(aminometil)azetidina-1-carboximidamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u>

((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butildimetilsilil)oxi)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (1,8 g, 4,04 mmol) en MeOH (60 mL) se agregó una resina pre-lavada MeOH DOWEX 50W-X4-100-200 (3.60 g, 4.04 mmol) de resina. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2h, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). LCMS: R_t = 0.52 min, m/z = 332.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u>

((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)(((*ter*c-butoxicarbonil)imino)(1*H*-pirazol-1-il)metil)carbamato de *Terc*-

***butilo*.** A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (1,33 g, 4,01 mmol) y bis-Boc-pirazolcarboxamidina (1,37 g, 4,42 mmol) en THF (50 ml) se agregó trifenilfosfina (1,16 g, 4,42 mmol) seguido de DIAD (0,89 g, 4,42 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-90%), para proporcionar el compuesto del título (1,73 g, 69%). LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 624.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 3: A una solución de ((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)(((*terc*-butoxicarbonil)imino)(1*H*-pirazol-1-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (320 mg, 0,51 mmol) en CH_3CN (2 ml) se agregó Boc-aminometilazetidina (105 mg, 0,56 mmol). Después de calentar a 70° C durante 1 hora, la mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título. El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 742.5 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4: ((2-(((2 *R*,3 *S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-4-ill)metil)((3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidin-1-ill)((*terc*-butoxicarbonil)imino)metil)carbamato de *terc-butilo*. A una solución del compuesto de la etapa 3 (570 mg, 0.77 mmol) en EtOH (10 ml) y MeOH (10 mL) se añadió Pd/C (5%, 16.35 mg, 77 □ mol) y un globo de hidrógeno después de la evacuación y se rellenó nuevamente con H_2. Después de 4 h, la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (302 mg, 95%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.68 min, m/z = 608.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 5:

1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*N*,*N*'-bis(*terc*-butoxicarbonil)-3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboximidamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de Benzhidrilo. Preparado de manera análoga al ejemplo 126 paso 3, utilizando ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)((3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidin-1-il)((*terc*-butoxicarbonil)imino)metil)carbamato de *terc-butilo* (460 mg, 0.76 mmol), ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (407mg, 0,76 mmol), DMF (8 ml), DCM (8 ml), HATU (345 mg, 0.91 mmol) y DIPEA (0,33 □□ L, 1.89 mmol). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel

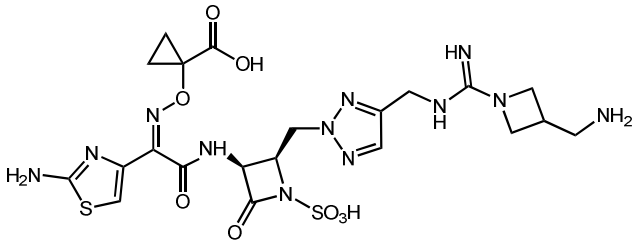
de sílice (EtOAc-Heptano, 0-100%), para proporcionar el compuesto del título (0.65 g, 76%). LCMS: R_t = 1.15 min, m/z = 1127.9 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 6:

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((*N*,*N*'-bis(*terc*-butoxicarbonil)-3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboximidamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfónico. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*N*,*N* '-bis(*terc*-butoxicarbonil)-3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboximidamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (650 mg, 0,58 mmol) en DMF (3 ml) a 0º C se agregó una solución de SO_3•DMF (883 mg, 5,77 mmol) en DMF (1 mL) a 0° C. Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 1.18 min, m/z = 1208.5 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 7:

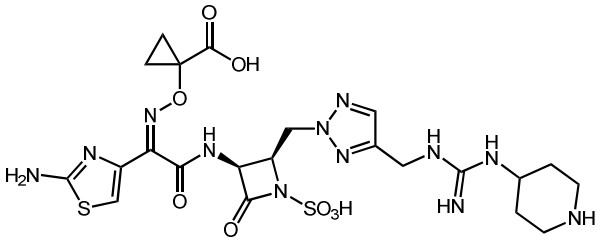
Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(aminometil)azetidina-1-carboximidamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((N.N'-bis(*terc*-butoxicarbonil)-3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidin-1-carboximidamido)metil)-2*H* -1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (690 mg, 0.57 mmol), DCM (3 mL) y TFA (2.1 mL, 27,4 mmol). El residuo crudo se purificó mediante de HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ m, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (98 mg, 27%). LCMS: R_t = 0.32 min, m/z =

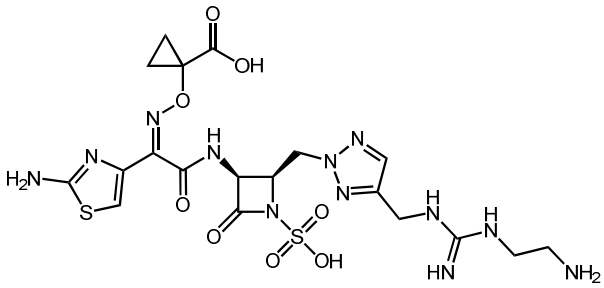
641.3 (M+1), Método 2m_acídico; ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) □□10.73 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.72-7.54 (m, 3H), 7.18 (s, 2H), 6.74 (s, 1H), 5.25 (dd, *J* = 8.9, 5.5 Hz, 1H), 4.88 (dd, *J* = 14.2, 4.3 Hz, 1H), 4.65 (dd, *J* = 14.2, 7.7 Hz, 1H), 4.53 (ddd, *J* = 7.6, 5.6, 4.4 Hz, 1H), 4.46-4.31 (m, 2H), 4.15 (td, *J* = 8.7, 5.0 Hz, 2H), 3.96-3.81 (m, 2H), 3.11 (d, *J* = 7.3 Hz, se asume 2H; parcialmente oscurecido con agua), 2.91 (p, J = 6.8 Hz, 1H), 1.26-1.11 (m, 2H), 1.08-0.95 (m, 2H).□

□□**Ejemplo 128: Ácido 1-(((Z)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((3-(piperidin-4-il)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico.**



Preparado de manera análoga al ejemplo 119, utilizando (4-((-imino(metiltio)metil)amino)piperidina)-1-carboxilato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.32 min, m/z = 655.1 (M+1) Método 2m_acídico; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) □□□□□□ (s,□□□□□□□□□□□□□□(s,□□□□□□□□□□□□□□(s,□*J* = 5.6 Hz, 1 H), 5.01-4.94 (m, 1 H), 4.90-4.84 (m, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.54 (s, 2 H), 3.80-3.71 (m, 1 H), 3.48 (d, *J* = 13.4 Hz, 2 H), 3.10 (t, *J* = 12.5 Hz, 2 H), 2.21 (d, *J* = 12.9 Hz, 2 H), 1.85-1.71 (m, 2H), 1.38-1.31 (m, 2 H), 1.24-1.16 (m, 2 H).

Ejemplo 129: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminoetil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 119, utilizando (2-((-imino(metiltio)metil)amino)etil)carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 615.4

(M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □□□□□□□□(s,□□□□□□□□□□□□□□□(s,□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□*J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.88 (q, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.77 (d, *J* = 5.6 Hz, 2 H), 4.44 (s, 2 H), 3.48 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H), 3.14 (t, *J* = 5.9 Hz, 2 H), 1.28-1.15 (m, 2 H), 1.12-1.00 (m, 2 H).

Ejemplo 130: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((1-aminopropil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*ter*c-butildimetilsilil)oxi)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (500 mg, 1,12 mmol) en MeOH (15 mL) se adicionó una resina DOWEX-50W-X4 100-200 (1 g, 1.12 mmol) Después de agitar a temperatura ambiente durante 2h, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo). LCMS: R_t = 0.51 min, m/z = 332.1 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hidroximetil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (385 mg, 1.16 mmol) en THF (10 ml) se agregó dioxido de manganeso (2.0g, 23 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, se agregó otro 1g de MnO_2 y se agitó durante otra 1 h. La mezcla de reacción se filtró sobre celite con lavado MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (340 mg, 89%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.61 min, m/z = 330.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-formil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (340 mg, 1.03 mmol) y Boc-1,3-diaminopropano (360 mg, 2.07 mmol) en DCE (16 ml) y THF (6 ml) a 0° C se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (328 mg, 1.55 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 18 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío, se disolvió de nuevo en DCM, se lavó con bicarbonato de sodio al 5%, salmuera, se secó sobre MgSO4, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (470 mg, 93%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.64 min, m/z = 488.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> A una solución de DIPEA (0.17 ml, 0.96 mmol) y el producto del paso 3 (470 mg, 0.96 mmol) en dioxano (15 ml) se agregó bis-Boc-pirazolcarboxamidina (359 mg, 1.16

mmol). Despues de calentar a 60° C durante 3 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 20-100%), para proporcionar el compuesto del título (130 mg, 18%). LCMS: R_t = 0.93 min, m/z = 730.5 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 5: Preparado de manera análoga al ejemplo 126 paso 2, utilizando el producto del paso 4 (130 mg, 0.178 mmol), EtOH (5 ml) y metanol (3 mL), Pd/C (5%, 37.9 mg, 18□ mol). El residuo crudo se utilizó tal cual para el siguiente paso (100 mg, 94%). LCMS: R_t = 0.70 min, m/z = 596.0 (M+1) Método 2m_acidico.

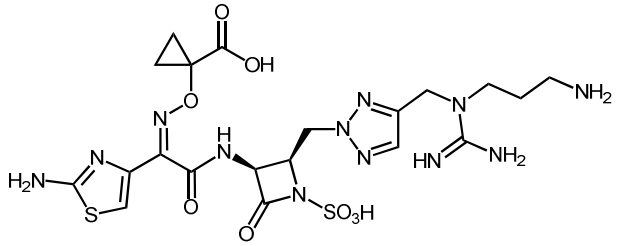
Paso 6:

1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((2,3-bis(terc-butoxicarbonil)-1-(3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de Benzhidrilo. Preparado de manera análoga al ejemplo 126 paso 3, usando el producto del paso 5 (100 mg, 0.168 mmol), 3-((3-((2-(((2 *R,*3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2 *H* -1,2,3-triazol-4-il)metil)-1,2-bis(*terc* -butoxicarbonil)guanidino)metil)azetidina-1-carboxilato de *terc-butilo* (309 mg, 0.51 mmol) y ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (90 mg, 0.17 mmol), DMF (3 ml), DCM (2 ml), HATU (83 mg, 0.22 mmol) y DIPEA (73□ L, 0.42 mmol). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 15-90%), para proporcionar el compuesto del título (110 mg, 59%) junto con el producto bis-Boc. LCMS: R_t = 1.13 min, m/z = 1115.7 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 7: Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((2,3-bis(*terc*-butoxicarbonil)-1-(3-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)propil)guanidino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

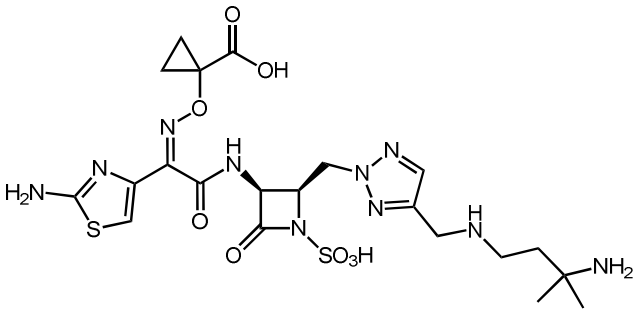
Preparado de manera análoga al ejemplo 126 paso 4, usando 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((2,3-bis(*ter*c-butoxicarbonil)-1-(3-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)propil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (110 mg, 99 µmol), DMF (2 mL), a solution of SO_3•DMF (121 mg, 0.79 mmol) en DMF (1mL) seguido de otros 140 mg de SO_3•DMF. El residuo crudo se utilizó tal cual para el siguiente paso (se asume que fue cuantitativo). LCMS: R_t = 1.15 min, m/z = 1195.9 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 8:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((1-aminopropil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se siguió el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-((2,3-bis(*terc*-butoxicarbonil)-1-(3-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)propil)guanidino)metil)-2*H* -1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (118 mg, 99 mol), DCM (2 mL) y TFA (2.0 mL, 26 mmol). El residuo crudo se purificó mediante de HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 m, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (5.1 mg, 8%). LCMS: R_t = 0.28 min, m/z = 629.4 (M+1). Método 2m_acídico:

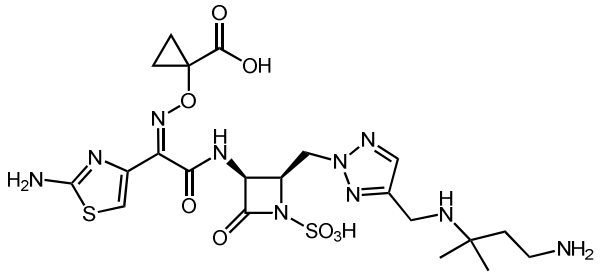
Ejemplo 131: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-amino-3-metilbutil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (4-amino-2-metilbutan-2-il)carbamato de *terc-butilo*. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µM, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.33 min, m/z = 615.3 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): 7.76 (s, 1 H), 7.03 (s, 1 H), 5.52 (d, *J* = 5.6 Hz, 1 H),

4.97-4.90 (m, 1 H), 4.88-4.74 (m, 2 H), 4.31 (s, 2 H), 3.18-3.08 (m, 2 H), 2.04-1.94 (m, 2 H), 1.29 (s, 6 H), 1.23-1.18 (m, 2 H), 1.14-0.99 (m, 2 H).

Ejemplo 132: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((4-amino-metilbutan-2-il)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 90, utilizando (3-amino-3-metilbuti)carbamato de *terc-butilo* (la protección con Boc no fue necesaria gracias al impedimento de la amina). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 □ M, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.49 min, m/z = 615.3 (M+1) Método 2m acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O): □□7.86 (s, 1 H), 7.16 (s, 1 H), 5.62 (d, *J* = 5.4 Hz, 1 H), 5.07-4.91 (m, 2 H), 4.88-4.79 (m, 3 H), 4.40 (s, 2 H), 3.23-3.13 (m, 2 H), 2.22-2.12 (m, 2 H), 1.49 (s, 6 H), 1.39-1.11 (m, 4H).

Ejemplo 133: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((((2-aminoetoxi)carbonil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

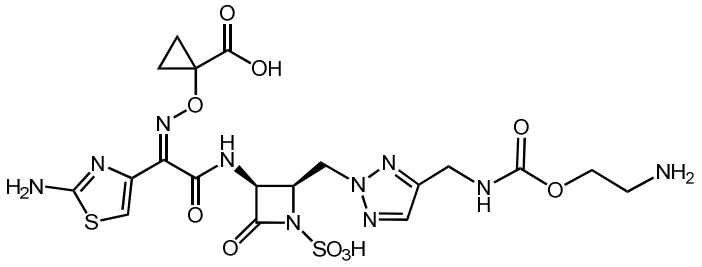
<u>Paso 1:</u> 1*H*-imidazol-1-carboxilato de 2-*((terc-butoxicarbonil)*amino)etilo. A una solución de CDI (218 mg, 1.30 mmol) en DCM (4 mL) se agregó una solución de (2-hidroxietil)carbamato de *terc-butilo* (0.22 mL, 1.37 mmol) en DCM (1 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se utilizó directamente en DCM para el siguiente paso.

<u>Paso 2:</u> 1-(((Z)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((*2R,3S*)-2-((4-(10,10-dimetil-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundecil)-2H-1,2,3triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato benzhidrilo.

A una solución de 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (90 mg, 0.13 mmol) en DCM (2 ml) a 0º C se agregó una solución de 2-((terc-butoxicarbonil)amino)etil-1H imidazol-1-carboxilato (0.59 ml, 0.19 mmol) en DCM (0.6 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, se agregó otros 3 equiv de 2-((t*er*c-butoxicarbonil)amino)etil1*H*-imidazol-1-carboxilato (1.18 ml, 0.38 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 60 h adicionales, la mezcla de reacción se particionó entre DCM (40 ml) y agua (20 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), para proporcionar el compuesto del título (64 mg, 56%). LCMS: R_t = 1.09 min, m/z = 903.5 (M+1) Método 2m_acidico.

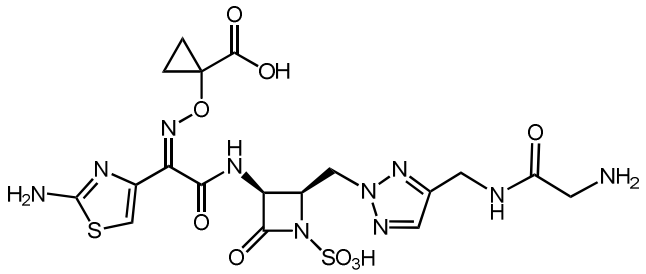
<u>Paso 3:</u> Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(10,10-dimetil-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundecil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfónico. A una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(10,10-dimetil-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundecil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (108 mg, 0.120 mmol) en DMF (1.2 mL) se añadió SO_3•DMF (189 mg, 1.20 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 5h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (60 mL) y salmuera (20 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (20 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título (68 mg, 58%). El residuo crudo se utilizó tal cual para la siguiente etapa. LCMS: R_t = 0.96 min, m/z = 983.6 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> Ácido 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((((2-aminoetoxi)carbonil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



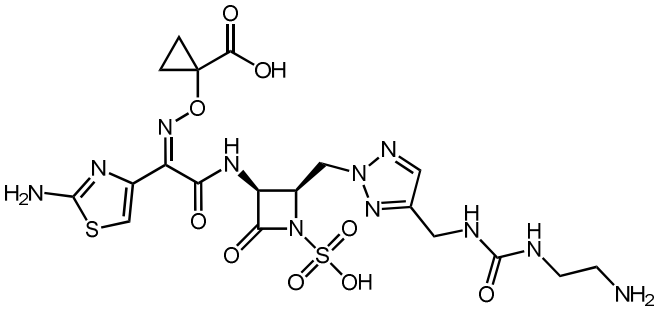
Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(10,10-dimetil-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundecil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (68 mg, 69 DCM (0.7 ml) y TFA (0.32 mL, 4.15 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (19 mg, 44%). LCMS: R_t = 0.54 min, m/z = 617.3 (M+1) Método 2m_acídico_polar; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) □□7.67 (s, 1 H), 7.10 (s, 1 H), 5.60-5.52 (m, 1 H), 5.01-4.84 (m, 3 H), 4.43-4.37 (s, 2 H), 4.35-4.27 (m, 2 H), 3.33-3.25 (m, 2 H), 1.36-1.13 (m, 4 H).

Ejemplo 134: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((2-aminoacetamido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



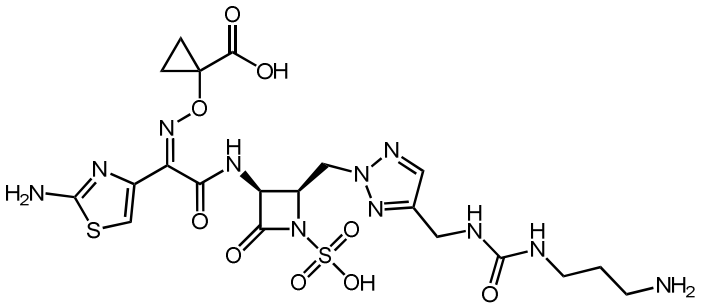
Preparado de manera análoga al ejemplo 124, utilizando ácido 2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)acetico. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µM, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.48 min, m/z = 587.2 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.68 (s, 1 H), 7.12 (s, 1 H), 5.57-5.53 (m, 1 H), 4.96 (m, 3 H), 4.51 (s, 2 H), 3.84 (s, 2 H), 1.35 (m, 4 H).

