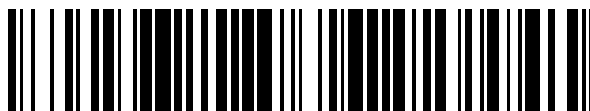


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 685**

51 Int. Cl.:  
**C07D 491/04** (2006.01)  
**A61K 31/407** (2006.01)  
**A61P 19/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07766233 .6**  
96 Fecha de presentación: **13.07.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2046797**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.04.2009**

54 Título: **Derivados de furo[3,2-b]pirrol-3-ona y su uso como inhibidores de cisteinil proteinasa**

30 Prioridad:  
**14.07.2006 GB 0614052**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**17.10.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**17.10.2012**

73 Titular/es:  
**Amura Therapeutics Limited**  
**Highfield Court Church Lane Madingley**  
**Cambridge CB23 8AG, GB**

72 Inventor/es:  
**QUIBELL, Martin y**  
**WATTS, John, Paul**

74 Agente/Representante:  
**Pérez Barquín, Eliana**

ES 2 388 685 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Derivados de furo[3,2-b]pirrol-3-ona y su uso como inhibidores de cisteinil proteinasa

5 La presente invención se refiere a compuestos que son inhibidores de cisteína proteasas, composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos, y su uso en terapia. Más específicamente, pero no exclusivamente, la invención se refiere a los compuestos que son inhibidores de catepsina K y proteasas del clan CA. Tales compuestos son particularmente útiles para el tratamiento terapéutico *in vivo* de enfermedades en las que está implicada una cisteína proteasa.

10

**Antecedentes de la invención**

15 Las proteasas forman un grupo sustancial de moléculas biológicas que hasta la fecha constituyen aproximadamente el 2 % de todos los productos génicos identificados siguiendo análisis de algunos programas de secuenciación de genoma completo. Las proteasas han evolucionado para participar en una enorme gama de procesos biológicos, mediando su efecto por escisión de enlaces amida peptídicos dentro de la miríada de proteínas encontradas en la naturaleza. Esta acción hidrolítica se lleva a cabo reconociendo inicialmente, después uniéndose a, superficies tridimensionales electrónicas presentadas por una proteína, que alinean el enlace para escisión con precisión en el sitio catalítico de proteasas. La hidrólisis catalítica comienza después a través del ataque nucleofílico del enlace amida a escindir por medio de una cadena lateral aminoacídica de la proteasa en sí misma, o a través de la acción de una molécula de agua que se une a y se activa por la proteasa. Las proteasas en las que el atacante nucleófilo es la cadena lateral de tiol de un residuo Cys se conocen como cisteína proteasas. La clasificación general de "cisteína proteasa" contiene muchos miembros encontrados en un amplio intervalo de organismos desde virus, bacterias, protozoos, plantas y hongos hasta mamíferos.

25

30 Catepsina K y es más muchas otras proteasas cruciales pertenecen a la familia de CAC 1 similares a papaína. Las cisteína proteasas se clasifican en "clanes" en base a similitud en estructura tridimensional o en base a una disposición conservada de residuos catalíticos dentro de la secuencia primaria de proteínas. Adicionalmente, los "clanes" se pueden clasificar adicionalmente en "familias" en las que cada proteasa muestra una relación estadísticamente significativa con otros miembros cuando se comparan las porciones de secuencia de aminoácidos que constituyen las partes responsables de la actividad proteasa (véase Barrett, A. J. y cols., en 'Handbook of Proteolytic Enzymes', Eds. Barrett, A. J., Rawlings, N. D., y Woessner, J. F. Publ. Academic Press, 1998, para una discusión a fondo).

35 Hasta la fecha, las cisteína proteasas se han clasificado en cinco clanes, CA, CB, CC, CD y CE (Barrett, A. J. y cols., 1998). Una proteasa de la fruta tropical palaya "papaína" forma la base de del clan CA, que contiene actualmente más de 80 entradas distintas y completas en diversas bases de datos de secuencias, con muchas más esperadas a partir de los esfuerzos de secuenciación de genomas actuales. Las proteasas del clan CA/familia C 1 se han implicado en una multitud de funciones de mantenimiento y procesos morbosos, por ejemplo proteasas humanas tales como catepsina K (osteoporosis, osteoartritis), catepsina S (esclerosis múltiple, artritis reumatoide, trastornos autoinmunes), catepsina L (metástasis), catepsina B (metástasis, artritis), catepsina F (procesamiento antigénico), catepsina V (selección de células T), dipeptidilpeptidasa I (activación de serina proteasas de granulocitos) o proteasas parasitarias tales como falcipaina (parásito de malaria *Plasmodium falciparum*) y cruzipaina (infección con *Trypanosoma cruzi*). Recientemente, una proteasa bacteriana, estafilopaina (infección con *S. aureus*) se ha asignado tentativamente al clan CA.

45 Las estructuras cristalográficas de rayos X están disponibles para un intervalo de las proteasas anteriormente mencionadas en complejo con un intervalo de inhibidores, por ejemplo papaína (entradas PDB, 1pad, 1pe6, 1pip, 1pop, 4pad, 5pad, 6pad, 1ppp, 1the, 1csb, 1huc), catepsina K (1au0, 1au2, 1au3, 1au4, 1atk, 1mem, 1bgo, 1ayw, 1ayu, 1nl6, 1nlj, 1q6k, 1snk, 1tu6), catepsina L (1cs8, 1mhw), catepsina S (1glo, 1ms6, 1npz), catepsina V (1fh0), dipeptidilpeptidasa I (1jqp, 1k3b), catepsina B (1gmy, 1csb), catepsina F (1m6d), cruzaina (una forma recombinante de cruzipaina, véase Eakin, A. E. y cols., 268 (9), 6115-6118, 1993) (1ewp, 1aim, 2aim, 1F29, 1F2A, 1F2B, 1F2C), estafilopaina (1cv8). Cada una de las estructuras presenta una topología de sitio activo general similar, como se esperaría por su clasificación de "clan" y "familia" y tal similitud estructural ejemplifica un aspecto de las dificultades implicadas en descubrir un inhibidor selectivo de catepsina K adecuado para uso en seres humanos. Sin embargo, diferencias sutiles en términos de la forma profunda e intrincada del surco del sitio activo de cada proteasa CAC1 son evidentes, lo que puede explotarse para diseño de inhibidor selectivo. Adicionalmente, muchos de los complejos de inhibidor basados en sustratos actuales de proteasas de familia CAC1 muestran una serie de enlaces de hidrógeno entre el inhibidor y el armazón de proteínas, que contribuye significativamente a potencia de inhibidor. Principalmente, un enlace de hidrógeno bidentado se observa entre la proteasa Gly66 (C=O)/inhibidor N-H y la proteasa Gly66 (NH)/inhibidor (C=O), donde el inhibidor (C=O) y (NH) están proporcionados por un residuo aminoacídico NHCHRCO que constituye el elemento de unión a sub-sitio S2 dentro del inhibidor (véase Berger, A. y Schechter, I. Philos. Trans. R. Soc. Lond. [Biol.], 257, 249-264, 1970 para una descripción de nomenclatura de sitio de unión a proteasas). Se observa a menudo un enlace de hidrógeno adicional entre la cadena principal de proteasas (C=O) de asparragina o ácido aspártico (158 a 163, el número de residuo varía entre proteasas) y un inhibidor (N-H), donde el inhibidor (N-H) se proporciona por el elemento de unión a sub-sitio S1 dentro del inhibidor. Así, el resto X-NHCHRCO-NH-Y se observa ampliamente entre los inhibidores basados en sustrato de la técnica anterior de proteasas CAC 1.

65

Se piensa que la catepsina K es significativa en enfermedades que implican pérdida excesiva de hueso o cartílago. El hueso consta de una matriz de proteínas incorporando cristales de hidroxiapatita. Aproximadamente el 90 % de la proteína estructural de la matriz es de tipo colágeno I, con el resto comprendiendo diversas proteínas no colagenosas tales como osteocalcina, proteoglicanos, osteopontina, osteonectina, trombospondina, fibronectina y sialoproteína ósea.

5 El hueso esquelético no es una estructura estática sino que sufre continuamente un ciclo de resorción ósea y de reemplazamiento óseo. La resorción ósea se lleva a cabo por osteoclastos, que son células multinucleares de línea hematopoyética. Los osteoclastos se adhieren a la superficie ósea y forman una zona de sellado estrecho. La membrana en la superficie apical del osteoclasto se pliega tal como para crear un compartimento extracelular cerrado  
10 entre el osteoclasto y la superficie ósea, que se acidifica por bombas de protones en la membrana del osteoclasto. Las enzimas proteolíticas se segregan en el compartimento del osteoclasto. La acidez alta en el compartimento causa que se disuelva la hidroxiapatita en la superficie del hueso y que las enzimas proteolíticas rompan la matriz proteica causando que se forme una laguna de resorción. Tras resorción ósea, los osteoblastos producen una nueva matriz de proteínas que está subsiguientemente mineralizada.

15 En estados morbosos tales como osteoporosis y enfermedad de Paget, la resorción ósea y el ciclo de reemplazamiento se desbaratan conduciendo a una pérdida neta de hueso con cada ciclo. Esto conduce a debilitamiento del hueso y por lo tanto a riesgo incrementado de fractura ósea.

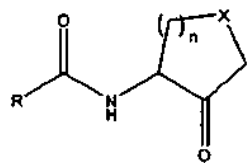
20 La catepsina K se expresa a un nivel alto en osteoclastos y por lo tanto se piensa que es esencial para resorción ósea. Así, la inhibición selectiva de catepsina K es probable que sea efectiva en el tratamiento de enfermedades que implican pérdida ósea excesiva. Estas incluyen osteoporosis, enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis, enfermedad de Paget, hipercalemia de malignidad y enfermedad ósea metabólica.

25 Además de osteoclastos, se encuentran altos niveles de catepsina K en condroclastos a partir del sinovio de pacientes osteoartríticos. Por lo tanto parece que los inhibidores de catepsina K serán de uso en el tratamiento de enfermedades que implican matriz de degradación de cartílago, en particular osteoartritis y artritis reumatoide.

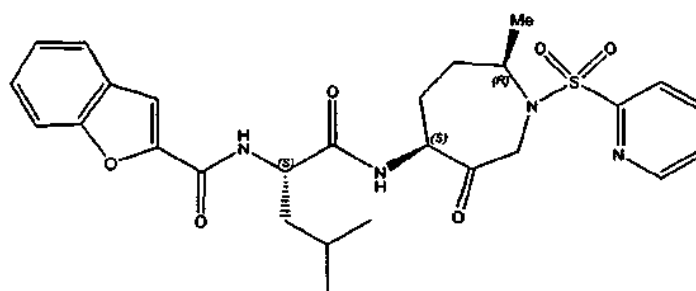
30 Se encuentran también niveles elevados de catepsina K en células neoplásicas metastáticas lo que sugiere que los inhibidores de catepsina K pueden ser útiles para tratar ciertas enfermedades neoplásicas.

En la técnica anterior, el desarrollo de inhibidores de cisteína proteinasas para uso humano ha usado recientemente un área de actividad intensa (por ejemplo véase Deaton, D. N. y Kumar, S., Prog. Med. Chem. 42, 245-375, 2004; Bromme, D. y Kaleta, J., Curr. Pharm. Des., 8, 1639-1658, 2002; Kim, W. y Kang, K., Expert Opin. Ther. Patents, 12 (3), 419-432, 2002; Leung-Toung, R. y cols. Curr. Med. Chem., 9, 979-1002, 2002; Lecaille, F. y cols., Chem. Rev., 102, 4459-4488, 2002; Hernández, A. A. y Roush, W. R., Curr. Opin. Chem. Biol., 6, 459-465, 2002). Considerando los miembros de la familia de CAC1, se ha puesto particular énfasis en el desarrollo de inhibidores de catepsinas humanas, principalmente catepsina K (osteoporosis), catepsina S (trastornos autoinmunes), catepsina L (metástasis), catepsina B (metástasis, artritis), catepsina F (procesamiento de antígenos), catepsina V (selección de células T) y dipeptidilpeptidasa I  
40 (activación de serina proteasa de granulocitos), a través del uso de nitrilos de péptidos y peptidomiméticos (véanse por ejemplo documentos WO-A-03041649, WO-A-03037892, WO-A-03029200, WO-A-02051983, WO-A-02020485, US-A-20020086996, WO-A-01096285, WO-A-0109910, WO-A-0051998, WO-A-0119816, WO-A-9924460, WO-A-0049008, WO-A-0048992, WO-A-0049007, WO-A-0130772, WO-A-0055125, WO-A-0055126, WO-A-0119808, WO-A-0149288, WO-A-0147886), cetonas de péptidos y peptidomiméticos lineales y cíclicos (por ejemplo, véanse Veber, D. F. y  
45 Thompson, S. K., Curr. Opin. Drug Discovery Dev., 3 (4), 362-369, 2000, documentos WO-A-02092563, WO-A-02017924, WO-A-01095911, WO-A-0170232, WO-A-0178734, WO-A-0009653, WO-A-0069855, WO-A-0029408, WO-A-0134153 a WO-A-0134160, WO-A-0029408, WO-A-9964399, WO-A-9805336, WO-A-9850533), cetoheterociclos (por ejemplo véanse los documentos WO-A-02080920, WO-A-03042197, WO-A-WO-A-03024924, WO-A-0055144, WO-A-0055124), monobactamas (por ejemplo véanse los documentos WO-A-0059881, WO-A-9948911, WO-A-0109169),  $\alpha$ -cetoamidas (por ejemplo véase el documento WO-A-03013518), cianoamidas (documentos WO-A-01077073, WO-A-01068645), dihidropirimidinas (por ejemplo véase el documento WO-A-02032879) y cianoaminopirimidinas (por ejemplo véanse los documentos WO-A-03020278, WO-A-03020721).

55 La técnica anterior describe inhibidores *in vitro* potentes, pero también destaca las muchas dificultades en desarrollar un producto terapéutico de seres humanos. Por ejemplo, los documentos WO-A-9850533 y WO-A-0029408 describen compuestos que pueden referirse como cetonas cíclicas (por ejemplo 1'a-f) y son inhibidores de cisteínas proteasas con una referencia particular a proteasas de la familia de papaína y como una realización más preferida, catepsina K. El documento WO-A-9850533 describe compuestos subsiguientemente detallados en la bibliografía como inhibidores potentes de catepsina K con buena biodisponibilidad oral (Witherington, J., "Tetrahydrofurans as Selective Cathepsin K Inhibitors", encuentro de RSC, Burlington House, Londres, 1999). Se comunicó que los compuestos del documento WO-A-9850533 se unen a catepsina K a través de la formación de un enlace covalente reversible entre el tetrahydrofurano carbonilo y el residuo de cisteína de sitio catalítico (Witherington, J., 1999). Adicionalmente, los mismos compuestos de cetona cíclica se describen en el documento WO-A-9953039 como parte de una descripción de amplia gama de inhibidores de cisteína proteasas asociadas con enfermedades parasitarias, con referencia particular al tratamiento de  
65 malaria con inhibición de falciparina.



- [1'a] X = O, n = 1  
 [1'b] X = NR', n = 1  
 [1'c] X = O, n = 2  
 [1'd] X = NR', n = 2  
 [1'e] X = NR', n = 3



[1'f] SB-462795, relatatib

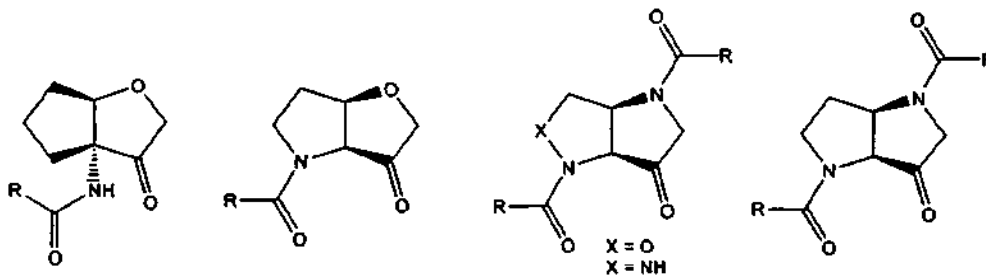
#### Inhibidores de catepsina K cíclicos de la técnica anterior

5 Los inhibidores cíclicos iniciales de GSK estaban basados en 3-amido-tetrahydrofuran-4-onas [1'a], 3-amidopirrolidin-4-onas [1'b], 4-amidotetrahidropirran-3-onas [1'c], 4-amidopiperidin-3-onas [1'd] y 4-amidoazepan-3-onas [1'e, 1'f] potentes, selectivas e irreversibles (mostradas anteriormente) [véase (a) Marquis, R. W. y cols., J. Med. Chem. 2001, 44, 725 y referencias citadas en ello; (b) Marquis, R. W. y cols., J. Med. Chem. 2001, 44, 1380 y referencias citadas en ello; (c) Yamashita, D. S. y cols., J. Med. Chem. 2006, 49 (5), 1597-1612].

10 Estudios adicionales revelaron que las cetonas cíclicas [1'], en particular los análogos de anillo de cinco miembros [1'a] y [1'b], sufrieron de inestabilidad configuracional debido a epimerización fácil en el centro situado a con respecto a la cetona [Marquis, R. W. y cols., J. Med. Chem. 2001, 44, 1380; Fenwick, A. E. y cols., J. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 199; documento WO 00/69855]. Esto excluyó la optimización preclínica de inhibidores de fórmulas [1'a-d] y condujo al desarrollo de las series de azepanona más estables configuracionalmente [1'e], que proporcionan el candidato clínico a inhibidor de catepsina K relatatib [1'f]. Sin embargo, la bibliografía establece claramente que las azepanonas son aún propensas a epimerización y es más se comunica que recalatib [1'f] existe como una mezcla termodinámica 9:1 de isómeros 4-S y 4-R [Yamashita, D. S. y cols., J. Med. Chem., 2006, 49 (5), 1597-1612]. Como una alternativa a la aproximación de expansión del anillo, la alquilación de un carbono a elimina la capacidad de las cetonas cíclicas [1'] para sufrir una  $\alpha$ -enolización y conduce así a estabilidad configuracional. Sin embargo, los estudios han mostrado que a-metilación en el sistema 3-amidopirrolidin-4-ona [1'b] da como resultado pérdida sustancial en potencia frente a catepsina K de  $K_{iapp} \approx 0,18$  a 50 nM.

25 Los compuestos de cetona cíclica del documento WO-A-0069855 se considera que son un avance de compuestos del documento WO-A-9850533 debido a la presencia de 3-sustituyente en el sistema de anillo de cetona cíclica que proporciona estabilidad quiral incrementada al carbono  $\alpha$  del sistema de anillo de cetona cíclica. Sin embargo, los compuestos del documento WO-A-0069855 y es más aquellos del documento WO-A-9850533 describen un requerimiento para la presencia del resto de unión a hidrógeno potencial X-NHCHRCO-NH-Y que se observa ampliamente en inhibidores de proteasas CAC1.

30 Estudios más recientes han investigado sistemas 5,5-bicíclicos como inhibidores de proteasas CAC1, por ejemplo, cetonas bicíclicas de *N*-(3-oxo-hexahidrociclopenta[*b*]furan-3a-il)acilamida [2'] [(a) Quibell, M.; Ramjee, M. K., documento WO 02/57246; (b) Watts, J. y cols., Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 2903-2925], andamiajes basados en tetrahydrofuro[3,2-*b*]pirrol-3-ona [3'] [(a) Quibell, M. documento WO02/57270; (b) Quibell, M. y cols., Bioorg. Med. Chem., 2004, 12, 5689-5710], andamiajes basados en *cis*-6-oxohexahidro-2-oxa-1,4-diazapentaleno y en *cis*-6-oxohexahidropirrolo[3,2-*c*]pirazol [4'] [Wang, Y. y cols., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 1327-1331] y andamiajes basados en *cis*-hexahidropirrolo[3,2-*b*]pirrol-3-ona [5'] [(a) Quibell, M. documento WO04/07501; (b) Quibell, M. y cols., Bioorg. Med. Chem., 2005, 13, 609-625].



[2']

[3']

[4']

[5']

Inhibidores 5,5-bicíclicos de cisteinilproteasas de CAC1

5 Estudios han mostrado que los sistemas 5,5-bicíclicos anteriormente descritos presentan potencia prometedora como inhibidores de un intervalo de objetivos de cisteinilproteasas CAC1 de mamíferos y de parásitos. Además, las series 5,5-bicíclicas son quiralmente estables debido a una preferencia energética marcada para una geometría condensada en *cis* más que para una geometría condensada en *trans*. La estabilidad quiral proporciona un avance principal cuando se compara con sistemas monocíclicos que muestran a menudo potencial limitado para desarrollo preclínico debido a inestabilidad quiral.

10 Las solicitudes PCT WO-A-02057270 y WO-A-04007501 describen compuestos bicíclicos en los que la quiralidad de la  $\alpha$ -aminocetona se estabiliza (para una revisión de efectos energéticos dentro de anillos condensados véase (a) Toromanoff, E. Tetrahedron Report n.º: 96, 36, 2809-2931, 1980; (b) Eliel, E. L. y cols. Stereochemistry of Organic Compounds, Wiley: Nueva York, 1-1267, 1994). Estos compuestos no contienen el resto X-NHCHR<sub>2</sub>CO-NH-Y y aún los compuestos son inhibidores altamente potentes a través de una amplia gama de cisteína proteinasas de CAC1. En particular, ciertos de los compuestos son inhibidores selectivos potentes de un intervalo de proteasas CAC1 de mamíferos y parasíticas.

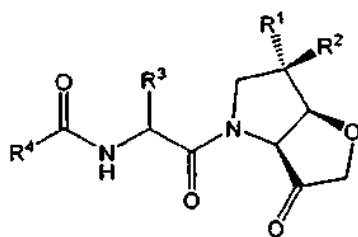
20 Recientemente, Quibell, M. y cols. (Bioorg. Med. Chem. 12, 5689-5710, 2004) reveló dos inhibidores de catepsina K potentes y selectivos que tienen un núcleo de tetrahidrofuro[3,2-b]pirrol-3-ona, junto con potencia *in vitro* y datos de selectividad *in vitro*. Parámetros cinéticos adicionales tales como velocidades de asociación enzimática (*kon*) y de disociación enzimática (*koff*) se revelaron, así como parámetros fisicoquímicos tales como estabilidad de plasma y estabilidad de microsoma, permeabilidad de Caco-2 y medidas de LogD (pH<sub>7,4</sub>).

25 Más recientemente, Nilsson, M. y cols., WO05066180 reveló una serie de compuestos de tetrahidrofuro[3,2-b]pirrol-3-ona en los que se reivindica que la presencia específica de un halógeno en posición 6 de anillo proporciona un incremento marcado en potencia *in vitro* contra catepsina K humana cuando se compara con el equivalente insustituido (documento WO 05066180).

30 Los autores de la presente invención han descubierto ahora un género pequeño de tetrahidrofuro[3,2-b]pirrol-3-onas distinto de la técnica anterior que muestra inhibición *in vitro* potente frente a catepsina K humana.

**Exposición de la invención**

35 Un primer aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o a una sal, hidrato, complejo o profármaco del mismo,



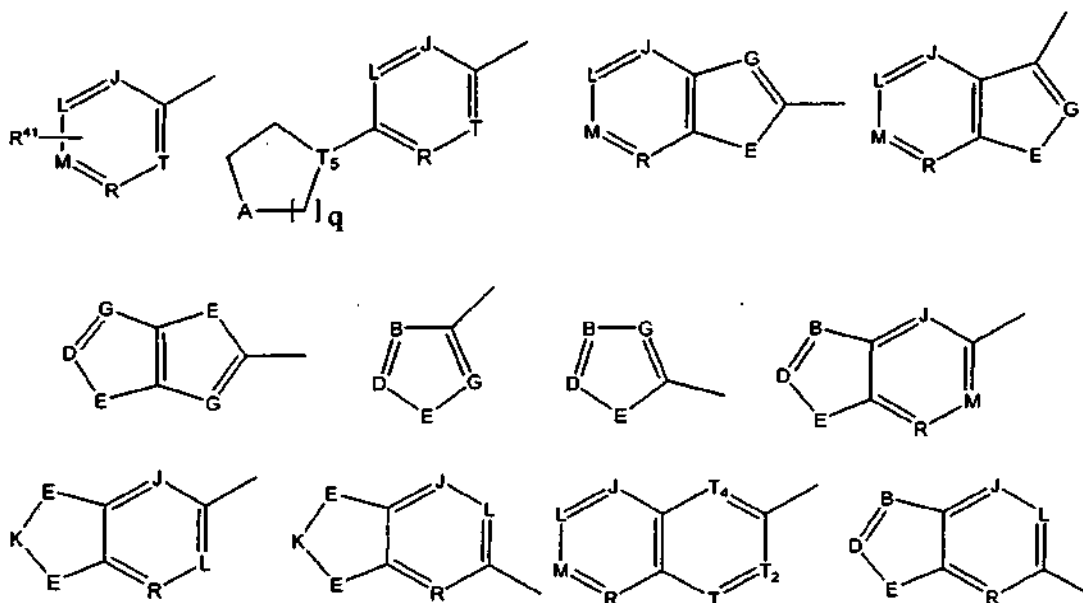
(I)

40 en la que:

uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es H y el otro se selecciona de F y Cl, o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos F;

R<sup>3</sup> se selecciona de ciclopentilo y ciclohexilo;

45 R<sup>4</sup> es un anillo arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros monocíclico o de 8 a 10 miembros bicíclico que incluye hasta cuatro heteroátomos como se muestra a continuación:



5 en los que  $R^{41}$  es:

H, alquilo, cicloalquilo, Ar-alquilo, Ar, OH, O-alquilo, O-cicloalquilo, O-Ar-alquilo, OAr, SH, S-alquilo, S-cicloalquilo, S-Ar-alquilo, SAR, SO-alquilo, SO-cicloalquilo, SO-Ar-alquilo, SO-Ar,  $SO_2H$ ,  $SO_2$ -alquilo,  $SO_2$ -cicloalquilo,  $SO_2$ -Ar-alquilo,  $SO_2Ar$ , NH-alquilo,  $NH_2$ , NH-cicloalquilo, NH-Ar-alquilo, NHar, NHCO-alquilo, NHCO-cicloalquilo, NHCO-Ar-alquilo, NHCOAr, N(alquilo)<sub>2</sub>, N(cicloalquilo), o N(Ar-alquilo)<sub>2</sub> o  $NAr_2$  o, cuando es parte de un grupo  $CHR^{41}$  o  $CR^{41}$ ,  $R^{41}$  puede ser halógeno;

A se selecciona de:

15  $CH_2$ ,  $\text{)}CHR^{41}$ , O, S,  $\text{)}SO_2$ ,  $\text{)}NR^{42}$  y N-óxido ( $\text{)N}\rightarrow\text{O}$ ), donde  $R^{41}$  es como se ha definido anteriormente y  $R^{42}$  se selecciona

de H, alquilo, cicloalquilo, Ar y Ar-alquilo;

B, D y G se seleccionan cada uno independientemente de

20  $\text{)}CR^{41}$ , donde  $R^{41}$  es como se ha definido anteriormente, N y N-óxido ( $\text{)N}\rightarrow\text{O}$ );

E se selecciona de:

$CH_2$ ,  $\text{)}CHR^{41}$ , O, S,  $\text{)}SO_2$ ,  $\text{)}NR^{42}$  y N-óxido ( $\text{)N}\rightarrow\text{O}$ ), donde  $R^{41}$  y  $R^{42}$  se definen como anteriormente;

25

K se selecciona de:

$CH_2$ ,  $\text{)}CHR^{42}$ , donde  $R^{42}$  se define como anteriormente;

30 J, L, M, R, T,  $T_2$  y  $T_4$  se seleccionan independientemente de:

CR<sup>41</sup> donde R<sup>41</sup> es como se ha definido anteriormente, N y N-óxido (N→O);

T<sub>5</sub> se selecciona de:

5 CH y N;

q' es 1, 2 o 3;

10 Como se menciona anteriormente, los compuestos de fórmula (I) presentan sorprendentemente eficacias altas para catepsina K humana. Es más, todos los compuestos preparados hasta la fecha presentan potente inhibición *in vitro* frente a catepsina humana K con K<sub>i</sub> < 100 nM. Además, compuestos preferidos de fórmula (I) presentan también propiedades farmacocinéticas deseables y actividad de osteoclastos de especie cruzada potente, contrariamente a muchos inhibidores de catepsina K conocidos en la técnica. Además, los compuestos preferidos de fórmula (I) presentan también estabilidad sorprendentemente buena en ensayos de plasma y de microsoma.