Ejemplo 135: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(2-aminoetil)ureido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 133, utilizando (2- (1H-imidazol-1-carboxamido)etil)carbamato de *terc-butilo* (sin base adicional) en el paso 2. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Xselect CSH, 30 x 100 mm, 5 µM, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.51 min, m/z = 616.3 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.62 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.55-5.49 (m, 1H), 4.97-4.86 (m, 3H), 4.34(s, 2H), 3.44-3.35 (m, 2H), 3.12-3.03 (m, 2H), 1.36-1.10 (m, 4H).

Ejemplo 136: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-aminopropil)ureido)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 133, utilizando (3- (1H-imidazol-1-carboxamido)propil)carbamato de *terc-butilo* (sin base adicional) en el paso 2. El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Xselect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; AcN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min). LCMS: R_t = 0.52 min, m/z = 630.4 (M+1) Método 2m_acídico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 7.60 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 5.57-5.48 (m, 1 H), 4.97-4.86 (m, 3H), 4.32 (s, 2H), 3.18(m, 2H), 2.97 (m, 2H), 1.79 (m, 2 H), 1.33 (m, 4H).

Ejemplo 137: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-((1-carboxiciclopropoxi)-imino)acetamido)-2-((4-((((1-metilpiridin-1-io-3-il)metil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.

Paso 1:

Cloruro de 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)metil)-1-metilpiridin-1-io.

A una suspensión de 3-(amoniometil)-1-metilpiridin-1-io (147 mg, 0.755 mmol) en THF:EtOH (1:1, 1.26 ml) se agregó por goteo trietilamina (175 µl, 1.26 mmol) seguido por una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropano-carboxilato de benzhidrilo (200 mg, 0.252 mmol) en THF (500 uL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 h, la mezcla se concentró al vacío luego se disolvió nuevamente en DMSO y se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (50 mg, 23%) como un solido blanco. LCMS: R_t = 0.85 min, m/z = 821.3 (M+) Método 2m_acidico.

Paso 2:

Cloruro de 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)(terc-butoxicarbonil)amino)metil)-1-metilpiridin-1-io.

Prararado de manera análoga al ejemplo 85, paso 4 utilizando cloruro de 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)metil)-1-metilpiridin-1-io (50 mg, 0.058 mmol), Boc-anhídrido (0.027 mL, 0.115 mmol), $NaHCO_3$ (saturado acuoso, 1.22 mL) y DCM (1.15 mL). LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 921.3 (M+) Método 2m_acidico.

Paso 3:

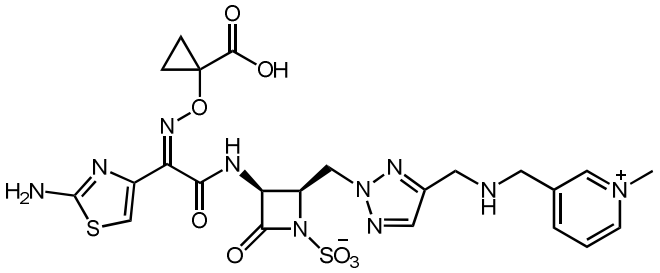
(2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)((1-

metilpiridin-1-io-3-il)metil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.

Preparado de manera análoga al ejemplo 19, paso 3 utilizando cloruro de 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)(*ter*c-butoxicarbonil)-amino)metil)-1-metilpiridin-1-io (49 mg, 0.051 mmol), SO_3•DMF (78 mg, 0.51 mmol) y DMF (1 mL). LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 1002 (M+) Método 2m_acidico.

Paso 4:

(2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-((1-carboxiciclopropoxi)-imino)acetamido)-2-((4-((((1-metilpiridin-1-io-3-il)metil)amino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.



A una suspensión de 3-(amoniometil)-1-metilpiridin-1-io (147 mg, 0.755 mmol) en THF:EtOH (1:1, 1.26 ml) se agregó por goteo trietilamina (175 µl, 1.26 mmol) seguido por una solución de 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc* -butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropano-carboxilato de benzhidrilo (200 mg, 0.252 mmol) en THF (500 uL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 h, la mezcla se concentró al vacío luego se disolvió nuevamente en DMSO y se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSelect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (50 mg, 23%) como un solido blanco. LCMS: R_t = 0.85 min, m/z = 821.3 (M+) Método 2m_acidico.

Ejemplo 138: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-aminopiperidin-1-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

Paso 1:

1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)butanamino)metil)-2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)coclopropanocarboxilato de benzhidrilo.

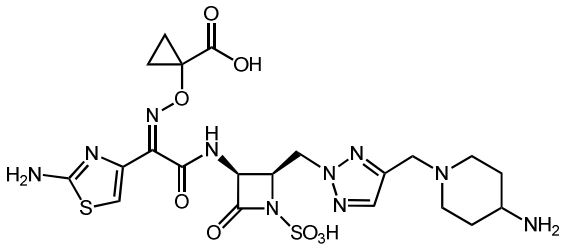
1-(((*Z*)-(1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (64 mg, 0.081 mmol) y yoduro de sodio (18.1 mg, 0.121 mmol) se agitaron en DMF (700 µL) durante 14 h, tras lo cual se agregó carbonato de cesio (33.4 mg, 0,103 mmol) y piperidin-4-ilcarbamato de *terc-butilo* (17.7 mg, 0.089 mmol). Después de 3h de agitación adicional, la mezcla se diluyó con solución de EtOAc y LiCl (5% acuoso). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con solución de LiCl (5% acuoso), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (1-8% MeOH-DCM), proporcionando el compuesto del título (52,6 mg, 73%) como un sólido blancuzco. LCMS: R_t = 0.98 min, m/z = 899.7 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 2:

Ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-((4-((*terc*-butoxicarbonil)amino)piperidin-1-il))metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico.

A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((terc-butoxicarbonil)amino)piperidin-1-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (53 mg, 59 □mol) en DMF (293 µL) a 0° C se agregó SO_3•DMF (24.3 mg, 0.159 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, se añadió más SO_3•DMF (24.3 mg, 81 □mol). Después de agitar adicionalmente durante 16 horas, la solución se concentró al vacío. El material crudo se utilizó directamente en el paso 3. LCMS: R_t = 0.97 min, m/z = 979.9 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 3: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-aminopiperidin-1-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((4-((terc-butoxicarbonil)amino)piperidin-1-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (58 mg, 59 µmol), DCM (0.7 ml), anisol (13 µL, 0.12 mmol) y TFA (273 µL, 3.54 mmol). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Xselect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (2.7 mg, 7,3.%) como un polvo blancuzco. LCMS: R_t = 0.50 min, m/z = 613.4 (M+1) Método 2m_acídico_polar; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) □ 7.93 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 5.59 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.07-5.00 (m, 1H), 4.99-4.96 (m, 1H), 4.93-4.90 (m, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.75-3.62 (m, 2H), 3.63-3.51 (m, 1H), 3.28-3.08 (m, 2H), 2.33 (d, *J* = 13.7 Hz, 2H), 2.04-1.89 (m, 2H), 1.38-1.11 (m, 4H).

Ejemplo 139:

(2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-((1-carboxiciclopropoxi)imino)acetamido)-2-((4-(((6,7-dihidro-5*H*-pirazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-io-6-il)tio)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.

<u>Paso 1:</u>

Cloruro de 6-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)tio)-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-io.

Preparado de una manera análoga al ejemplo 138, paso 1 utilizando 1-(((*Z*)-(1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metilsulfonil)oxi)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (54 mg, 0.068 mmol), yoduro de sodio (17.2 mg, 0.115 mmol), carbonato de cesio (24,5 mg, 0,075 mmol), cloruro de 6-mercapto-6,7-dihidro-5*H-pirazolo*[1,2-a][1,2,4] triazol-4-io (13.4 mg, 0.075 mmol) y DMF

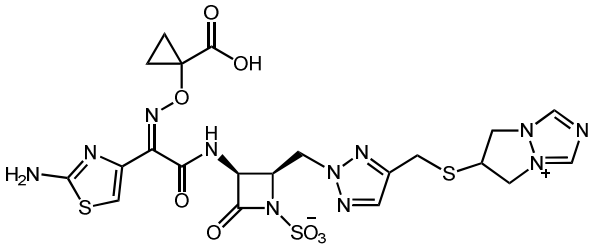
(600 µl). La suspensión se concentró al vacío, y el residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Xselect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (19,7 mg, 34%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 840.4 (M+) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((6,7-dihidro-5*H*-pirazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-io-6-il)tio)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.

Preparado en una manera análoga al Ejemplo 138, paso 2 utilizando cloruro de 6-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil)tio)-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-io (21 mg, 0.025 mmol), DMF (250 µL), SO_3•DMF (18.9 mg, 0.123 mmol) luego SO_3•DMF adicional (22.3 mg, 0.146 mmol). El material crudo se utilizó directamente en el paso 3. LCMS: R_t = 0.92 min, m/z = 921.7 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u>

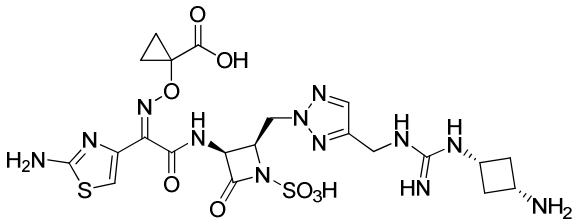
(2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-((1-carboxiciclopropoxi)imino)acetamido)-2-((4-(((6,7-dihidro-5*H*-pirazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-io-6-il)tio)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato.



Preparada de manera análoga al Ejemplo 138 paso 3 utilizando (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((6,7-dihidro-5*H*-pirazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-io-6-il)tio)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonato (23 mg, 0.025 mmol), anisol (5.5 µL, 0.050 mmol), TFA (116 µL, 1.50 mmol) y DCM (300 µL). El residuo crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Xselect CSH, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0.1%, 60 mL/min) proporcionando el

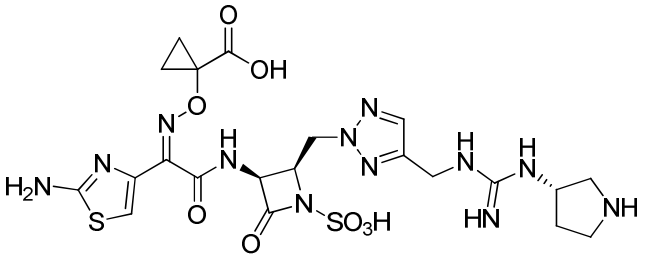
compuesto del título (1.5 mg, 8%). LCMS: LCMS: R_t =0.60 min, m/z = 654.4 (M+1) Método 2m_acídico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ 9.02 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 7.84 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 5.65 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.12-4.97 (m, 3H), 4.94-4.89 (m, 1H), 4.64-4.50 (m, 4H), 4.09 (s, 2H), 1.48-1.36 (m, 2H), 1.32-1.24 (m, 2H).

Ejemplo 140: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-((1s,3*S*)-3-aminociclobutil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 119, utilizando ((1S,3S)-3-((imino(metiltio)metil)amino)ciclobutilo)carbamato de *terc-butilo*. LCMS: LCMS: R_t = 0.49 min, m/z = 641.2 (M+1) Método 2m_acídico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ ppm 7.61 (s, 1H) 7.00 (s, 1H) 5.47 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H) 4.91-4.84 (m, 1H) 4.79-4.76 (m, 3H) 4.41 (s, 3H) 3.78 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H) 3.51 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H) 2.84-2.67 (m, 1H) 2.12 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H) 1.23-1.19 (m, 2H) 1.05 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H).

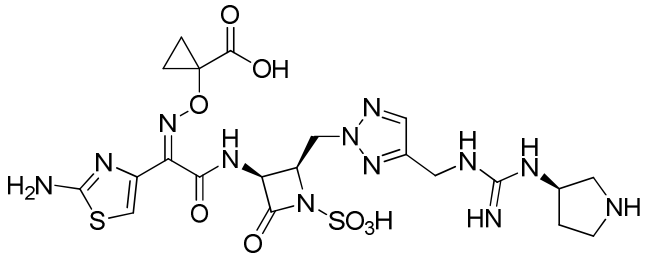
Ejemplo 141: Ácido 1-(((Z)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-((3-((S)-pirrolidin-3-il)guanidino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 119, utilizando (3-((imino(metiltio)metil)amino)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-*terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.49 min, m/z = 640.8 (M+1) Método 2m_acidico; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ ppm 7.62 (s, 1H)

7.00 (s, 1H) 5.49 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H) 4.83 - 4.91 (m, 1H) 4.80-4.75 (m, 2H) 4.44 (s, 2H) 4.30 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H) 3.60-3.18 (m, 5H) 2.38-2.24 (m, 1H) 2.04 (dq, *J* = 12.5, 6.5 Hz, 1H) 1.24-1.12 (m, 2H) 1.04 (br s, 2H).

Ejemplo 142: Ácido 1-(((Z)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-((3-((R)-pirrolidin-3-il)guanidino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-sulfoazetidin-3-il)amino)etilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 119, utilizando (3-((imino(metiltio)metil)amino)pirrolidina-1-carboxilato de (R)-*terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.29 min, m/z = 641.1 (M+1) Método 2m; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □ ppm 7.62 (s, 1H) 7.01 (s, 1H) 5.49 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H) 4.87 (q, *J* = 5.7 Hz, 1H) 4.80-4.75 (m, 2H) 4.44 (s, 2H) 4.31 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H) 3.61-3.20 (m, 4H) 2.41-2.21 (m, 1H) 2.08-2.00 (m, 1H) 1.18 (m, 2H) 1.14 (m, 2H).

Ejemplo 143: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-5-metil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> 4-(azidometil)-5-metil-2H-1,2,3-triazol A una solución de 1-bromo-2-buteno (640 µL, 7,31 mmol) en 1,4-dioxano/agua (3:1, 36 mL) se agregó azida de sodio (1.901 g, 29.2 mmol) seguido de cloruro de amonio (782 mg, 14,6 mmol). La suspensión se calentó a 75° C durante 8 h. Las capas se separaron y la acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío para proporcionar un material crudo (833 mg, 78%) que se utilizó directamente en el paso 2. LCMS: R_t = 0.35 min, m/z = 138.9 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> ((5-metil-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil) carbamato de terc-butilo. Una suspensión de 4-(azidometil)-5-metil-2H-1,2,3-triazol (803 mg, 5.81 mmol), Boc-anhídrido

(1.36 ml, 5.88 mmol) y Pd-C (157 mg, 0.148 mmol) en EtOH (39 mL) se evacuó y se recargó con H_2 (3x). La mezcla de reacción se agitó bajo H_2 durante 1 h 45 min. La suspensión de color negro resultante se filtró a través de celite y se eluyó con EtOAc. El filtrado se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOaC-Heptona, 0-60%), para proporcionar el compuesto del título (878 mg, 71%). LCMS: R_t = 0.82 min, m/z = 213.0 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 3: A una solución de ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (331 mg, 0,826 mmol), ((5-metil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (235,3 mg, 1,109 mmol) y trifenilfosfina (265,6 mg, 1,013 mmol) en THF (8,3 ml) a 0° C se agregó por goteo DIAD (0,210 ml, 1,016 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla de reacción se concentró en gel de sílice. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-60%), proporcionó el compuesto deseado (360 mg, 73%). LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 595.3 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4: Una suspensión del producto del paso anterior (paso 4) (396.8 mg, 0.667 mmol), $K_2S_2O_8$ (243 mg, 0,870 mmol) y K_2HPO_4 (268,1 mg, 1,539 mmol) en ACN/agua (2:1, 9,4 mL) se calentó a 90° C durante 2 h. Se agregó $K_2S_2O_8$ adicional (55,6 mg, 0,200 mmol) y se continuó calentando durante 2 h adicionales. La mezcla de reacción se concentró parcialmente al vacío y después se apagó con $NaHCO_3$ y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacio. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 0-90%), luego, HPLC (OBD C18, 5 μ, 30x100 mm, 30-70% de ACN/H_2O w/buffer TFA al 0.1% durante 18 min, 60 mL/ min), proporcionó el compuesto deseado (157 mg, 53%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.80 min, m/z = 445.2 (M+1) Método 2m_acidico.

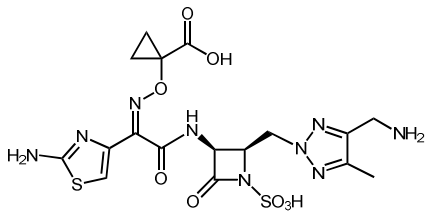
Paso 5: **((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-5-metil-2*H-1,2,3-triazol*-4-il)metil)carbamato de *terc-butilo*.** A un matraz purgado con N2 que contiene el producto del paso anterior (93,2 mg, 0,210 mmol) y Pd-C (18 mg) se agregó etanol (1,6 mL) seguido de metanol (0,4 mL). La suspensión se evacuó y se llenó nuevamente con H_2 (3x). La mezcla de reacción se agitó bajo H_2 durante 2h. La suspensión de color negro resultante se filtró a través de celite y se eluyó con metanol. El filtrado se concentró al vacío y el residuo crudo se utilizó como tal en el paso 6. LCMS: R_t = 0.46 min, m/z = 311.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 6: **1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-5-metil-2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-5-oxoetilideno)amino)oxi)coclopropanocarboxilato de benzhidrilo.** A una solución

de ácido (Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (120 mg, 0.213 mmol), ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-5-metil-2*H*-1, 2,3-triazol-4-il) metil)carbamato de *terc-butilo* (65,2 mg, 0.210 mmol) y HATU (86 mg, 0.22 mmol) en DMF (2.1 ml) a 0 ° C, se agregó DIPEA (0.073 ml, 0.420 mmol). Después de agitar durante 16 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con solución LiCl (5% acuoso). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas organicas combinadas se lavaron con solución LiCl (5% aq), $NaHCO_3$ saturado (aq), salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. La purificación del residuo bruto mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-90%), proporcionó el compuesto del título (144 mg, 82%). LCMS: R_t = 1.12 min, m/z = 830.5 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 7: Ácido (2***R***,3***S***)-3-((***Z***)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((***terc***-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(((***terc***-butoxicarbonil)amino)metil)-5-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidino-1-sulfonico. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-5-metil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (140 mg, 0.170 mmol) en DMF (848 µL) a 0° C se agregó SO_3•DMF (54,4 mg, 0.355 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2.5 h, tras lo cual se agregó SO_3•DMF adicional (27.4 mg, 0.170 mmol) Después de 22 h adicionales la solución se diluyó con EtOAc y se vertió en la solución LiCl frío (5% acuoso). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con LiCl (5% acuoso) salmuera, se secaron sobre Na_2SO_2 y se concentraron al vacío para proporcionar 163.1 mg del material crudo el cual se utilizó en el paso 8 sin purificación adicional. LCMS: R_t = 1.01 min, m/z = 910.5 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 8: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-5-metil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



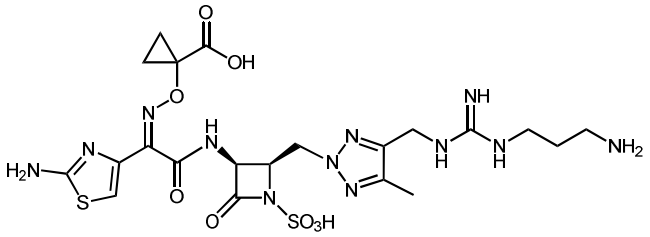
Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)-5-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (155 mg, 0.170 mmol), DCM (1.70 mL) anisol (37 µL, 0.34 mmol) y TFA (0.787 mL, 10.2 mmol). El material bruto se purificó por HPLC de fase inversa preparativa (XSELECT C18, 5 µ, 30x100 mm, ACN-H_2O w/buffer de ácido fórmico al 0,1%, 60 mL/min), produciendo el compuesto del título (55 mg, 57%) como un sólido blancuzco. LCMS: R_t = 0.49 min, m/z = 544.1 (M+1) Método 2m_acídico_polar. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □*J* = 5.6 Hz, 1H), 4.91-4.84 (m, 1H), 4.84-4.76 (m, 1H), 4.62-4.56 (m, se asume 1H; oscurecido con un pico residual de solvente), 4.13 (s, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.32-1.18 (m, 2H), 1.18-1.00 (m, 2H).