15 Un segundo aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de fórmula (I) y un diluyente, excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable o veterinariamente aceptable.

20 Un tercer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica o veterinaria según se define anteriormente, dicho procedimiento comprende mezclar un compuesto de la invención con un diluyente, excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Un cuarto aspecto de la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) para usar en medicina.

Un quinto aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada de osteoporosis, enfermedad de Paget, enfermedad de Chagas, malaria, enfermedades gingivales, hipercalemia, enfermedad ósea metabólica, enfermedades que implican degradación de matriz o degradación de cartílago y trastornos de cáncer óseo tales como metástasis óseas y dolor asociado.

30 Un sexto aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la invención en un ensayo para identificar compuestos candidatos adicionales capaces de inhibir una o más cisteína proteinasas.

35 Un séptimo aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) en la validación de una cisteína proteasa conocida o teórica como un objetivo terapéutico.

Un octavo aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de preparar un compuesto de fórmula (I).

### Descripción detallada

40 El término "alquilo" según se aplica en el presente documento incluye cadenas de carbono alifáticas lineales y ramificadas que pueden estar opcionalmente sustituidas. Los ejemplos preferidos incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, hexilo, heptilo y cualesquiera isómeros simples de los mismos. Los sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, uno o más alcoxi C<sub>1-6</sub>, OH, COOH, COOMe, NH<sub>2</sub>, NMe<sub>2</sub>, NHMe, NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> y/o grupos halo. Adicionalmente, donde el grupo alquilo contiene dos o más átomos de carbono contiguos, puede estar presente un grupo alqueno (-CH=CH-) o un grupo alquino (-C≡C-). Además, el grupo alquilo puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos, por ejemplo, para dar éteres, tioéteres, sulfonas, sulfonamidas, aminas sustituidas, amidinas, guanidinas, ácidos carboxílicos, carboxamidas. Si el heteroátomo se localiza en un extremo de la cadena después está adecuadamente sustituido con uno o dos átomos de hidrógeno. Por ejemplo, el grupo CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- se define en "alilo" como un alilo C<sub>4</sub> que contiene un heteroátomo situado en posición central mientras que el grupo CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- se define en "alquilo" como un alquilo C<sub>4</sub> insustituido.

45 Preferentemente, el grupo alquilo es un grupo alquilo C<sub>1-8</sub>, más preferentemente es un grupo C<sub>1-6</sub>, incluso más preferentemente es un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>.

50 Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo" se refiere a un grupo alquilo cíclico (es decir, un anillo carbocíclico) que puede estar sustituido (mono- o poli-) o insustituido. Los sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, OH, COOH, COOMe, NH<sub>2</sub>, NMe<sub>2</sub>, NHMe, NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> y/o halo. Preferentemente, el grupo cicloalquilo es un grupo cicloalquilo C<sub>3-8</sub>, más preferentemente un grupo cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, incluso más preferentemente un grupo cicloalquilo C<sub>3-4</sub>. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares. Además, el anillo carbocíclico por sí mismo puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos, por ejemplo, para dar un grupo heterocicloalquilo tal como tetrahidrofurano, pirrolidina, piperidina,

piperazina o morfolina.

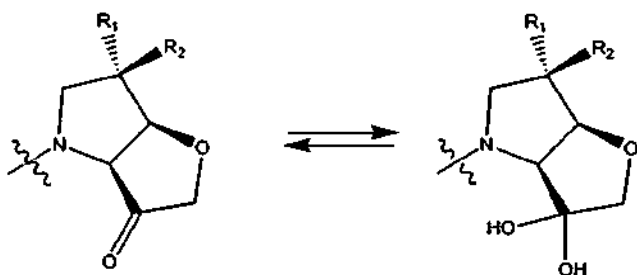
“Halógeno” o “halo” según se aplican en el presente documento comprenden F, Cl, Br, I.

5 “Heteroátomo” según se aplica en el presente documento comprende O, S, P y N, más preferentemente O, S y N.

La presente invención incluye todas las sales, hidratos, solvatos, complejos y profármacos de los compuestos de esta invención. El término "compuesto" se desea para incluir todas las sales, hidratos, solvatos, complejos y profármacos tales, a menos que el contexto requiera otra cosa.

10

En particular, la persona experta apreciará que el grupo cetona del núcleo bicíclico de los compuestos de fórmula (I) puede existir en formas alternativas tales como el hidrato (como se muestra a continuación) y la invención se extiende a todas las formas alternativas.



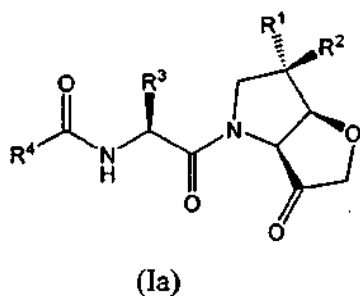
15

Hidrato

20 Las abreviaturas y símbolos comúnmente usados en las técnicas de péptidos y químicas se usan en el presente documento para describir compuestos de la presente invención, siguiendo las directrices generales presentadas por la Comisión Conjunta de Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB según se describe en el documento Eur. J. Biochem., 158, 9, 1984. Los compuestos de fórmula (I) y los intermedios y materiales de partida usados en su preparación se nombran de acuerdo con las normas de la IUPAC de nomenclatura en las que los grupos característicos tienen prioridad decreciente para citación según el grupo principal.

25

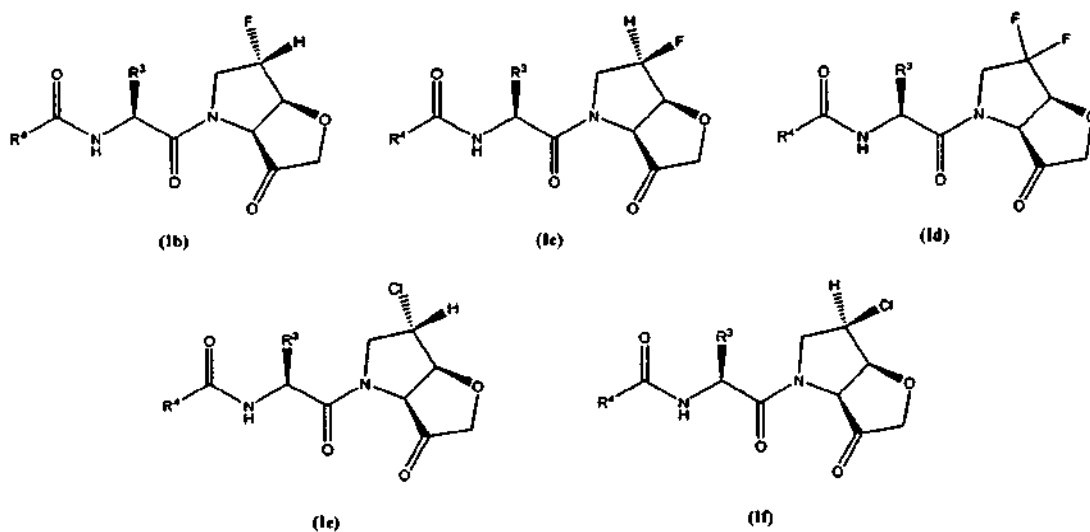
En una realización preferida, el compuesto de la invención es de fórmula la



30 en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son según se definen anteriormente.

En una realización más preferida, el compuesto de la invención es de la fórmula Ib, Ic, Id, Ie o If





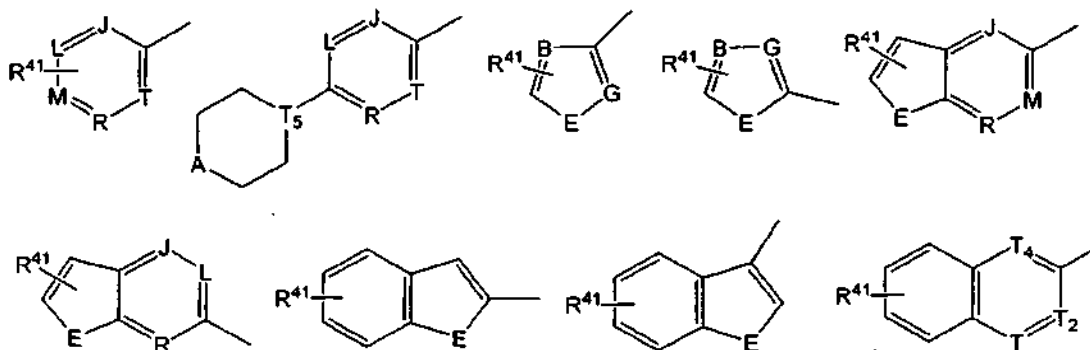
en las que  $R^3$  y  $R^4$  son según se definen anteriormente.

- 5 En una realización incluso más preferida, el compuesto de la invención es de la fórmula 1b en la que  $R^3$  y  $R^4$  son según se definen anteriormente.

En una realización incluso más preferida, el compuesto de la invención es de la fórmula 1b y  $R^3$  es ciclohexilo de tal forma que el resto central es el aminoácido (S)-ciclohexilglicina.

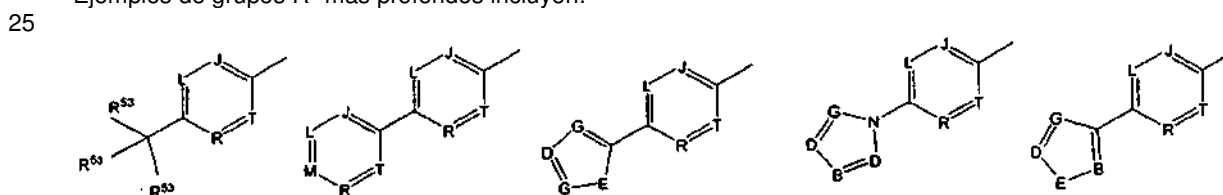
- 10 En una realización altamente preferida, el compuesto de la invención es de la fórmula 1b y  $R^3$  es ciclopentilo tal que el resto central es el aminoácido (S)-ciclopentilglicina.

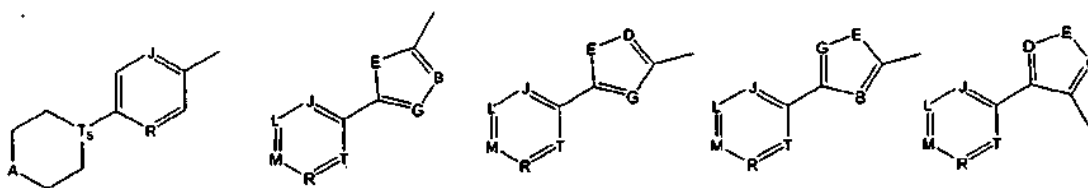
- 15 En una realización preferida,  $R^4$  es un heterociclo insaturado de 5 o 6 miembros insaturado o un grupo arilo (Ar) o un grupo bicíclico heteroarílico condensado o Ar de 9 a 10 miembros opcionalmente sustituido. Ejemplos de grupos  $R^4$  preferidos incluyen los siguientes:



- 20 en los que B, E, G, J, L, M, R, T,  $T_2$ ,  $T_4$ ,  $T_5$  y  $R^{41}$  son según se definen anteriormente.

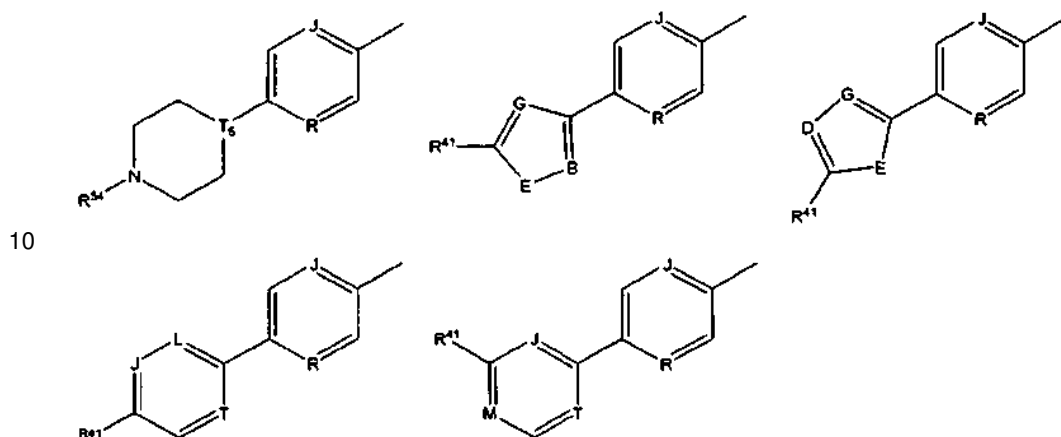
Más preferentemente,  $R^4$  es un grupo alquilo o cicloalquilo o alicíclico o arílico ramificado en la posición para de un arilo Ar. Además, grupos más preferidos contienen un meta o para biarilo Ar-Ar, donde Ar es según se define previamente. Ejemplos de grupos  $R^4$  más preferidos incluyen:





en los que A, B, D, E, G, J, L, M, R, T y T<sub>5</sub> son según se definen previamente y R<sup>53</sup> es H o alquilo C<sub>1-4</sub>.

- 5 Incluso más preferentemente, R<sup>4</sup> es un anillo arílico de 6 miembros que contiene un grupo heterocicloalquilo o arilo o heteroarilo en la posición para del anillo arílico. Incluso más preferentemente aún, el grupo R<sup>4</sup> se selecciona de los siguientes:



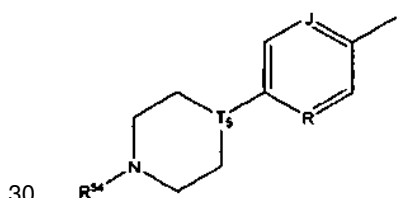
en los que B, D, E, G, J, L, M, R, T, T<sub>5</sub> y R<sup>41</sup> son según se definen anteriormente y R<sup>54</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido con uno o más grupos alcoxi C<sub>1-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-6</sub>.

- 15 Aún más preferentemente, R<sup>54</sup> se selecciona de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, s-butilo, i-butilo, *tert*-butilo, ciclobutilo y 2-metoxietilo.

- 20 Incluso aún más preferentemente, R<sup>54</sup> se selecciona de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo y 2-metoxietilo.

- 25 Más preferentemente, R<sup>41</sup> se selecciona de amino, metilamino, dimetilamino, isopropilamino, isopropil(metil)amino, ciclopropilamino, ciclopropil(metil)amino, ciclopentilamino, morfolino, piperidin-1-ilo, piperidin-1-ilmetilo, morfolinometilo, 4-metilpiperazin-1-ilo, 4-(2-metoxietil)piperazin-1-ilo, 1-morfolinoetilo, 1-(dimetilamino)etilo, 1-(metilamino)etilo, 4-fluoro-1-metilpirrolidin-2-ilo, 4,4-difluoropiperidin-1-ilo, piperidin-4-ilo, 1-metilpiperidin-4-ilo, piridin-3-ilamino, piridin-2-ilamino, 1-metilpirrolidin-3-ilo.

Lo más preferentemente, R<sup>4</sup> se selecciona de lo siguiente:



en el que J y R son según se definen previamente y R<sup>54</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido con uno o más grupos alcoxi C<sub>1-6</sub> o grupos cicloalquilo C<sub>3-6</sub>.

- 35 Lo más preferentemente, R<sup>54</sup> se selecciona de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, s-butilo, i-butilo, ciclobutilo y 2-metoxietilo.

Lo más preferentemente aún, R<sup>54</sup> se selecciona de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, ciclobutilo y 2-metoxietilo.

- 40 En una realización particularmente preferida de la invención, R<sup>4</sup> es un resto 4-(4-alkilpiperazina)fenilo, R<sup>3</sup> es una ciclopentilglicina o un resto de ciclohexilglicina y R<sup>1</sup> es flúor.

En otra realización particularmente preferida de la invención, R<sup>4</sup> es un resto 4-(4-alkilpiperazina)fenilo, R<sup>3</sup> es una ciclopentilglicina o un resto de ciclohexilglicina y R<sup>1</sup> es cloro.

- 5 En aún otra realización particularmente preferida de la invención, R<sup>4</sup> es un resto 4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)fenilo, R<sup>3</sup> es un resto de ciclopentilglicina y R<sup>1</sup> es cloro.

En una realización altamente preferida, el compuesto de la invención se selecciona de los siguientes:

- 10 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-  
15 etilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-  
20 etilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-  
isopropilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-(2-  
metoxietil)piperazin-1-il)benzamida
- 25 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-  
ciclopropilpiperazin-1-il)benzamida
- 4-(4-ciclobutilpiperazin-1-il)-*N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-  
30 il)-2-oxoetil)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo-[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-  
metilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo-[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-  
35 metilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo-[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-  
propilpiperidin-4-il)benzamida
- 40 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo-[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-  
isopropilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-(2-  
45 metoxietil)piperazin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo-[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-  
ciclopropilpiperidin-4-il)benzamida
- 4-(1-ciclobutilpiperidin-4-il)-*N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-  
50 il)-2-oxoetil)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-  
metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 55 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-(2-  
metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-  
60 metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-  
(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 65 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-  
metilpiperazin-1-il)benzamida

- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-etilpiperazin-1-il)benzamida
- 5 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-propilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-isopropilpiperazin-1-il)benzamida
- 10 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)benzamida
- 15 4-(4-ciclobutilpiperazin-1-il)-*N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida
- 20 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-etilpiperidin-4-il)benzamida
- 25 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-propilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-isopropilpiperidin-4-il)benzamida
- 30 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-(2-metoxietil)piperazin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-ciclopropilpiperidin-4-il)benzamida
- 35 4-(1-ciclobutilpiperidin-4-il)-*N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)benzamida
- 40 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 45 *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 50 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*R*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida
- 55 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*R*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 60 *N*-((*S*)-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 65

*N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida

5 *N*-((*S*)-((3*aS*,6*R*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida

*N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*R*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida

10 *N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*R*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida

En una realización altamente preferida, el compuesto es *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida.

#### 15 Composiciones farmacéuticas

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención mezclado con uno o más diluyentes, excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Otros materiales activos pueden estar presentes también, según se pueda considerar apropiado o aconsejable para que se trate o se prevenga la enfermedad o afección.

25 Aunque los compuestos de la presente invención (incluyendo sus sales farmacéuticamente aceptables, sus ésteres y sus solvatos farmacéuticamente aceptables) se pueden administrar solos, se administrarán generalmente en mezcla con un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico, particularmente para terapia de seres humanos. Las composiciones farmacéuticas pueden ser para uso animal o humano y para medicina veterinaria.

30 Se pueden encontrar ejemplos de tales excipientes adecuados para las diferentes formas de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2ª edición, (1994), editado por A Wade y PJ Weller. El vehículo, o, si hay más de uno presente, cada uno de los vehículos, debe ser aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no deletéreo para el receptor.

Los vehículos o diluyentes aceptables para uso terapéutico se conocen bien en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985).

35 Ejemplos de vehículos adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Ejemplos de diluyentes adecuados incluyen etanol, glicerol y agua.

40 La elección del vehículo excipiente o diluyente farmacéutico se puede seleccionar con respecto a la vía deseada de administración y a la práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como, o en adición a, el vehículo, excipiente o diluyente cualesquiera aglutinante(s), lubricante(s), agente(s) de suspensión, agente(s) solubilizante(s).

45 Ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como goma arábica, goma de tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol.

Ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares.

50 Se pueden proporcionar conservantes, estabilizadores, tinciones e incluso agentes aromatizantes en la composición farmacéutica. Ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido *p*-hidroxibenzoico. Se pueden usar también antioxidantes y agentes de suspensión.

55 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica o veterinaria según se describe anteriormente, comprendiendo el procedimiento llevar el/los compuesto(s) activo(s) en asociación con el vehículo, por ejemplo por mezcla.

60 En general, las formulaciones se preparan mezclando uniformemente e íntimamente el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto. La invención se extiende a procedimientos para preparar una composición farmacéutica que comprende llevar un compuesto de fórmula general (I) en conjunción o asociación con un vehículo o vehículo farmacéuticamente o veterinariamente.

65 SALES/ÉSTERES

El compuesto de la invención puede estar presente como sales o ésteres, en particular sales o ésteres farmacéuticamente y veterinariamente aceptables.

5 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen las sales de adición de ácidos o las sales de adición de bases de los mismos. Una revisión de las sales farmacéuticas adecuadas se puede encontrar en Berge y cols., J Pharm Sci, 66, 1-19 (1977). Las sales se forman, por ejemplo con ácidos inorgánicos fuertes tales como ácidos minerales, por ejemplo ácidos hidrohálidos tales como clorhidrato, bromhidrato y yodhidrato, ácido sulfúrico, sulfato de ácido fosfórico, bisulfato, hemisulfato, tiocianato, persulfato y ácidos sulfónicos; con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono que están insustituídos o sustituidos (por ejemplo, por halógeno), tales como ácido acético, con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono que están insustituídos o sustituidos (por ejemplo, por halógeno), tales como ácido acético, con ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo ácido oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tetraftálico; con ácido hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico; con aminoácidos, por ejemplo ácido aspártico o glutámico; con ácido benzoico; o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)- o ácidos arilsulfónicos que están insustituídos o sustituidos (por ejemplo, por un halógeno) tal como ácido metanosulfónico o p-toluenosulfónico. Las sales que no son farmacéuticamente o veterinariamente aceptables pueden ser aún valiosas como intermedios.

20 Las sales preferidas incluyen, por ejemplo acetato, trifluoroacetato, lactato, gluconato, citrato, tartrato, maleato, malato, pantotenato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, butirato, digluconato, ciclopentanoato, glucoheptanoato, glicerofosfato, oxalato, heptanoato, hexanoato, fumarato, nicotinato, palmoato, pectinato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, tartrato, lactobionato, pivolato, canforato, undecanoato y succinato, ácidos sulfónicos orgánicos tales como metanosulfonato, etanosulfonato, 2-hidroxi-etanosulfonato, camforsulfonato, 2-naftalenosulfonato, bencenosulfonato, p-clorobencenosulfonato y p-toluenosulfonato; y ácidos inorgánicos tales como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, hemisulfato, tiocianato, persulfato, ácidos fosfóricos y ácidos sulfónicos.

30 Los ésteres están formados bien usando ácidos orgánicos o bien usando alcoholes/hidróxidos, dependiendo del grupo funcional que esté esterificado. Los ácidos orgánicos incluyen ácidos carboxílicos, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 12 átomos de carbono que están insustituídos o sustituidos (por ejemplo, por halógeno), tales como ácido acético, con ácido carboxílico saturado o insaturado, por ejemplo oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tereftálico; con ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico; con aminoácidos, por ejemplo ácido aspártico o glutámico; con ácido benzoico; o con ácidos sulfónicos, tales como alquil (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)- o arilsulfónicos que están insustituídos o sustituidos (por ejemplo, por un halógeno) tales como ácido metanosulfónico o ácido p-toluenosulfónico. Los hidróxidos adecuados incluyen hidróxidos inorgánicos, tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de aluminio. Los alcoholes incluyen alca-  
35 nealcoholes de 1-12 átomos de carbono que pueden estar insustituídos o sustituidos, por ejemplo por un halógeno).