Ejemplo 144: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropil)guanidino)metil)-5-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> (3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)(((terc-butoxicarbonil)imino)(1H-pirazol-1-il)metil)carbamato de terc-butilo. A una solución enfriada con hielo de *(((terc-butoxicarbonil)*amino) (1H-pirazol-1-il) metileno)carbamato *de terc-butilo* (500 mg, 1.611 mmol), (3-hidroxipropil)carbamato *de terc-butilo* (282 mg, 1,611 mmol) y trifenilfosfina (634 mg, 2,417 mmol) disuelta en THF (16 ml) se añadió DIAD (470 µl, 2,417 mmol) y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano) para proporcionar el compuesto del título (600 mg, 80%). LCMS: R_t = 1.02 min, m/z = 468.4 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*Z*)-4-(*terc*-butoxicarbonil)-3-((*terc*-butoxicarbonil)imino)-11,11-dimetil-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodecil)-5-metil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico. A una solución de ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometil)-5-metil-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico (33,9 mg, 0,062 mmol) y (3-*((terc-butoxicarbonil)*amino)propil) *(((terc-butoxicarbonil)*imino)(1*H-1-il* pirazol)metil)carbamato de terc-butilo (54.2 mg, 0.116 mmol) en DMF (624 µl) a 0° C se añadió DIPEA (32.7 µl, 0.187 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 hora, la solución se concentró al vacío y se utilizó como tal sin purificación adicional. LCMS: R_t = 0.75 min, m/z = 943.7 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropil)guanidino)metil)-5-metil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Seguido el procedimiento general para la desprotección mediada por ácido utilizando ácido 1-(((*Z*)-(1-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*Z*)-4-(*terc*-butoxicarbonil)-3-((*terc*-butoxicarbonil)imino)-11,11-dimetil-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodecil)-5-metil-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxílico (58.5 mg, 0.062 mmol), DCM (621 µL), anisol (20.4 µL, 0.186 mmol) y TFA (427 µL, 4.55 mmol). La mezcla de reacción se diluyó con agua enfriada con hielo y las capas se separaron. La capa orgánica se extrajo con agua (1 ml) y las capas acuosas combinadas se lavaron con DCM (1 ml) y después se purificómediante HPLC preparativa de fase inversa (XSelect C18, 5 µ, 30x100 mm, 1-20% de ACN/ H_2O w/buffer de ácido fórmico al 0,1% durante 18 min, 60 mL/min) proporcionando el compuesto del título (19 mg, 44%) como un sólido blancuzco. LCMS: R_t = 0.54 min, m/z = 643.2 (M+1) Método 2m_acídico_polar. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O)□ *J* = 5,6 Hz,1H), 5,01-4,94 (m, 1H), 4,91-4,74 (m, se asume 2H; oscurecido con el pico residual de solvente), 4.50 (br s, 2H), 3.36 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.11 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.01 (p, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.35-1.25 (m, 2H), 1.21-1.05 (m, 2H).

Ejemplo 145: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-(3-(3-aminopropil)guanidino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> 1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-il)etanol . A una solución de but-3-in-2-ol (3.63 g, 50.2 mmol) en DMF (40 ml) y MeOH (10 ml) se agregó azidotrimetilsilano (10.22 ml, 75 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100° C durante 16 h. La reacción se enfrió y se filtró a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró a ~25 ml y se usó directamente en el siguiente paso. LCMS: R_t = 0.16 min, m/z = 113.8 (M+1) Método 2m_acídico_polar.

<u>Paso 2:</u> 4-(1-((*terc*-butildifenilsilil)oxi)etil)-1*H*-1,2,3-triazol. A una solución de 1-(1*H*-1,2,3-triazol-4-il)etanol (50.2 mmol) e imidazol (5.13 mg, 75 mmol) en DCM (50 ml) 0° C se agregó TBDPSCl (14.6 ml, 55.2 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche la mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite y después se concentró a sequedad. El residuo resultante se disolvió en EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó con sulfato de sodio y se concentró. La purificación del residuo crudo mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 5-25%), proporcionó el compuesto del título (8.16 g, 46%) como un aceite amarillo. LCMS: R_t = 1.09 min, m/z = 352.1 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) □*J* = 6.5 Hz, 2H) 7.64-7.54 (m, 3 H) 7.49-7.28 (m, 6H) 5.14 (q, *J* = 6.3 Hz, 1H) 1.46 (dd, *J* = 6.3, 3.0 Hz, 3H) 1.08 (s, 9H).

<u>Paso 3:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*ter*c-butildifenflsilil)oxi)etil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de 4-(1-*((terc*-butildifenilsilil)oxi)etil)-1*H*-1,2,3-triazol (2.42 g, 6.88mmol), ((2*S,*3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (2.76 g, 6.88 mmol), y PPh_3 (2.17 mg, 8.26 mmol) en THF (35 ml) a 0° C se añadió por goteo DIAD (1.60 ml, 8.26 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas, luego, se concentró al vacío. La purificación del residuo crudo mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 30-60%), proporcionó el compuesto del título (4.32 g, 85%) como un sólido. LCMS: R_t = 1.12 min, m/z = 734 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 4:</u> ((2 *R*,3 *S*)-2-((4-(1-((*ter*c-butildifenflsilil)oxi)etil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*terc*-butildifenilsilil)oxi)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (2.50 g, 3.41 mmol) en ACN/agua (2:1, 45 ml) a temperatura ambiente se agregó $K_2S_2O_8$ (1.57 mg, 5.79 mmol) y K_2HPO_4 (949 mg, 5.45 mmol). La mezcla se calentó a 90º C en nitrógeno con agitación durante 6 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar ACN. A la suspensión resultante se agregó EtOAc y agua. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x). Las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo bruto mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 30-60%), proporcionó el compuesto del título (1,35 g, 68%). LCMS: R_t = 1.18 min, m/z = 584,3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 5:</u> ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-hidroxietil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. Una mezcla de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*ter*c-butildifenilsilil)oxi)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato (1.35 g, 2.31 mmol) y TBAF (1M

en THF, 4.63 ml, 4.63 mmol) en THF (23 ml) se agitó a temperatura ambiente 3 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano) para proporcionar el compuesto del título (450 mg, 56%) como un sólido de color amarillo claro. LCMS: R_t = 0.53 min, m/z = 346.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 6: **(1-(2-(((2R,3S)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)etil)((Z)-((terc-butoxicarbonil)imino)(1H-pirazol-1-il)metil)carbamato de terc-butilo.** A una solución de ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-hidroxietil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (460 mg, 1.33 mmol), *(((t-butoxicarbonil)*imino)(1*H-pirazol-1-il)*metil)carbamato de *(E)-terc-butilo* (455 mg, 1.465 mmol), y trifenilfosfina (419 mg, 1.60 mmol) en THF (7 ml) a 0° C se agregó por goteo DIAD (0.311 ml, 1.598 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se concentró a sequedad. La purificación del residuo crudo mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 30-60%), proporcionó el compuesto del título (190 mg, 22%) como un sólido de color amarillo claro. LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 638.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 7: Una mezcla de (1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)etil)((*Z*)-((*terc*-butoxicarbonil)imino)(1*H*-pirazol-1-il)metil)carbamato de *terc-butilo* (190 mg, 0,298 mmol) y (3-aminopropil)carbamato de *terc-butilo* (57.1 mg, 0.328 mmol) en ACN (1490 µl) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El solvente se retiró al vacío y el residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 50-80%), proporcionando el compuesto deseado (100 mg, 45%). LCMS: R_t = 0.91 min, m/z = 744.5 (M+1) Método 2m_acidico.

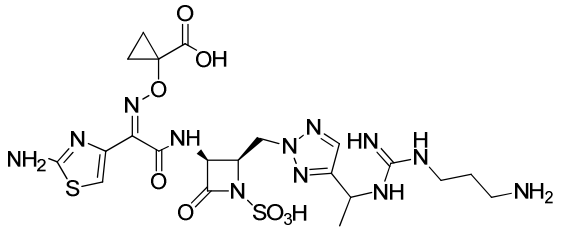
Paso 8: Una mezcla del producto obtenido del paso 7 (100 mg, 0.134 mmol) y 10% Pd/C (30 mg, 0.134 mmol) en EtOH (2 ml) y MeOH (1 ml) se agitó bajo hidrógeno durante 4 h. El paladio se filtró a través de una almohadilla de celite y el disolvente se eliminó para proorcionar el material crudo que se usó en el paso 9 sin purificación adicional. LCMS: R_t = 0.68 min, m/z = 610.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 9: **1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*E*)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-4-((*terc*-butoxicarbonil)imino)-12,12-dimetil-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-il)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato**. A una solución de ácido *(Z)*-2-((1-((benzhidrilo)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acético (76 mg, 0.13 mmol) y DIPEA (35.1 µl, 0.201 mmol) en DCM/DMF (2:1, 1.34 mL)

a 0 °C se agregó HATU (61.1 mg, 0.161 mmol). Esta mezcla se agitó a 0° C durante 30 min. A esto se agregó el producto obtenido del paso 8 (82 mg, 0.13 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0° C durante 30 min después se diluyó con EtOAc (60 ml), se lavó con Na_2CO_3 acuosa saturada, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. La purificación del residuo crudo mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 40-60%), proporcionó el compuesto del título (150 mg, 99%) como un sólido de color amarillo claro. LCMS: R_t = 1.12 min, m/z = 1129.8 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 10:</u> Ácido(2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((*E*)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-4-((*terc*-butoxicarbonil)imino)-12,12-dimetil-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-il)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfónico. A una solución de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*E*)-3-(*ter*c-butoxicarbonil)-4-((*ter*c-butoxicarbonil)imino)-12,12-dimetil-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-il)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato (150 mg, 0.133 mmol) en DMF (1 mL) a 0° C se añadió complejo SO_3•DMF (203 mg, 1.33 mmol). Después de agitarse a temperatura ambiente durante 2.5 h la solución se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera fria, se secó con Na_2SO_4, se filtró y concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó tal cual en el siguiente paso. LCMS: R_t = 1.15 min, m/z = 1210.5 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 11:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-(3-(3-aminopropil)guanidino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((*E*)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-4-((*terc*-butoxicarbonil)imino)-12,12-dimetil-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-il)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfónico (0.133 mmol), TFA (410 µl, 5.32 mmol) anisol (29 µL, 0.27 mmol) y DCM (1.33 mL). La mezcla de reacción se enfrió a 0 ° C y se

diluyó con DCM y agua helada, tras llo cual se separaron las capas. La capa acuosa se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (XSELECT, C18 5um 30x100mm;ACN-agua con ácido fórmico al 0.1%), proporcionando el compuesto del título (34 mg, 39%) como un polvo blanco. LCMS: R_t = 0.52 min, m/z = 643.2 (M+1) Método 2m_acídico_polar. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O, reportado como una mezcla 1:1 de diastereómeros) *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.61 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.05-4.73 (m, se asueme 8H; particialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 3.39-3.32 (m, 4H), 3.13-3.05 (m, 4H), 2.00 (p, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.64 (d, *J* = 3.6 Hz, 3H), 1.63 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H), 1.37-1.28 (m, 4H), 1.21-1.12 (m, 4H).

Ejemplo 146: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((S)-1-(3-aminopropil)amino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> Metanosulfonato de *(R),*but-3-in-2-ilo. A una solución de R-(+)-3-butin-2-ol (1000 mg, 14.27 mmol) y DIPEA (3.72 ml, 21.4 mmol) en DCM (50 ml) a 0° C se añadió cloruro de metanosulfonilo (1.44 ml, 18.6 mmol). La mezcla se agitó a 0° C durante 2 h, después se diluyó con DCM, se lavó con HCl (0.2 N, acuoso), seguido por $NaHCO_3$ saturado (aq). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (2.093 g, 99%) como un aceite de color naranja claro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) *J* = 6.7, 2.1 Hz, 1H) 3.12 (s, 3H) 2.71 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H) 1.66 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H).

<u>Paso 2:</u> (3-(but-3-in-2-ilamino)propil)carbamato de (S)-*ter*c-butilo. Se añadió por goteo una solución de metanosulfonato de *(R)*-but-3-in-2-ilo (2.189 mg, 14.77 mmol) en ACN (10 ml) a una suspensión de (3-aminopropil)carbamato de terc-butilo (2,831 mg, 16.25 mmol) y carbonato de potasio (2.446 mg, 17.72 mmol) en ACN (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h, tras lo cual la suspensión se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-8%), para proporcionar el compuesto del título (570 mg, 17%) como un aceite de color naranja. LCMS: R_t = 0.43 min, m/z = 227.0 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> but-3-in-2-il(3-*((terc-butoxicarbonil)* amino) propil)carbamato de (S)-terc-butilo. Una mezcla de (3-(but-3-in-2-ilamino)propil)carbamato de *(S)-terc*-butilo (570 mg, 2,52 mmol), dicarbonato de di-*terc-butilo* (1.10 g, 5.04 mmol) y $NaHCO_3$ saturado (acuosa, 17 mL) en DCM (16,8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, tras lo cual las dos capas se separaron y la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al

vacío. La purificación mediante la cromatografía en gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5%), proporcionó el compuesto del título (710 mg, 86%) como un aceite viscoso. LCMS: R_t = 0.99 min, m/z = 327.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 4: (1-(2H-1,2,3-triazol-4-il)etil)(3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)carbamato de (S)-terc-butilo.

Una mezcla de but-3-in-2-il (3-*((terc-butoxicarbonil)*amino)propil)carbamato de *(S)-terc*-butilo (710 mg, 2.18 mmol), azidotrimetilsilano (452 µl, 3.26 mmol) y yoduro de cobre (I) (21 mg, 0.11 mmol) en DMF/MeOH (1:1, 3,4 ml) se calentó a 100° C durante 8 h. Después de enfriar, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite, y el filtrado se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 30-80%) para proporcionar el compuesto del título (636 mg, 79%) como un aceite. LCMS: R_t = 0.78 min, m/z = 370.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 5: A una solución de (1-(1*H*-1,2,3-triazol-4-il)etil)(3-*((terc-butoxicarbonil)* amino)propil)carbamato *de (S)-terc*-butilo (636 mg, 1,72 mmol), ((2*S,*3*S)*-1-(2,4-dimetoxibencilo)-2-(hidroximetil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo (689 mg, 1,72 mmol) y trifenilfosfina (542 mg, 2.07 mmol) en THF (8.6 ml) a 0 ° C se añadió por goteo DIAD (402 µl, 2.07 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 5 horas, la mezcla se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 30-60%), proporcionó el compuesto deseado (970 mg, 75%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 1.08 min, m/z = 752.1 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 6: Una mezcla del producto obtenido en el paso 5 (970 mg, 1.29 mmol), $K_2S_2O_8$ (611 mg, 2.19 mmol) y K_2HPO_4 (360 mg, 2.06 mmol) en ACN/agua (2:1,15 ml) se calentó a 90º C en atmósfera de nitrógeno durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para eliminar ACN. La mezcla se particionó entre EtOAc/Agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacio. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 50-100%), proporcionó el compuesto deseado (443 mg, 57%). LCMS: R_t = 0.95 min, m/z = 602.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 7: **((S)-1-(2-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)etil)(3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)carbamato de terc-butilo.** Una mezcla del producto obtenido del paso 6 (443 mg, 0,736 mmol) y 10% de Pd/C (100 mg) en EtOH/MeOH (2:1, 15 mL) se agitó en hidrógeno durante 4 h, tras lo cual la mezcla se filtró sobre celite y el disolvente se eliminó al vacío para proporcionar el compuesto del título (se

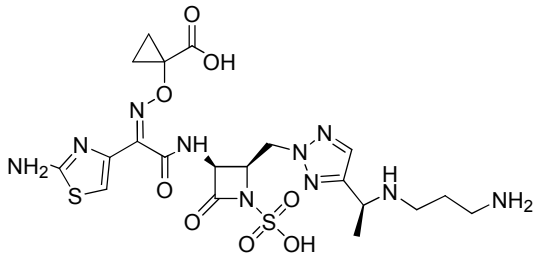
presume que fue cuantitativo) que se usó directamente sin purificación adicional. LCMS: R_t = 0.68 min, m/z = 468.3 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 8:</u> 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*S*)-1-((*terc*-butoxicarbonil)(3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil)amino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de bezhidrilo.

A una mezcla de ácido (Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (416 mg, 0,736 mmol), ((*S*)-1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)etil)(3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil)carbamato de *ter*c-butilo (0.736 mmol) y DIPEA (193 µl, 1.10 mmol) en DCM/DMF (5:1, 7.3 mL) a 0 ^{o}C se agregó HATU (308 mg, 0.810 mmol). Después de agitar a 0° C durante 1 h se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 50-90%), proporcionó el compuesto deseado (700 mg, 96%) como un sólido rojo. LCMS: R_t = 1.17 min, m/z = 987.7 (M+1) Método 2m_acidico. El análisis quiral SFC (SFC-X5, CO_2/EtOH = 90/10, SFC = 5 ml/min, columna AD, Rt =12,28 min) confirmó que era un solo diastereoisómero.

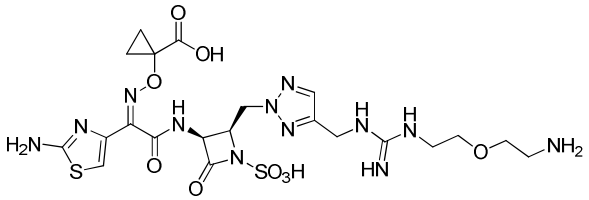
<u>Paso 9:</u> Ácido (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((terc-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamido)-2-((4-((S)-1-((terc-butoxicarbonil)(3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)amino)etil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfónico. A 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*S*)-1-((*terc*-butoxicarbonil)(3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil)amino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de bezhidrilo (700 mg, 0.709 mmol) en DMF (3.5 ml) a 0º C se agregó SO_3•DMF (760 mg, 4.96 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, después de lo cual se agregaron 3 equiv adicionales de SO_3•DMF y se agitó durante otras 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con LiCl (5%, acuoso, 2x), salmuera, se secó con Na $_2SO_4$, se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del título (se presume que fue cuantitativo) que se usó como tal sin purificación adicional. LCMS: R_t = 1.07 min, m/z = 1067.6 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 10:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((S)-1-(3-aminopropil)amino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección mediada por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-((S)-1-((*terc*-butoxicarbonil)(3-((terc-butoxicarbonil)amino)propil)amino)etil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (0.709 mmol), anisol (153 mg, 1.42 mmol), TFA (273 µl, 35.5 mmol), y DCM (7.1 mL). La mezcla de reacción se enfrió a 0° C y se dDCM y agua helada. Después de agitar vigorosamente las dos capas se separaron y la capa acuosa se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (xSELECT, C18, 5 um 30x100mm-agua ACN con ácido fórmico al 0.1), proporcionando el compuesto del título (110 mg, 25%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.50 min, m/z = 601.3 (M+1) Método 2m_acidico_polar; ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □*J* = 5.6 Hz, 1H) 5.04-4.97 (m, 1 H) 4.89 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H) 4.69-4.62 (m, 1H) 3.13-3.00 (m, 4H) 2.04 (t, *J* = 4.0 Hz, 2H) 1.68 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H) 1.23 (t, *J* = 3. 9 Hz, 2H) 1.11-1.02 (m, 2H).

Ejemplo 147: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(2-(2-aminoetoxi)etil)guanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 119, utilizando (2- (2-((-imino(metiltio)metil)amino)etoxi)etil)carbamato de *terc-butilo*. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 659.0 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) d ppm 7.61 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 5.47 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.87 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.81-4.70 (m, 2H asumida;

parcialmente oscuro por un pico residual del solvente), 4.42 (s, 2H), 3.66-3.54 (m, 4H), 3.32 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 3.13-3.06 (m, 2H), 1.28-0.93 (m, 4H).

Ejemplo 148: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropil)-1-metilguanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

Paso 1:

(3-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil)(((*terc*-butoxicarbonil)imino)(1*H*-pirazol-1-il)metil)carbamato *de terc*-butilo. A una solución enfriada con hielo de *(((terc-butoxicarbonil)*amino)(1*H-pirazol-1-il)* metileno)carbamato de *terc-butilo* (500 mg, 1.61 mmol), (3-hidroxipropil) carbamato de *terc-butilo* (282 mg, 1.611 mmol) y trifenilfosfina (634 mg, 2.42 mmol) en THF (16 ml) se añadió DIAD (470 µl, 2.42 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, tras lo cual los volátiles se eliminaron al vacío. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-100%), proporcionó el compuesto del titulo (600 mg, 80%). LCMS: R_t = 1.02 min, m/z = 468.4 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 2:

((2*R,*3*S)*-2-((4-formil-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. Una mezcla de ((2*R,* 3*S)*-2-((4-(hidroximetil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (360 mg, 1.09 mmol) y MnO_2 (2.36 g, 27.2 mmol) en THF (11 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, tras lo cual la mezcla se filtró a través de celite y se concentró. El material resultante (340 mg, 95%) se utilizó como tal en el paso 3.

Paso 3:

((2*R,*3*S)*-2-((4-(metilamino)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo. A una solución de ((2*R,* 3*S)*-2-((4-formil-2H-1,2,3-triazol-2-il))metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (340 mg, 1.03 mmol) en DCE (10 ml) se añadió dioxido $MeNH_2$ (1032 µl, 2.065 mmol). Después de agitar durante 1 h a temperatura ambiente, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (438 mg, 2,07 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche, tras lo cual se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (acuoso) a 0° C y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacio. El material crudo resultante (se presume que fue cuantitativo) se utilizó como tal en el paso 4.

Paso 4: Una solución de ((2*R, 3S)*-2-((4-((metilamino)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (93 mg, 0.27 mmol), (3-*((terc-butoxicarbonil)*amino)propil)*(((terc-butoxicarbonil)*imino) (1*H*-pirazol-1-il) metil)carbamato de bencilo (152 mg, 0.324 mmol), DIPEA (94 µl, 0.540 mmol) en ACN (1800 µl) se calentó a 90° C durante la noche. Los volátiles se eliminaron todos al vacío y El residuo crudo se cromatografíco sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) proporcionó el producto deseado. LCMS: R_t = 0.94 min, m/z = 744.6 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 5: Una mezcla del producto de la etapa 4 (46 mg, 0.062 mmol) y Pd sobre C (10% por peso, 23 mg) en EtOH/MeOH (4:1, 620 µL) se agitó bajo hidrógeno durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y el material resultante se concentró (se presume que fue cuantitativo) se utilizó como tal sin purificación adicional.

Paso 6:

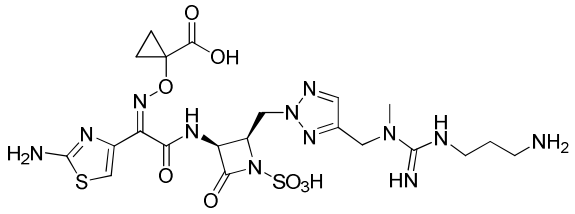
1-(((***Z***)-(2-(((2***R***,3***S***)-2-((4-(4-(***terc-butoxicarbonil)(-3-((terc***-butoxicarbonil)imino)-2, 11,11-trimetil-9-oxa-2,4,8-triazadodecil)-2H-1,2,3-trizol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((***terc-***butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo. Una solución de ácido (*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*ter*c-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetico (30.9 mg, 0.057 mmol), DIPEA (30.1 µl, 0.172 mmol) y HATU (26.2 mg, 0.069 mmol) en DCM/DMF (1:1, 574 µl) se agitó durante 20 min, tras lo cual el producto de la etapa 5 se añadió (35 mg, 0.057 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 2 h adicionales y, en cuyo punto se eliminaron los volátiles al vacío y el material se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano) proporcionó el compuesto del titulo. LCMS: R_t = 1.11 min, m/z = 1029.9 (M+1) Método 2m_acidico.

Paso 7: Ácido (2***R***,3***S***)-3-((***Z***)-2-((1-((benzidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((***terc***-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(4-(***terc***-butoxicarbonil)(-3-((***terc***-butoxcarbonil)amino)-2,11,11-trimetil-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodecil)-2-***H***-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico. A una solución enfrida con hielo de 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(4-(*terc*-butoxicarbonil)-3-((terc-butoxicarbonil)imino)-2,11,11-trimetil-9-oxo-2,4,8-triazadodecil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil-4-oxoazetidin-3-il)amino)-1-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)-2-ciclopropanocarboxilato de benzhidrilo (32 mg, 0.028 mmol) en DMF (283 µl) a 0 ºC se añadio SO_3•DMF (43.4 mg, 0.283 mmol). Después de agitar durante 2 h, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAC, se

lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

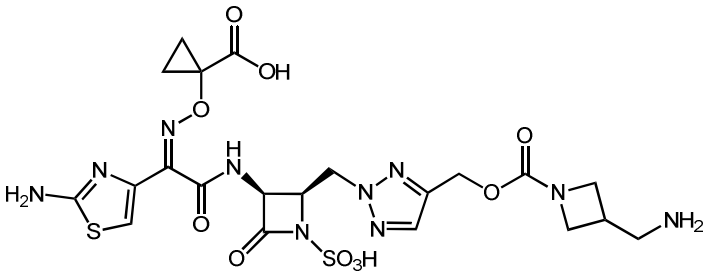
Paso 8:

Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropil)-1-metilguanidino)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Se seguio el procedimiento general para la desprotección medida por acido utilizando ácido (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhidriloxi)carbonil)ciclopropoxi)imino)-2-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)tiazol-4-il)acetamida)-2-((4-(4-((*terc*-butoxicarbonil)-3-(*terc*-butoxicarbonil)imino)-2, 11, 11-trimetil-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodecil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxoazetidina-1-sulfonico (27 mg, 0.022 mmol), TFA (103 µl, 1.34 mmol), y DCM (223 µl). El material cruo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa(XSELECT C18, 5 µ, 30x100 mm, ACN/H_2O w/0. Buffer de ácido fórmico al 0.1%), produciendo el compuesto del título (1.1 mg, 7%) como un sólido blanco. LCMS: R_t = 0.32 min, m/z = 643.3 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O) □*J* = 5.7 Hz, 1H) 4.89-4.83 (m, 1H) 4.60-4.45 (m, 2H) 3.25 (td, *J* = 6.9, 3.6 Hz, 2H) 2.95 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H) 2.91 (s, 3H) 1.98-1.74 (m, 2H) 1.23-1.10 (m, 2H) 1.05-1.00 (m, 2H).

Ejemplo 149: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3S)-2-((4-(((3-(aminometil)azetidina-1-carbonil)oxi)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

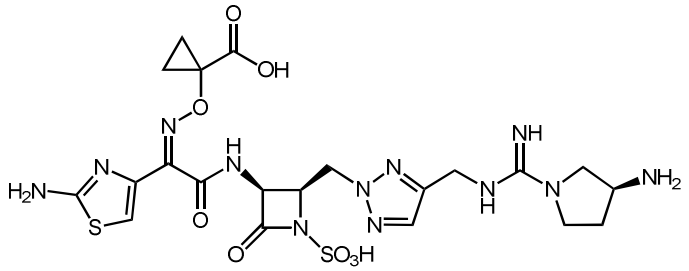


Preparado de una manera análoga al Ejemplo 126 utilizando (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metil 3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato en el paso 2 LCMS: R_t = 0.52 min, m/z = 643.2 (M+1) Método 2m_acídico_polar. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) □□7.83 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 5.61 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.25-5.16 (m, 2H), 5.08-4.97 (m, 2H), 4.93-4.86 (m, se asume 1H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 4.22 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 3.89-3.77 (m, 2H), 3.32 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 3.07-2.95 (m, 1H), 1.49-1.37 (m, 2H), 1.34-1.19 (m, 2H).

Preparación de 3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metilo. Preparado de una manera analoga al ejemplo 4, etapa 2 usando (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2 *H*-1,2,3-triazol-4-il)metil 3-*(((terc-butoxicarbonil)* amino) metil) azetidina-1-carboxilato de metilo (410 mg, 0,591 mmol), $K_2S_2O_8$ (272 mg, 1.01 mmol) y K_2HPO_4 (165 mg, 0.946 mmol) en ACN: agua (2:1, 7.2 ml) mientras se calienta durante 5 horas a 90° C. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 30-90%), proporcionando el compuesto del título (80 mg, 25%) como un sólido. LCMS: R_t = 0.78 min, m/z = 544.2 (M+1) Método 2m_acidico.

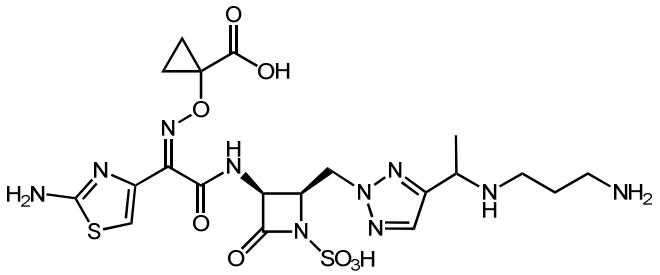
Preparación de (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil 3-(((*terc*-butoxicarbonil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato. Un vial de centelleo de 20 mL ((2 *R*,3 *S*)-1-(2,4-dimetoxibencil)-2-((4-(hidroximetil)-2 *H*-1,2,3-triazol-2-il)metill)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (660 mg, 1.37 mmol, obtenido como un subproducto durante la preparación del intermediario V), CDI (252 mg, 1.51 mmol) y DCM (11.4 ml). Después de agitar durante 2 h, se añadió (azetidin-3-ilmetil)carbamato de *terc-butilo* (383 mg, 2.06 mmol) y se agitó durante 16 h adicionales. La mezcla se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-heptano, 40-90%), proporcionando el compuesto del título (410 mg, 43%) como un sólido. R_t = 0.94 min, m/z = 694.3 (M+1) Método 2m_acidico.

Ejemplo 150: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((S)-3-aminopirr*o*lidina-1-carboxamidamido)metil)-2H-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al ejemplo 127, utilizando pirrolidin-3-ilcarbamato de terc-butilo en el paso 3. R_t = 0.25 min, m/z = 641.4 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) □J = 1.4 Hz, 1H), 7.59 (br s, 2H), 7.20 (s, 2H), 6.74 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 5.23 (ddd, J = 14.6, 8.8, 5.5 Hz, 1H), 4.90 (dt, J = 13.8, 3.7 Hz, 1H), 4.71-4.60 (m, 1H), 4.59-4.35 (m, 3H), 3.90 (br s, 1H), 3.70-3.38 (m, 3H supone; solapa con el pico de agua), 2.30-2.15 (m, 1H), 2.09-1.98 (m, 1H), 1.30-1.13 (m, 2H), 1.13-0.98 (m, 2H).

Ejemplo 151: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropil)amino)etil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 146, utilizando 3-bromobut-1-ino en paso 2. LCMS: R_t = 0.50 min, m/z = 601.2 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O, informó como 1,3: 1 mezcla de diastereómeros) □J = 5.6 Hz, 0.75H), 5.64 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.08 (q, J = 5.5 Hz, 1.8H), 4.97 (q, J = 9.3, 7.7 Hz, 3.9H), 4.76-4.68 (m, se asume 1.7H; parcialmente oscurecido con un pico residual de solvente), 3.24-3.02 (m, 7.5H), 2.21-2.02 (m, 3.8H), 1.76 (d, J = 7.0 Hz, 2.35H), 1.73 (d, J = 6.9 Hz, 3.1H), 1.41-1.21 (m, 4.9H), 1.20-1.08 (m, 2.5H).

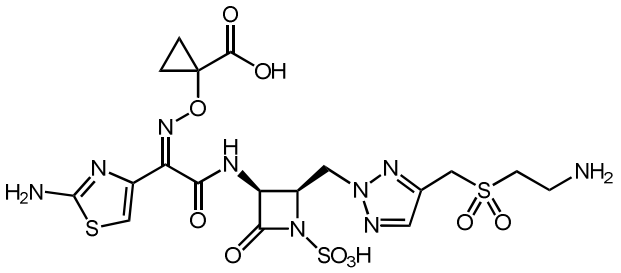
Ejemplo 152: Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-aminoetil)sulfonil)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.

<u>Paso 1:</u> Metanosulfonato de 2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxoazetidin-2-il)metil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)metilo. A una solución de ((2*R,*3*S)*-2-((4-(hidroximetil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il) metil)-4-oxoazetidin-3-il)carbamato de bencilo (100 mg, 0.302 mmol. obtenido durante la preparación del intermediario V) en DCM (3.0 mL) a 0° C se añadió TEA (8 4 µL, 0.60 mmol) seguido por cloruro de metanosulfonilo (28.2 µL, 0.362 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM, se lavó con $NaHCO_3$ saturado (acuoso), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo crudo se utilizó sin purificación adicional. LCMS: R_t = 0.66 min, m/z = 410.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 2:</u> Preparado de una manera anologa al ejemplo 138, paso 1 utilizando el producto de la etapa 1 (525 mg, 1.28 mmol), (2-mercaptoetil) carbamato de *erc-butilo* (273 mg, 1.53 mmol), yoduro de sodio (192 mg, 1.28 mmol) y carbonato de cesio (836 mg, 2.56 mmol) en DMF (12.8 mL). El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano) para proporcionar el producto (190 mg, 30%). LCMS: R_t = 0.80 min, m/z = 491.2 (M+1) Método 2m_acidico.

<u>Paso 3:</u> A una solución del producto (190 mg, 0.387 mmol) a partir del paso 2 en DCM (3.9 mL) a 0° C se añadió m-CPBA (147 mg, 0.852 mmol). Después de agitar durante 1 hora, se particionó entre agua/DCM. La capa acuosa se extrajo con DCM y las capas organicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc-Heptano), para proporcionar el producto (148 mg, 73%). LCMS: R_t = 0.72 min, m/z = 523.2 (M+1) Método 2m_acidico.

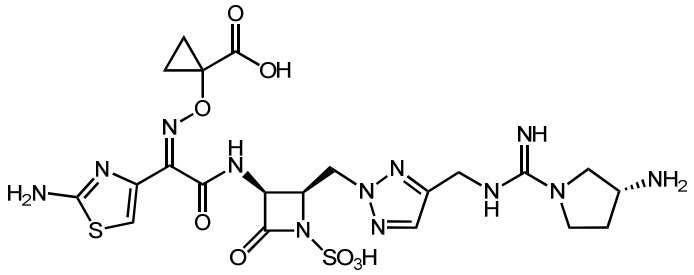
<u>Paso 4:</u> Ácido 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-aminoetil)sulfonil)metil)-2*H*-1,2,3-triazol-2-il)metil)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il)amino)-1-(2-aminotiazol-4-il)-2-oxoetilideno)amino)oxi)ciclopropanocarboxilico.



Preparado de manera análoga al Ejemplo 4, pasos 3-6. LCMS: R_t = 0.31 min, m/z = 622.1 (M+1) Método 2m_acidico. ^{1}H RMN (500 MHz, D_2O) *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.03 (q, *J* = 5.6

Hz, 1H), 4.91 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.78 (s, se asume 2H; oscurecido con un pico residual de solvente), 3.63-3.58 (m, 2H), 3.54-3.50 (m, 2H), 1.41-1.33 (m, 2H), 1.24 (t, *J* = 3.2 Hz, 2H).

Ejemplo 153: 1 - (((Z) - (2 - (((2R, 3S) -2 - ((4 - (((R) -3-aminopirrolidina-1-carboximidamido) metil) 2H-1,2 , 3-triazol-2-il) metil) -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -1- (2-aminotiazol-4-il) -2-oxoetiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxílico.



Preparado en una manera análoga a la del Ejemplo 127 utilizando (R) -terc-butilo pirrolidin-3-ilcarbamato en el paso 3. Rt = 0,30 min, m / z = 641,4 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6)d 10,51 a 9,87 (m, 1H), 8,07-7,75 (m, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,59 (br s, 2H), 7,20 (s, 2H), 6,73 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 5,22 (ddd, J = 15,1, 8,8, 5,4 Hz, 1H), 4,94-4,85 (m, 1H), 4,70-4,59 (m, 1H), 4,59-4,36 (m, 3H), 3,97-3,83 (m , 1H), 3,70-3,38 (m, 3H supone; solapa con el pico de agua), 2.29 a 2.17 (m, 1H), 2,08-1,98 (m, 1H), 1.27 a 1.15 (m, 2H), 1.13 a 1.1 (m, 2H).

Ejemplo 154: 1 - (((Z) - (1- (2-aminotiazol-4-il) -2 - (((2R, 3S) -2 - ((5,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-2 (4H) -il) metil) -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -2-oxoetiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxílico.

Paso 1: terc-butilo ((4-clorobut-2-in-1-il) oxi) difenilsilano. A una solución de imidazol (691 mg, 10,2 mmol) y terc-butilclorodifenilsilano (2,65 ml, 10,1 mmol) en DCM (15,3 ml) a 0 ° C se añadió 4-clorobut-2-in-1-ol (824 mL, 9,18 mmol). Después de 2 h de agitación a temperatura ambiente se diluyó con DCM / agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (2x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se disolvió en dioxano y se reconcentró (2x), entonces utiliza directamente sin purificación adicional.

Paso 2: 5- (azidometil) -4 - (((tert-butildifenilsililo) oxi) metil) -1H-1,2,3-triazol. A una solución de terc-butilo ((4-clorobut-2-in-1-il) oxi) difenilsilano (3,15 g, 9,18 mmol) en dioxano / agua (46 ml, 3: 1) de cloruro de amonio se añadió (982 mg, 18,4 mmol) seguido de azida de sodio (2,39 g, 36,8 mmol). La solución bifásica se calentó a 75 ° C durante 33 h,

después de lo cual se separaron las capas y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 35%) para proporcionar el compuesto del título (1,692 g, 47%) como un sólido blanco. Rt = 1,11 min, m / z = 393,2 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$)d 11,54 (s, 1H), 7,71-7,63 (m, 4H), 7,49-7,36 (m, 6H), 4,87 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 1,58 (s, 2H), 1,07 (s, 9 Hrs).