#### ENANTIÓMEROS/TAUTÓMEROS

40 En todos los aspectos de la presente invención anteriormente discutida, la invención incluye, donde es apropiado todos los enantiómeros, distereómeros y tautómeros de los compuestos de la invención. La persona experta en la técnica reconocerá compuestos que poseen propiedades ópticas (uno o más átomos de carbono quirales) o características tautómeras. Los enantiómeros y/o tautómeros pueden aislarse/prepararse por procedimientos conocidos en la técnica.

45 Los enantiómeros se caracterizan por la configuración absoluta de sus centros quirales y se describen por las reglas de secuenciación R y S de Cahn, Ingold y Prelog. Tales convenciones se conocen bien en la técnica (por ejemplo véase "Advanced Organic Chemistry", 3ª edición, ed. March, J., John Wiley and Sons, Nueva York, 1985).

50 Los compuestos de la invención que contienen un centro quiral se pueden usar como una mezcla racémica, una mezcla enantioméricamente enriquecida, o la mezcla racémica puede separarse usando técnicas bien conocidas y se puede usar un enantiómero individual solo.

#### ESTEREOISÓMEROS E ISÓMEROS GEOMÉTRICOS

55 Algunos de los compuestos de la invención pueden existir como estereoisómeros y/o como isómeros geométricos -por ejemplo pueden poseer uno o más centros asimétricos y/o geométricos y así pueden existir en dos o más formas asimétricas y/o geométricas. La presente invención contempla el uso de todos los estereoisómeros individuales e isómeros geométricos de aquellos agentes inhibidores y mezclas de los mismos. Los términos usados en las reivindicaciones comprende estas formas, proporcionan dichas formas mantienen la actividad funcional (aunque no necesariamente al mismo grado).

65 La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas del agente o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. Una variación isotópica de un agente de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se define como una en la que al menos un átomo está reemplazado por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica que se encuentra usualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en el agente y las sales farmacéuticamente aceptables

de los mismos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  y  $^{36}\text{Cl}$ , respectivamente. Ciertas variaciones isotópicas del agente y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas, por ejemplo, aquellas en las que un isótopo radiactivo tal como  $^3\text{H}$  o  $^{14}\text{C}$  se incorpora, son útiles en estudios de distribución tisular de fármacos o de sustratos. Los isótopos tritio, es decir,  $^3\text{H}$ , y carbono-14, es decir,  $^{14}\text{C}$ , se prefieren particularmente por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir,  $^2\text{H}$ , puede producir ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo mayor semi-vida in vivo o menores requerimientos de dosificación y por lo tanto puede preferirse en algunas circunstancias. Por ejemplo, la invención incluye compuestos de fórmula general (I) donde cualquier átomo de hidrógeno se ha reemplazado por un átomo de deuterio. Las variaciones isotópicas del agente de la presente invención y las sales farmacéuticamente aceptables de las mismas de esta invención se pueden preparar generalmente por procedimientos convencionales usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

## PROFÁRMACOS

La invención incluye adicionalmente los compuestos de la presente invención en forma de profármaco, es decir compuestos covalentemente unidos que liberan el fármaco parental activo de acuerdo con la fórmula general (I) *in vivo*. Tales profármacos son generalmente compuestos de la invención en los que uno o más grupos apropiados se han modificado de tal forma que la modificación puede revertirse tras administración a un sujeto humano o animal. La reversión se lleva a cabo usualmente por una enzima naturalmente presente en tal sujeto, aunque es posible para un segundo agente administrarse conjuntamente con un profármaco tal con el fin de llevar a cabo la reversión *in vivo*. Ejemplos de tales modificaciones incluyen éster (por ejemplo, cualesquiera de aquellos descritos anteriormente), en los que la inversión puede llevarse a cabo ser una esterasa etc. Otros de tales sistemas se conocerán bien por aquellos expertos en la técnica.

Un profármaco puede por ejemplo constituir un quelante o derivado hemiacetal de la funcionalidad cetona exocíclica presente en el andamiaje de tetrahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ona.

## SOLVATOS

La presente invención también incluye formas de solvatos de los compuestos de la presente invención. Los términos usados en las reivindicaciones abarcan estas formas.

## POLIMORFOS

La invención se refiere adicionalmente a los compuestos de la presente invención en sus diversas formas cristalinas, formas polimórficas y formas (an)hidro. Está bien establecido en la industria farmacéutica que los compuestos químicos pueden aislarse en cualesquiera de tales formas variando ligeramente el procedimiento de purificación y o la forma de aislamiento de los disolventes usados en la preparación sintética de tales compuestos.

## Ensayos

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención según se define anteriormente en un ensayo para identificar compuestos candidatos adicionales que influyen la actividad de una o de cisteína proteasas.

Preferentemente, el ensayo es capaz de identificar compuestos candidatos que son capaces de inhibir una o más cisteína proteasas CAC 1.

Más preferentemente, el ensayo es un ensayo de unión competitiva.

Preferentemente, el compuesto candidato se genera por modificación de SAR convencional de un compuesto de la invención.

Como se usa en el presente documento, el término "modificación de SAR convencional" se refiere a los procedimientos estándar conocidos en la técnica para variar un compuesto dado por medio de derivatización química.

Así, en un aspecto, el compuesto identificado puede actuar como un modelo (por ejemplo, una plantilla) para el desarrollo de otros compuestos. Los compuestos empleados en una prueba tal pueden estar libres en solución, fijos en un soporte sólido, llevados en una superficie celular, o localizados intracelularmente. La abolición de actividad de la formación de complejos de unión entre el compuesto y el agente que se están poniendo a prueba se puede medir.

El ensayo de la presente invención puede ser un rastreo, en el que se ponen a prueba un número de agentes. En un aspecto, el procedimiento de ensayo de la presente invención es un rastreo de alto rendimiento.

Esta invención contempla también el uso de ensayos de rastreo de fármacos competitivos en los que los anticuerpos neutralizantes capaces de unir un compuesto compiten específicamente con un compuesto de ensayo para unir un

compuesto.

Otra técnica para rastrear proporciona rastreo de alto rendimiento (HTS) de agentes que tienen afinidad de unión adecuada a las sustancias y se basan en el procedimiento descrito en detalle en el documento WO 84/03564.

Se espera que los procedimientos de ensayo de la presente invención sean adecuados tanto para rastreo a pequeña escala como para rastreo a gran escala de los compuestos de ensayo así como en ensayos cuantitativos. Preferentemente, el ensayo de unión competitiva comprende poner en contacto un compuesto de la invención con una cisteína proteasa en presencia de un sustrato conocido de dicha enzima y detectar cualquier cambio en la interacción entre dicha cisteína proteasa y dicho sustrato conocido.

Los compuestos de fórmula general (I) son útiles tanto como herramientas de laboratorio como como agentes terapéuticos. En el laboratorio ciertos compuestos de la invención son útiles en establecer si una cisteína proteasa conocida o recién descubierta contribuye a una función crítica o al menos significativa durante el establecimiento o progresión de un estado morbooso, un procedimiento referido comúnmente como "validación de objetivo".

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un procedimiento de validar una cisteína proteasa como un objetivo terapéutico, comprendiendo el procedimiento:

(a) valorar la unión *in vitro* de un compuesto según se describe anteriormente para una cisteína proteasa aislada conocida o teórica, proporcionando una medida de potencia, y opcionalmente, una o más de las etapas de:

(b) valorar la unión del compuesto a proteinasas homólogas estrechamente relacionadas del objetivo y de las proteasas constitutivas generales (por ejemplo, tripsina) proporcionando una medida de selectividad;

(c) controlar un marcador funcional basado en células de una actividad cisteína proteasa en particular, en presencia del compuesto; y

(d) controlar un marcador funcional basado en un modelo animal de una actividad cisteína proteasa en presencia del compuesto.

La invención por lo tanto proporciona un procedimiento de validar una cisteína proteasa teórica como un objetivo terapéutico. Aproximaciones y niveles de complejidad diferentes son apropiados para inhibición efectiva y "validación" de un objetivo en particular. En el primer ejemplo, el procedimiento comprende valorar la unión *in vitro* de un compuesto de fórmula general (I) a una cisteína proteasa conocida o teórica aislada, proporcionando una medida de "potencia". Una valoración adicional de la unión de un compuesto de fórmula general (I) a proteasas homólogas relacionadas del objetivo y las proteasas constitutivas generales (por ejemplo tripsina) proporcionan una medida de "selectividad". Un segundo nivel de complejidad puede valorarse sometiendo a seguimiento un marcador funcional basado en células de una actividad cisteína proteasa particular, en presencia de un compuesto de fórmula general (I). Por ejemplo, un "ensayo de resorción de osteoclastos" se ha utilizado como un sistema de prueba *in vitro* secundaria basada en células para realizar un seguimiento de la actividad de cathepsina K y el efecto bioquímico de los inhibidores de proteasa (por ejemplo, véase el documento WO-A-9850533). Un "ensayo de activación de células de procesamiento de MHC-II T" se ha utilizado como un sistema de realización de pruebas *in vitro* secundario basado en células para hacer un seguimiento de la actividad de cathepsina S y el efecto bioquímico de inhibidores de proteasas (Shi, G-P., y cols., Immunity, 10, 197-206, 1999). Cuando se investigan infecciones víricas o bacterianas un marcador tal podría ser simplemente una valoración funcional de la carga vírica (por ejemplo, cuenta de las copias de ARNm) o de la carga bacteriana y valorar el efecto bioquímico de los inhibidores de proteasas. Un tercer nivel de complejidad puede valorarse sometiendo a seguimiento un marcador funcional basado en modelos animales de una actividad cisteína proteasa particular, en presencia de un compuesto de fórmula general (I). Por ejemplo, los modelos murinos de infección con *Leishmania*, infección con *P. vinckei*, malaria (inhibición de falciparina) e infección con *T. cruzi* (cruziparina), indican que la inhibición de cisteína proteasas que juegan un papel clave en la propagación de patógenos es efectiva en detener síntomas de la enfermedad, "validando" dichos objetivos.

La invención se extiende por lo tanto al uso de un compuesto de fórmula general (I) en la validación de una cisteína proteasa teórica como un objetivo terapéutico.

### Actividad biológica

Los compuestos de la presente invención son estructuralmente distintos de la técnica anterior ((i) documento WO-A-02057270; (ii) Quibell, M. y cols., Bioorg. Med. Chem. 13, 609-625, 2005; Quibell M, y cols. Bioorg. Med. Chem, 12, 5689-5710, 2004; (iii) Nilsson, M. y cols., WO05066180) porque los aminoácidos centrales ciclopentilglicilo y ciclohexilglicilo son una característica intrínseca. Ventajosamente, los compuestos de la presente invención que contiene esta característica estructural presentan eficacias sorprendentemente altas para cathepsina K humana conjuntamente con farmacocinéticas favorables. Es más, todos los compuestos preparados hasta la fecha presentan inhibición *in vitro* potente frente a cathepsina K humana con  $K_i < 100$  nM. En contraste, la mayoría de los ochentaidós compuestos de la técnica anterior detallados en el documento WO-A-02057270 fueron significativamente menos



potentes contra catepsina K humana (4-450 veces menos potentes) que los compuestos de la presente invención y en la mayoría de los ejemplos mayores que 1.000 veces menos potentes (por ejemplo véase tabla 2).

5 Preferentemente, los compuestos presentan inhibición *in vitro* frente a catepsina K humana con  $K_i < 40$  nM, más preferentemente  $< 30$  nM, incluso más preferentemente  $< 20$  nM, más preferentemente aún  $< 10$  nM e incluso más preferentemente  $< 5$  nM. Los compuestos de la invención presentan alta selectividad contra otras catepsinas de mamíferos que presentan poca o ninguna actividad inhibitoria para catepsinas S, L, B y V a compuesto 1 mM.

10 Sin comprometerse con ninguna teoría, se cree que la presencia del resto de ciclopentilglicina o ciclohexilglicina no solamente proporciona compuestos que son estructuralmente distintos de la técnica anterior sino que proporciona también propiedades inesperadas y ventajosas a compuestos de fórmula (I) cuando se comparan con los análogos de la técnica anterior equivalentes. Cuando se comparan con el análogo de la técnica anterior más cercano, los compuestos de fórmula (I) presentan una o más de las siguientes propiedades favorables: potencia *in vitro* mejorada contra catepsina K humana recombinante, y/o estabilidad microsomal del hígado humano y/o de rata (HLM/RLM respectivamente) mejorada, y/o estabilidad de plasma mejorada y/o biodisponibilidad oral mejorada ( % de *F*) y/o eliminación sistémica ( $C_L$ ) más baja, todas las cuales son propiedades que son ventajosas para eficacia de fármacos.

20 A modo de ejemplo, comparando las propiedades de los compuestos de la técnica anterior 42, 10 y 12 contra aquellas de los ejemploS 1 y 2 de la fórmula general (I) (véase tabla 1 y Quibell, M. y cols., Bioorg. Med. Chem. 13, 609-625, 2005; Nilsson, M. y cols., WO05066180; Quibell, M. y cols., WO02057270);

25 (i) La adición de un sustituyente de 6-(S)-fluoro a 42 proporciona compuesto de la técnica anterior 10 (en [pero no ejemplificado específicamente] Nilsson, M. y cols., WO05066180) que presenta un incremento de 2,4 veces modesto en potencia *in vitro* contra catepsina K de seres humanos recombinante, mejoras modestas en estabildades plasmática y microsomal, una mejora de aproximadamente el 27 % en biodisponibilidad oral y ningún efecto tras eliminación.

30 (ii) Mientras, la sustitución de la (S)-leucina en 42 por (S)-ciclopentilglicina proporciona compuesto de la técnica anterior 12 (en [pero no ejemplificado específicamente] Quibell, M. y cols., WO02057270) que presenta un incremento de 5 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, mejoras modestas en estabildades plasmáticas y microsomales, una mejora de aproximadamente el 43 % en biodisponibilidad oral con una reducción del 29 % en eliminación;

35 (iii) Sin embargo, la adición de un sustituyente 6-(S)-fluoro y la sustitución de la (S)-leucina en 42 por (S)-ciclopentilglicina según se reivindica en el presente documento proporciona ejemplo 1 novedoso que presenta un incremento de 5 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, mejoras modestas en estabildades plasmáticas y microsomales, pero sorprendentemente una mejora de aproximadamente el 180 % en biodisponibilidad oral con una reducción del 71 % en eliminación.

40 (iv) De forma similar, la adición de un sustituyente 6-(S)-fluoro y la sustitución de la (S)-leucina en 42 por (S)-ciclohexilglicina como se lleva a cabo en el presente documento proporciona EJEMPLO 2 novedoso que presenta sorprendentemente un incremento del 150 % aproximadamente en biodisponibilidad oral con una reducción del 68 % en eliminación.

45 Por lo tanto según se describe por la realización más preferida, cuando  $R^4$  es un resto 4-(4-alkilpiperazina)fenilo y  $R^3$  es un resto ciclopentilglicina o ciclohexilglicina y  $R^1$  es flúor, los compuestos de fórmula (I) presentan mejoras sorprendentes en biodisponibilidad en reducciones en eliminación.

50 Comparar las propiedades de los compuestos de la técnica anterior 42, 14 y 12 frente a aquellas de los ejemploS 1 y 5 de fórmula general (I) (véase tabla 1 y Quibell, M. y cols., Bioorg. Med. Chem. 13, 609-625, 2005, WO05066180; Quibell, M. y cols., WO02057270);

55 (v) La adición de un sustituyente 6-(S)-fluoro y la sustitución de la (S)-leucina en 42 por (S)-ciclopentilglicina según se reivindica en el presente documento proporciona ejemplo 1 novedoso que presenta un incremento de 5 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, mejoras modestas en estabildades plasmáticas y microsomales, pero sorprendentemente una mejora de aproximadamente el 180 % en biodisponibilidad oral con una reducción del 71 % en eliminación.

60 (vi) Sin embargo, la adición de un sustituyente 6-(S)-cloro y la sustitución de la (S)-leucina en 42 por (S)-ciclopentilglicina según se reivindica en el presente documento proporciona ejemplo 5 novedoso que presenta ahora sorprendentemente un incremento de 17 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, mejoras modestas en plasma y estabildades microsómicas y una mejora más modesta del 17 % en biodisponibilidad oral.

65 (vii) El ejemplo 5 presenta un incremento de 3,5 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante cuando se compara con el análogo de (S)-leucina directo (14).

Por lo tanto según se describe por una realización más preferida, cuando  $R^4$  es un resto 4-(4-alkilpiperazina)fenilo y  $R^3$

es un resto ciclopentilglicina o ciclohexilglicina y R<sup>1</sup> es cloro, los compuestos de fórmula (I) presentan mejoras particularmente sorprendentes en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante.

5 Comparar las propiedades de los compuestos de la técnica anterior 11, 13 y 8.19 frente a aquellas de ejemplo 7 y 8 de fórmula general (I) (véase tabla 1 y Nilsson, M. y cols., WO05066180; Quibell, M. y cols., WO02057270);

10 (viii) La adición de un sustituyente 6-(S)-fluoro a 11 proporciona compuesto de la técnica anterior 8.19 (en Nilsson, M. y cols., WO05066180) que presenta solamente mejora secundaria en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, ninguna mejora en estabilidades plasmáticas o microsomaes y sigue metabolizándose rápidamente por microsomas de hígado de rata con < 10 % permaneciendo intacto después de incubación de 1 hora;

15 (ix) De forma similar, la sustitución de la (S)-leucina en 11 por (S)-ciclopentilglicina proporciona compuesto 13 de la técnica (en [pero no ejemplificado específicamente] Quibell, M. y cols., WO02057270) que presenta solamente mejora secundaria en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, ninguna mejora en estabilidades plasmática o microsomal y sigue metabolizándose rápidamente por microsomas de hígado de rata con < 10 % permaneciendo intacto después de 1 hora de incubación;

20 (x) Mientras, la adición de sustituyente 6-(S)-fluoro y la sustitución de la (S)-leucina en 11 por (S)-ciclopentilglicina según se reivindica en el presente documento proporciona ejemplo 7 novedoso que presenta un incremento de 2 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, ninguna mejora en estabilidades plasmática o microsomal y sigue metabolizándose rápidamente por microsomas de hígado de rata con < 5 % permaneciendo intacto después de 1 hora de incubación;

25 (x) Sin embargo, la adición de sustituyente 6-(S)-cloro y la sustitución de la (S)-leucina en 11 por (S)-ciclopentilglicina según se reivindica en el presente documento proporciona ejemplo 8 novedoso que presenta un incremento de 6 veces en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante, ninguna mejora en estabilidades plasmática o microsomal y sigue metabolizándose rápidamente por microsomas de hígado de rata con < 8 % permaneciendo intacto después de 1 hora de incubación.

30 Por lo tanto según se describe por una realización preferida, cuando R<sup>4</sup> es un resto 4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)fenilo y R<sup>3</sup> es un resto ciclopentilglicina y R<sup>1</sup> es cloro, los compuestos de fórmula (I) presentan mejoras sorprendentes en potencia *in vitro* contra catepsina K humana recombinante.

### 35 **Uso terapéutico**

Los compuestos de fórmula (I) general (I) son útiles para el tratamiento o la prevención de enfermedades *in vivo* en lo que está implicada la participación de una cisteína proteasa.

40 En particular, compuestos de fórmula general I son inhibidores de un amplio intervalo de cisteinilproteasas CAC1 por ejemplo catepsina K, catepsina S, catepsina L, catepsina F, catepsina B, catepsina V, cruzipainas, falcipainas y proteasa CPB de *Leishmania mexicana*.

45 Preferentemente, el compuesto de fórmula general I es selectivo para catepsina K. Como se usa en el presente documento, el término "selectivo por catepsina K" significa que el inhibidor es selectivo para catepsina K por encima de una o más cisteinilproteasas CAC1 de mamíferos, por ejemplo catepsina S, catepsina L, catepsina F y catepsina V. Preferentemente, el inhibidor presenta una proporción selectiva para catepsina K por encima de otras cisteinilproteasas CAC1 de mamíferos mayor de dos veces, más preferentemente mayor de 5 veces, más preferentemente mayor de 10 veces, incluso más preferentemente mayor de 25 veces, aún más preferentemente, mayor de 50 veces o de 100 veces.

50 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula general (I) para usar en medicina, especialmente para evitar o tratar enfermedades en las que la patología morbosa puede modificarse inhibiendo una cisteína proteasa.

55 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula general (I) en la preparación de un medicamento para evitar o tratar enfermedades en las que la patología morbosa puede estar modificada inhibiendo una cisteína proteasa.

60 Ciertas cisteína proteasas funcionan en el procedimiento fisiológico normal de degradación de proteínas en animales, incluyendo seres humanos, *por ejemplo* en la degradación de tejido conectivo. Sin embargo, niveles elevados de estas enzimas en el cuerpo pueden dar como resultado afecciones patológicas que conducen a enfermedad. Así, se han implicado cisteína proteasas en diversos estados morbosos, incluyendo pero no limitados a, infecciones por *Pneumocystis carinii*, *Trypanoma cruzi*, *Trypanoma brucei brucei* y *Crithidia fusciculata*; así como en osteoporosis, osteoartritis, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, dolor crónico, autoinmunidad, esquistosomiasis, malaria, metástasis tumoral, leucodistrofia metacromática, distrofia muscular, amitrofia y similares (véanse documentos WO-A-9404172 y EP-A-0603873 y referencias citadas en ellos). Adicionalmente, una cisteína proteasa bacteriana segregada de *S. aureus* llamada estafilopaina se ha implicado como un factor de virulencia bacteriano (Potempa, J., y cols. J. Biol. Chem, 262

(6), 2664-2667, 1998).

La invención es útil en la prevención y/o el tratamiento de cada uno de los estados morbosos mencionados o implicados anteriormente. La presente invención también es útil en un procedimiento de tratamiento de prevención de enfermedades causado por niveles patológicos de cisteína proteasas, particularmente cisteína proteasas de la superfamilia de papaína, procedimientos que comprenden administrar un compuesto de la presente invención a un animal, particularmente a un mamífero, lo más particularmente a un ser humano, en necesidad del mismo. La presente invención proporciona particularmente procedimientos para tratar enfermedades en los que están implicadas cisteína proteasas incluyendo infecciones por *Pneumocystis carinii*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Leishmania mexicana*, *Clostridium histolyticum*, *Staphylococcus aureus*, virus de la fiebre aftosa y *Crithidia fusiculata*; así como en osteoporosis, osteoartritis, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, dolor crónico, autoinmunidad, esquistosomiasis, malaria, metástasis tumoral, leucodistrofia metacromática, distrofia muscular, amitrofia.

Los inhibidores de catepsina K, en particular compuestos específicos de catepsina K, son útiles para el tratamiento de osteoporosis, enfermedad de Paget, enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis, hipercalemia de malignidad, enfermedad ósea metabólica, enfermedades que implican degradación de matriz o cartílago, en particular osteoartritis y artritis reumatoide y enfermedades neoplásicas.

Las características preferidas para cada aspecto de la invención son como para cada uno de los otros aspectos cambiando lo que haya que cambiar.

#### Administración

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden adaptarse para administración rectal, nasal, intrabronquial, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial e intradérmica), intraperitoneal o intratecal. Preferentemente la formulación es una formulación administrada oralmente. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria, es decir, en forma de partes discretas que contienen una dosis unitaria o una dosis múltiple o subunidad de dosis unitaria. A modo de ejemplo, las formulaciones pueden estar en forma de comprimidos y cápsulas de liberación sostenida y pueden prepararse a partir de cualquier procedimiento bien conocido en la técnica de farmacia.

Las formulaciones para administración oral en la presente invención pueden presentarse como: unidades discretas tales como cápsulas, cápsulas de gelatina, gotas, sellos, píldoras o comprimidos conteniendo cada una de ellas una cantidad predeterminada del agente activo, como un polvo o gránulos, como una solución, emulsión o suspensión del agente activo en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un bolo, etc. Preferentemente, estas composiciones contienen desde 1 hasta 250 mg y más preferentemente desde 1 hasta 100 mg, de ingrediente activo por dosis.

Para composiciones para administración oral (por ejemplo, comprimidos y cápsulas), el término "vehículo aceptable" incluye vehículos tales como excipientes comunes por ejemplo agentes de unión, por ejemplo jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto, polivinilpirrolidona (Povidona), metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, sacarosa y almidón, cargas y vehículos, por ejemplo almidón de maíz, gelatina, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro de sodio y ácido alginico y lubricantes tales como estearato de magnesio, estearato de sodio y otros estearatos metálicos, estearato de glicerol ácido esteárico, fluido de silicona, ceras de talco, aceites y sílice coloidal. Se pueden usar también agentes aromatizantes tales como menta, aceite de gaulteria, aromatizante de cereza y similares. Puede ser deseable añadir un agente colorante para elaborar la forma de dosificación fácilmente identificable. Los comprimidos pueden también revestirse por procedimientos bien conocidos en la técnica.

Un comprimido se puede preparar por compresión o moldeando, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos sometidos a compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada, el agente activo en una forma que fluye libremente tal como polvo o gránulos; opcionalmente mezclada con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, agente activo de superficie o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente revestidos o marcados y pueden estar formulados tal como para proporcionar liberación lenta o controlada del agente activo.

Otras formulaciones adecuadas para administración oral incluyen pastillas que comprenden el agente activo en una base aromatizada, usualmente sacarosa y goma arábiga o goma de tragacanto, pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y colutorios que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

Otras formas de administración comprenden soluciones o emulsiones que pueden inyectarse intravenosamente, intraarterialmente, intratecalmente, subcutáneamente, intradérmicamente, intraperitonealmente o intramuscularmente y que se preparan a partir de soluciones estériles o esterilizables. Las formas inyectables contienen típicamente entre 10 - 1000 mg, preferentemente entre 10 - 250 mg, de ingrediente activo por dosis.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar también en forma de supositorios, pesarios, suspensiones, emulsiones, lociones, pomadas, cremas, geles, pulverizaciones, soluciones o polvos espolvoreables.