Paso 3: ((4 - (((tert-butildifenilsililo) oxi) metil) -1H-1,2,3-triazol-5-il) metil) carbamato de terc-butilo. Un matraz se cargó con 5-(azidometil)-4-(((tert-butildifenilsililo)oxi)metil)-1H-1,2,3-triazol (1,044 g, 2,420 mmol), Boc-anhídrido (581 mg, 2,66 mmol) y Pd-C (5%, 200 mg). Después de inundar el sistema con N_2, se añadió EtOH (24,2 ml). Después, la mezcla se evacuó y se recargó con H2 (3x). Después de agitar vigorosamente durante 17 h, el sistema se purgó con N2 y la suspensión se filtró sobre celite y se concentró al vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 50%) para proporcionar el compuesto del título (777 mg, 69%) como un sólido blanco. Rt = 1,12 min, m / z = 467,1 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (500 MHz, CDCl3)d 7,71-7,64 (m, 4H), 7,49-7,36 (m, 6H), 4,87 (s, 2H), 4,40 (br s, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,08 (s, 9H).

Etapa 4:A una solución de bencil ((2S, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencilo) -2-(hidroximetil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (674 mg, 1,68 mmol), terc-butilo ((4 - (((tert-butildifenilsililo) oxi) metil) -1H-1,2,3-triazol-5-il) metil) carbamato de metilo (777 mg, 1,67 mmol) y trifenilfosfina (525 mg, 2,00 mmol) en THF (16,7 ml) a 0ºC se añadió DIAD (414 l, 1,10 mmol), gota a gota. Después de agitar a ta durante 11 h, la mezcla se concentró sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 50%) para proporcionar el producto (1,196 g, 85%) como un sólido blanco. Rt = 1,31 min, m / z = 849,4 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 5: ((2R, 3S) -2 - ((4- (aminometil) -5 - (((tert-butildifenilsililo) oxi) metil) -2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) -1- (2,4-dimetoxibencil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. A una solución del producto de la etapa 4 (265 mg, 0,312 mmol) en DCM (3,1 ml) a 0 ° C se añadió TFA (721 l, 9,36 mmol). Después de agitar a 0 ° C durante 3 h, se diluyó con DCE y se concentró a vacío. El residuo se redisuelve en DCM y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (ac). La capa acuosa se extrajo con DCM (3x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se usó como tal sin más purication. Rt = 1,03 min, m / z = 749,4 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 6: ((2R, 3S) -2 - ((4 - (((tert-butildifenilsililo) oxi) metil) -5 - ((2-nitrophenilsulfonamido) metil) -2H-1,2,3-triazol 2-il) metil) -1- (2,4-dimetoxibencil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. A una solución de bencil ((2R, 3S) -2 - ((4-(aminometil) -5 - (((tert-butildifenilsililo) oxi) metil) -2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) -1- (2,4-dimetoxibencil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (234 mg, 0,312 mmol) en DCM (3,1 ml) a 0 ° C se añadió cloruro de 2-nitrobenceno-1-sulfonilo (77,2 mg, 0,338 mmol) seguido de TEA (87 l, 0,62 mmol). Después de 2,2 h de agitación a ta, se diluyó con DCM y se lavó con $KHSO_4$ (2%, aq). La capa acuosa se extrajo con DCM (3x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y concd a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 60%), produciendo el compuesto del título (252 mg, 87%) como un sólido blanquecino. Rt = 1,24 min, m / z = 934,4 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 7: ((2R, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencil) -2 - ((4- (hidroximetil) -5 - ((2-nitrophenilsulfonamido) metil) -2H-1,2,3 triazol-2-il) metil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. A una solución de bencil ((2R,3S)-2-((4-(((tert-butildifenilsililo)oxi) metil) -5 - ((2-nitrophenilsulfonamido) metil) -2H-1,2,3-triazol -2-il) metil) -1- (2,4-dimetoxibencil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (252 mg, 0,270 mmol) en THF (2,8 ml) a 0 ° C se añadió TBAF (1,0 M en THF, 270mL, 0,270 mmol). Después de agitar durante 2,6 h, la solución se diluyó con EtOAc y se concentró parcialmente a vacío. EtOAc adicional se añadió junto con $KHSO_4$ (2%, aq) y agua. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 100%), produciendo el compuesto del título (165 mg, 88%) como un sólido blanco. Rt = 0,83 min, m / z = 696,3 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 8: ((2R, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencil) -2 - ((5 - ((2-nitrofenil) sulfonil) -5,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1 , 2,3] triazol-2 (4H) -il) metil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de bencilo. A una soln de bencilo ((2R, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencil) -2 - ((4- (hidroximetil) -5 - ((2-nitrophenilsulfonamido) metil) -2H-1,2,3 triazol-2-il) metil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (165 mg, 0,237 mmol), y trifenilfosfina (91,6 mg, 0,349 mmol) en THF (11,9 ml) a 0 ° C se añadió DIAD (72 l, 0,35 mmol), gota a gota. Después de 3 h, se añadió más trifenilfosfina (46,4 mg, 0,177 mmol), después de lo cual se enfrió a 0 ° C seguido de la adición de DIAD (37 l, 0,18 mmol). Después de agitar a rt durante 2,5 h se concentró en vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 100%) para

proporcionar el compuesto del título (318 mg), que fue contaminado con óxido de trifenilfosfina. Rt = 0,93 min, m / z = 678,3 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 9: 2 - (((2R, 3S) -3 - (((benciloxi) carbonil) amino) -1- (2,4-dimetoxibencil) -4-oxoazetidin-2-il) metil) -4, 6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) -carboxilato de terc-butilo. A una suspensión de bencilo ((2R, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencil) -2 - ((5 - ((2-nitrofenil) sulfonil) -5,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-2 (4H) -il) metil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (241 mg, ~ 50% / p, ~ 0,178 mmol) y carbonato de potasio (77,4 mg, 0,560 mmol) en DMF (3,0 ml) se añadió tiofenol (23,8 l, 0,231 mmol). Después de agitar a ta durante 2 h, se añadió Boc-anhídrido (78 mg, 0,36 mmol). Después de un adicional de 2 h, la suspensión se diluyó con EtOAc y se lavó con NaHCO3 saturado (ac). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con LiCl (5% aq), salmuera, se secó sobre Na2SO4 y concd a vacío. El residuo en bruto se combinó con los residuos de 2 como trasformations (escalas 15 mg y 20 mg) y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 100%) para proporcionar el compuesto del título (85,5 mg, 81% combinado). Rt = 0,96 min, m / z = 593,2 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (500 MHz, DMSO-d6)d 8,21 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,40-7,27 (m, 5H), 6,92 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 5,04 (s, 2H), 5,00 (dd, J = 9,6, 5,1 Hz, 1H), 4,65 (dd, J = 14,0, 7,1 Hz, 1H), 4,56 (dd, J = 4,1, 6,2 Hz, 1H), 4,38-4,24 (m, 5H), 4,12 (q, J = 6,2 Hz, 1H), 3,86 (d, J = 15,1 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

Paso 10: 2 - (((2R, 3S) -3 - (((benciloxi) carbonil) amino) -4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) –carboxilato de terc-butilo. Formó una suspensión espesa de terc-butilo 2 - (((2R, 3S) -3 - (((benciloxi) carbonil) amino) -1- (2,4-dimetoxibencil) -4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6 -dihydropyrrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) -carboxilato (85,5 mg, 0,144 mmol), peroxidisulfato de potasio (51,8 mg, 0,186 mmol) y fosfato de potasio dibásico (57 mg, 0,33 mmol) en ACN / agua (2 ml, 2: 1) durante 5 min, después se calentó a 90 ° C durante 1,5 h. Se añadió peroxidisulfato Más de potasio (13,9 mg, 0,050 mmol) y se calentó durante una hora adicional. Se añadió más peroxidisulfato de potasio (12,1 mg, 0,043 mmol) y se calentó una hora adicional, después de lo cual la suspensión se concentró parcialmente a vacío y después se repartió entre $NaHCO_3$ saturado (ac) y EtOAc. Después de separar las capas, la acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0 a 100%) para dar el producto contaminado (33 mg), que se volvió a purificar por

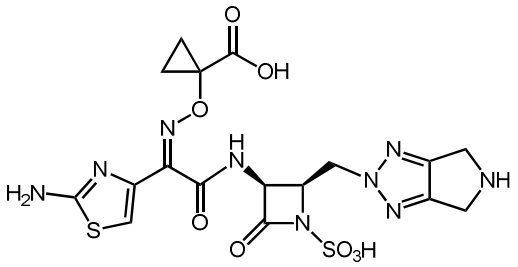
HPLC de fase inversa (XSELECT CSH, C18, 5 μ, 30x100 mm, ACN / H_2O con tampón de ácido fórmico al 0,1%, 60 mL / min). Se obtuvo el compuesto del título (12,1 mg, 19%) como un sólido blanco. Rt = 0,78 min, m / z = 433,2 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (500 MHz, DMSO-d6)d 8,40 (s, 1H), 8,17 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,42-7,26 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 5,04-4,99 (m, 1H), 4,58 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 4,40 (d, J = 4,7 Hz, 4H), 4,22 (q, J = 6,5 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

Paso 11: 2 - (((2R, 3S) -3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) -carboxilato de terc-butil. Formó una suspensión espesa de terc-butilo 2 - (((2R, 3S) -3 - (((benciloxi) carbonil) amino) -4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) -carboxilato (11,8 mg, 0,027 mmol) y Pd-C (5%, 2,3 mg) en MeOH / EtOH (740 l, 1,7: 1) en atmósfera de N_2, con lo cual el sistema de fue evacuado y rellenado con H_2 (3x). Después de agitar vigorosamente durante 1,7 h, el sistema se purgó con N2 y los sólidos se filtraron a través de un 0,45mfiltro de jeringa. El filtrado se concentró a vacío y se utilizó como tal sin purificación adicional.

Paso 12: 2 - (((2R, 3S) -3 - ((Z) -2 - ((1- ((benzhidriloxi) carbonil) -ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) acetamido) -4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) –carboxilato de terc-butil. A una suspensión enfriada (0 ° C) de -2 (Z) - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) acético (15,3 mg, 0,028 mmol), terc-butilo 2 - (((2R, 3S) -3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) -carboxilato (8,3 mg, 0,027 mmol) y HATU (11,4 mg, 0,029 mmol) en DMF (500 l) se añadió DIPEA (9,5 l, 0,054 mmol). Después de agitar a ta durante 16 h, se diluyó con EtOAc y se lavó con LiCl (5%, aq). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (18,1 mg, 81%) como un sólido blanco. Rt = 1,08 min, m / z = 828,5 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 13: (2R, 3S) -3 - ((Z) -2 - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4- il) acetamido) -2 - ((5- (terc-butoxicarbonil) -5,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-2 (4H) -il) metil) -4-oxoazetidina-1-sulfónico. A una sln de terc-butilo 2 - (((2R, 3S) -3 - ((Z) -2 - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) acetamido) -4-oxoazetidin-2-il) metil) -4,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-5 (2H) - se añadió carboxilato de etilo (18,1 mg, 0,022 mmol) en DMF (300 l) a 0 ° C SO3 • DMF (12,3

mg, 0,078 mmol). Después de agitar a ta durante 2 h, la solución se enfrió a 0 ° C y se añadió más SO3 • DMF (22,2 mg, 0,141 mmol). Después de 4 h adicionales a temperatura ambiente se diluyó con EtOAc y se lavó con LiCl (5% aq). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na2SO4 y concd a vacío. Fue utilizado como tal (cuantitativo asumida) sin purificación adicional. Rt = 0,96 min, m / z = 908,4 (M + 1) Método 2m_acidic.



Paso 14: 1 - (((Z) - (1- (2-aminotiazol-4-il) -2 - (((2R, 3S) -2 - ((5,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-2 (4H) -il) metil) -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -2-oxoetiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxílico. Siguió el procedimiento general para la desprotección de ácido mediada por el uso de (2R, 3S) -3 - ((Z) -2 - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) - ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) acetamido) -2 - ((5- (terc-butoxicarbonil) -5,6-dihidropirrolo [3,4-d] [1,2,3] triazol-2 (4H) il) metil) -4- oxoazetidina-1-sulfónico (20 mg, 0,022 mmol), anisol (5 l, 0,046 mmol), DCM (300mL) y TFA (51 mL, 0,66 mmol). El residuo bruto se purificó por HPLC prep de fase inversa HPLC (XSELECT CSH, 30 x 100 mm, 5mm, columna C18; ACN-agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%, 60 mL / min), produciendo el compuesto del título (7,3 mg, 60%) como un polvo blanco. LCMS: Rt = 0,37 min, m / z = 542,1 (M + 1) Método 2m_acidic_polar; 1H RMN (500 MHz, D2O)d 7,18 (s, 1H), 5,51 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H), 5,01-4,92 (m, 2H), 4,87 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,61-4,35 (m, 4H), 1,42-1,32 (m, 2H), 1,32-1,23 (m, 2H).

Ejemplo 155: 1 - (((Z) - (1- (2-aminotiazol-4-il) -2 - (((2R, 3S) -2 - ((4 - ((S) -1,3- diaminopropil) 2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -2- oxoetiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxílico

Ejemplo 156: 1 - (((Z) - (1- (2-aminotiazol-4-il) -2 - (((2R, 3S) -2 - ((4 - ((R) -1,3- diaminopropil) 2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -2- oxoetiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxílico

Paso 1: (1 - ((terc-butildifenilsililo) oxi) -4-oxobutan-2-il) carbamato de-(S) terc-butilo.

A una solución de (S) -terc-butilo (1 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) -4-hydroxibutan-2-il) carbamato de metilo (preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en WO2013124826 A1 usando ácido L-aspártico) (15,0 g, 33,8 mmol) y DIPEA (29,5 ml, 169 mmol) en DCM (50 ml) a 0 ° C se añadió una suspensión de DMSO (7,20 ml, 101 mmol) y complejo piridina-trióxido de azufre (16,14 g, 101 mmol) en DCM (50 ml). Después de agitar a rt durante 1,5 h, la mezcla se diluyó con solución saturada de $NaHCO_3$ (aq) y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM y las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío para proporcionar el compuesto del título (16,9 g, supone cuantitativo) como un aceite de color marrón ight. Se utilizó como tal sin purificación adicional. LCMS: Rt = 1,20 min, m / z = 442,2 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 2: (4- (bencilamino) -1 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) butan-2-il) carbamato de (S)- terc-butilo. Al (1 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) -4-oxobutan-2-il) carbamato de (S)-terc-butilo (14,93 g, 33,8 mmol) en DCE (100 ml) a 0 ° C Se añadió bencilamina (3,69 ml, 33,8 mmol) y triacetoxihydroborate de sodio (8,60 g, 40,6 mmol) secuencialmente. Después de agitar a rt 18 h, se inactivó mediante la adición de NaHCO3 saturado (acuoso, 300 ml) y se agitó durante 30 min adicionales. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (8 g, 44%). LCMS: Rt = 1,08 min, m / z = 533,2 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 3: (4-amino-1 - ((terc-butildifenilsililo) oxi) butan-2-il) carbamato de(S)-terc-butilo. Para (S) -terc-butilo (4- (bencilamino) -1 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) butan-2-il) carbamato de metilo (8,0 g, 15,0 mmol) en MeOH (100 ml) se añadió formiato de amonio (9,47 g, 150 mmol) y Pd (OH) 2 (1,054 g, 1,502 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 70 ° C durante 1,5 h después se enfrió a ta y se filtró a través de una de celite, eluyendo con MeOH / EtOAc (1: 2, ~ 800 ml). El filtrado se concentró en vacío para proporcionar el compuesto del título (7 g) de un residuo marrón claro que se usó como tal sin purificación adicional. LCMS: Rt = 0,95 min, m / z = 443,2 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 4: (4 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) butano-1,3-diilo) dicarbamato de (S) -di-terc-butilo. Para (S) -terc-butilo (4-amino-1 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) butan-2-il) carbamato Se añadió (6,65 g, 15,02 mmol) en DCM (75 ml) saturada de NaHCO3 (aq, 50 ml) y dicarbonato de di-terc-butilo (5,24 g, 24,03 mmol), secuencialmente. Después de agitar

durante 16 h, las capas de se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (6,25 g, 77%). LCMS: Rt = 1,31 min, m / z = 543,2 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (400 MHz, CDCl3)d ppm 7,70-7,58 (m, 4H) 7,49-7,34 (m, 6H) 5.29 a 5.12 (m, 1H) 4,83-4,56 (m, 1H) 3,72 (d, J = 8,4 Hz, 2H) 3,63-3,51 (m, 1H) 3,48-3,27 (m, 1H) 3,04-2,73 (m, 1H) 1,58 (d, J = 4,9 Hz, 2H) 1,44 (s, 9H) 1,43, (s, 9H), 1,06 (s, 9H).

Paso 5: (4-hidroxibutano-1,3-diilo) dicarbamato (S) -di-terc-butilo. A una solución de (4 - ((tert-butildifenilsililo) oxi) butano-1,3-diilo) dicarbamato(S) -di-terc-butilo (6,25 g, 11,51 mmol) en MeOH (100 ml) se añadió hidróxido de sodio (1,38 g, 34,5 mmol) en agua (20,0 ml). La mezcla se calentó a 70 ° C durante 18 h, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró parcialmente a vacío. Después, se añadió DCM y la mezcla se enfrió a 0 ° C, después de lo cual el ácido acético (2,31 ml, 40,3 mmol) se añadió. La capa orgánica se separó, se lavó con NaHCO3 saturado (ac) y salmuera. Las porciones acuosas combinadas se extrajeron con DCM y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na2SO4 y se concentraron a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (1,67 g, 48%). LCMS: Rt = 0,67 min, m / z = 305,1 (M + 1) Método 2m_acidic. 1H RMN (400 MHz, CDCl3)d ppm 5,06 (s ancho, 1H) 4,83 (br s, 1H) 3,82-3,64 (m, 2H) 3,61 (dd, J = 10,3, 4,9 Hz, 1H) 3,43-3,25 (m, 1H) 3,11-2,93 (m, 1H) 2,18 (br s, 1H) 1,79-1,65 (m, 1H) 1,64-1,58 (m, 1H) 1,51-1,36 (m, 18H).

Paso 6: (4-oxobutano-1,3-diilo) dicarbamato(S) -di-terc-butilo. A una solución de (S) -di-terc-butilo (4-oxobutano-1,3-diilo) dicarbamato (1,67 g, 5,49 mmol) y DIPEA (3,83 ml, 21,95 mmol) en DCM (20 ml) a 0 ° C se añadió una suspensión de DMSO (1,061 ml, 13,72 mmol) y complejo de trióxido de azufre piridina (2,183 g, 13,72 mmol) en DCM (20 ml). Después de agitar a ta durante 30 min, la mezcla se diluyó con solución saturada de NaHCO3 (aq) y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (1,47 g, 89%). LCMS: Rt = 0,70 min, m / z = 325,0 (M + Na) Método 2m_acidic.

Paso 7: (S) -di-terc-butil-pent-4-ino-1,3-diildicarbamato.

se añadió carbonato de potasio a una solución de (S) -di-terc-butilo (4-oxobutano-1,3-diilo) dicarbamato (1,47 g, 4,86 mmol) en MeOH (30 ml) (1,680 g, 12,15 mmol) y de dimetilo (1-diazo-2-oxopropil) fosfonato (1,40 ml, 7,29 mmol), secuencialmente. Después de

agitar durante 15 h, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (0,943 g, 65%). LCMS: Rt = 0,81 min, m / z = 321,1 (M + Na) Método 2m_acidic.

Paso 8: (1- (2H-1,2,3-triazol-4-il) propano-1,3-diilo) dicarbamato (S) -di-terc-butilo. A una solución de (S) -di-terc-butil-4 pent-ino-1,3-diildicarbamate en DMF / MeOH (3,7 ml, 1,2: 1) se añadió azidotrimetilsilano (330mL, 2,38 mmol) y yoduro de cobre (15 mg, 0,079 mmol). La mezcla se calienta a 100 oC durante 16 h, se enfrió a temperatura ambiente después se filtró a través de celite. El filtrado se concentró al vacío y el residuo bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título. LCMS: Rt = 0,68 min, m / z = 342,1 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 9: A una solución de (S) -di-terc-butilo (1- (2H-1,2,3-triazol-4-il) propano-1,3-diilo) dicarbamato (852 mg, 2,50 mmol), bencilo ((2S, 3S) -1- (2,4-dimetoxibencilo) -2-(hidroximetil) -4-oxoazetidin-3-il) carbamato de metilo (1,05 g, 2,62 mmol) y PPh3 (785 mg, 2,99 mmol) en THF (13 ml) a 0 ° C se añadió DIAD (0,582 ml, 2,99 mmol), gota a gota. Después de agitar a temperatura ambiente durante 7 h, se concentró en vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para proporcionar el producto (1,24 g, 68%). LCMS: Rt = 1,01 min, m / z = 724,5 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 10: Al producto de la etapa 9 (1,240 g, 1,713 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se añadió K2S2O8 (621 mg, 2,227 mmol) y una solución de K2HPO4 (477 mg, 2,74 mmol) en agua (10 ml), secuencialmente . Después de calentar a 90 ° C con agitación vigorosa durante 1 h, se añadió $K_2S_2O_8$ adicional (185 mg, 0,685 mmol) junto con K3PO4 (363 mg, 1,71 mmol). La mezcla se calentó a 90 ° C durante 5 h después se enfrió a rt y se diluyó con EtOAc (120 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el producto (590 mg, 60%). LCMS: Rt = 0,85 min, m / z = 574,2 (M + 1) Método 2m_acidic.

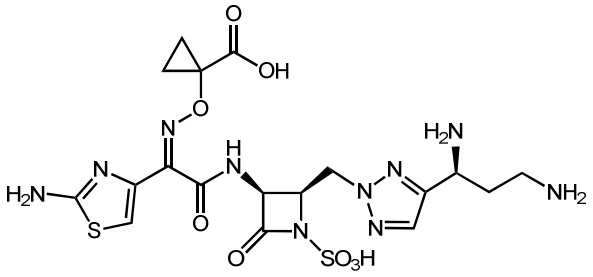
Paso 11: ((S) -1- (2 - (((2R, 3S) -3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) -2H-1,2,3-triazol -4-il) propano-1,3-diilo) dicarbamato Di-terc-butilo. Formó una suspensión espesa del producto de la etapa 10 (590 mg, 1,03 mmol) y Pd-C (10% 200 mg) en EtOH / MeOH (21 ml, 2: 1), después de lo cual el sistema se evacuó y se recargó con H2 (3x). Después de 4 h de agitación vigorosa, la mezcla se filtró a través de celite, lavando con EtOH / DCM. El filtrado se concentró al vacío, produciendo el compuesto del título (se supone cuantitativo) como un

sólido de color amarillo claro que se usó como tal sin purificación adicional. LCMS: Rt = 0,61 min, m / z = 440,2 (M + 1) Método 2m_acidic.

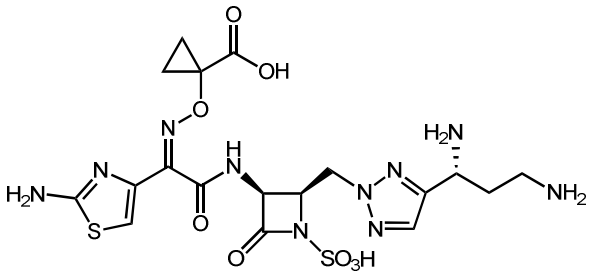
Paso 12: Benzhidril 1 - (((Z) - (1- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) -2-oxo-2 - (((3S, 4R) -2-oxo -4 - ((4 - ((S) -2,2,12,12-tetrametil-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-il) 2H-1,2 , 3-triazol-2-il) metil) azetidin-3-il) amino) etiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxilato. Una mezcla de (Z) -2 - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) acético (582 mg, 1,028 mmol), DIPEA (0,269 ml, 1,543 mmol) y HATU (430 mg, 1,131 mmol) en DCM / DMF (12 ml, 5: 1) se agitó a 0 ° C durante 30 min. Se añadió a esta mezcla de di-terc-butilo ((S) -1- (2 - (((2R, 3S) -3-amino-4-oxoazetidin-2-il) metil) -2H-1,2,3 triazol-4-il) propano-1,3-diilo) dicarbamato (1,03 mmol). Después de agitar durante 30 minutos adicionales a 0 ° C, se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano) para dar el compuesto del título (760 mg, 77%). LCMS: Rt = 1,12 min, m / z = 959,6 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 13: (3S, 4R) -3 - ((Z) -2 - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4- il) acetamido) -2-oxo-4 - ((4 - ((S) -2,2,12,12-tetrametil-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6- il) 2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) azetidin-1-sulfónico. Para benzhidrilo 1 - (((Z) - (1- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) -2-oxo-2 - (((3S, 4R) -2-oxo-4 - ((4 - ((S) -2,2,12,12-tetrametil-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-il) 2H-1,2,3 triazol-2-il) metil) azetidin-3-il) amino) etiliden) amino) oxi) ciclopropanocarboxilato de metilo (760 mg, 0,792 mmol) en DMF (4 ml) a 0 ° C se añadió SO3 • DMF (850 mg, 5,55 mmol). Después de agitar durante 2 h a ta, la solución se diluyó con EtOAc, se lavó con LiCl (5% aq), salmuera, se secó sobre Na2SO4 y se concentró a vacío para proporcionar el compuesto del título (se supone cuantitativo) como un aceite naranja que se usó directamente sin más purication. LCMS: Rt = 1,01 min, m / z = 1039,6 (M + 1) Método 2m_acidic.

Paso 14, el Compuesto 1: 1 - (((Z) - (1- (2-aminotiazol-4-il) -2 - (((2R, 3S) -2 - ((4 - ((S) -1, 3-diaminopropil) 2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) ciclopropanocarboxílico -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -2-oxoetiliden) amino) oxi).



Paso 14, Compuesto 2: 1 - (((Z) - (1- (2-aminotiazol-4-il) -2 - (((2R, 3S) -2 - ((4 - ((R) -1, 3-diaminopropil) 2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) ciclopropanocarboxílico -4-oxo-1-sulfoazetidin-3-il) amino) -2-oxoetiliden) amino) oxi).



Al (3S, 4R) -3 - ((Z) -2 - ((1 - ((benzhidriloxi) carbonil) ciclopropoxi) imino) -2- (2 - ((tert-butoxicarbonil) amino) tiazol-4-il) acetamido) -2-oxo-4 - ((4 - ((S) -2,2,12,12-tetrametil-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-il) se añadió 2H-1,2,3-triazol-2-il) metil) azetidin-1-sulfónico (5,55 mmol) en ácido fórmico (4 ml) a 0 ° C anisol (173mL, 1,58 mmol). La solución se calentó a 40 ° C durante 2 h, después de lo cual se enfrió a ta y se concentró a vacío. Se añadió el residuo resultante DCM (15 ml) y después agua de hielo (12 ml) y ésta se agitó vigorosamente durante 1 h. Las capas se separaron y la capa acuosa se purificó directamente por HPLC de fase inversa (XSELECT CSH, 30 x 100 mm, 5mm, columna C18; ACN-agua con modificador de 0,1% de ácido fórmico, 60 ml / min), proporcionando el compuesto 1 (170 mg, 37%) y el compuesto 2 (21 mg, 5%) como sólidos blancos. Compuesto 2 se cree que surgen de leve epimerización del estereocentro durante el paso 7. 1-LCMS: Rt = 0,31 min, m / z = 573,3 (M + 1) Método 2m_acidic_polar. 1H RMN (400 MHz, D2O)dppm 7,86 (s, 1H) 7,07 (s, 1H) 5,60 (d, J = 5,6 Hz, 1H) 5,03-4,82 (m, 4H supone; parcialmente oscurecido por el pico de disolvente residual) 3,12-2,85 (m, 2H) 2.54-2,34 (m, 2H) 1.28 a 1.8 (m, 4H). 2-LCMS: Rt = 0,30 min, m / z = 573,3 (M + 1) Método 2m_acidic_polar. 1H RMN (400 MHz, D2O)d ppm 7,86 (s, 1H) 7,07 (s, 1H) 5,58 (d, J = 5,5

Hz, 1H) 5,07-4,85 (m, 4H supone; parcialmente oscurecido por el pico de disolvente residual) 3,12-2,84 (m, 2H) 2.53- 2,34 (m, 2H) 1.30 a 1.3 (m, 4H).

Cribados bacterianos y Cultivos

Los aislados bacterianos se cultivaron a partir de las existencias congelados a-70 °C por dos pasajes consecutivos durante la noche a 35 °C en aire del ambiente en 5% de agar sangre (Remel, Lenexa, Kans.). Control de calidad y P. aeruginosa ATCC 27853) es de la American Type Culture Collection (ATCC;. Rockville, MD) y la PAO1 fue recibido del Dr. K. Poole.

Construcción de las cepas isogénicas de Escherichia coli Cepas NB27273-CDY0026 (padre), NB27273-CDY0033 (KPC2) y NB27273-CDY0030 (SHV12)

La Cepa NB27273 (BW25113 PSPB:: Kmr) se obtuvo de la colección de inserción del transposón Keio. La cepa tiene el gen PSPB reemplazado por un marcador de resistencia a la kanamicina (BW25113 PSPB: Km^r). Esta cepa se curó del transposón en el PSPB a través de recombinasa FLP utilizando metodología publicada. La cepa resultante, BW25113 PSPB, se utilizó como un hospedera para los vectores multicopia que expresan □-lactamasas clave. Los plásmidos de múltiples copias que dirigen la expresión constitutiva de □-lactamasas se establecieron como sigue: Sintéticos, genes optimizados de codón que codifican E. coli KPC2 y SHV12 □lactamasas fueron hechos por DNA2.0 (Palo Alto, CA). Cada uno de los fragmentos sintéticos fueron diseñados para contener NotI y sitios de restricción NcoI en sus extremos, lo que permite la unión en un NotI / NcoI digerido pET28a (+) derivado de la expresión de proteínas. Los insertos en estos vectores sirven como moldes de ADN para la amplificación por PCR del gen que codifica KPC2 y SHV12, utilizando pares de cebadores: E225 (tcgcCTCGAGgcgactgcgctgacgaatttgg) (SEC ID NO: 1) y E202 (aatcGAATTCttactgaccattaacgcccaagc) (SEC ID NO: 2) y E227 (tcgcCTCGAGgcgagcccgcaaccgctgga) (SEC ID NO: 3) y E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgctcaatc) (SEC ID NO: 4), respectivamente. Las secuencias de nucleótidos de codón optimizadas y la información de reconocimiento del cebador se muestra a continuación:

SHV12

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCA GGGGCCCGCGAGCCCGCAACCGCTGGAGCAGATCAAGCAGTCTGAGAGCCAGCT GAGCGGCCGTGTGGGTATGATCGAGATGGATCTGGCTTCCGGCCGTACGCTGAC GGCATGGCGTGCCGACGAACGTTTCCCGATGATGTCGACCTTTAAAGTTGTTCTG TGTGGTGCGGTCTTGGCACGTGTAGACGCGGGTGACGAACAACTGGAGCGCAAG ATCCATTACCGCCAACAGGACTTGGTCGACTACAGCCCGGTTAGCGAAAAGCAC CTGGCGGATGGCATGACCGTGGGTGAATTGTGCGCCGCTGCGATTACCATGAGC GACAATAGCGCGGCTAATCTGCTGTTGGCGACCGTTGGTGGCCCAGCGGGCTTGA CCGCATTTCTGCGTCAAATCGGCGATAATGTTACGCGTCTGGATCGCTGGGAAAC GGAGCTGAACGAGGCACTGCCGGGTGATGCCCGTGATACCACGACTCCTGCTAG CATGGCAGCGACCCTGCGTAAACTGCTGACCAGCCAGCGTCTGAGCGCACGTAG CCAACGCCAGCTGCTGCAATGGATGGTGGATGACCGCGTGGCGGGTCCGCTGAT CCGCTCCGTCCTGCCAGCAGGCTGGTTCATTGCGGACAAAACTGGTGCCTCTAAG CGTGGTGCGCGTGGTATCGTCGCGCTGCTGGGTCCGAACAACAAAGCCGAACGT ATTGTGGTTATCTATCTGCGCGACACCCCGGCAAGCATGGCCGAGCGCAACCAG CAAATTGCGGGCATTGGTGCGGCACTGATTGAGCACTGGCAGCGTTAACGCCGG CG (SEC ID NO:5)

E227 TCGCCTCGAGGCGAGCCCGCAACCGCTGGA (SEC ID NO:6)

E204 AATCGAATTCTTAACGCTGCCAGTGCTCAATC (SEC ID NO:7)

REV. COMP. E204 GATTGAGCACTGGCAGCGTTAAGAATTCGATT (SEC ID NO:8)

KPC2

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGC CCGCGACTGCGCTGA
CGAATTTGGTGGCCGAGCCGTTCGCGAAATTGGAGCAAGATTTTGGTGGTTCGAT CGGTGTCTACGCGAT
GGACACCGGTAGCGGTGCCACCGTGAGCTACCGTGCCGAAGAGCGTTTTCCGCT GTGTAGCTCTTTCAAG
GGTTTTCTGGCCGCAGCCGTGCTGGCACGCAGCCAACAGCAAGCGGGCCTGCTG GACACCCCGATCCGTT

ACGGCAAAAATGCGCTGGTTCCGTGGAGCCCGATTAGCGAAAAGTACCTGACCA
CCGGCATGACGGTGGC
GGAGTTGAGCGCTGCGGCGGTTCAGTATTCCGATAACGCTGCGGCAAATCTGCTG
CTGAAAGAACTGGGC
GGTCCAGCGGGTCTGACGGCTTTCATGCGTTCTATTGGCGACACCACCTTTCGCTT
GGACCGCTGGGAGC
TGGAGCTGAACAGCGCGATTCCGGGCGACGCACGTGATACGAGCAGCCCGCGTG
CAGTGACCGAGAGCCT
GCAGAAGCTGACCCTGGGCAGCGCACTGGCCGCACCGCAGCGCCAACAGTTCGT
CGATTGGCTGAAGGGT
AACACCACCGGTAACCATCGTATTCGCGCAGCGGTCCCGGCTGATTGGGCAGTTG
GTGACAAGACTGGTA
CGTGCGGCGTTTATGGTACGGCGAATGACTACGCGGTTGTTTGGCCTACGGGTCG
TGCGCCGATCGTCCT
GGCGGTGTATACCCGTGCTCCGAACAAAGACGATAAACACTCCGAAGCGGTCAT
CGCCGCAGCAGCGCGT
CTGGCCCTGGAAGGCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAACGCCGGCG (SEC ID NO:9)

E225 TCGCCTCGAGGCGACTGCGCTGACGAATTTGG (SEC ID NO:10)

E202 AATCGAATTCTTACTGACCATTAACGCCCAAGC (SEC ID NO:11)

REV. COMP. E202 GCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAAGAATTCGATT (SEC ID NO:12)

SUBRAYADO = ADN QUE CODIFICA BL

Los productos de PCR fueron digeridos con XhoI y EcoRI y se ligaron en el plásmido digerido de manera similar pAH63-pstS (BLAP). El plásmido pAH63-pstS (BLAP) es un derivado del plásmido pAH63 (J Bacteriol: 183 (21): 6.384 a 6.393) hecho por clonación de la región de codificación de TEM-1 (bla), el promotor y el péptido señal a partir del plásmido pBAD (J Bacteriol. 1995 Jul 177 (14): 4121-30) En el plásmido pAH63. Este fragmento fue amplificado de PCR pBAD utilizando el par de cebadores E192 (ttcaCTGCAGtgaacgttgcgaagcaacggC) (SEC ID NO: 13)y E194 (TCGAggatcctcgagagcaaaaacaggaaggcaaaatgccg)(SEC ID NO: 14), Se digirió con PstI y

BamHI y se insertó en el plásmido digerido de forma similar pAH63. Por lo tanto, la expresión de los constructos de □□lactamasas basados de pAH63-pstS (BLAP) es constitutiva y la secuencia de señal se proporciona para dirigir estas proteínas al periplasma. Los vectores basados en el plásmido pAH63 se utilizan para la inserción en el genoma en una sola copia, sin embargo, para proporcionar mayores niveles de expresión y permitir la detección más sensible de la susceptibilidad de los compuestos a las □□lactamasas, los insertos de expresión contenidos en estos vectores se trasladaron al vector multicopia replicativ0 pBAD-Kan (J Bacteriol 1995 Jul 177 (14):4121-30). Para lograr esto, los insertos que abarca los genes de las □□lactamasas, con los promotores TEM asociados y las secuencias señal, se amplificaron por PCR a partir de sus correspondientes vectores usando el cebador E269 (ccgTCTAGAcggatggcctttttgcgtttc) (SEC ID NO: 15) y E202 (aatcGAATTCttactgaccattaacgcccaagc) (SEC ID NO: 16) para el constructo KPC2 y E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgctcaatc) (SEC ID NO: 17) para el constructo SHV12. Estos fragmentos fueron digeridos con XbaI y EcoRI, y cada uno se insertó en pBAD18-kan que había sido digerido con las mismas enzimas para generar un par de vectores multicopia que expresan KPC2 y SHV12 respectivamente. Estos vectores se transformaron en BW25113 PSPB para generar cepas NB27273-CDY0033 (que expresa KPC2) y NB27273-CDY0030 (que expresa SHV12). El vector pBAD18-kan también contiene la secuencia de región promotora y la señal de TEM, (pero carece de genes β-lactamasa intactos) y se transformó en BW25113 PSPB utilizando protocolos estándar para generar la cepa de control NB27273-CDY0026. La expresión de las β-lactamasas se confirmó mediante la verificación de la disminución de la susceptibilidad a los antibióticos ejemplo de prueba que son sustratos de KPC2 o SHV12 conocidos.