5 Un medio alternativo de administración transdérmica es por el uso de un parche dérmico. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede incorporar en una crema constituida por una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. El ingrediente activo se puede incorporar también a una concentración de entre el 1 y el 10 % en peso, dentro de una pomada constituida por una cera blanca o por una base de vaselina blanca conjuntamente con tales estabilizadores y conservantes según se requiera.

10

#### Dosificación

15 Una persona de habilidad normal en la técnica puede determinar fácilmente una dosis apropiada de una de las composiciones actuales para administrar a un sujeto sin experimentación indebida. Típicamente, un médico determinará la dosificación real que será más adecuada para un paciente individual y ella dependerá de una diversidad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, peso corporal, estado de salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular y la terapia a que está sometido el individuo. Las dosificaciones descritas en el presente documento son ejemplares del caso promedio. Puede haber por supuesto 20 ejemplos individuales donde se requieran dosis más altas o más bajas y tales están dentro del alcance de esta invención.

De acuerdo con esta invención, se puede administrar una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula general (I) para 25 inhibir la proteasa implicada con una afección o enfermedad particular. Por supuesto, esta cantidad de dosificación se modificará adicionalmente de acuerdo con el tipo de administración del compuesto. Por ejemplo, para lograr una "cantidad efectiva" para terapia aguda, se prefiere administración parenteral de un compuesto de fórmula general (I). Una infusión intravenosa del compuesto en dextrosa al 5 % en agua o solución salina normal, o una formulación similar con excipientes adecuados, es la más efectiva, aunque una inyección de bolo intramuscular es también útil. Típicamente, la dosis parenteral será aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg; preferentemente entre 0,1 30 y 20 mg/kg, en una manera para mantener la concentración de fármaco en el plasma a una concentración efectiva para inhibir una cisteína proteasa. Los compuestos se pueden administrar una a cuatro veces diariamente a un nivel para lograr una dosis diaria total de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 400 mg/kg/día. La cantidad precisa de un compuesto de la invención que es terapéuticamente efectiva y la vía por la que tal compuesto se administra mejor se determina fácilmente por alguien de habilidad ordinaria en la técnica comparando el nivel en sangre del agente a la 35 concentración requerida para tener un efecto terapéutico. Los profármacos de compuestos de la presente invención se pueden preparar por cualquier procedimiento adecuado. Para aquellos compuestos en los que el resto de profármaco es una funcionalidad de cetona, específicamente cetales o hemicetales, la conversión se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos convencionales.

40 Los compuestos de esta invención pueden administrarse también oralmente al paciente, en una manera tal que la concentración de fármaco es suficiente para inhibir la resorción ósea o para lograr cualquier otra indicación terapéutica según se describe en el presente documento. Típicamente, una composición farmacéutica que contiene el compuesto se administra a una dosis oral de entre aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/kg de una manera consistente con la afección del paciente. Preferentemente la dosis oral sería aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 mg/kg.

45

No se esperan efectos tóxicos inaceptables cuando los compuestos de la presente invención se administren de acuerdo con la presente invención. Los compuestos de esta invención, que pueden tener buena biodisponibilidad, se pueden poner a prueba en uno de varios ensayos biológicos para determinar la concentración de un compuesto que se requiere para tener un efecto farmacológico dado.

50

#### Combinaciones

55 En una realización particularmente preferida, los uno o más compuestos de la invención se administran en combinación con uno o más agentes activos, por ejemplo, fármacos existentes disponibles en el mercado. En tales casos, los compuestos de la invención se pueden administrar consecutivamente, simultáneamente o secuencialmente con los uno o más otros agentes activos.

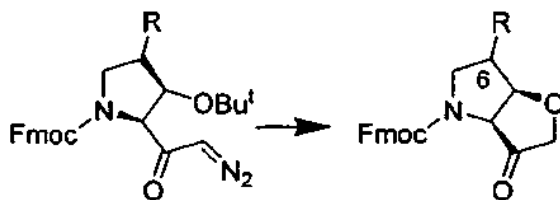
60 Los fármacos en general son más efectivos cuando se usan en combinación. En particular, la terapia de combinación es deseable con el fin de evitar un solapamiento de toxicidades principales, mecanismo de acción y mecanismo(s) de resistencia. Adicionalmente, es también deseable administrar la mayoría de los fármacos a sus dosis toleradas máximas con intervalos de tiempo mínimos entre tales dosis. Las ventajas principales de combinar fármacos quimioterapéuticos son que pueden promover efectos aditivos o efectos sinérgicos posibles a través de interacciones bioquímicas y también pueden disminuir el surgimiento de resistencia.

65 Se pueden sugerir combinaciones beneficiosas estudiando la actividad inhibidora de los compuestos de prueba con agentes conocidos o sospechosos de ser válidos en el tratamiento de un trastorno particular. Este procedimiento se

puede usar también para determinar el orden de administración de los agentes. Es decir antes, simultáneamente, o después de la administración. Tal programación puede ser una característica de todos los agentes activos identificados en el presente documento.

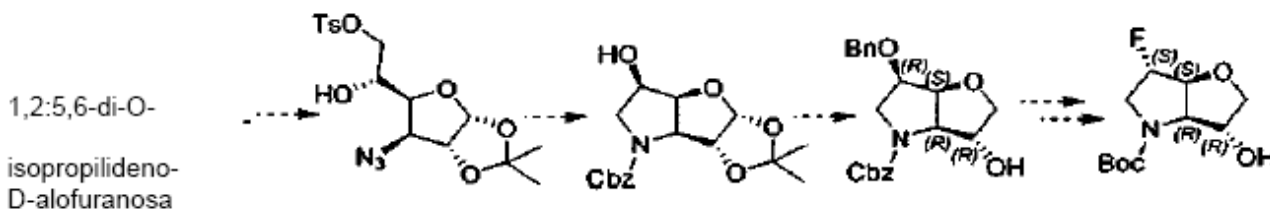
5 Síntesis

Las síntesis de la bibliografía de intermedios 5,5-bicíclicos se han comunicado por una diversidad de vías. Un ejemplo, una vía de ciclación de diazometicetona se ha descrito en el documento WO 02/057270 (Esquema 1). Esta vía podría adaptarse fácilmente para introducir el sustituyente 6-fluoro o cloro, por ejemplo a través del uso de ácido (2*S*,3*R*,4*R*)-4-cloro-3-hidroxipirrolidina-2-carboxílico (CAS 102845-72-7, Sannamu, L. y cols., 1986, 59 (2), 493-5) con objeto de hacer compuestos de fórmula general I) en la que R<sup>2</sup> = Cl.



Esquema 1: Vía de ciclación basada en 3-hidroxipirrolina para intermedios 5,5-bicíclicos.

15 Se ha detallado un ejemplo adicional a través de la preparación de intermedios de *α*-furanosa seguida por ciclación y reducción subsiguiente del oxígeno anomérico por Nilsson, M. y cols. (WO 05/066180) para introducir un sustituyente de 6-fluoro (Esquema 2). Una vía conceptualmente similar que comienza a partir de D-glucosa se ha detallado por Gurjar, M. K., y cols., Ind. J. Chem. 26B, 1115-1120, 1987.

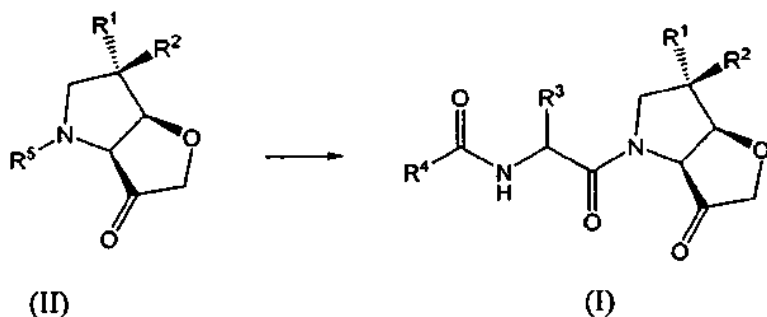


Esquema 2: Una vía basada en *α*-furanosa para intermedios 6-fluoro-5,5-bicíclicos.

25 Adicionalmente, Nilsson, M. y cols. (WO 05/066180) tiene preparaciones detalladas de intermedios bicíclicos adecuadamente protegidos de 6(*S*)-fluoro (por ejemplo CAS 860344-85-0, véase página 28 y 38-43), 6(*R*)-fluoro (por ejemplo CAS 860343-86-8, véanse páginas 29 y 48-51), 6-difluoro (véanse páginas 30), 6(*S*)-cloro (véase página 34) y 6(*R*)-cloro (véase página 34) adecuados para la preparación de compuestos de la presente invención.

30 Síntesis Alternativa de Núcleo 5,5-bicíclico

Un aspecto de la invención se refiere a un procedimiento alternativo de preparar un compuesto de fórmula (I) según se define anteriormente, comprendiendo dicho procedimiento un compuesto de fórmula (II), donde R<sup>5</sup> es un grupo protegido, dentro de un compuesto de fórmula (I)



35 (II)

(I)

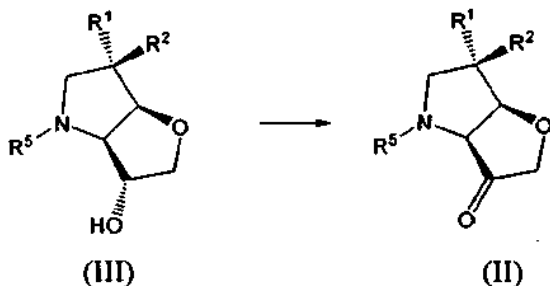
En una realización preferida, el grupo protector R<sup>5</sup> se selecciona de benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo, fluoren-9-ilmetoxicarbonilo, 1-(bifenil-4-il)-1-metiletoxicarbonilo,  $\alpha,\alpha$ -dimetil-3,5-dimetoxilbenciloxicarbonilo, *p*-

metoxibenciloxicarbonilo, *p*-nitrobenciloxicarbonilo, aliloxicarbonilo y tricloroetoxicarbonilo.

En una realización de la invención particularmente altamente preferida, R<sup>5</sup> es benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo (Boc) o fluoren-9-ilmetoxicarbonilo (Fmoc).

5

En una realización preferida, el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (III) en un compuesto de fórmula (II)



10

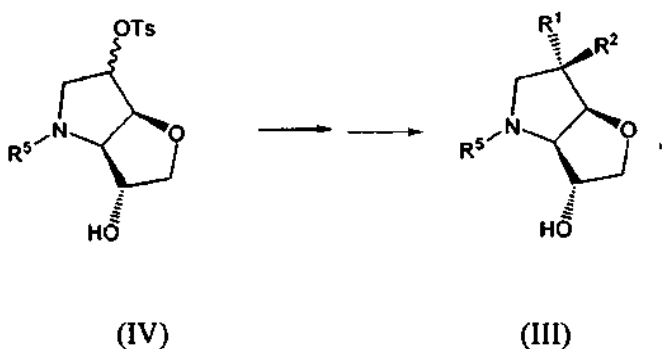
Cualquier agente oxidante se puede usar para convertir el grupo alcohol secundario de (III) en la cetona (II) correspondiente. Los agentes oxidantes adecuados serán familiares para el artesano experto. A modo de ejemplo, la oxidación se puede llevar a cabo por medio de una reacción de peryodinano de Dess-Martin [Dess, D.B. y cols., J. Org. Chem. 1983, 48, 4155; Dess, D.B. y cols.; J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 7277], o por medio de una oxidación de Swern [Mancuso, A. J. y cols., J. Org. Chem. 1978, 43, 2480]. Alternativamente, la oxidación se puede llevar a cabo usando SO<sub>3</sub>/piridina/Et<sub>3</sub>N/DMSO [Parith, J. R. y cols., J. Am. Chem. Soc. 1967, 5505; US 3,444,216, Parith, J. R. y cols.], P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/DMSO o P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/Ac<sub>2</sub>O [Christensen, S. M. y cols., Organic Process Research and Development, 2004, 8, 777]. Otros reactivos de oxidación alternativa incluyen dimetilsulfóxido activado [Mancuso, A. J., Swern, D. J., Synthesis, 1981, 165], clorocromato de piridinio [Pianeatelli, G. y cols., Synthesis, 1982, 245] y reactivo de Jones [Vogel, A. I., Textbook of Organic Chemistry, 6<sup>a</sup> Edición].

20

Más preferentemente, el procedimiento comprende tratar un compuesto de fórmula (III) con peryodinano de Dess-Martin. Preferentemente, la reacción se lleva a cabo usando diclorometano como disolvente.

25

En una realización más preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (IV) en un compuesto de fórmula (III)



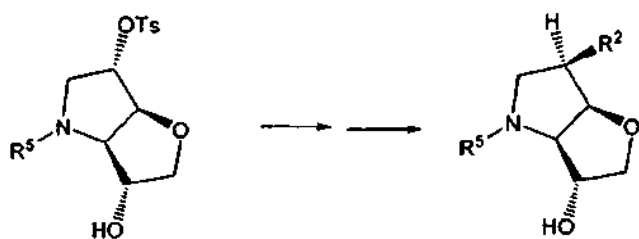
30

En una realización incluso más preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (IVa) a un compuesto de fórmula (IIa) o un compuesto de fórmula (IVb) en un compuesto de fórmula (IIIb)



(IVa)

(IIIa)



(IVb)

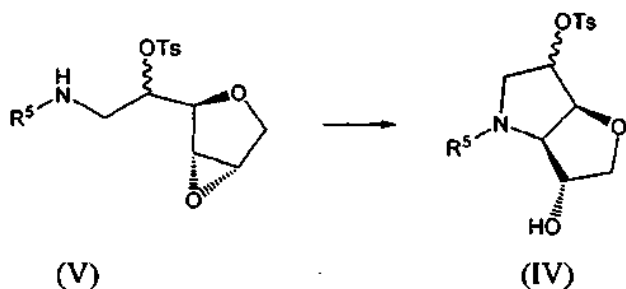
(IIIb)

En anillos carbocíclicos y heterocarbocíclicos, se conoce bien en la bibliografía el desplazamiento nucleofílico de un tosilato secundario por haluros. Por ejemplo, el tratamiento de análogos de tosilato de morfina con fluoruro de *terc*-butilamónio y calor dio rendimientos excelentes de los análogos de fluoro invertidos (véase Zhang, A. y cols., *Org. Lett.* 2005, 7(15), 3239); análogos de tosilato de pirrolidina con fluoruro de potasio y calor (véase Giardina, G. y cols., *Synlett.* 1995, 1, 55; Bouzard, D. y cols., *J. Med. Chem.*, 1990, 33 (5), 1344); análogos de nucleósido-tosilato con fluoruro de *terc*-butilamónio y calor (por ejemplo, véase documento EP576231; Brimacombe, J. S. y cols., *Can. J. Chem.*, 1970, 48 (24), 3946) o con fluoruro de potasio en acetamida con calor (por ejemplo véase Reichman, U. y cols., *Carbohydrate Res.*, 1975, 42 (2), 233) o con fluoruro de potasio/kryptofix y calor da rendimientos excelentes de los análogos de fluoro invertidos (véase Cai, L. y cols., *J. Med. Chem.*, 2004, 47 (9), 2208); análogos de tosilato de macrólidos con HF-piridina dan rendimientos buenos de los análogos fluoro invertidos (véase Mrozik, H. y cols., *J. Med. Chem.*, 1989, 32 (2), 375); análogos de tosilato esteroides con fluoruro de potasio y calor dan rendimientos excelentes de los análogos fluoro invertidos (véase Badone, D. y cols., *Synthesis*, 1987, 10, 921). En una realización particularmente preferida el procedimiento de la reacción comprende la etapa de tratar un compuesto de fórmula IVa (o IVb) con fluoruro de *terc*-butilamónio para formar un compuesto de fórmula IIIa (o IIIb) donde R<sup>1</sup> es F.

Alternativamente, el desplazamiento en condiciones basadas en cloruro de litio ha dado exitosamente análogos de cloro de tosilatos carbocíclicos y tosilatos heterocarbocíclicos en una amplia diversidad de sustratos (por ejemplo nucleósidos, véase Mikhailopulo, I. A. y cols., *J. Org. Chem.*, 2003, 68 (15), 5897; esteroides, véase Back, T. G. y cols., *Tet. Lett.*, 1991, 32 (45), 6517; análogos de morfina, véase Berenyi, S. y cols., *Acta Chimica Hungarica*, 1989, 126 (2), 275). Uso de HCl-piridina ha sido muy exitoso en sustratos de tosilato de nucleósidos (por ejemplo véase Lee, C. K. y cols., *Carbohydrate Res.*, 1988, 177, 247; Makinabakan, O. y cols., *Carbohydrate Res.*, 1996, 280 (2), 339).

En una realización particularmente preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de tratar un compuesto de fórmula IVa (o IVb) con cloruro de litio para formar un compuesto de fórmula IIIa (o IIIb) donde R<sup>1</sup> es Cl.

En una realización preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (V) en un compuesto de fórmula (IV)



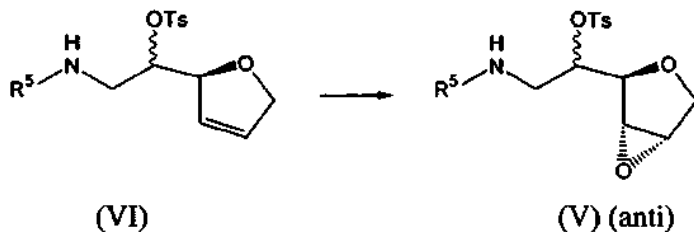
(V)

(IV)

Más preferentemente, el procedimiento comprende tratar un compuesto de fórmula (V) con hidruro de sodio. Preferentemente, la reacción se lleva a cabo en THF.

5 En una realización preferida alternativa de la invención, la ciclación intramolecular de compuesto (V) se indujo por eliminación del grupo protector R<sup>5</sup>. Preferentemente, para esta realización, R<sup>5</sup> es benciloxicarbonilo (Cbz) y el procedimiento comprende hidrogenar un compuesto (V) en presencia de un catalizador de paladio.

10 En una realización preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (VI) en un compuesto de fórmula (V)



15 En una realización preferida, el agente oxidante es mCPBA.

En otra realización preferida, el agente oxidante es un dioxirano.

20 El uso de dioxiranos como agentes oxidantes está bien documentado en la bibliografía [véase (a) Hodgson, D. M. y cols., Synlett, 310 (2002); (b) Adam, W. y cols., Acc. Chem. Res. 22, 205, (1989); (c) Yang, D. y cols., J. Org. Chem., 60, 3887, (1995); (d) Mello, R. y cols., J. Org. Chem., 53, 3890, (1988); (e) Curci, R. y cols., Pure & Appl. Chem., 67 (5), 811 (1995); (f) Emmons, W. D. y cols., J. Amer. Chem. Soc. 89, (1955)].

25 Preferentemente, el dioxirano se genera *in situ* por la reacción de KHSO<sub>5</sub> con una cetona. Sin embargo, la etapa de oxidación puede llevarse a cabo también usando un dioxirano aislado formado a partir de acetona.

Más preferentemente, el dioxirano se genera *in situ* usando Oxone®, que es un agente oxidante comercialmente disponible que contiene KHSO<sub>5</sub> como el ingrediente activo.

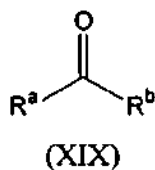
30 Así, en una realización preferida, el procedimiento reivindicado implica la epoxidación *in situ* de un compuesto de fórmula (VI) usando Oxone® (2KHSO<sub>5</sub>·KHSO<sub>4</sub>·K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y un co-reactivo cetona.

35 Como se menciona anteriormente, el ingrediente activo de Oxone® es peroximonosulfato de potasio, KHSO<sub>5</sub> [CAS-RN 10058-23-8], conocido comúnmente como monopersulfato de potasio, que está presente como un componente de sal triple con la fórmula 2KHSO<sub>5</sub>·KHSO<sub>4</sub>·K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [sulfato peroximonosulfato de hidrógeno potasio (5:3:2:2), CAS-RN 70693-62-8; comercialmente disponible a partir de DuPont]. La oxidación potencial de Oxone® se deriva de su química de perácido; es la primera sal de neutralización de ácido peroximonosulfúrico (también conocido como ácido de Caro).

K<sup>+</sup>O-S(=O)<sub>2</sub>(-OOH) Monopersulfato potásico

40 En condiciones ligeramente básicas (pH 7,5-8,0), el persulfato reacciona con la cetona co-reactiva para formar un peróxido cíclico de tres miembros (un dioxirano) en el que ambos oxígenos están enlazados al carbono de carbonilo de la cetona. El peróxido cíclico así formado epoxidiza después el compuesto de fórmula VI por transferencia de oxígeno específica *syn* al enlace alqueno.

45 Preferentemente, la cetona es de fórmula (XIX)



50 en la que R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> son cada una independientemente alquilo, arilo, haloalquilo o haloarilo.

Donde R<sup>a</sup> y/o R<sup>b</sup> son alquilo, el grupo alquilo puede ser una cadena lineal o un grupo alquilo ramificado. Preferentemente, el grupo alquilo es un grupo alquilo C<sub>1-20</sub>, más preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-15</sub>, más preferentemente aún un grupo alquilo C<sub>1-12</sub>, más preferentemente aún, un grupo alquilo C<sub>1-8</sub> o C<sub>1-6</sub>, más preferentemente



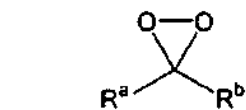
un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>. Grupos alquilo particularmente preferidos incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

5 Como se usa en el presente documento, el término "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo como se describe anteriormente en el que uno o dos hidrógenos están reemplazados por halo.

Donde R<sup>a</sup> y/o R<sup>b</sup> son arilo, el grupo arilo es típicamente un grupo aromático C<sub>6-12</sub>. Los ejemplos preferidos incluyen fenilo y naftilo, etc.

10 Como se usa en el presente documento, el término "haloarilo" se refiere a un grupo arilo según se describe anteriormente en el que uno o más hidrógenos están reemplazados por halo.

A modo de ejemplo, la reacción de KHSO<sub>5</sub> (Oxone®) con una cetona de fórmula XVI formaría un dioxirano de fórmula:



en el que R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> son según se definen anteriormente.

Más preferentemente, R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> son cada uno independientemente alquilo o haloalquilo.

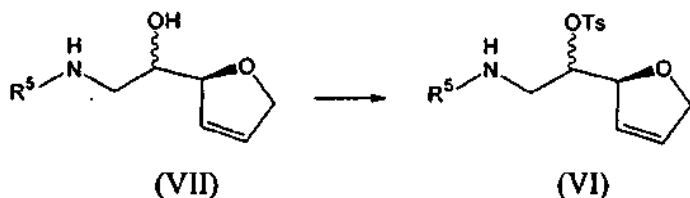
20 En una realización altamente preferida, al menos uno de R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> es un haloalquilo, más preferentemente CF<sub>3</sub> o CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>.

En una realización preferida, R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> son cada uno independientemente metilo o trifluorometilo.

25 En una realización preferida de la invención, la cetona está seleccionada de acetona y 1,1,1-trifluoroalquilcetona.

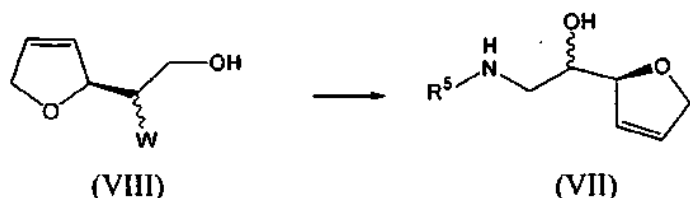
En una realización más preferida de la invención, la trifluoroalquilcetona es 1,1,1-trifluoroacetona o 1,1,1-trifluoro-2-butanona, más preferentemente 1,1,1-trifluoro-2-butanona.

30 En una realización preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (VII) en un compuesto de fórmula (VI)



35 Preferentemente el procedimiento comprende tratar un compuesto de fórmula (VII) con cloruro de tosilo en piridina. Alternativamente el procedimiento comprende tratar un compuesto de fórmula (VII) con cloruro de tosilo en diclorometano y trietilamina.

40 En una realización preferida el procedimiento de la invención comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (VIII) en un compuesto de fórmula (VII)



donde W es halógeno o tosilo.

45 Preferentemente, esta etapa comprende las etapas de

hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII), donde W es halógeno u OT, con amoníaco acuoso y alcohol; y

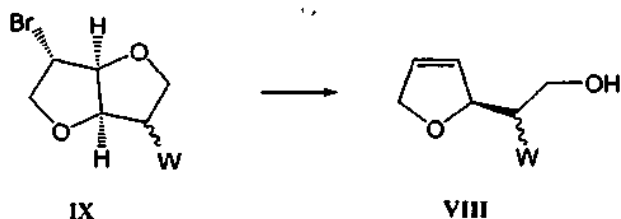
50 convertir el producto formado en etapa (a) a un compuesto de fórmula (VII).

Preferentemente, las etapas (a) y (b) de los procedimientos anteriores son un procedimiento en un recipiente. En una realización particularmente preferida, R<sup>5</sup> es benciloxicarbonilo y la etapa (b) comprende tratar la mezcla formada en la etapa (a) con cloruro de benciloxicarbonilo.