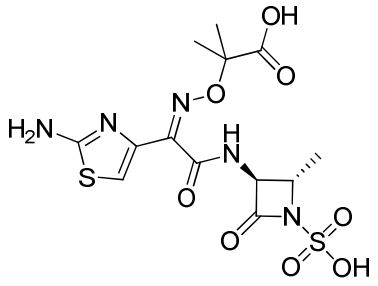
<u>Pruebas de Sensibilidad</u>

Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) se determinaron por el método de microdilución en caldo de conformidad con las directrices de la Clínica y Laboratorios Institute (CLSI). En breve, los cultivos bacterianos frescas durante la noche se suspendieron en solución salina estéril, y se ajustan a un patrón de turbidez McFarland 0,5. Las suspensiones bacterianas a continuación se diluyeron en cationes ajustados Mueller-Hinton Broth (MHB II; BBL) para dar un inóculo final de unidades formadoras de colonias de aproximadamente 5x105 (UFC) / ml. Se preparó una placa maestra de antibióticos a una concentración equivalente a cien veces la concentración final deseada más alta en 100% de sulfóxido de dimetilo (DMSO). La placa maestro de antibiótico se diluyó mediante

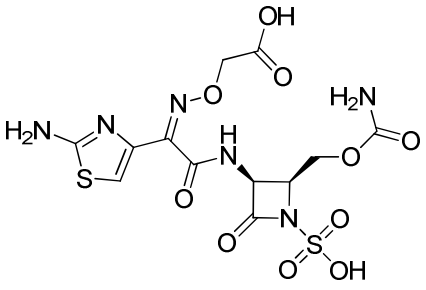
diluciones dobles en serie con una pipeta multicanal. La serie de dilución resultante de los compuestos se diluyó 1:10 con agua estéril que conduce a una concentración final de DMSO 10%. Un volumen de 10 µl de la serie de dilución de fármaco se transfirió a placas de ensayo de 96 pozos. Las placas de ensayo se inocularon con 90 µl de suspensiones bacterianas y se incubaron a 35-37 °C durante 20 horas. Las placas de ensayo se leyeron usando un lector de placa de microtitulación (Molecular Devices) a 600 nm así como mediante observación visual con un espejo de lectura. La concentración más baja del compuesto que impidió el crecimiento visible se registró como la CIM. El rendimiento del ensayo fue supervisado para probar aztreonam contra las cepas de control de calidad de laboratorio de acuerdo con las pautas del CLSI.

Compuestos de referencia: para comparación, los siguientes compuestos conocidos de monobactam se utilizan en este documento:

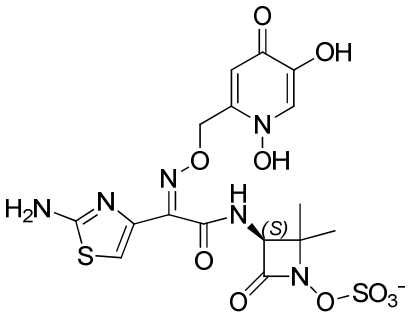
Compuesto de Referencia 1: Aztreonam



Compuesto de Referencia 2: Carumonam



Compuesto de Referencia 3: BAL30072



Compuesto de Referencia 4: Aicuris WO2013110643

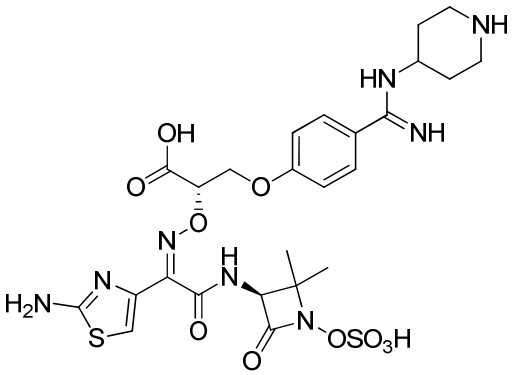


Tabla A: Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) contra cepas isogénicas de E. coli, que llevan varios determinantes de resistencia.

Ejemplo No.	Cepa 1 MIC (µg/mL)	Cepa 2 MIC (µg/mL)	Cepa 3 MIC (µg/mL)
Compuesto de Referencia 1:	0.125	>32	>32
Compuesto de Referencia 2:	0,125	1	>32
Compuesto de Referencia 3:	0,25	0.5	>32
Compuesto de Referencia 4:	> 0.06	0.25	32
Ejemplo 1	1	2	2
Ejemplo 31	0.125	0.25	0.5
Ejemplo 22	≤ 0.06	0.125	0.5
Ejemplo 4	0,5	8	2

Ejemplo 28	≤ 0.06	≤ 0.06	0.5

Cepa 1 E.coli NB27273-CDY0026 (precursor)

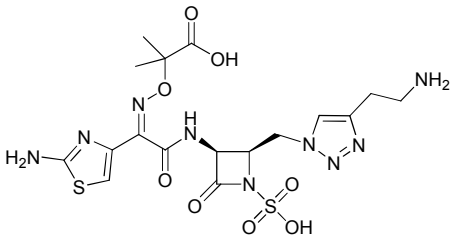
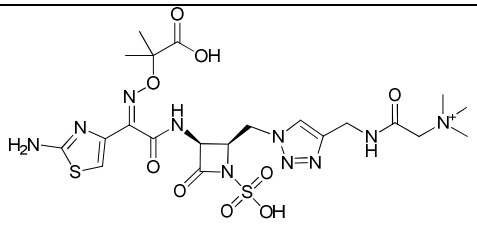
Cepa 2 E.coli NB27273-CDY0033 (KPC2)

Cepa 3 E.coli NB27273-CDY0030 (SHV12)

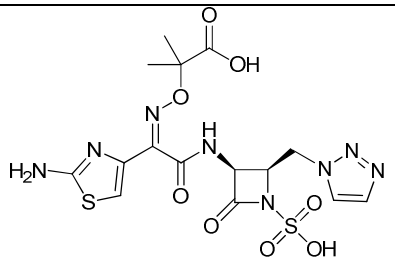
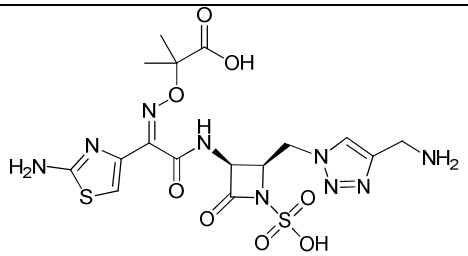
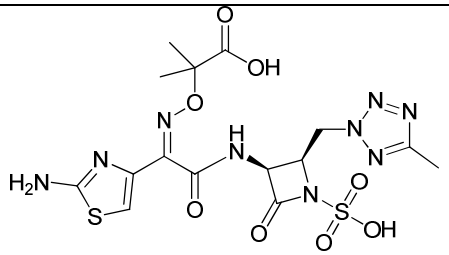
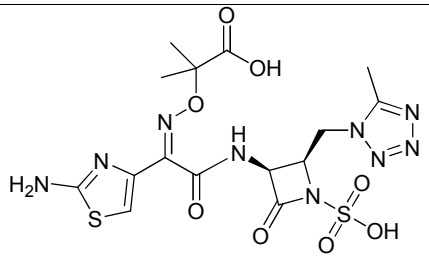
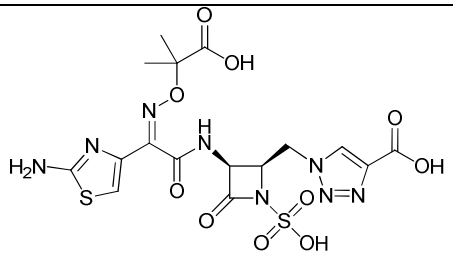
Los datos de la Tabla A muestran que los compuestos de la invención tienen buena potencia antibacteriana contra E. coli, incluyendo cepas que muetsran una alta resistencia a varios antibióticos de tipo monobactam y sulfactam.

Los datos de actividad para los compuestos seleccionados de la invención se proporcionan en la siguiente tabla. Los compuestos se ensayaron en la cepa de *E. coli* 25922 y una *E. coli* que contiene KPC-2 (un carbapenemasa conocida a partir de *Klebsiella pneumoniae),* para determinar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC), en mg/L. Tenga en cuenta que los compuestos identificados como sales de formiato se sometieron a liofilización durante el aislamiento, que en algunos casos eliminó algo de ácido fórmico, así el contenido de formiato de estas sales deberá ser menor al estequiométrico.

Tabla B. Actividad de los compuestos en los Ejemplos.

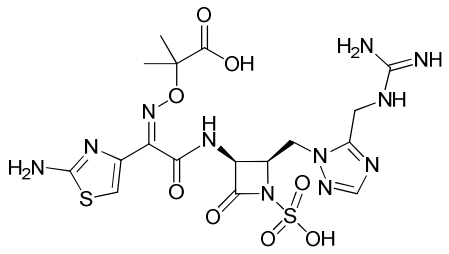
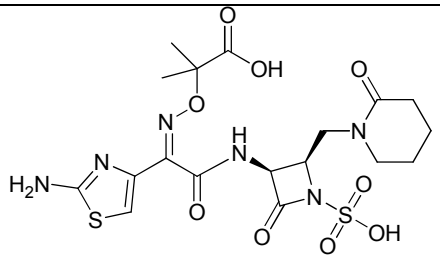
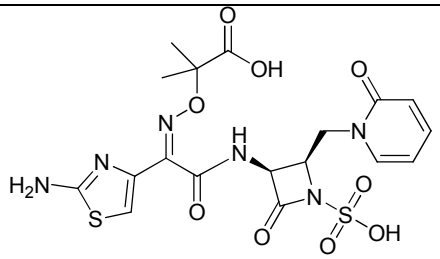
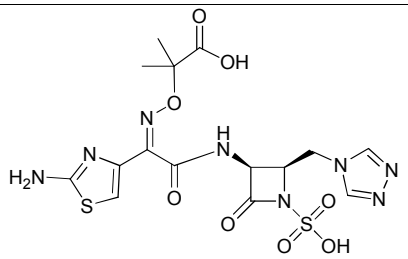
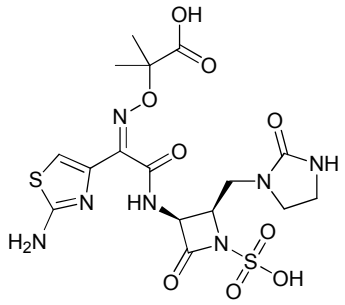
Ejemplo No.		Sal	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
41		Ninguno	1	2
43		Ninguno	2	2

42		Ninguno	1,4	2
46		Ninguno		
48		Ninguno		
49		Ninguno	2	16
47		Ninguno	2	5

50		Ninguno	2	2.8
44		Ninguno	0.67	1.5
7		formiato	4	8
8		formiato	2	2
51		Ninguno	>64	16

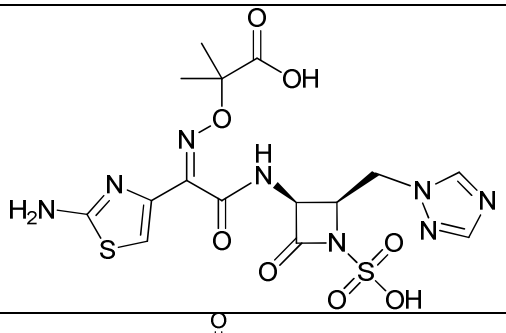
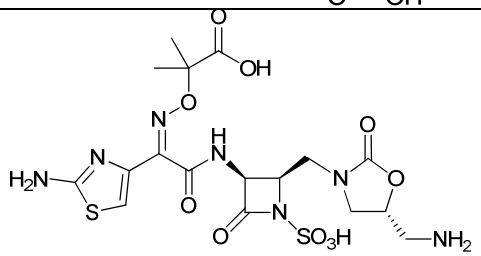
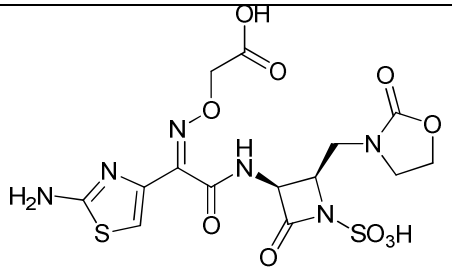
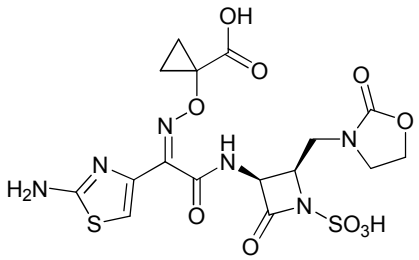
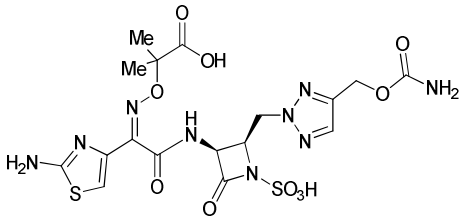
4		formiato	1	8
1		Ninguno	16	2
55		Ninguno	16	4
5		formiato	1	4
52		formiato	0.5	1

54		formiato	2	1
2		Ninguno	1	0.5
12		formiato	4	4
10		formiato	4	11
11		formiato	4	4

13		formiato	16	32
14		formiato	16	8
15		formiato	16	8
56		formiato	4	16
3		Ninguno	2	1

16		formiato	4	2
53		formiato	1	1
6		formiato	4	1
23		formiato	2	1
39		Ninguno	64	>64

38		formiato	8	4
40		Ninguno	2	2
18		formiato	0.5	0.25
62		formiato	0,5	2
17		formiato	0.5	0.25

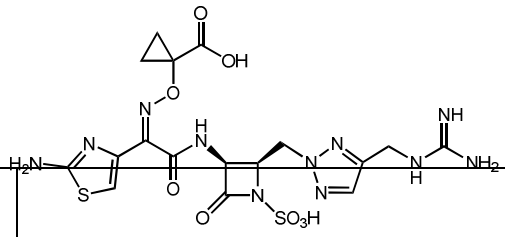
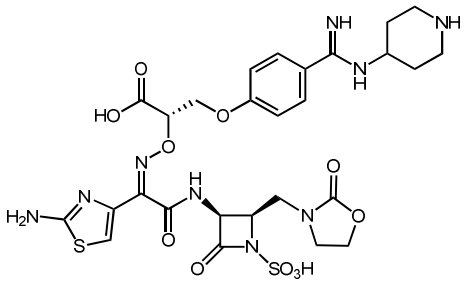
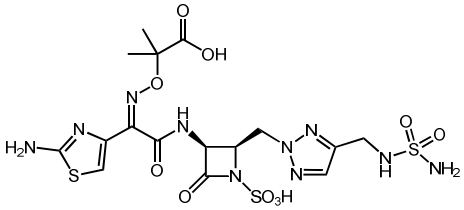
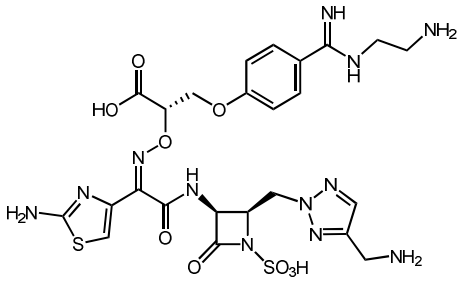
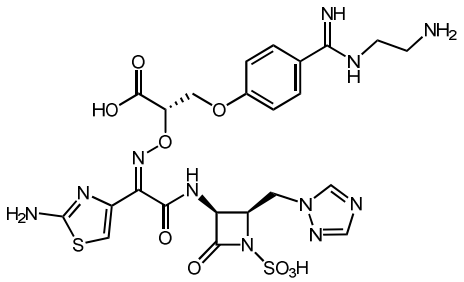
9		formiato	1	1
57		formiato	0.5	1
21		Ninguno	0.25	0.5
22		Ninguno	0,25	0.125
37		formiato	2	2

36		formiato	2	1
35		formiato	2	1
24		formiato	0.25	1
63		Ninguno	32	32
61		Ninguno	8	2

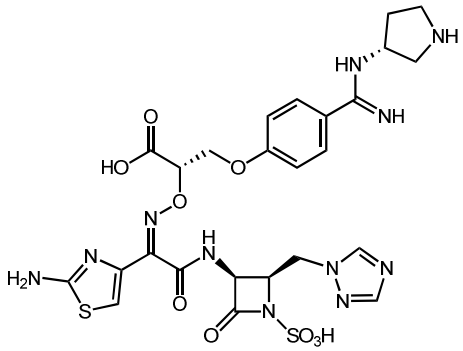
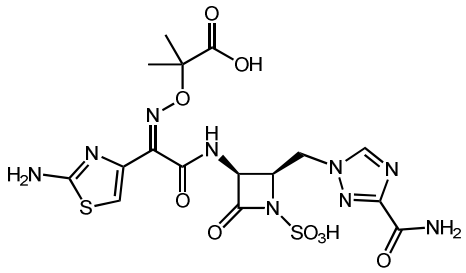
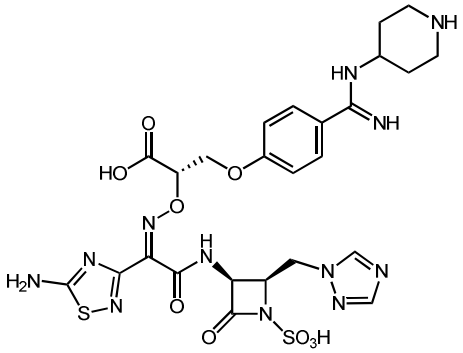
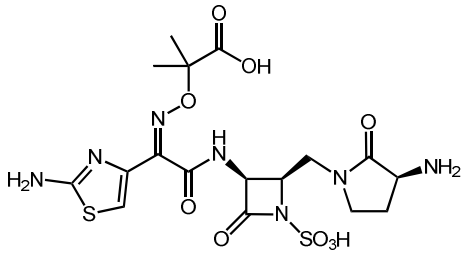
34		formiato	>64	>64
33		formiato	2	2
45		formiato	0,5	0.5
30		Ninguno	1	1
29		Ninguno	0.25	1

31		formiato	0.25	0.25
28		formiato	0.25	0.125
60		Ninguno	8	8
32		Ninguno	2	1
59		Ninguno	16	16

58		Ninguno	2	1
27		Ninguno	≤ 0.06	0.125
25		Ninguno	0.125	≤ 0.06
26		Ninguno	0.125	≤ 0.06
19		Ninguno	0.25	0.25

20		Ninguno	≤ 0.06	0.125
64		Ninguno	0.5	0.25
65		Ninguno	64	64
66		Ninguno	1	2
67		Ninguno	0,25	0.125

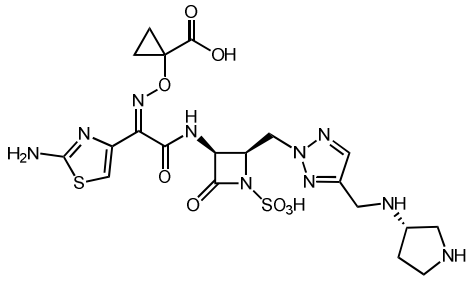
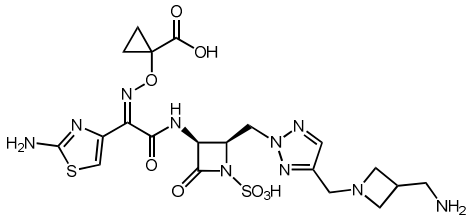
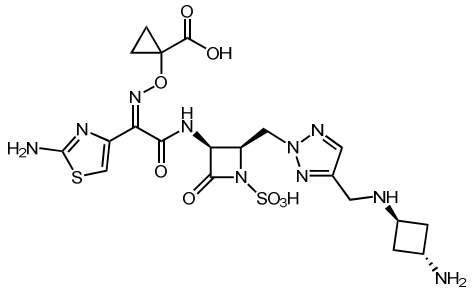
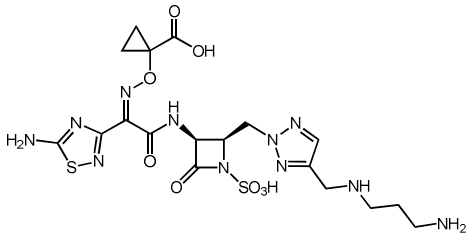
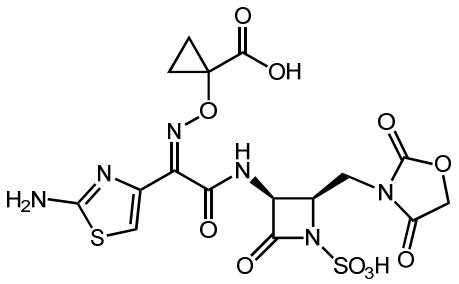
68		Ninguno	0.25	0.25
69		formiato	0.25	0.125
70		formiato	8	8
71		Ninguno	0.25	0.25
72		Ninguno	4	4

73		Ninguno	0.25	0.25
74		Ninguno	8	32
75		formiato	0.5	0.5
76		Ninguno	1	0.5

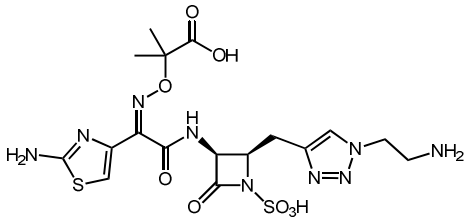
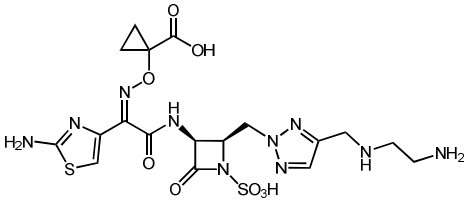
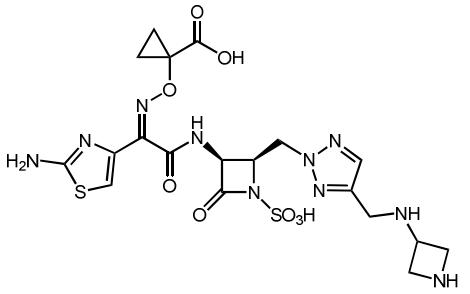
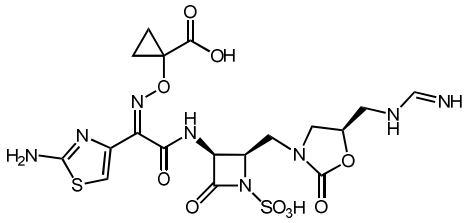
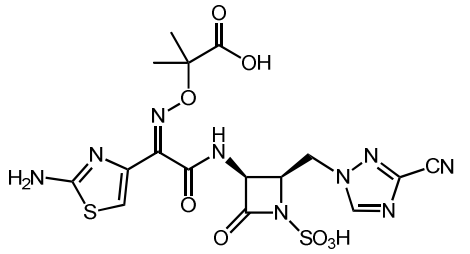
77		Ninguno	0.25	0.125
78		Ninguno	≤ 0.06	0.125
79		formiato	0.25	0.25
80		Ninguno	4	4

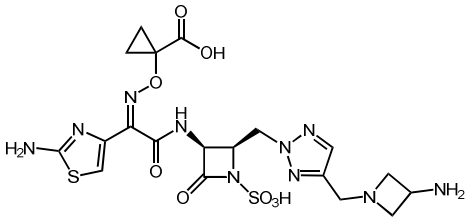
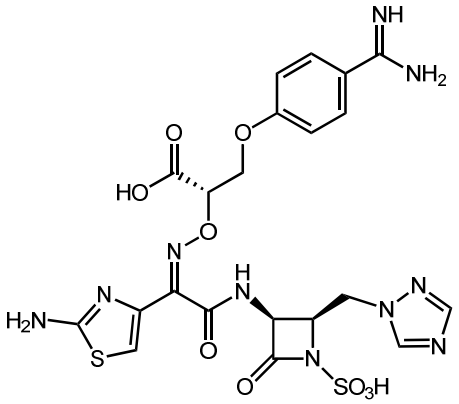
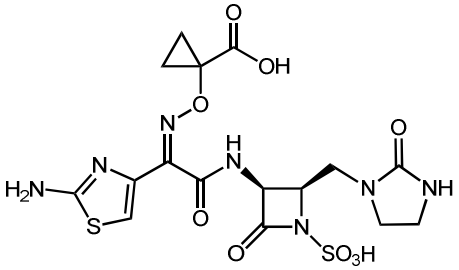
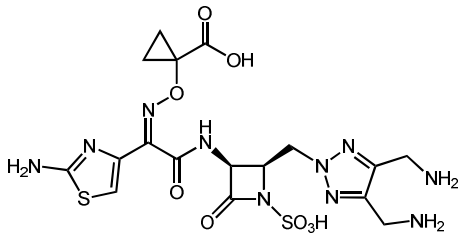
81		Ninguno	0,125	0.125
82		Ninguno	0,5	0.5
83		Ninguno	32	32
84		Ninguno	0.5	0.5
85		Ninguno	0.5	0.5

86		Ninguno	1	1
87		Ninguno	1	0.5
88		Ninguno	2	4
89		Ninguno	0,5	1
90		Ninguno	0,25	0.25

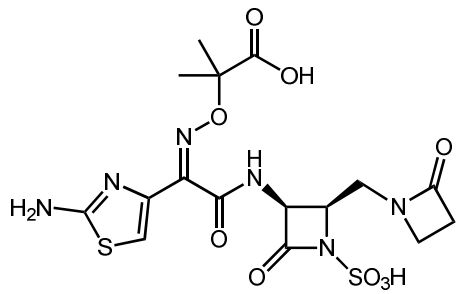
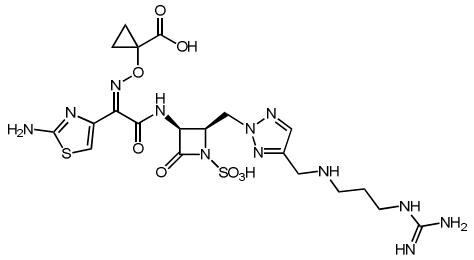
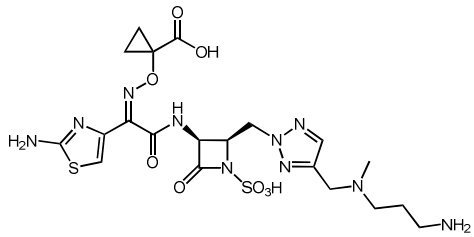
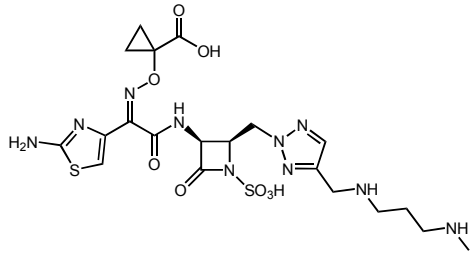
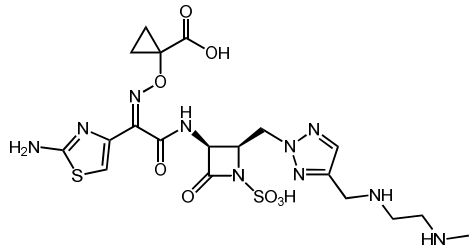
91		Ninguno	0,125	0.25
92		Ninguno	0,25	0.5
93		Ninguno	0,25	0.5
94		Ninguno	0.5	1
95		Ninguno	0.25	0.125

96		formiato	0.25	1
97		Ninguno	0.125	0.125
98		Ninguno	2	0.5
99		Ninguno	2	4
100		Ninguno	1	4

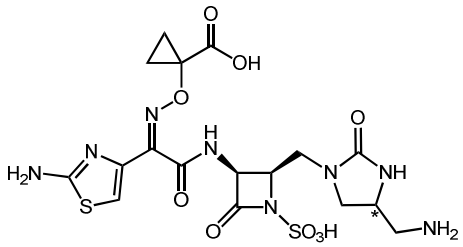
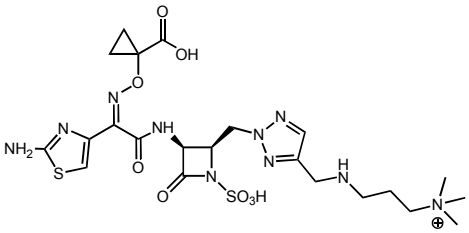
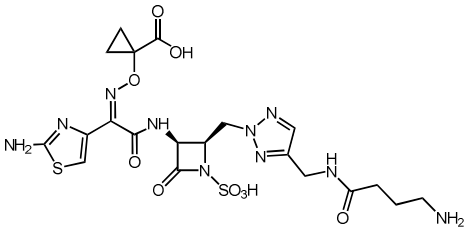
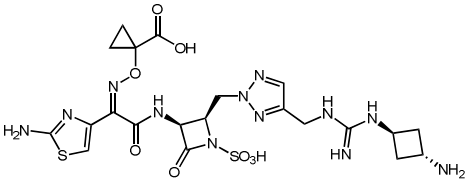
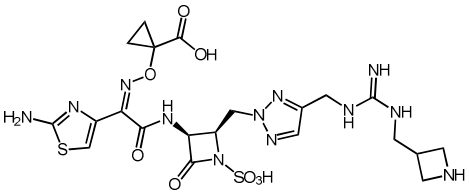
101		Ninguno	1	1
102		Ninguno	0.25	0.25
103		Ninguno	0.25	
104		Ninguno	>64	>64
105		Ninguno	16	32

106		Ninguno	≤ 0.06	≤ 0.06
107		formiato	0.25	0.25
108		formiato	0,125	≤ 0.06
109		Ninguno	0.125	0.25

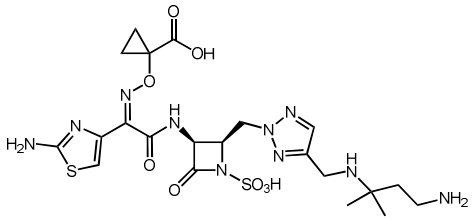
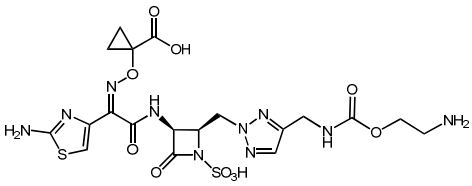
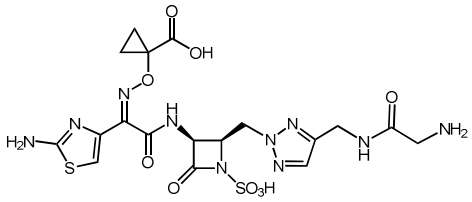
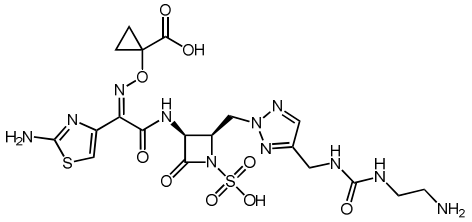
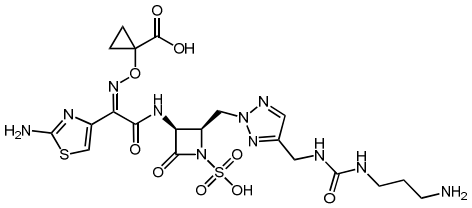
110		Ninguno	8	8
111		formiato	≤ 0.06	≤ 0.06
112		formiato	0.5	0.5
20		Ninguno	2	4
28		Ninguno	4	8

113		Ninguno	4	4
114		Ninguno	0,25	≤ 0.06
115		Ninguno	0.125	0.25
116		Ninguno	0.25	0.125
117		Ninguno	0,5	1

118		Ninguno	0.5	0.25
119		Ninguno	0.25	0.25
120		Ninguno	0.25	0.5
121		Ninguno	0.25	0.25
122		formiato	0.125	0.125

122		formiato	≤ 0.06	≤ 0.06
123		Ninguno	1	0.5
124		Ninguno	1	1
125		Ninguno	0.25	0.5
126		Ninguno	0.5	0.5

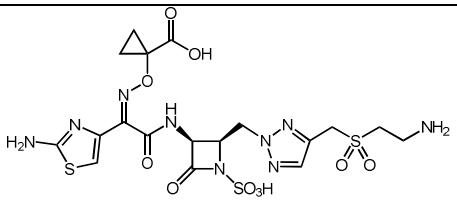
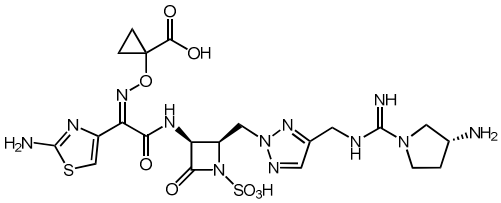
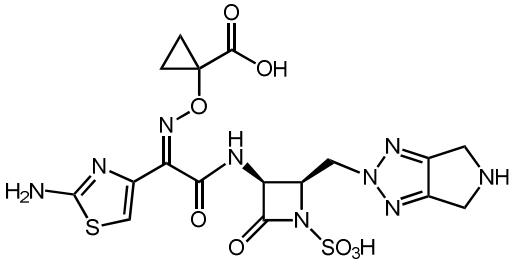
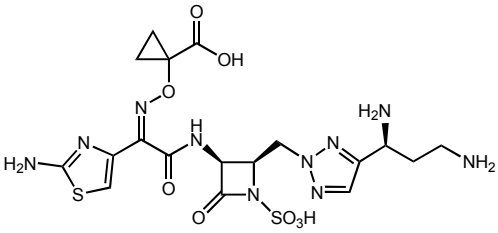
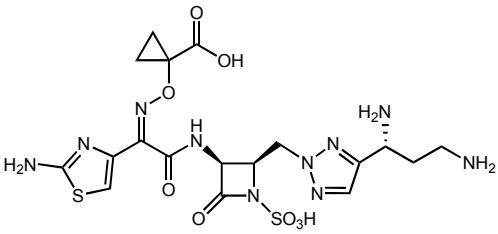
127		Ninguno	0.25	0.25
128		Ninguno	0.5	1
129		Ninguno	0.5	1
130		Ninguno	1	2
131		Ninguno	1	2

132		Ninguno	1	1
133		Ninguno	1	0.5
134		Ninguno	0,5	0.25
135		Ninguno	0.5	0.5
136		Ninguno	0.5	0.5

137		Ninguno	1	0.5
138		Ninguno	0.5	1
139		Ninguno	1	4
140		Ninguno	0.25	0.25
141		Ninguno	0.5	0.5

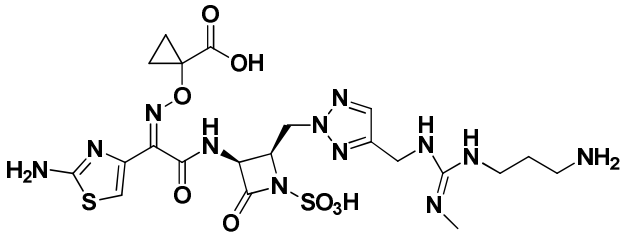
142		Ninguno	0.5	0.25
143		Ninguno	0.5	0.25
144		Ninguno	1	1
145		Ninguno	0.5	0.5
146		Ninguno	0.5	0.5

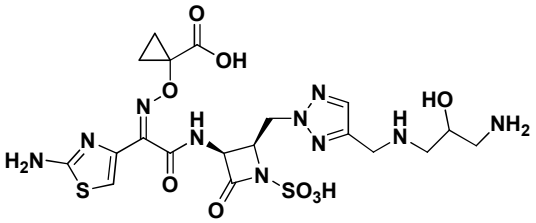
147		Ninguno	0.5	0.5
148		Ninguno	1	1
149		Ninguno	0.5	0.5
150		Ninguno	1	0.5
151		Ninguno	0.5	0.5

152		Ninguno	0.5	0.5
153		Ninguno	1	0.5
154		Ninguno	0.25	0.25
155		Ninguno	0.25	0.25
156		Ninguno	0.25	0.25

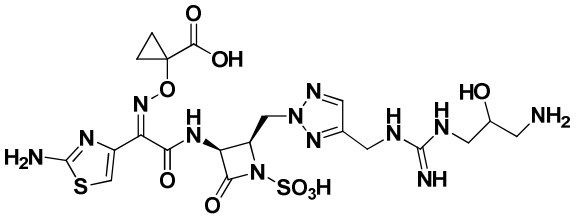
Mediante los mismos métodos descritos en el presente documento, compuestos adicionales pueden prepararse fácilmente a partir de materiales de partida conocidos con el uso de

conocimientos ordinarios. Ejemplos de estos compuestos que se espera tengan actividad biológica similar incluyen:

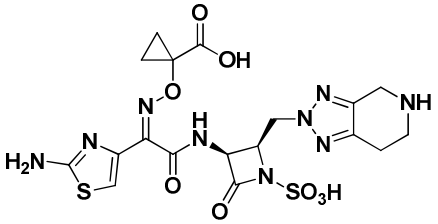




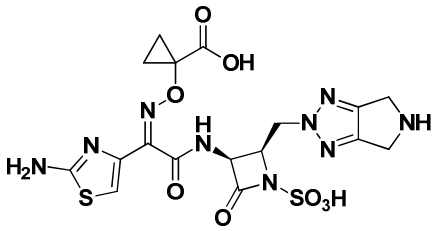
,



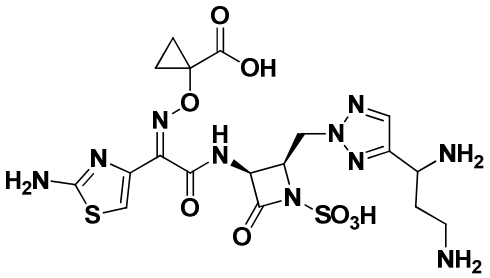
,



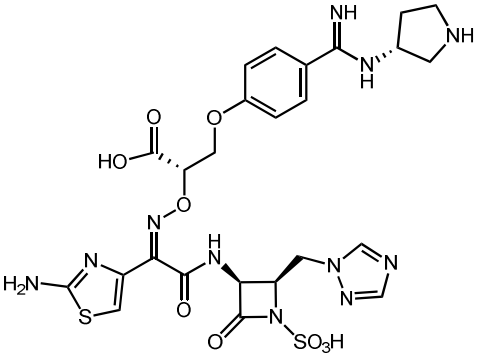
,



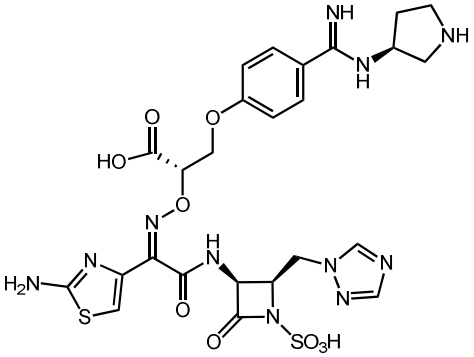
,



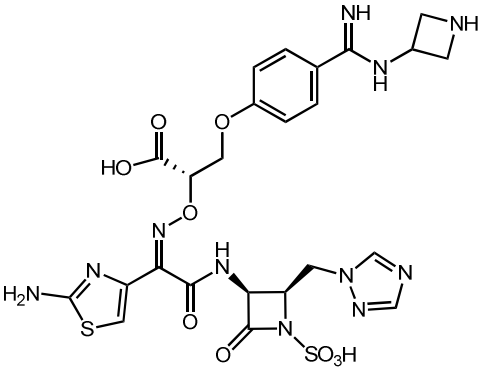
,



,



,



y .

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que una experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las modalidades y métodos específicos descritos en este documento. Tales equivalentes tienen el propósito de ser incluidos por el alcance de las siguientes reivindicaciones.