5 Preferentemente, W es I, Br u OT, más preferentemente Br u OT, incluso más preferentemente OT.

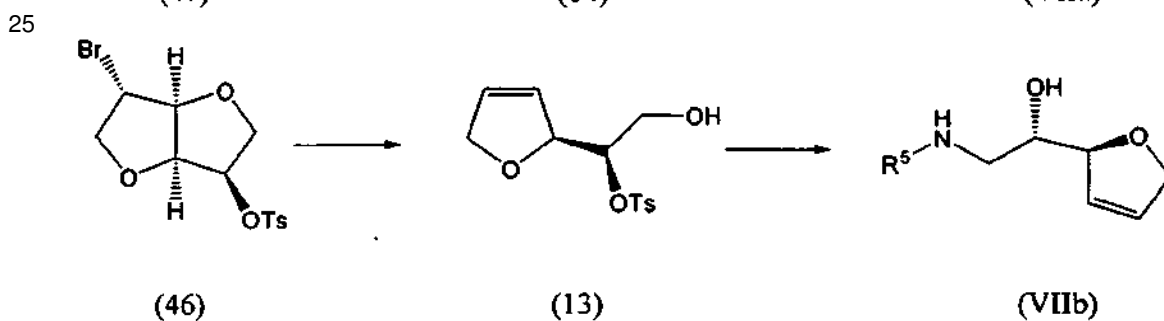
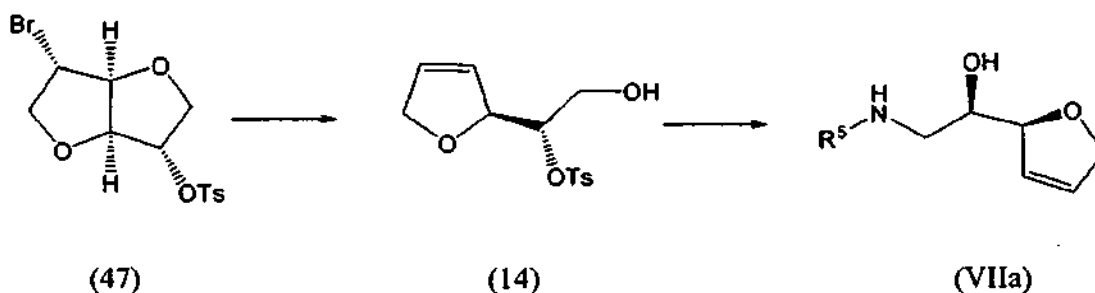
Preferentemente, el alcohol es alcohol isopropílico o etanol.

10 En una realización preferida de la invención, dicho compuesto de fórmula VIII se prepara a partir de un compuesto de fórmula IX.

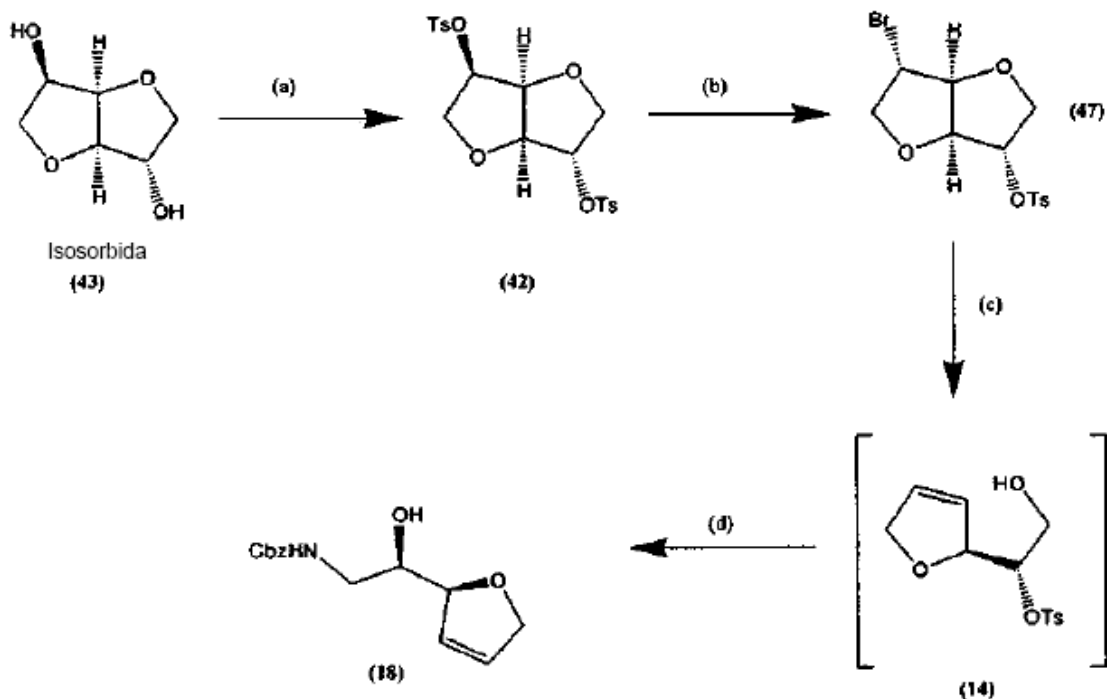


15 Preferentemente, los procedimientos anteriores comprenden tratar dicho compuesto de fórmula IX con metililitio.

Más preferentemente, el compuesto de fórmula IX es compuesto 47 y el compuesto de fórmula VIII es compuesto 14; o el compuesto de fórmula IX es compuesto 46 y el compuesto de fórmula VIII es compuesto 13. El tratamiento de bromotosilatos 46 o 47 con polvo de cinc a temperatura ambiente en mezclas orgánicas/acuosas (más preferentemente una mezcla de isopropanol, tetrahidrofurano, agua, cloruro de amonio) proporciona alcoholes 133 y 14 respectivamente en alto rendimiento. Adicionalmente, la finalización de conversión en un recipiente da alcoholes VIIa y VIIb con estereoquímica definida y en alto rendimiento.



Comenzando a partir de los azúcares comercialmente disponibles isomanida e isosorbida, la presente invención también proporciona preparación fácil de bromotosilatos 46 y 47. Una preparación altamente preferida se muestra a continuación en el Esquema 15.



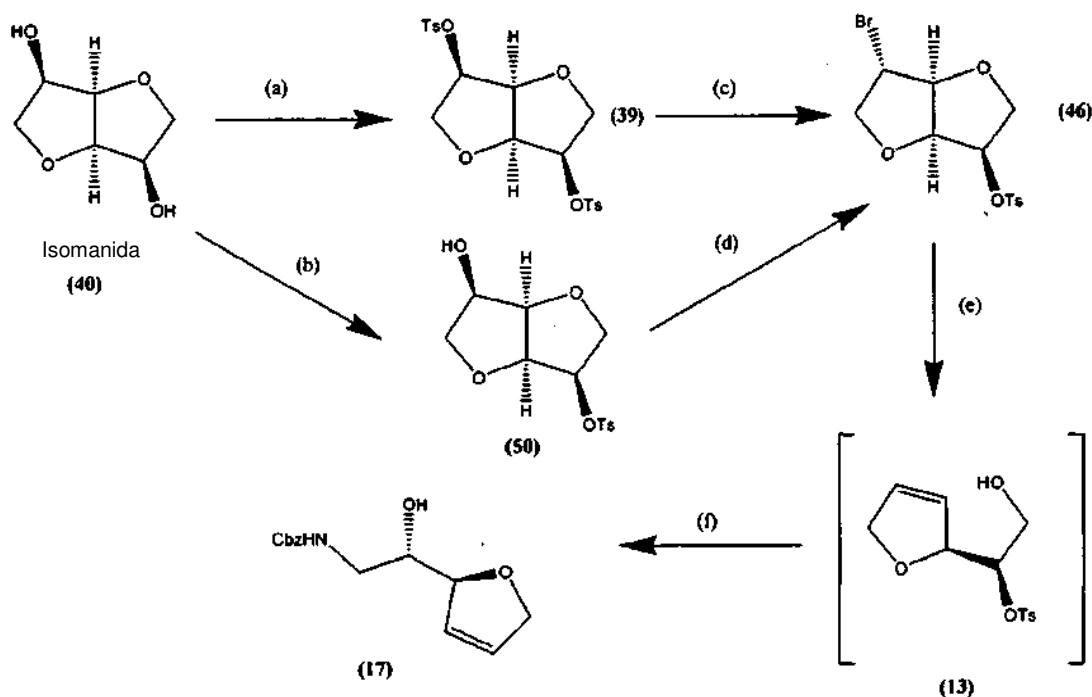
Esquema 15: (a) TsCl, trietilamina, DCM, 25 °C → 50 °C, 20 h en Ar; (b) LiBr, DMSO, 110 °C → 120 °C, 10 horas en Ar; (c) Zn, <sup>i</sup>PrOH, THF, H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>Cl, TA, 16 h; (d) (i) NH<sub>4</sub>OH, NH<sub>3</sub> en <sup>i</sup>PrOH, 75 °C, 16 h; (ii) Cbz-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, agua.

5

Isosorbida (43) se convierte al ditosilato (42) que se obtiene tras recristalización a partir de metanol en rendimiento al 97 %. Se lleva a cabo monobromación por bromuro de litio de 2,5 equivalentes en DMSO (o DMF) con control de temperatura 110 °C → 120 °C. El producto de bromuro está aislado tras tratamiento extractivo y purificación bien por cromatografía en columna (al 74 %) o bien extractivo a gran escala por recristalización a partir de metanol dando una primera cosecha del 55 % más aguas madres conteniendo material de buena calidad que puede almacenarse a partir de funcionamientos por lotes y purificarse después. Así, la preparación de monobromotosilato (47) con estereoquímica definida por procedimientos en el Esquema 15 es atractiva para aplicaciones a gran escala. Tratamiento de monobromotosilato (47) con polvo de cinc a temperatura ambiente en mezclas orgánicas/acuosas (más preferentemente una mezcla de isopropanol, tetrahidrofurano, agua, cloruro de amonio) proporciona alcohol (14) que se derivatiza como el compuesto Cbz (18) por una conversión en un recipiente.

10

15



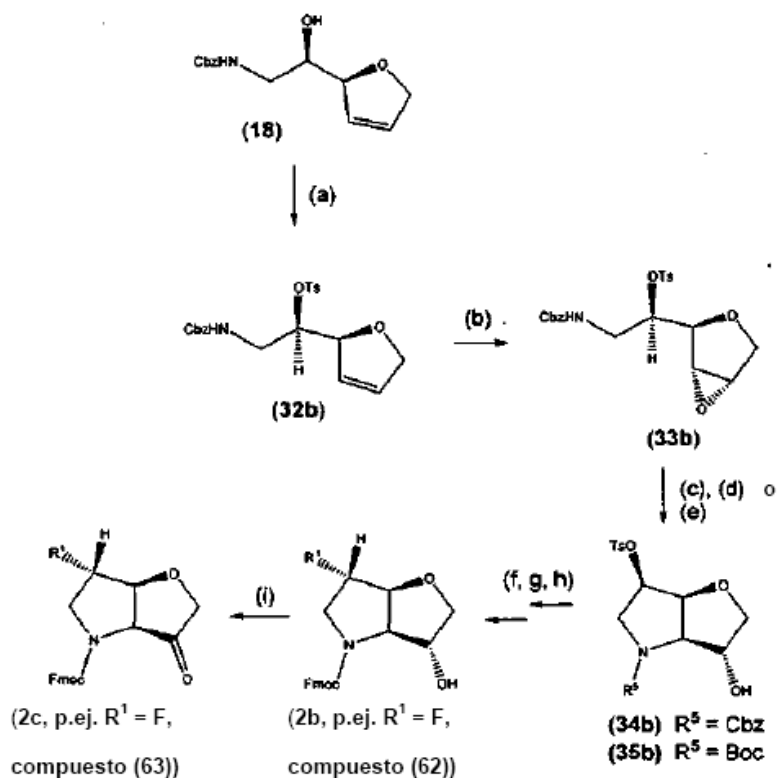
Esquema 16: (a) 2,2 eq TsCl, KOH (ac.), DCM, CCl<sub>4</sub>, 0 °C, 24 h en Ar; (b) (i) 0,5 eq TsCl, KOH (ac.), DCM, CCl<sub>4</sub>, 0 °C, 7 h en Ar; o (ii) 1,0 eq TsCl, piridina, 0 °C → TA, 1 h; (c) LiBr, DMF, 100 °C, 27 h; (d) CBr<sub>4</sub>, Ph<sub>3</sub>P, piridina, 65 °C, 2 h en Ar; (e) Zn, <sup>i</sup>PrOH, THF, H<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub>Cl, TA, 16 h; (f) (i) NH<sub>4</sub>OH, NH<sub>3</sub> en <sup>i</sup>PrOH, 75 °C, 16 h; (ii) Cbz-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, agua.

Tratamiento de isomanida (40) (Esquema 16) con cloruro de tosilo (2,2 eq) en una mezcla de hidróxido de potasio bifásico/diclorometano/tetracloruro de carbono a 0 °C da ditosilato (39) en rendimiento al 48 % tras filtración simple y trituración con metanol. Alternativamente, el tratamiento de isomanida (40) con cloruro de tosilo (0,5 eq) en una mezcla de hidróxido de potasio bifásico/diclorometano/tetracloruro de carbono a 0 °C da monotosilato en rendimiento al 38 % tras extracción simple y recristalización de tetracloruro de carbono (condiciones según se describen en el documento US 6858632). Aunque el monotosilato se puede obtener en rendimiento más alto por tratamiento de isomanida (40) con cloruro de tosilo en piridina, la purificación requiere actualmente cromatografía en columna que puede llegar a ser indeseable a gran escala. Monobromotosilato (46) puede prepararse después por tratamiento de ditosilato (39) con bromuro de litio en DMF (rendimiento del 29 % tras cromatografía) o por tratamiento de monotosilato en condiciones de Mitsunobu con tetrabromuro de carbono (rendimiento al 63 % tras cromatografía). Tratamiento de monobromotosilato (46) con polvo de cinc a temperatura ambiente en mezclas orgánicas/acuosas (más preferentemente una mezcla de isopropanol, tetrahidrofurano, agua, cloruro de amonio) proporciona alcohol (13) que se derivatiza como el compuesto Cbz (17) por una conversión en un recipiente.

En una realización altamente preferida de la invención, el núcleo 5,5-bicíclico se prepara de acuerdo con las etapas expuestas en el Esquema 1 más adelante:

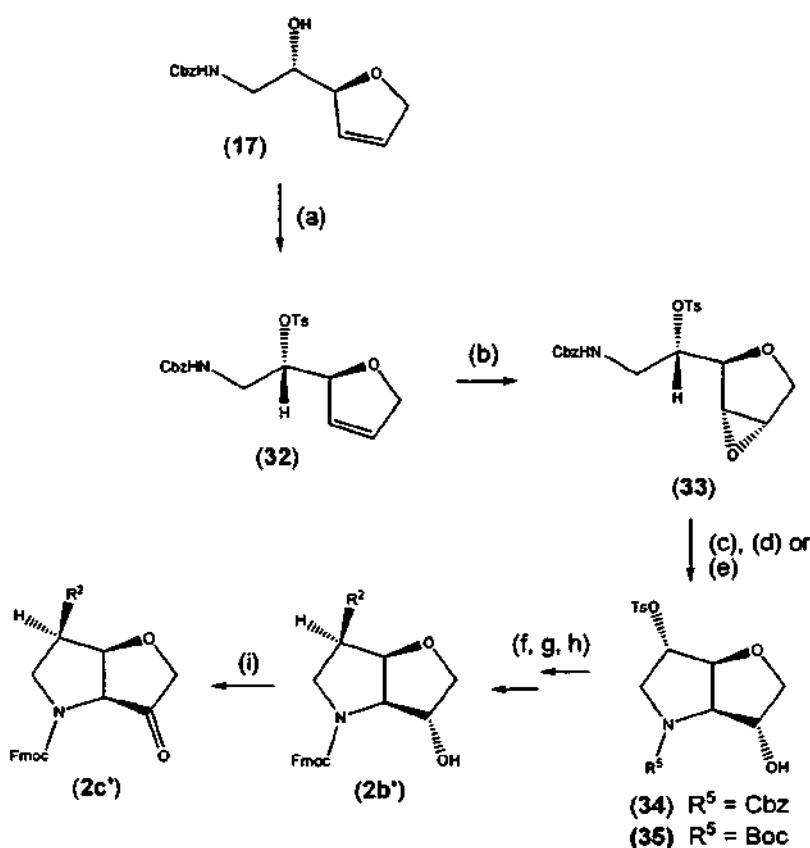
La funcionalidad de alcohol de (18) puede derivatizarse como el *para*-toluenosulfonato (Ts) dando (*R*)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etil-4-metilbencenosulfonato (32b) que transcurre a través del *anti*-epóxido(*R*)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((1*S*, 2*S*, 5*S*)-3,6-dioxabicyclo[3.1.0]hexan-2-il)etil-4-metilbenceno-sulfonato (33b). La hidrogenación de tosilato (33b) proporciona amina libre que sufre ciclación intramolecular. La protección de uretano de la amina secundaria del intermedio bicíclico da 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-bencilo (34b) o da 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-*terc*-butilo (35b).

Ventajosamente, la epoxidación para dar el *anti*-epóxido deseado está dirigida por la presencia del grupo tosilato mientras que solo se puede lograr estereoselectividad modesta para el alqueno saturado correspondiente. Así, la estereoselectividad de la epoxidación está controlada para permitir rendimientos mucho más altos del *anti*-epóxido deseado.



Esquema 1: (a) TsCl, piridina; (b) (i) /mCPBA, DCM o (ii) OXONE®, NaHCO<sub>3</sub>, 1,1,1-trifluoroacetona, CH<sub>3</sub>CN, H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>.EDTA 0 °C o (iii) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 %, CH<sub>3</sub>CN, MeOH, NaHCO<sub>3</sub>; (c) Pd-C, H<sub>2</sub>, etanol; (d) Cbz-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (e) Boc<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (f) desplazamiento nucleofílico para introducir R<sup>1</sup>; (g) (i) R<sup>5</sup> = Boc; HCl 4 N en dioxano, TA; o (ii) R<sup>5</sup> = Cbz; Pd-C, H<sub>2</sub>, etanol; (h) Fmoc-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (i) peryodinato de Dess-Martin, DCM anhidro, TA.

Un esquema de reacción análogo se puede aplicar al enantiómero de (18), a saber, (S)-2-((S)-2,5-dihidrofurano-2-il)-2-hidroxietilcarbamato de bencilo (17), transcurriendo a través del *anti*-epóxido análogo 4-metilbencenosulfonato de (S)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((1S, 2S, 5S)-3,6-dioxabicyclo[3.1.0]hexan-2-il)etilo (32) (Esquema 2).



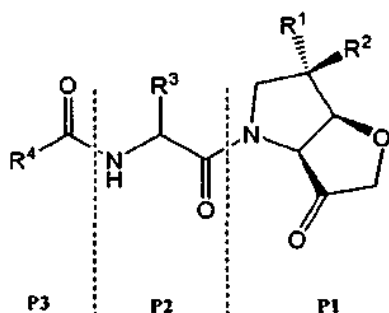
Esquema 2: (a) TsCl, piridina; (b) (i) *mCPBA*, DCM o (ii) OXONE®, NaHCO<sub>3</sub>, 1,1,1-trifluoroacetona, CH<sub>3</sub>CN, H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>EDTA 0 °C o (iii) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 %, CH<sub>3</sub>CN, MeOH, NaHCO<sub>3</sub>; (c) Pd-C, H<sub>2</sub>, etanol; (d) Cbz-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (e) Boc<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (f) desplazamiento nucleofílico para introducir R<sup>2</sup>; (g) (i) R<sup>5</sup> = Boc; HCl 4 N en dioxano, TA; o (ii) R<sup>5</sup> = Cbz; Pd-C, H<sub>2</sub>, etanol; (h) Fmoc-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (i) peryodinato de Dess-Martin, DCM anhidro, TA.

El grupo tosilo de intermedios bicíclicos (34), (34b), (35), (35b) puede actuar como un grupo saliente empleando un nucleófilo adecuado para proporcionar acceso a los análogos correspondientes de 6-fluoro sustituidos y cloro sustituidos.

#### Síntesis de Compuestos de Fórmula (I)

Para aquellos expertos en las prácticas de química orgánica, los compuestos de fórmula general (I) pueden estar sinterizados por un número de estrategias químicas, llevadas a cabo bien en solución o bien en la fase sólida (véase Atherton, E. y Sheppard, R. C. en "Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach", Oxford University Press, Oxford, Reino Unido 1989, para una revisión general de principios de síntesis en fase sólida), o una combinación de los mismos.

Compuestos de fórmula general (I) pueden convenientemente considerarse como una combinación de tres bloques de construcción (P1, P2 y P3) que ocupan respectivamente los sitios de unión S1, S2 y S3 de la proteasa (véase Berger, A y Schechter, I, Philos. Trans. R. Soc. Lond. [Biol.], 257, 249-264, 1970 para una descripción de la designación de S-subsitios de enzima y de P-subsitios de sustrato en los complejos enzima-sustrato o enzima-inhibidor). Los conceptos nocionales de P1, P2 y P3 se usan en el presente documento solo por conveniencia u los compuestos mencionados anteriormente se desea que estén dentro del alcance de la invención sin tener en cuenta el modo de unión.



5 Un bloque de construcción adecuadamente protegido y/o activado puede prepararse después y enlazarse químicamente subsiguientemente (acoplarse) conjuntamente con otros bloques de construcción proporcionando compuestos de fórmula general (I).

10 Se pueden preparar compuestos de fórmula (I): (1) por la adición etapa a etapa de P3 y P2 al núcleo de tetrahidrofuro[3,2-*b*]pirrol-3-ona bicíclico; o (2) por reacción del núcleo de tetrahidrofuro[3,2-*b*]pirrol-3-ona bicíclico con una molécula precursora P3-P2; o (3) introduciendo el grupo P3-P2 antes de formación del núcleo de tetrahidrofuro[3,2-*b*]pirrol-3-ona bicíclico, es decir antes de la etapa de oxidación o antes de la etapa de ciclación molecular.

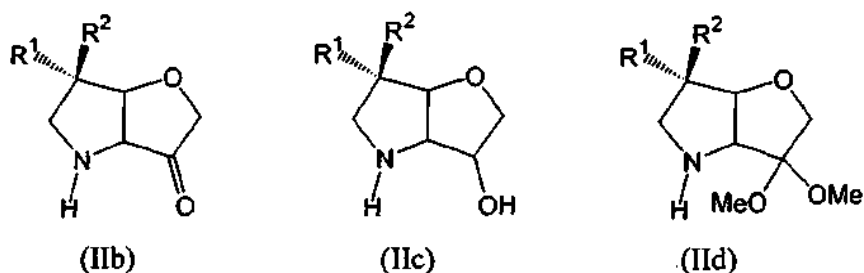
15 Así, las órdenes de acoplamiento alternativa de los bloques de construcción son posibles, por ejemplo P2 + P1 → P2-P1 después adición de P3 → P3-P2-P o P3 + P2 → P3-P2 después adición a P1 → P3-P2-P1. Dentro de cada una de estas combinaciones de cada uno de los bloques de construcción P1, P2 o P3 pueden contenerse funcionalidades alternativas adicionales que se transforman siguiendo acoplamiento para dar el compuesto final. Por ejemplo la funcionalidad de cetona del bloque de construcción P1 puede protegerse como un cetol durante el acoplamiento de los bloques de construcción y transformarse a la cetona final por hidrólisis tras finalización de las reacciones de acoplamiento. Alternativamente, la funcionalidad cetona del bloque de construcción P1 puede producirse inicialmente por un estado de oxidación menor tal como el alcohol correspondiente y tras la finalización de las reacciones de acoplamiento se reintroduce por oxidación del alcohol. Alternativamente la funcionalidad de cetona del bloque de construcción P1 puede protegerse a través de una semicarbazona adecuada para síntesis en fase sólida (por ejemplo, véase el documento WO 02/057270 y referencias citadas en él) y tras finalización de las reacciones de acoplamiento liberadas a partir de la fase sólida por reacción acidolítica.

25 El enlace químico formado por acoplamiento de los bloques de construcción es una amida secundaria (P3-P2) o una amida terciaria (P2-P1) que se formó por reacción de un ácido carboxílico activado con una amina primaria y secundaria respectivamente. Están disponibles muchos procedimientos para activación de un ácido carboxílico antes de acoplamiento a una amina y en principio, se puede usar en el presente documento cualquiera de estos procedimientos. Los típicos procedimientos de activación de ácidos carboxílicos están ejemplificados por pero no restringidos al procedimiento azida, procedimiento anhídrido mixto (por ejemplo, por medio de isobutilcloroformiato), procedimientos de carbodiimida (por ejemplo por medio de dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida), procedimiento de éster activo (por ejemplo por medio de éster *p*-nitro-fenílico, éster imido *N*-hidroxisuccínico, éster pentafluorofenilo), procedimiento de uronio (por ejemplo por medio de adición de HBTU, PyBop, BOP), procedimiento de carbonildiimidazol o por medio de pre-formación de fluoruros de acilo o cloruros de acilo. En algunos ejemplos la reacción de acoplamiento puede potenciarse por la adición de un catalizador de activación adicional tal como 1-hidroxibenzotriazol, o 4-dimetilaminopiridina. Una descripción general de técnicas de activación de ácido carboxílico y el uso de aditivos de activación se puede encontrar en Bodanszky, M. "Principles of Peptide Synthesis", 2ª ed. rev., Springer-Verlag, Berlín, 1993 y referencias citadas en ello.

40 El grupo α-amino del bloque de construcción aminoacídico P2 está usualmente protegido durante las reacciones de acoplamiento al bloque de construcción P1 para evitar la formación de productos de autocondensación indeseados. La técnica de α-amino protección se conoce bien en química de péptidos (véase Bodanszky, M. 'Principles of Peptide Synthesis', 2ª rev. ed., Springer-Verlag, Berlín, 1993 y referencias citadas en ello) y grupos de protección ejemplares incluyen, pero no se limitan a, 9-fluorenilmetoxi-carbonilo (Fmoc), *tert*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxycarbonilo (Cbz), aliloxycarbonilo (Alloc) y tricloroetoxicarbonilo (Troc). El grupo Fmoc es particularmente bien adecuado para síntesis en fase sólida (por ejemplo véase Atherton, E.; Sheppard, R. C. en 'Solid Phase Peptide Synthesis A Practical Approach', IRL Press, Oxford, Reino Unido, 1989) que se elimina típicamente por tratamiento con piperidina al 20 % v/v en dimetilformamida o 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno al 1 % v/v en dimetilformamida. El grupo Boc es particularmente bien adecuado para síntesis en fase de solución eliminándose típicamente por tratamiento con mezclas basadas en ácido trifluoroacético o HCl en dioxano o en acetato de etilo. El grupo Cbz es también particularmente bien adecuado para síntesis en fase de solución eliminándose típicamente por hidrogenación catalítica con catalizadores de hidrógeno y paladio o por tratamiento con HBr en ácido acético. Una vez la secuencia de acoplamiento está completa, cualesquiera grupos protectores se retiran de cualquier manera que esté dictada por la elección de grupos protectores (por una descripción general de grupos protectores y sus estabildades y procedimientos respectivos de eliminación véase Greene, T. W. y Wuts, P. G. M. "Protective Groups in Organic Synthesis" John Wiley and Sons, Nueva York, 1991

y referencias en ello).

En el ejemplo más simple, la parte a mano izquierda completa de un compuesto de fórmula general (1) (es decir P3-P2) como el ácido carboxílico se puede preparar en solución por procedimientos químicos orgánicos tradicionales y se puede acoplar a intermedios de cetona, alcohol o cetal tales como compuestos (IIb), (IIc) y (II d). Después la oxidación del intermedio de alcohol (por ejemplo peryodinato de Dess-Martin en DCM) o la escisión acidolítica del intermedio cetálico proporciona compuestos de fórmula general (I). La vía de oxidación de alcohol es particularmente útil cuando el compuesto de fórmula general (I) contiene un sustituyente que es lábil a ácido trifluoroacético, siendo esto el reactivo final usado en cada una de las síntesis en fase sólida.



Ejemplos de estas estrategias de acoplamiento diferentes se ha detallado anteriormente (véase (i) Quibell, M. y cols., *Bioorg. Med. Chem.* 13, 609-625, 2005. (ii) Wang, Y. y cols., *Bioorg. Med. Chem Lett.* 15, 1327-1331, 2005) y la vía sintética óptima es dependiente de las combinaciones de sustituyentes específicas del compuesto objetivo de fórmula general (I).

En más detalle, una estrategia preferida para la síntesis de compuestos de fórmula general (I) comprende:

Preparación de una cetona bicíclica o de un bloque de construcción de alcohol bicíclico apropiadamente funcionalizados y protegidos en solución;

Unión del bloque de construcción (a) a la fase sólida a través de un engarce que es estable en las condiciones de síntesis, pero fácilmente lábil para escisión al final de una síntesis (véase James, I. W., *Tetrahedron*, 55 (Número de Comunicación 489), 4855-4946, 1999, para ejemplos de la función "engarce" según se aplican a la síntesis en fase sólida);

Química orgánica en fase solida (véase Brown, R. D. J. *Chem. Soc. Perkin Trans.* 1, 19, 3293-3320, 1998), para construir el resto de la molécula;

Escisión de compuestos de la fase sólida en solución; y

Tratamiento de escisión y análisis de compuesto.

Una segunda estrategia para la síntesis de compuestos de fórmula general (I) comprende:

Preparación de un bloque de construcción de intermedio bicíclico apropiadamente funcionalizado y protegido en solución. Grupos protectores preferidos para química en fase de solución son el grupo 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), *Na-terc*-butoxi-carbonilo (Boc), *Na-bencil*oxicarbonilo (Cbz) y *Na-alil*oxicarbonilo (Alloc).

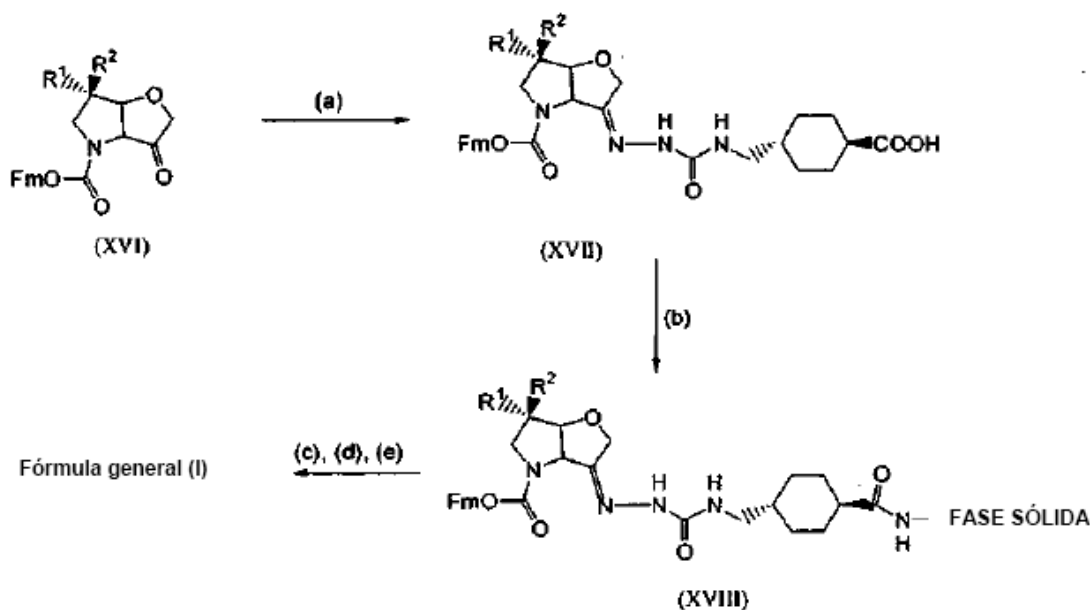
Procedimientos de química orgánica estándar para la conversión de bloque de construcción obtenido en la etapa (a) a compuestos de fórmula general (I).

Como se menciona anteriormente, en una realización preferida de la invención, los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar usando química en fase de solución convencional, por ejemplo, según se describe en Quibell, M y cols., *Bioorg. Med. Chem.* 13, 609-625, 2005 (véanse en particular, Esquemas 3 y 4). La estrategia en fase de solución es atractiva porque es capaz de generar cantidades más grandes de análogos preferidos, típicamente en una escala de multi-gramos a multi-kilogramos.

En una realización alternativa preferida de la invención, se pueden preparar los compuestos de fórmula (I) usando química en fase sólida convencional, por ejemplo, según se describe en Quibell M, y cols. *Bioorg. Med. Chem.* 12, 5689-5710, véanse en particular, Esquema 3 y Sección 3.2 y referencias citadas en ello; y documento *Bioorg. Med. Chem.* 13, 609-625, véanse Esquema 5 y Sección 2.2 y referencias citadas en ello). La estrategia en fase sólida es atractiva porque es capaz de generar muchos miles de análogos, típicamente en una escala de 5-100 mg, a través de metodologías de síntesis paralelas establecidas (por ejemplo véase (a) Bastos, M.; Maeji, N. J.; Abeles, R. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 92, 6738-6742, 1995).



La estrategia de síntesis está basada en unión reversible de la funcionalidad cetona por medio de un enlace de engarce hidrazida usando técnicas de multiclavija generales previamente descritas en la técnica (Watts J. y cols., Bioorg. Med. Chem. 12 (11), 2903, 2004; Quibell M., y cols., Bioorg. Med. Chem. 5689-5710, 2004; Grabowksa U. y cols., J. Comb. Chem. 2000, 2 (5), 475). Los compuestos de fórmula (II) se pueden utilizar en una síntesis de fase sólida de moléculas inhibitoras (I). El enlace en fase sólida de un aldehído o cetona, se ha descrito previamente por una diversidad de procedimientos (por ejemplo véanse (a) James, I. W., 1999, (b) Lee, A., Huang, L., Ellman, J. A., J. Am. Chem. Soc, 121 (43), 9907-9914, 1999, (c) Murphy, A. M., y cols., J. Am. Chem. Soc, 114, 3156-3157, 1992). Un procedimiento adecuado susceptible para la unión reversible de una funcionalidad alquilcetona es a través de una combinación de los procedimientos químicos previamente descritos. La semicarbazida, trifluoroacetato de ácido 4-[[[(hidrazinocarbonil)amino]metil]ciclohexanocarboxílico (Murphy, A. M., y cols., J. Am. Chem. Soc, 114, 3156-3157, 1992), se puede utilizar como se ilustra en el Esquema 3, ejemplificado por enlace de la tetrahidrofuro[3,2-*b*]pirrol-3-ona (II; R<sup>5</sup> = Fmoc).



Esquema 3: (a) (XVI) en EtOH al 90 %/H<sub>2</sub>O/NaOAc 1,5 eq/trifluoroacetato de ácido 4-[[[(hidrazinocarbonil)amino]metil]ciclohexanocarboxílico, reflujo de 2 horas, (b) 3 eq de construcción (XVII)/3 eq de HBTU/3 eq de HOBt/6 eq de NMM, NH<sub>2</sub>-FASE SÓLIDA, DMF, TA, durante toda una noche. (c) piperidina al 20 %/DMF, 30 minutos. (d) Gama de procedimientos químicos para introducir P3-P2 (e) TFA/H<sub>2</sub>O (95:5, v/v), TA, 2 horas.

La construcción (XVII) se preparó a través de reacción de la molécula de engarce y la tetrahidrofuro[3,2-*b*]pirrol-3-ona II (R<sup>5</sup> = Fmoc) refluendo en etanol acuoso/acetato de sodio. Se usan técnicas de fase sólida estándar (por ejemplo véase Atherton, E. y Sheppard, R. C, 1989) para unir la construcción a una fase sólida amino-funcionalizada a través de la funcionalidad de ácido carboxílico de (XVII), proporcionando la construcción cargada (XVIII). La construcción cargada (XVIII) se hizo reaccionar con un amplio intervalo de ácidos carboxílicos disponibles comercialmente o en la bibliografía, para introducir la parte a mano izquierda "P3-P2".

Los ácidos carboxílicos preferidos para la introducción del sintón [R<sup>4</sup>-CO] se conocen en la bibliografía con los siguientes ejemplos representativos; ácido 4-(4-metilpiperazin-1-il)benzoico (CAS 354813-15-3), ácido 4-(4-etilpiperazin-1-il)benzoico (CAS 354813-18-6), ácido 4-(4-propilpiperazin-1-il)benzoico (CAS 354813-21-1), ácido 4-(4-isopropilpiperazin-1-il)benzoico (CAS 354813-24-4), ácido 4-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)benzoico (CAS 354813-30-2), ácido 4-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)benzoico (CAS 883743-83-7), ácido 4-(1-metilpiperidin-4-il)benzoico (CAS 354813-49-3), ácido 4-(1-propilpiperidin-4-il)benzoico (CAS 354813-33-5), ácido 4-(1-isopropilpiperidin-4-il)benzoico (CAS 354813-42-6), ácido 4-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)benzoico (CAS 354813-38-0). Se preparan ácidos carboxílicos preferidos novedosos adicionales por adaptación simple de los procedimientos generales detallados en el documento WO0105888

Se conocen en la bibliografía ácidos carboxílicos preferidos para la introducción del sintón [R<sup>4</sup>-CO] con los siguientes ejemplos representativos; ácido 4-(5-(piperidin-1-ilmetil)tiofen-2-il)benzoico (CAS 860343-90-4), ácido 4-(5-(morfolinometil)tiofen-2-il)benzoico (CAS 860344-74-7), ácido 4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 294622-47-2), ácido 4-(2-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860343-99-3), ácido 4-(5-(1-morfolinoetil)tiofen-2-il)benzoico (CAS 860344-01-0), ácido 4-(5-(1-morfolinoetil)furan-2-il)benzoico (CAS 860344-04-3), ácido (S)-4-(2-(1-(dimetilamino)etil)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-10-1), ácido (S)-4-(5-metil-2-(1-(metilamino)etil)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-76-9), ácido (S)-4-(2-(1-(dimetilamino)etil)-5-metiltiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-19-0), ácido (S)-4-(2-(1-(metilamino)etil)tiazol-5-il)benzoico (CAS 860344-78-1), ácido (S)-4-(2-(1-(metilamino)etil)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-79-2), ácido 4-(2-(4-fluoro-1-metilpirrolidin-2-il)tiazol-4-il)benzoico

(CAS 860344-38-3), ácido 4-(3-metil-5-(morfolinometil)tiofen-2-il)benzoico (CAS 860344-81-6), ácido 3-metil-4-(5-(morfolinometil)furan-2-il)benzoico (CAS 860344-82-7), ácido 4-(5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-50-9), 4-(2-morfolinotiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-51-0), ácido 4-(2-(piperidin-1-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-52-1), ácido 4-(2-(dimetilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 849682-29-7), ácido 4-(2-(isopropil(metil)amino)-5-metiltiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-56-5), ácido 4-(2-(metilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-57-6), ácido 4-(2-(4,4-difluoropiperidin-1-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-58-7), ácido 4-(2-(isopropilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-59-8), ácido 4-(2-(piperidin-4-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-62-3), ácido 4-(2-(1-metilpiperidin-4-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-63-4), ácido 4-(2-(piridin-3-ilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 294622-46-1), ácido 4-(2-(piridin-2-ilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-64-5), ácido 4-(2-(ciclopentilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-65-6), ácido 4-(2-(ciclopropilamino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-66-7), ácido 4-(2-(ciclopropil(metil)amino)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-67-8), ácido 4-(2-(1-metilpirrolidin-3-il)tiazol-4-il)benzoico (CAS 860344-80-5), ácido 4-(6-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-2-il)benzoico (CAS 860344-69-0), ácido 4-(6-morfolinopiridin-2-il)benzoico (CAS 860344-70-3). Las preparaciones típicas para estos tipos generales de ácidos carboxílicos están detalladas extensivamente en Palmer, J. T. y cols., J. Med. Chem, 2005, 48 (24), 7520-34 y en el documento W005066180.

La presente invención se describe con más detalle por medio de ejemplos.

## Ejemplos

### 20 Procedimientos generales

Los disolventes se adquirieron de ROMIL Ltd, U.K. con calidad SpS o Hi-Dry, a menos que se indique de otro modo. Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y RMN de  $^{13}\text{C}$  se obtuvieron en un aparato Bruker DPX400 (frecuencia de  $^1\text{H}$  400 MHz y frecuencia de  $^{13}\text{C}$  100 MHz; sonda QXI) o Bruker Avance 500MHz (sonda TXI con ATM) en los disolventes indicados. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón ( $\delta$ ) y están referidos a señales residuales del disolvente. Las constantes de acoplamiento ( $J$ ) están expresadas en Hz. Todas las HPLC analíticas se obtuvieron en un aparato Phenomenex Jupiter C<sub>4</sub>, 5  $\mu$ , 300 Å, 250 x 4,6 mm, usando mezclas de disolvente A (ácido trifluoracético al 0,1 % ac (TFA)) y disolvente B (acetonitrilo al 90 % / disolvente A al 10 %) en sistemas automatizados Agilent con detección UV a 215 y / o 254 nm. A no ser que se indique de otro modo, para la HPLC analítica se llevó a cabo un gradiente de 10 a 90 % de B en A durante 25 min a 1,5 ml / min. El análisis de HPLC-MS se llevó a cabo en un aparato Agilent 1100 serie LC/MSD, usando sistemas automatizados de HPLC Agilent, con un gradiente de 10 a 90 % de B en A durante 10 min en una columna Phenomenex Luna C<sub>8</sub>, 5  $\mu$ , 300 Å, 50 x 2,0 mm a 0,6 ml / min. La purificación por HPLC semipreparativa se llevó a cabo en una columna Phenomenex Jupiter C<sub>4</sub>, 5  $\mu$ , 300 Å, 250 x 10 mm, usando un gradiente de 10 a 90 % de B en A durante 25 min a 4 ml / min en sistemas automatizados Agilent con detección UV a 215 y / o 254 nm. La purificación en columna ultrarrápida se llevó a cabo en gel de sílice 60 (Merck 9385) o usando columnas de sílice ultrarrápidas Isolute SPE (Biotage, Hengoed, UK).

Preparación de (S)-2-((S)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietil carbamato de bencilo (17). (i) Preparación de bis(4-metilbencenosulfonato) de (3R, 3aS, 6R, 6aS)-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3,6-diilo (39). Se disolvieron isomanida (40) (50 g, 342,5 mmol) y cloruro de *p*-toluenosulfonilo (143,6 g, 753,2 mmol) en una mezcla de tetracloruro de carbono (300 ml), diclorometano (30 ml) y agua (250 ml). El matraz se enfrió hasta 0 °C y se añadió gota a gota durante 2 horas con agitación bajo argón una solución de hidróxido potásico (42,0 g, 750,0 mmol) en agua (42 ml). La mezcla bifásica resultante se agitó de forma vigorosa a 0 °C durante 24 horas. El precipitado blanquecino resultante, que comprende una mezcla de mono- y bistosilatos (aproximadamente 1:1), se recogió por filtración a vacío. La torta del filtro se lavó con agua y luego se trituró con metanol (500 ml). El sólido se aisló por filtración a vacío obteniendo ditosilato (39) como un polvo blanquecino (75 g, 48 %).  $[\alpha]_D^{18} +96,7^\circ$  (c = 10,5, CHCl<sub>3</sub>).

(ii) Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (3R, 3aS, 6S, 6aS)-6-bromohexahidrofuro[3,2-b]furan-3-ilo (46). Una mezcla agitada de ditosilato (39) (16,9 g, 37,22 mmol) y bromuro de litio (4,85 g, 55,84 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (100 ml) se calentó a 100 °C durante 27 horas. Se dejó enfriar la mezcla y luego se añadió agua (150 ml) antes de extraer con éter *terc*-butil metílico (1 x 100 ml luego 5 x 50 ml). La fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dando un aceite incoloro que solidificó en reposo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 a 80 : 20 dio el bromotosilato (46) como un sólido blanco (2,86 g, 29 %). TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,45 éter dietílico:heptano, 1:1), HPLC analítica: *R*<sub>f</sub> = 16,768 min; HPLC-MS: 363,1 / 365,0 [M+H]<sup>+</sup>, 380,1 / 382,1, 749,0/751,0 [2M+Na]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{18} +64,7^\circ$  (c = 8,5, CHCl<sub>3</sub>);  $\delta_{\text{H}}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,45 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3,74 (1H, dd, *J* = 9,60 y 7,05 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,95 (1H, dd, *J* = 9,60 y 6,47 Hz, CH<sub>2</sub>), 4,14-4,22 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 4,29 (1H, d, *J* = 3,03 Hz, CHBr), 4,68 (1H, d, *J* = 4,03 Hz, CHCH), 4,76 (1H, t, *J* = 4,48 Hz, CHOTs), 4,87 (1H, m, CHCH), 7,36 (2H, d ancho, *J* = 7,97 Hz, CH<sub>3</sub>CCH aromático), 7,83 (2H, d ancho, *J* = 8,33 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático).  $\delta_{\text{C}}$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,69 (CH<sub>3</sub>), 50,06 (CHBr), 70,26 (CH<sub>2</sub>CHOTs), 76,54 (CH<sub>2</sub>CHBr), 78,27 (CHOTs), 80,17 y 88,80 (CHCHCHOTs), 127,98 y 129,94 (CH aromático), 133,01 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 145,28 (CH<sub>3</sub>C cuaternario).

(iii) Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (3R, 3aS, 6R, 6aR)-6-hidroxihexahidrofuro[3,2-b]furan-3-ilo (50). Se disolvieron isomanida (40) (10 g, 68,49 mmol) y cloruro de *p*-toluenosulfonilo (6,53 g, 34,25 mmol) en una mezcla de tetracloruro de carbono (50 ml), diclorometano (5 ml) y agua (40 ml). El matraz se enfrió hasta 0 °C y se añadió gota a gota durante 30 minutos con agitación una solución de hidróxido potásico (1,92 g, 34,25 mmol) en agua (5 ml). La

mezcla bifásica resultante se agitó a 0 °C durante 7 horas. A continuación se recogió el precipitado blanquecino por filtración a vacío y luego se repartió entre diclorometano (30 ml) y agua (10 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (2 x 10 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un sólido incoloro. La recrystalización en tetracloruro de carbono dio el monotosilato (50) como gránulos incoloros (3,92 g, 38 %). TLC (*R*<sub>f</sub>= 0,11, EtOAc : heptano 1:1); HPLC analítica pico principal, *R*<sub>t</sub>= 10,692 min; HPLC-MS 318,2, 323,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 623,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>18</sup> +72,2° = 5,4, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,44 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3,54 (1H, dd, *J*= 9,31 y 7,23 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,78 (1H, dd, *J*= 9,18 y 7,59 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOTs), 3,95 (1H, dd, *J*= 9,36 y 6,45 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH), 4,01 (1H, dd, *J*= 9,33 y 6,64 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOTs), 4,26 (1H, m, CHOH), 4,42 y 4,48 (cada 1H, t ancho, *J*= 5,03 y 5,00 Hz respectivamente, CHCHCHOH y CHCHCHOTs), 4,90 (1H, dd, *J*= 12,15 y 6,84 Hz, CHOTs), 7,37 (2H, d, *J*= 8,13 Hz, CH<sub>3</sub>CCH aromático), 7,82 (2H, d, *J*= 8,20 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,69 (CH<sub>3</sub>), 70,03 (CH<sub>2</sub>CHOTs), 72,29 (CHOTs), 74,02 (CH<sub>2</sub>CHOH), 80,00 (CH<sub>2</sub>CHOH), 81,36 (CHCHOTs), 81,76 (CHCHOH), 128,00 y 129,89 (CH aromático), 133,04 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 145,26 (CH<sub>3</sub>C cuaternario).

(iv) Preparación alternativa de 4-metil-bencenosulfonato de (3*R*, 3*aS*, 6*R*, 6*aR*)-6-hidroxi-hexahidrofuro[3,2-*b*]furan-3-ilo (50). Una solución de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (24,8 g, 130 mmol) en piridina (150 ml) se añadió a una solución agitada de isomanida (40) (19,0 g, 130 mmol) en piridina (150 ml) durante 1 hora a 0 °C y luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se vertió sobre hielo-agua (1 l) y luego se extrajo con diclorometano (3 x 300 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (300 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 50 : 50 dio el monotosilato (50) (23,4 g, 60 %) como un sólido blanco.

(v) Preparación alternativa de 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aS*, 6*S*, 6*aS*)-6-bromohexahidrofuro[3,2-*b*]furan-3-ilo (46). Una solución de tetrabromuro de carbono (18,12 g, 54,63 mmol) en piridina (100 ml) se añadió a una solución de monotosilato (50) (14,9 g, 49,66 mmol) y trifetilfosfina (26,1 g, 99,32 mmol) en piridina (150 ml) durante 30 minutos, luego se calentó la mezcla a 65 °C durante 1,5 horas bajo una atmósfera de argón. Se añadió agua (200 ml) y luego se extrajo la fase acuosa con diclorometano (5 x 100 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (50 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo que se destiló azeotrópicamente con tolueno (5 x 50 ml). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de éter dietílico:heptano 0 : 100 hasta 100 : 0 dio el bromotosilato (46) (7,70 g, 43 %) como un sólido blanco. [α]<sub>D</sub><sup>17</sup> +68,6° (c = 0,51, CHCl<sub>3</sub>).

(vi) Preparación de bencenosulfonato de (*R*)-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietilo 4-metilo (13). Se añadieron una solución de cloruro amónico (100 mg, 1,87 mmol) en agua (1,25 ml) y luego polvo de cinc (100 mg, 1,54 mmol) a una solución de bromotosilato (46) (0,5 g, 1,38 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) y propan-2-ol (2,5 ml) bajo argón. La mezcla se agitó durante 16 horas antes de filtrar la suspensión a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con éter dietílico (20 ml). Se añadió ácido clorhídrico (1M, 20 ml) al filtrado y luego se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con éter dietílico (20 ml), seguidamente se lavó la fase orgánica reunida con salmuera (20 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 50 : 50 dio el alcohol (13) (292 mg, 75 %) como un sólido blanco. [α]<sub>D</sub><sup>15</sup> -64,8° (c = 9,8, CHCl<sub>3</sub>).

(vii) Preparación de (*S*)-2-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietilcarbamato de bencilo (17); Procedimiento con cinc y 'un recipiente'. Se añadió una solución de cloruro amónico (560 mg, 10,5 mmol) en agua (7 ml) a una solución de bromotosilato (46) (2,86 g, 7,88 mmol) en propan-2-ol (14 ml) bajo argón. Se añadió entonces polvo de cinc (560 mg, 8,67 mmol) en porciones durante 4 minutos y luego se agitó la suspensión durante 16 horas antes de filtrar a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con éter dietílico (60 ml). Se añadió ácido clorhídrico (1M, 60 ml) al filtrado y luego se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con éter dietílico (60 ml) seguidamente se lavó la fase orgánica reunida con salmuera (60 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío. El residuo se disolvió en hidróxido amónico (18 ml) y una solución de amoníaco en propan-2-ol (12 ml, 2,0M, 24 mmol), luego se dividió en tres porciones iguales y se calentó en tubos herméticamente cerrados a 75 °C durante 16 horas. Las mezclas se reunieron usando metanol y luego se eliminaron los disolventes a vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente con éter dietílico (3x10 ml) obteniendo (*S*)-2-amino-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etanol que se usó sin purificación posterior.

Se añadió una solución de carbonato sódico (1,75 g, 16,6 mmol) en agua (16 ml) mientras se agitaba a una solución de (*S*)-2-amino-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etanol (se suponen 7,88 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml). La mezcla se enfrió hasta 0 °C y luego se añadió gota a gota durante 10 minutos cloroformiato de bencilo (1,69 ml, 11,82 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 85 minutos, luego se añadieron diclorometano (75 ml) y agua (100 ml). Se separó la fase orgánica y la acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (50 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (3,1 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 70 : 30 dio el alcohol (17) (1,10 g, 53 %). [α]<sub>D</sub><sup>18</sup> -83,1° (c = 9,9, CHCl<sub>3</sub>).

Preparación de (*R*)-2-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietilo carbamato de bencilo (18). (i) Preparación de bis(4-metilbencenosulfonato) de (3*R*, 3*aS*, 6*S*, 6*aS*)-hexahidrofuro[3,2-*b*]furan-3,6-diilo (42). Una solución agitada de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (57,4 g, 301 mmol) e isosorbida (43) (20 g, 137 mmol) en piridina (315 ml) se calentó a 95 °C durante 4,5 horas bajo una atmósfera de argón, luego se dejó reposar a temperatura ambiente durante 16 horas antes

- de verter sobre hielo-agua (1 l). La fase acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 500 ml), luego se lavaron las fases orgánicas reunidas con agua (2 x 500 ml), luego se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró seguidamente y se redujo a vacío dejando un aceite viscoso (65,22 g). El aceite se cristalizó en metanol caliente (350 ml). El sólido blanco se recogió por filtración a vacío, luego se lavó con metanol (100 ml) y se secó a vacío obteniendo el ditosilato (42) como un sólido blanco (45,87 g, 74 %). TLC ( $R_f=0,30$ , EtOAc : heptano 2 : 3), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t=20,219$  min., HPLC-MS 455,1  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 931,2  $[\text{2M} + \text{Na}]^+$ ,  $[\alpha]_D^{20} +57,2^\circ$  ( $c=10,2$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $\delta_{\text{H}}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 2,44 (6H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3,68 (1H, dd,  $J=9,80$  y 6,46 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3,82-3,87 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3,94 (1H, d,  $J=11,28$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4,46 (1H, d,  $J=4,44$  Hz,  $\text{CHCHOTs}$ ), 4,58 (1H, t,  $J=4,74$  Hz,  $\text{CHCHOTs}$ ), 4,82-4,86 (2H, m,  $\text{CHOTs}$ ), 7,32-7,36 (4H, m,  $\text{CH}_3\text{CCH}$  aromático), 7,74-7,80 (4H, m,  $\text{OSO}_2\text{CCH}$  aromático).
- (ii) Preparación alternativa de bis(4-metilbencenosulfonato) de (3R, 3aS, 6S, 6aS)-hexahidrofuro[3,2-b]furan-3,6-diilo (42). Se añadió trietilamina (123,2 ml, 876 mmol) se añadió gota a gota a una solución agitada de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (156,6 g, 822 mmol) e isosorbida (43) (40 g, 274 mmol) en diclorometano (600 ml) durante 15 minutos. La mezcla se agitó a 25 °C durante 16 horas y luego a 50 °C durante 4 horas antes de dilución con diclorometano (1 l). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 1 l), luego se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), el filtrado se redujo entonces a vacío dejando un aceite viscoso. El aceite se cristalizó en metanol caliente (600 ml) obteniendo ditosilato (42) como un sólido blanco (120,1 g, 97 %).  $[\alpha]_D^{15} +56,3^\circ$  ( $c=11,2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).
- (iii) Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (3S, 3aS, 6S, 6aS)-6-bromohexahidrofuro[3,2-b]furan-3-ilo (47). Se añadió bromuro de litio (9,6 g, 110,1 mmol) a una solución agitada de ditosilato (42) (20,0 g, 44,05 mmol) en dimetilformamida (100 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 110 °C durante 5 horas, luego se dejó reposar a temperatura ambiente durante 3 días, luego se calentó a 90 °C durante 3,5 horas. La mezcla se diluyó con agua (250 ml), se extrajo con éter terc-butil metílico (4 x 125 ml), luego se lavó la fase orgánica con agua (3 x 125 ml), salmuera (125 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se redujo a vacío dejando un aceite marrón (16,8 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 30 : 70 dio el bromotosilato (47) (11,88 g, 74 %) como un sólido amarillo pálido. TLC ( $R_f=0,20$ , EtOAc : heptano 1 : 3); HPLC analítica pico principal,  $R_t=18,050$  min; HPLC-MS 381,0/383,0  $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$ , 385,0/387,0  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ;  $[\alpha]_D^{18} +51,0^\circ$  ( $c=5,0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $\delta_{\text{H}}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 2,45 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3,84 (1H, dd,  $J=11,19$  y 3,51 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4,05-4,15 (3H, m,  $\text{CH}_2$ ), 4,28 (1H, d,  $J=3,40$  Hz,  $\text{CHBr}$ ), 4,78 (1H, d,  $J=3,37$  Hz,  $\text{CHCH}$ ), 4,84 (1H, d,  $J=3,42$  Hz,  $\text{CHOTs}$ ), 4,90 (1H, d,  $J=3,37$  Hz,  $\text{CHCH}$ ), 7,36 (2H, d ancho,  $J=7,98$  Hz, aromático  $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 7,79 (2H, d ancho,  $J=8,32$  Hz, aromático  $\text{OSO}_2\text{CCH}$ ).
- (iv) Preparación alternativa de 4-metilbencenosulfonato de (3S, 3aS, 6S, 6aS)-6-bromohexahidrofuro[3,2-b]furan-3-ilo (47). Se añadió bromuro de litio (19,2 g, 220,2 mmol) a una solución agitada de ditosilato (42) (40,0 g, 88,1 mmol) en dimetil sulfóxido (200 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 110 °C durante 8 horas, luego a 120 °C durante 1,75 horas. La mezcla se diluyó con agua (500 ml) luego se extrajo con éter terc-butil metílico (4 x 250 ml). La fase orgánica se lavó con agua (3 x 250 ml), luego salmuera (250 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se redujo a vacío dejando un sólido naranja. La recristalización en metanol (100 ml) dio el bromotosilato (47) (17,47 g, 55 %) como un sólido amarillo pálido.  $[\alpha]_D^{15} +49,5^\circ$  ( $c=11,7$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).
- (v) Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (S)-1-((S)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietilo (14). Se añadieron cloruro amónico (20 mg, 0,37 mmol) y luego polvo de cinc (20 mg, 0,31 mmol) a una solución de bromotosilato (47) (100 mg, 0,28 mmol) en etanol (1,5 ml) bajo argón. La mezcla se agitó durante 16 horas antes de filtrar la suspensión a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol (20 ml), luego se redujo el filtrado a vacío dejando un residuo (111 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 40 : 60 dio el alcohol (14) (53 mg, 68 %) como un sólido blanco. TLC ( $R_f=0,15$ , EtOAc : heptano 1 : 2); HPLC analítica pico principal,  $R_t=12,543$  min; HPLC-MS 285,1  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 302,1, 591,2  $[\text{2M} + \text{Na}]^+$ ;  $[\alpha]_D^{15} -86,8^\circ$  ( $c=5,3$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $\delta_{\text{H}}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 2,12 (1H, s ancho, OH), 2,44 (3H, s, aril- $\text{CH}_3$ ), 3,77 (2H, d,  $J=4,85$  Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4,54-4,58 (3H, m,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 4,94-4,98 (1H, m,  $\text{CHOTs}$ ), 5,64-5,67 y 5,97-6,00 (2H total, m,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$ ), 7,33 (2H, d ancho,  $J=8,23$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CCH}$  aromático), 7,79 (2H, d ancho,  $J=8,31$  Hz,  $\text{OSO}_2\text{CCH}$  aromático);  $\delta_{\text{C}}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 21,660 ( $\text{CH}_3$ ), 62,303 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 7,5,940 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}$ ), 82,720 y 85,221 ( $\text{OCHCHOTs}$ ), 124,792,127,977,129,479 y 129,749 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}$  y  $\text{CH}$  aromático), 133,496 ( $\text{CHOSO}_2\text{C}$  cuaternario), 144,973 ( $\text{CH}_3\text{C}$  cuaternario).
- (vi) Preparación alternativa de 4-metilbencenosulfonato de (S)-1-((S)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietilo (14). Se añadieron una solución de cloruro amónico (200 mg, 3,7mmol) en agua (2,5 ml) y luego polvo de cinc (200 mg, 3,1 mmol) a una solución de bromotosilato (47) (1 g, 2,75 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) y propan-2-ol (5 ml) bajo argón. La mezcla se agitó durante 16 horas antes de filtrar la suspensión a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con éter dietílico (20 ml). Se añadió ácido clorhídrico (1M, 20 ml) al filtrado y luego se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con éter dietílico (20 ml), seguidamente se lavó la fase orgánica reunida con salmuera (20 ml), luego se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (1,06 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 50 : 50 dio el alcohol (14) (528 mg, 68 %) como un sólido blanco.  $[\alpha]_D^{16} -82,7^\circ$  ( $c=11,3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).
- (vii) Preparación de (R)-2-((S)-2,5-dihidrofuran-2-il)-2-hidroxietilcarbamato de bencilo (18). Procedimiento con cinc y 'un recipiente'. Se añadió una solución de cloruro amónico (600 mg, 11,2 mmol) en agua (7,5 ml) a una solución de bromotosilato (47) (3,0 g, 8,26 mmol) en propan-2-ol (15 ml) bajo argón. Se añadió entonces polvo de cinc (600 mg, 9,2

- mmol) en porciones durante 4 minutos y la mezcla se agitó durante 16 horas antes de filtrar la suspensión a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con éter dietílico (60 ml). Se añadió ácido clorhídrico (1M, 60 ml) al filtrado y luego se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo con éter dietílico (60 ml) seguidamente se lavó la fase orgánica reunida con salmuera (60 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío. El residuo se disolvió en hidróxido amónico (18 ml) y una solución de amoníaco en propan-2-ol (12 ml, 2,0M, 24 mmol), luego se dividió en dos porciones iguales y se calentó en tubos herméticamente cerrados a 75 °C durante 16 horas. Las mezclas se reunieron usando metanol y luego se eliminaron los disolventes a vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente con éter dietílico (3 x 10 ml) obteniendo (*R*)-2-amino-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etanol que se usó sin purificación posterior.
- 10 Se añadió una solución de carbonato sódico (1,84 g, 17,4 mmol) en agua (16 ml) mientras se agitaba a una suspensión de (*R*)-2-amino-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etanol (se suponen 8,26 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml). La mezcla se enfrió hasta 0 °C, luego se añadió gota a gota durante 5 minutos cloroformiato de bencilo (1,77 ml, 12,4 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 55 minutos y luego se añadieron diclorometano (75 ml) y agua (100 ml). Se separó la fase orgánica y la acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (50 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (3,7 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 70 : 30 dio el alcohol (18) (1,26 g, 58 %). [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> -62,0° (c = 5,0, CHCl<sub>3</sub>).
- 15 Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (*S*)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etilo (32) Una solución de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (252 mg, 1,32 mmol) en piridina (7,0 ml), alcohol (17) (290 mg, 1,10 mmol) se agitó a 24 °C durante 2 días y luego se diluyó con agua (15 ml). El producto se extrajo en éter *tert*-butil metílico (3 x 20 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 7 : 93 hasta 20 : 80 dio el tosilato (32) (282 mg, 61 %) como un aceite incoloro. TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,35, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal, *R*<sub>t</sub> = 19,02 min., HPLC-MS 418,2 [M + H]<sup>+</sup>, 857,3 [2M + Na]<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>11</sup> -86,1° (c = 1,103, CHCl<sub>3</sub>;  $\delta$ <sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,37 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 3,29-3,37 y 3,50-3,56 (2H total, m, CH<sub>2</sub>NH), 4,53-4,56 (2H total, m, OCH<sub>2</sub>CH=CH), 4,62-4,66 (1H, m, OCHCH=CH), 4,85-4,90 (1H, m, CHOTs), 5,02-5,08 (2H, m, OCH<sub>2</sub>Ph), 5,02 (1H, s ancho, NH), 5,65-5,70 y 5,94-5,98 (2H total, m, CH<sub>2</sub>CH=CH), 7,27 (2H, d, *J* = 8,12 Hz, aromático CH<sub>3</sub>CCH), 7,29-7,37 (5H, m, CH fenilo), 7,76 (2H, d, *J* = 8,23 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático);  $\delta$ <sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,609 (aril-CH<sub>3</sub>), 41,749 (CH<sub>2</sub>NHCbz), 66,833 (CH<sub>2</sub>Ph), 75,939 (OCH<sub>2</sub>CH=CH), 81,235 (CHOTs), 85,203 (OCH-CH=CH), 124,702, 127,887, 128,026, 128,128, 128,504, 129,687 y 129,757 (OCH<sub>2</sub>CH=CH y CH aromático), 133,591 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 136,368 (Cbz cuaternario), 144,906 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 156,271 (Cbz C=O).
- 20 Preparación alternativa de 4-metilbencenosulfonato de (*S'*)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((*S*)-2,5-dihidro- furan-2-il)etilo (32). Una solución de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (760 mg, 3,99 mmol) en piridina (10,0 ml), alcohol (17) (600 mg, 2,28 mmol) se agitó a 40 °C durante un total de 6 horas y se dejó reposar a 24 °C durante 16 horas y luego se diluyó con agua (20 ml). El producto se extrajo en éter *tert*-butil metílico (2 x 50 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 10 : 90 hasta 30 : 70 dio el tosilato (32) (789 mg, 83 %) como un sólido blanco.
- 35 Preparación de 4-metilbencenosulfonato de (*R*)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((*S*)-2,5-dihidrofuran-2-il)etilo (32b). Una solución de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (368 mg, 2,03 mmol) en piridina (1,5 ml) se añadió al alcohol (18) (333 mg, 1,27 mmol). La mezcla se agitó a 14 °C durante 16 horas y a 24 °C durante 3,5 horas y luego se diluyó con éter *tert*-butil metílico (35 ml). La fase orgánica se lavó con agua (15 ml), salmuera (15 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un aceite amarillo pálido (0,712 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 15 : 85 hasta 30 : 70 dio el tosilato (32b) (429 mg, 81 %) como un sólido blanco. TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,75, EtOAc : heptano 3 : 1), HPLC analítica, único pico principal, *R*<sub>t</sub> = 18,93 min., HPLC-MS 374,2, 418,2 [M + H]<sup>+</sup>, 857,3 [2M + Na]<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18,5</sup> -30,2° (c = 1,326, CHCl<sub>3</sub>);  $\delta$ <sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,39 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 3,29-3,37 y 3,53-3,62 (2H total, m, CH<sub>2</sub>NH), 4,44-4,50 y 4,52-4,57 (2H total, m, OCH<sub>2</sub>CH=CH), 4,59-4,65 (1H, m, OCHCH=CH), 4,87-4,92 (1H, m, CHOTs), 5,05 (2H, m, OCH<sub>2</sub>Ph), 5,03 (1H, s ancho, NH), 5,69-5,73 y 5,94-5,98 (2H total, m, CH<sub>2</sub>CH=CH), 7,28 (2H, d, *J* = 8,10 Hz, CH<sub>3</sub>CCH aromático), 7,29-7,37 (5H, CH fenilo), 7,77 (2H, d, *J* = 8,10 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático);  $\delta$ <sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,627 (aril-CH<sub>3</sub>), 41,119 (CH<sub>2</sub>NHCbz), 66,856 (CH<sub>2</sub>Ph), 75,987 (OCH<sub>2</sub>CH=CH), 82,352 (CHOTs), 85,622 (OCHCH=CH), 124,792, 127,825, 128,027, 128,126, 128,504, 129,357 y 129,537 (OCH<sub>2</sub>CH=CH y OCH aromático), 133,674 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 136,348 (Cbz cuaternario), 144,941 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 156,273 (Cbz C=O).
- 40 Estudios de epoxidación con 4-metilbencenosulfonato de (*R*)-2-(benciloxicarbonilamino)-1-((*S*)-2,5-dihidro furan-2-il)etilo (32b).
- 45 (a) Se añadió ácido cloroperbenzoico (97 mg, < 77 %, 0,43 mmol) a una solución agitada de alqueno (32b) (36 mg, 0,086 mmol) en diclorometano (1,5 ml). La mezcla se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente, luego se añadió ácido 3-cloroperbenzoico (97 mg, < 77 %, 0,43 mmol) y se continuó agitando durante 1 día a 24 °C y seguidamente se diluyó con diclorometano (15 ml). La fase orgánica se lavó con solución acuosa de hidróxido sódico (5 %, 10 ml), agua (10 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (0,038 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 10 : 90 hasta 50 : 50 dio (en orden de elución) *anti*-(33b) (16 mg, 43 %) como un aceite incoloro viscoso y *syn*-epóxido (9 mg, 24 %) como un sólido blanco.
- 50 Datos para *anti*-(33b); TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,50, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal, *R*<sub>t</sub> = 17,999 min.,
- 65

HPLC-MS 434,1 [M + H]<sup>+</sup>, 456,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 889,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>17</sup> +25,6° (c = 2,54, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,41 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 3,31-3,38 y 3,60-3,66 (2H total, m, CH<sub>2</sub>NH), 3,67 (1H, d, J = 10,46 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 3,75 y 3,81 (cada 1H, d, J = 2,50 y 2,75 Hz respectivamente, OCH<sub>2</sub>CHCH), 3,94 (1H, d, J = 10,57 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 4,07 (1H, d, J = 6,90 Hz, OCHCHOTs), 4,60-4,64 (1H, m, CHOTs), 4,97-5,01 (1H t ancho, NH), 5,08 (2H, s ancho, CH<sub>2</sub>Ph), 7,29-7,37 (7H, CH<sub>3</sub>CCH aromático y CH fenilo), 7,78 (2H, d, J = 8,18 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,665 (aryl-CH<sub>3</sub>), 42,054 (CH<sub>2</sub>NHCbz), 56,175 y 57,048 (OCH<sub>2</sub>CHCH), 67,031 (CH<sub>2</sub>Ph), 67,672 (OCH<sub>2</sub>CH), 76,732 (OCHCHOTs), 79,388 (CHOTs), 127,776, 128,108, 128,222, 128,544 y 130,043 (CH aromático), 133,249 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 136,192 (Cbz cuaternario), 145,487 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 156,224 (Cbz C=O). Datos para *syn*-epóxido; TLC (R<sub>f</sub> = 0,42, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal, R<sub>t</sub> = 18,009 min., HPLC-MS 434,1 [M + H]<sup>+</sup>, 889,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,40 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 3,40-3,47 y 3,58-3,63 (2H total, m, CH<sub>2</sub>NH), 3,62 y 3,72 (cada 1H, d y dd respectivamente, J = 2,84 y 3,01, 0,60 Hz respectivamente, OCH<sub>2</sub>CHCH), 3,67 (1H, d, J = 10,68 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 3,92 (1H, d, J = 7,07 Hz, OCHCHOTs), 3,97 (1H, d, J = 10,67 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 4,65-4,70 (1H, m, CHOTs), 5,00-5,04 (1H t ancho, NH), 5,05 (2H, s ancho, CH<sub>2</sub>Ph), 7,29-7,37 (7H, CH<sub>3</sub>CCH aromático y CH fenilo), 7,83 (2H, d, J = 8,11 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,664 (aryl-CH<sub>3</sub>), 41,958 (CH<sub>2</sub>NHCbz), 55,948 y 56,425 (OCH<sub>2</sub>CHCH), 66,823 (CH<sub>2</sub>Ph), 68,008 (OCH<sub>2</sub>CH), 76,498 (OCHCHOTs), 78,395 (CHOTs), 127,986, 128,072, 128,110, 128,493 y 129,928 (aromático CH), 133,189 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 136,383 (Cbz cuaternario), 145,177 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 156,202 (Cbz C=O).

(b) A una solución de alqueno (32b) (262 mg, 0,63 mmol) en acetonitrilo (4 ml) y Na<sub>2</sub>.EDTA acuoso (4 ml, solución 0,4 mmol) a 0 °C se añadió 1,1,1-trifluoroacetona (0,67 ml, 7,54 mmol) a través de una jeringa preenfriada. A esta solución se añadió en porciones una mezcla de bicarbonato sódico (0,44 g, 5,28 mmol) y OXONE® (1,20 g, 1,95 mmol) durante un período de 55 minutos. La mezcla se agitó durante 2,5 horas, luego se diluyó con agua (25 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (2 x 25 ml). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera (12,5 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (310 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 15 : 85 hasta 50 : 50 dio *anti*-(33b) como un aceite viscoso blanco (216 mg, 79 %).

#### Epoxidación de 4-metilbencenosulfonato de (S)-2-(benciloxycarbonilamino)-1-((S)-2,5-dihidrofuran-2-il)etilo (32).

(a) A una solución de alqueno (32) (765 mg, 1,83 mmol) en acetonitrilo (10 ml) y Na<sub>2</sub>.EDTA acuoso (10 ml, solución 0,4 mmol) a 0 °C se añadió 1,1,1-trifluoroacetona (1,98 ml, 22,0 mmol). A esta solución se añadió en porciones una mezcla de bicarbonato sódico (1,29 g, 15,4 mmol) y OXONE® (3,49 g, 5,68 mmol) durante un período de 1,5 horas. La mezcla se agitó durante 1,5 horas, luego se diluyó con agua (30 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (3 x 30 ml). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera (50 ml), luego se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 10 : 90 hasta 30 : 70 dio (en orden de elución) *anti*-(33) como un sólido blanco (597 mg, 75 %) y *syn*-epóxido (35 mg, 4 %) como un sólido blanco. Datos para *anti*-(33); TLC (R<sub>f</sub> = 0,50, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal, R<sub>t</sub> = 17,989 min., HPLC-MS 434,2 [M + H]<sup>+</sup>, 889,3 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>11,5</sup> -49,08° (c = 1,630, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,38 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 3,30-3,37 y 3,44-3,50 (2H, m, CH<sub>2</sub>NH), 3,73 y 2,74 (2H, cada d, J = 2,78 y 2,73 Hz respectivamente, OCH<sub>2</sub>CHCH), 3,81 (1H, d, J = 10,08 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 3,91 (1H, d, J = 10,12 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 4,13 (1H, d, J = 2,04 Hz, OCHCHOTs), 4,83-4,86 (1H, m, CHOTs), 4,89-5,00 (1H t ancho, J = 5,39 Hz, NH), 5,02-5,09 (2H, m, CH<sub>2</sub>Ph), 7,28 (2H, d, J = 8,10 Hz, aromático CH<sub>3</sub>CCH), 7,31-7,38 (5H, CH fenilo), 7,76 (2H, d, J = 8,22 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,636 (aryl-CH<sub>3</sub>), 42,085 (CH<sub>2</sub>NHCbz), 56,414 y 57,217 (OCH<sub>2</sub>CHCH), 66,977 (CH<sub>2</sub>Ph), 68,582 (OCH<sub>2</sub>CH), 76,846 (OCHCHOTs), 79,979 (CHOTs), 127,668, 128,073, 128,241, 128,551 y 130,001 (CH aromático), 133,489 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 136,172 (Cbz cuaternario), 145,322 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 156,247 (Cbz C=O). Datos para *syn*-epóxido; TLC (R<sub>f</sub> = 0,45, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica pico principal, R<sub>t</sub> = 17,902 12,5 min., HPLC-MS 434,2 [M + H]<sup>+</sup>, 889,3 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>12,5</sup> -38,4° (c = 2,277, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2,39 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 3,49-3,58 y 3,58-3,66 (2H total, m, CH<sub>2</sub>NH), 3,62 (1H, d, J = 10,27 Hz OCH<sub>2</sub>CH), 3,71 (1H, d, J = 3,01 Hz, epóxido CH), 3,88 (1H, d ancho, J = 10,62 Hz, OCH<sub>2</sub>CH), 3,88 (1H, s ancho, epóxido CH), 3,97 (1H, d, J = 6,11 Hz, OCHCHOTs), 4,69-4,74 (1H, m, CHOTs), 5,02-5,11 (3H, m, NH y CH<sub>2</sub>Ph), 7,28-7,38 (7H, CH<sub>3</sub>CCH aromático y CH fenilo), 7,80 (2H, d ancho, J = 8,22 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,634 (aryl-CH<sub>3</sub>), 41,450 (CH<sub>2</sub>NHCbz), 55,391 y 55,741 (OCH<sub>2</sub>CHCH), 66,828 (CH<sub>2</sub>Ph), 67,724 (OCH<sub>2</sub>CH), 76,526 (OCHCHOTs), 79,632 (CHOTs), 127,805, 128,958, 128,102, 128,117, 128,504, 128,550, 128,596, 129,742, 130,002 y 130,177 (CH aromático), 133,093 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 136,330 (Cbz cuaternario), 144,990 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 156,344 (Cbz C=O).

Preparación de 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3R, 3aR, 6R, 6aS)-*terc*-butilo (35b). Se añadió gota a gota etanol (1,5 ml) a una mezcla de paladio al 10 % sobre carbón (20 mg) y *anti*-(33b) (100 mg, 0,25 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se sustituyó el argón por hidrógeno y se agitó seguidamente la suspensión durante 4,5 horas antes de filtrar la mezcla a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol (10 ml) luego se eliminaron los disolventes a vacío del filtrado. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (2x3 ml) obteniendo 4-metilbencenosulfonato de (3R, 3aR, 6R, 6aS)-3-hidroxihexahidro-2H-furo[3,2-b]pirrol-6-ilo que se usó sin purificación posterior.

Se añadió una solución de carbonato sódico (56 mg, 0,275 mmol) en agua (0,75 ml) mientras se agitaba a una solución de 4-metilbencenosulfonato de (3R, 3aR, 6R, 6aS)-3-hidroxihexahidro-2H-furo[3,2-b]pirrol-6-ilo en 1,4-dioxano (0,75 ml).

Se añadió gota a gota durante 5 minutos una solución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (60 mg, 0,275 mmol) en 1,4-dioxano (0,5 ml) luego se agitó la mezcla durante 1 hora antes de añadir una alícuota adicional de dicarbonato de di-*tert*-butilo (40 mg, 0,184 mmol) en 1,4-dioxano (0,25 ml) gota a gota durante 1 minuto. La mezcla se agitó durante 70 minutos, luego se añadió agua (5 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (3x5 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (5 ml), luego se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (132 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 15 : 85 hasta 45 : 55 dio el alcohol bicíclico (35b) (58,9 mg, 60 %) como un sólido blanco. TLC ( $R_f=0,30$ , EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t=16,54$  min., HPLC-MS 344,1 [M + 2H - <sup>t</sup>But]<sup>+</sup>, 821,3 [2M + Na]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{18,5} -30,3^\circ$  (c = 6,10,  $\text{CHCl}_3$ );  $\delta_H$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 2 : 1; 1,44 (6H, s ancho,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ , mayoritario), 1,46 (3H, s ancho,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ , minoritario), 1,98 (0,33H, d,  $J = 4,00$  Hz, OH minoritario), 2,44 (3H, s, aril- $\text{CH}_3$ ), 2,69 (0,66H, d,  $J = 2,88$  Hz, OH mayoritario), 3,08-3,15 (0,33H, m, BocNCH<sub>2</sub> minoritario), 3,26-3,32 (0,66H, m, BocNCH<sub>2</sub> mayoritario), 3,75-3,87 (2H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH y 1 x BocNCH<sub>2</sub>), 3,94-4,02 (1H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH), 4,07 (1H, s ancho, BocNCH), 4,35 (0,33H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,41 (0,66H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,52 (0,66H, t,  $J = 4,75$  Hz, TsOCHCH mayoritario), 4,65 (0,33H, t,  $J = 3,95$  Hz, TsOCHCH minoritario), 4,72-4,78 (1H, m, TsOCHCH), 7,34 (2H, d ancho,  $J = 7,82$  Hz, aromático CH<sub>3</sub>CCH), 7,82 (2H, d ancho,  $J = 8,01$  Hz, aromático OSO<sub>2</sub>CCH);  $\delta_C$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 21,681 (aril-CH<sub>3</sub>), 28,294 / 28,386 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ), 46,810 / 48,177 (BocNCH<sub>2</sub>), 68,153 / 68,484 (BocNCH), 75,484 / 75,697 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 76,228 / 76,980 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 76,269 / 76,585 (TsOCHCH), 79,391 / 80,233 (TsOCHCH), 81,079 / 81,139 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$  cuaternario), 127,973,129,911,129,966 y 130,125 (aromático CH), 133,144 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 145,247 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 153,161 / 154,244 (Boc C=O).

Preparación de 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-*tert*-butilo (35). Se añadió gota a gota etanol (20 ml) a una mezcla de paladio al 10 % sobre carbón (50 mg) y *anti*-(33) (578 mg, 1,33 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se sustituyó el argón por hidrógeno y se agitó seguidamente la suspensión durante 1,5 horas antes de filtrar la mezcla a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol y luego se eliminaron los disolventes a vacío del filtrado obteniendo 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-3-hidroxi-hexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-6-ilo que se usó sin purificación posterior.

Se añadió una solución de carbonato sódico (297 mg, 2,80 mmol) en agua (10 ml) mientras se agitaba a una solución de 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-3-hidroxi-hexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-6-ilo en 1,4-dioxano (7 ml). Se añadió entonces una solución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (320 mg, 1,47 mmol) en 1,4-dioxano (3 ml) y la mezcla se agitó durante 2 horas, luego se almacenó a 4 °C durante 16 horas, se añadió agua (30 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (3 x 30 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (30 ml), luego se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 40 : 60 dio el alcohol bicíclico (35) (292 mg, 55 %) como un sólido blanco. TLC ( $R_f=0,38$ , EtOAc : heptano 3 : 2), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t=16,80$  min., HPLC-MS 344,1 [M + 2H - <sup>t</sup>But]<sup>+</sup>, 821,3 [2M + Na]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{15} -36,5^\circ$  (c = 3,42,  $\text{CHCl}_3$ );  $\delta_H$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 2 : 1; 1,43 (6H, s ancho,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ , mayoritario), 1,47 (3H, s ancho,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ , minoritario), 2,19 (0,33H, d,  $J = 4,06$  Hz, OH minoritario), 2,80 (0,66H, d,  $J = 3,10$  Hz, OH mayoritario), 2,45 (3H, s, aril- $\text{CH}_3$ ), 3,27(0,33H, dd,  $J = 13,48$  y 3,65 Hz, BocNCH<sub>2</sub> minoritario), 3,35 (0,66H, dd,  $J = 13,37$  y 3,83 Hz, BocNCH<sub>2</sub> mayoritario), 3,72-3,82 (3H, m, 2xOCH<sub>2</sub>CHOH y 1 x BocNCH<sub>2</sub>), 4,21-4,24 (1H, s ancho, BocNCH), 4,37(0,33H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,44 (0,66H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,46 (0,66H, d ancho,  $J = 4,62$  Hz, TsOCHCH mayoritario), 4,64 (0,33H, d ancho,  $J = 4,18$  Hz, TsOCHCH minoritario), 4,74 (0,33H, d ancho,  $J = 3,09$  Hz, TsOCH minoritario), 4,77 (0,66H, d ancho,  $J = 3,43$  Hz, TsOCH mayoritario), 7,35 (2H, d ancho,  $J = 7,95$  Hz, CH<sub>3</sub>CCH aromático), 7,78 (2H, d ancho,  $J = 8,24$  Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático);  $\delta_C$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 21,679 (aril-CH<sub>3</sub>), 28,308 / 28,434 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ), 50,487 / 51,186 (BocNCH<sub>2</sub>), 68,000 / 68,553 (BocNCH), 74,330 / 74,458 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,499/76,335 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 80,187/80,914 (TsOCHCH), 80,849 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$  cuaternario), 83,599/84,662 (TsOCHCH), 127,816,127,852 y 130,125 (CH aromático), 133,081 / 133,268 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 145,371 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 153,259 / 154,119 (Boc C=O).

Preparación de 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-4 (5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-bencilo (34b). Se añadió etanol (1,5 ml) gota a gota a una mezcla de paladio al 10 % sobre carbón (10 mg) y *anti*-(33b) (12,0 mg, 0,028 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se sustituyó el argón por hidrógeno y se agitó seguidamente la suspensión durante 1,75 horas antes de filtrar la mezcla a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol (7,5 ml) luego se eliminaron los disolventes a vacío del filtrado. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (2 ml) obteniendo 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-3-hidroxi-hexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-6-ilo (7,6 mg, 89 %) como un aceite amarillo pálido que se usó sin purificación posterior. TLC ( $R_f=0,01$ , EtOAc : heptano 1:1), HPLC-MS 300,1 [M + H]<sup>+</sup>, 621,2 [2M + Na]<sup>+</sup>.

Se añadió una solución de carbonato sódico (6,2 mg, 0,058 mmol) en agua (0,15 ml) mientras se agitaba a una solución de 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-3-hidroxi-hexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-6-ilo en 1,4-dioxano (0,3 ml). Se añadió cloroformiato de bencilo (5,9 ml, 0,042 mmol) y se agitó entonces la mezcla durante 2 horas. Se añadió agua (5 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (2x5 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (5 ml), luego se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (10,6 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 50 : 50 dio el alcohol bicíclico (34b) (6,6 mg, 54 %) como un sólido blanco. TLC ( $R_f=0,20$ , EtOAc : heptano 1 : 1), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t=17,32$  min., HPLC-MS 434,1 [M + H]<sup>+</sup>, 889,2 [2M + Na]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{20} -25,7^\circ$  (c = 2,53,  $\text{CHCl}_3$ );  $\delta_H$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) mezcla de rotámeros

mayoritario : minoritario 2:1; 2,01 (0,33H, s ancho, OH minoritario), 2,43 (3H, s, aril-CH<sub>3</sub>), 2,77 (0,66H, s ancho, OH mayoritario), 3,18-3,24 (0,33H, m, CbzNCH<sub>2</sub> minoritario), 3,33-3,38 (0,66H, m, CbzNCH<sub>2</sub> mayoritario), 3,79-3,85 (1H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,86-3,91 (1H, m, CbzNCH<sub>2</sub>), 3,92-3,96 (0,33H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 3,96-4,01 (0,66H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,13-4,16 (1H, m, CbzNCH), 4,35 (0,33H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,45 (0,66H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,56 (0,33H, t, J = 4,64 Hz, TsOCHCH, minoritario), 4,64 (0,66H, t, J = 4,36 Hz, TsOCHCH, mayoritario), 4,71-4,78 (1H, m, TsOCHCH), 5,06-5,17 (2H, m, CH<sub>2</sub>Ph), 7,31-7,38 (7H, m, CH fenilo y CH<sub>3</sub>CCH aromático), 7,80 (2H, d, J = 8,33 Hz, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,683 (aril-CH<sub>3</sub>), 47,384 / 47,855 (CbzNCH<sub>2</sub>), 67,636 / 67,717 (CH<sub>2</sub>Ph), 68,042 / 68,817 (CbzNCH), 75,525 / 75,967 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,967 / 76,836 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 76,068 / 76,401 (TsOCHCH), 79,342 / 80,208 (TsOCHCH), 127,965, 128,107, 128,382, 128,510, 128,605, 128,753, 129,940 y 129,997 (CH aromático), 132,991 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 135,779 / 135,869 (Cbz cuaternario), 145,319 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 153,862 / 154,751 (Cbz C=O).

Preparación de 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahydro-2H furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-bencilo (34). Se añadió etanol (6 ml) gota a gota a una mezcla de paladio al 10 % sobre carbón (50 mg) y *anti*-(33) (547 mg, 1,26 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se sustituyó el argón por hidrógeno y se agitó seguidamente la suspensión a 20 °C durante 3,75 horas antes de filtrar la mezcla a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol (40 ml) luego se eliminaron los disolventes a vacío del filtrado obteniendo 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-3-hidroxi-hexahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-6-ilo que se usó sin purificación posterior.

Se añadió una solución de carbonato sódico (281 mg, 2,65 mmol) en agua (5 ml) mientras se agitaba a una solución de 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-3-hidroxi-hexahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-6-ilo en 1,4-dioxano (5 ml). Se añadió una solución de clorofornato de bencilo (0,225 ml, 1,96 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 ml) durante 20 minutos, luego se agitó la mezcla durante 35 minutos, se añadió agua (50 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (50 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 25 : 75 hasta 50 : 50 dio el alcohol bicíclico (34) (518 mg, 95 %) como un sólido blanco. TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,25, EtOAc : heptano 3 : 2), HPLC analítica, único pico principal, *R*<sub>t</sub> = 17,86 min., HPLC-MS 434,2 [M + H]<sup>+</sup>, 456,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 889,3 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>16,5</sup> -23,1° (c = 1,190, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 3 : 2; 1,96 (0,4H, d, J = 4,11 Hz, OH minoritario), 2,43 (1,8H, s, aril-CH<sub>3</sub> mayoritario), 2,44 (1,2H, s, aril-CH<sub>3</sub> minoritario), 2,59 (0,6H, d, J = 3,42 Hz, OH mayoritario), 3,35 (0,4H, dd, J = 13,43 y 3,71 Hz, CbzNCH<sub>2</sub> minoritario), 3,41 (0,6H, dd, J = 13,31 y 3,80 Hz, CbzNCH<sub>2</sub> mayoritario), 3,74-3,88 (3H, m, 2x OCH<sub>2</sub>CHOH y 1 x CbzNCH<sub>2</sub>), 4,29 (0,4H, s, CbzNCH minoritario), 4,31 (0,6H, s, CbzNHCH mayoritario), 4,37 (0,4H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,49 (0,6H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,51 (0,6H, d, J = 4,59 Hz, TsOCHCH mayoritario), 4,64 (0,4H, d ancho, J = 4,44 Hz, TsOCHCH minoritario), 4,77 (0,4H, d, J = 3,43 Hz, TsOCHCH minoritario), 4,79 (0,6H, d, J = 3,53 Hz, TsOCHCH mayoritario), 5,06-5,13 (1,6H, m, CH<sub>2</sub>Ph), 5,21 (0,4H, d, J = 12,22 Hz, CH<sub>2</sub>Ph minoritario), 7,30 (7H, m, CH aromático y CH<sub>3</sub>CCH), 7,75-7,79 (2H, m, OSO<sub>2</sub>CCH aromático); δ<sub>C</sub> (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) 21,658 (aril-CH<sub>3</sub>), 51,015 / 51,082 (CbzNCH<sub>2</sub>), 67,511 / 67,622 (CH<sub>2</sub>Ph), 67,953 / 68,902 (CbzNCH), 74,375 / 74,420 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,322 / 76,156 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 79,944 / 80,600 (TsOCHCH), 83,537 / 84,651 (TsOCHCH), 127,791, 127,837, 127,942, 128,011, 128,382, 128,485, 128,558, 128,703 y 130,102 (CH aromático), 133,021 / 133,087 (CHOSO<sub>2</sub>C cuaternario), 135,895 / 136,018 (Cbz cuaternario), 145,441 (CH<sub>3</sub>C cuaternario), 153,976 / 154,591 (Cbz C=O).

Preparación de 6-fluoro-3-hidroxitetrahydro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-bencilo (60). Se añadió una solución de carbonato potásico (5 mg, 0,034 mmol) en acetonitrilo : agua (95 : 5, 0,5 ml) una mezcla de Kryptofix@222 (66 mg, 0,175 mmol), fluoruro potásico secado en estufa (13,1 mg, 0,225 mmol) en un recipiente a presión. La mezcla se agitó durante 5 minutos y luego se evaporó el disolvente usando una corriente de argón. Se añadió acetonitrilo (0,5 ml) y el disolvente se eliminó usando una corriente de argón. Se añadió acetonitrilo (0,5 ml) tres veces más, eliminando el disolvente cada vez usando una corriente de argón. Se añadió entonces una solución del tosilato (34b) (50 mg, 0,115 mmol) en acetonitrilo (0,5 ml) y el recipiente se selló y se calentó a 130 °C durante 2 horas. El análisis por HPLC-MS mostró la formación del análogo 6-fluoro; HPLC-MS 282,1 [M + H]<sup>+</sup>, 304,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 585 [2M + Na]<sup>+</sup>.

Se puede convertir fácilmente el análogo Cbz (60) al análogo Boc correspondiente 6-fluoro-3-hidroxitetrahydro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-*tert*-butilo (61) siguiendo una hidrogenación convencional con Pd-C y tratamiento con dicarbonato de di-*tert*-butilo y carbonato sódico en dioxano acuoso.

Preparación alternativa de 6-fluoro-3-hidroxitetrahydro-2*H*-furo[3,2-6]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-*tert*-butilo (61). Se dividió una solución de fluoruro de tetrabutilamonio (1M en tetrahydrofurano, 35 ml, 35 mmol) y 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahydro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-*tert*-butilo (35b) (7,0 g, 17,5 mmol) en dimetilformamida (35 ml) en siete porciones, se calentó en tubos sellados bajo una atmósfera de argón a 140 °C durante 1 hora 40 minutos y luego a 145 °C durante 3 horas. Las mezclas se agitaron a temperatura ambiente durante 19 horas y luego a 145 °C durante 2,75 horas. Las mezclas de reacción separadas se reunieron y los disolventes se eliminaron a vacío. El residuo se diluyó con diclorometano (400 ml) y agua (200 ml). La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (100 ml). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con agua (2 x 200 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo pardo-negro (10,4 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 40 : 60 dio el 6-fluoroalcohol bruto (61) (3,05 g) como aceite pardo. El aceite se disolvió en diclorometano (65 ml) y se añadió ácido 3-cloroperoxisbenzoico (suministrado



por Sigma-Aldrich 77 % de pureza máxima, 2,77 g, 12,35 mmol). La mezcla se agitó durante 1 hora, luego se diluyó con diclorometano (300 ml), luego se lavó con solución acuosa de hidróxido sódico (1M, 2 x 150 ml), luego agua (150 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (3,14 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 50 : 50 dio el 6-fluoroalcohol (61) (1,77 g, 41 %) como un sólido blanco. TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,46, EtOAc : heptano 3:1), HPLC-MS 192,0 [M + 2H - Bu]<sup>+</sup>, 270,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 517,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 2 : 1; 1,45 (6H, s, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C mayoritario), 1,49 (3H, s, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C minoritario), 2,70 (1H, s ancho, OH), 3,30 (0,66H, dt, *J* = 13,49 y 3,22 Hz, 1 x BocNCH<sub>2</sub> mayoritario), 3,38 (0,33H, dt, *J* = 13,26 y 3,22 Hz, 1 x BocNCH<sub>2</sub> minoritario), 3,76-4,00 (3H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH y 1 x CbzNCH<sub>2</sub>), 4,27 (0,33H, d, *J* = 4,51 Hz, BocNCH minoritario), 4,32 (0,66H, d, *J* = 4,75 Hz, BocNCH mayoritario), 4,41 (0,33H, d ancho, *J* = 2,69 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,47 (0,66H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,69-4,76 (1H, m, CHCHF), 4,94 (0,33H, d, *J* = 49,73 Hz, CHF minoritario), 4,95 (0,66H, d, *J* = 49,71 Hz, CHF mayoritario); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 28,358 / 28,445 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 50,962 / 51,139 y 51,47 / 51,650 (BocNCH<sub>2</sub>), 68,004 / 68,572 (BocNCH), 74,153 / 74,224 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,599 / 76,426 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 80,702 / 80,911 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 83,204 / 83,454 y 84,000 / 84,252 (CHCHF), 91,458 / 92,136 y 92,886 / 93,561 (CHF), 153,654 / 154,459 (Boc C=O).

Preparación alternativa de 6-fluoro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-bencilo (60). Una solución de fluoruro de tetrabutilamonio (1M en tetrahydrofurano, 8,2 ml, 8,2 mmol) y 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-bencilo (34b) (1,77g, 4,09 mmol) en acetonitrilo (17 ml) se calentó en un tubo sellado bajo una atmósfera de argón a 135 °C durante 16 horas. Los disolventes se eliminaron a vacío luego se repartió el residuo entre EtOAc (150 ml) y HCl 0,2N (340 ml). La fase acuosa se volvió a extraer con EtOAc (2 x 150 ml) luego se lavaron las fases orgánicas reunidas con NaHCO<sub>3</sub> saturado (300 ml) y luego salmuera (300 ml). La fase orgánica se secó entonces (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo pardo-negro (1,07 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 1 : 2 dio el 6-fluoroalcohol bruto (60) (780 mg) como un sólido blanco. El alcohol bruto se purificó en placas de cromatografía preparativa sobre sílice (EtOAc : DCM, 1:1) dando el 6-fluoroalcohol puro (60) (379 mg, 33 %) como un aceite incoloro.

TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,25, EtOAc : heptano 1 : 2), HPLC-MS 282,1 [M + H]<sup>+</sup>, 304,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 585,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> -51,8° (c = 1,93, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>C</sub>(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 51,32 / 51,50 / 51,53 / 51,71 (CbzNCH<sub>2</sub>), 67,55 / 67,60 (PhCH<sub>2</sub>O), 67,99/69,01 (CbzNCH), 73,47 / 74,19 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,45 / 76,29 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 83,13 / 83,38 y 84,02 / 84,28 (CHCHF), 91,34 / 91,98 y 92,77 / 93,41 (CHF), 127,98 / 128,03 / 128,29 / 128,38 / 128,58 / 128,72 (aromático CH), 135,94 / 136,12 (aromático cuaternario), 154,31 / 154,96 (Cbz C=O).

Preparación de 6-fluoro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-(9*H*-fluoren-9-*il*)metilo (63).

(i) Se disolvió Boc alcohol (61) (73 mg, 0,30 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml). Se añadió una solución de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4M, 0,74 ml, 2,95 mmol) en una porción y luego se agitó la mezcla durante 18 horas. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se trituró con éter dietílico frío (10 ml) proporcionando un polvo color lila pálido (39 mg, 72 %) que se usó sin purificación posterior. Datos para clorhidrato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-fluorohexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol. TLC(*R*<sub>f</sub>=0,0, EtOAc : heptano 2 : 3), HPLC-MS 148,1 [M + H]<sup>+</sup>. δ<sub>C</sub> (125 MHz, D<sub>6</sub>-DMSO) 49,521 / 49,697(NCH<sub>2</sub>), 68,088 (NCH), 72,738 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 74,944 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 83,813 / 84,057 (OCHCHF), 92/975 / 94,379 (CHF); δ<sub>F</sub> (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) -185,69.

(ii) Preparación de 6-fluoro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-(9*H*-fluoren-9-*il*)metilo (62). Se disolvió el clorhidrato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-fluorohexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol bruto (34 mg, 0,19 mmol) en solución acuosa de carbonato sódico (39 mg en 2 ml) y luego se añadió 1,4-dioxano (1 ml) seguido por cloruro de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (50 mg, 0,19 mmol). La mezcla se agitó durante 24 horas y se añadió agua (2 ml). La fase acuosa se extrajo con cloroformo (5x2 ml) seguidamente se lavó la fase orgánica reunida con salmuera (5 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío obteniendo un aceite opaco. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 60 : 40 dio el alcohol (62) como un aceite incoloro (64 mg, 94 %). TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,43, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal, *R*<sub>t</sub> = 15,402 min., HPLC-MS 370,2 [M + H]<sup>+</sup>, 392,2 [M + Na]<sup>+</sup>, [α]<sub>D</sub><sup>19</sup> = -43,1° (c = 2,9, CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 47,264, 47,373, 47,446 (Fmoc CH), 51,053, 51,160, 51,231 y 51,340 (FmocNCH<sub>2</sub>), 65,862 / 65,916 (Fmoc CH<sub>2</sub>), 68,235 / 68,865 (FmocNCH), 73,856 / 74,088 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,527, 75,559, 75,964 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 83,100, 83,349, 83,670, 83,921 (OCHCHF), 91,243, 91,931, 92,672, 93,360 (CHF), 119,797, 119,803, 120,003, 120,041, 124,483, 124,529, 124,866, 124,925, 127,047, 127,086, 127,441, 127,572, 127,799, 127,906 y 127,938 (Fmoc CH aromático), 141,193, 141,313, 141,401, 141,491, 143,508, 143,769, 143,910 y 143,954 (Fmoc cuaternario), 153,995 / 154,716 (Fmoc C=O). δ<sub>F</sub> (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) -185,87 y -185,16.

(iii) Oxidación a la cetona (63). Se añadió peryodinano de Dess-Martin (135 mg, 0,32 mmol) en una única porción a una solución agitada del alcohol (62) (59 mg, 0,16 mmol) en diclorometano (4 ml) bajo argón. La mezcla se agitó durante 4 horas y se diluyó con diclorometano (5 ml). La fase orgánica se lavó con una mezcla de hidrogenocarbonato sódico acuoso saturado y solución al 10 % de tiosulfato sódico (1 : 1, 5 ml), luego bicarbonato sódico acuoso saturado (5 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío obteniendo un sólido amarillo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 60 : 40 dio la cetona (63) como un sólido blanco

(47 mg, 80 %). TLC ( $R_f = 0,42$ , EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t = 16,303$  min., HPLC-MS 368,2 [M + H]<sup>+</sup>, 390,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 757,3 [2M + Na]<sup>+</sup>,  $[\alpha]_D^{18} -126,8^\circ$  (c = 2,72, CHCl<sub>3</sub>);  $\delta_C$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>); 47,086 / 47,086 (Fmoc-CH), 51,292, 51,473, 51,581, 51,759 (FmocNCH<sub>2</sub>), 60,578 / 61,016 (FmocNCH), 67,891 / 68,592 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 69,937 (OCH<sub>2</sub>C=O), 82,964, 83,214, 83,961 y 84,216 (OCHCHF), 91,431, 92,058, 92,864 y 93,490 CHF), 119,936, 120,005, 124,901, 125,147, 125,394, 127,101, 127,712 y 127,757 (Fmoc (CH aromático), 141,282, 141,331, 143,532, 143,637, 143,688 y 144,214 (Fmoc cuaternario), 154,746 / 154,837 (Fmoc C=O), 206,614 / 206,744 (cetona C=O);  $\delta_F$  (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) -188,00 y -188,75.

#### Preparación de ácido 4-(4-ciclobutilpiperazin-1-il)benzoico (64)

(i) Se disolvió 4-(piperazin-1-il)benzoato de metilo (CAS 163210-97-7, 500 mg, 2,27 mmol) en THF (10 ml) y agua (0,2 ml) con agitación. Se añadió clobutanona (0,238 g, 3,4 mmol) seguido por ácido acético (0,5 ml) y cianoborohidruro sódico (0,211 g, 3,4 mmol). La mezcla se llevó a reflujo durante 6 horas, se enfrió y se redujo a vacío. El residuo se disolvió en HCl 1N (3 ml) y agua (12 ml) y luego se lavó con acetato de etilo (2x10 ml). La fase acuosa se ajustó hasta pH 10 con carbonato potásico y se extrajo con acetato de etilo (3x10 ml). Los orgánicos reunidos se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dando el éster metílico bruto (0,56 g).

(ii) Se suspendió el éster metílico (0,51 g, se suponen 1,85 mmol) en NaOH al 10 % (3 ml) y se añadió agua (3 ml). La mezcla se calentó a 80 °C durante 2 h, luego se enfrió hasta 0 °C. La mezcla se acidificó hasta pH 2 con HCl 6N, luego se enfrió durante 2 h a -5 °C. Se filtró un sólido color castaño y se lavó cuidadosamente con hexano y se secó a vacío dando el ácido (64) (rendimiento 0,25 g). HPLC-MS 261 [M + H]<sup>+</sup>.

#### Preparación de ácido 4-(1-etilpiperidin-4-il)benzoico (65)

(i) Se disolvieron 4-(piperidin-4-il)benzoato de metilo (CAS 281235-04-9, 1,0 g, 4,6 mmol), DIPEA (0,653 g, 5,07 mmol) y bromuro de etilo (0,516 ml, 6,9 mmol) en 1,2-dimetoxietano (18 ml) y se llevó a reflujo a 78 °C durante la noche. La mezcla se enfrió, se redujo a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo y carbonato sódico acuoso. La fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo y los orgánicos reunidos se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dando el éster metílico bruto. El éster bruto se purificó sobre gel de sílice gel eluyendo con CHCl<sub>3</sub> : MeOH (97,5 : 2,5 v/v).

(ii) Se suspendió el éster metílico (0,51 g, se suponen 2,05 mmol) en NaOH al 10 % (3 ml) y se añadió agua (3 ml). La mezcla se calentó a 80 °C durante 2 h, luego se enfrió hasta 0 °C. La mezcla se acidificó hasta pH 2 con HCl 6N, luego se enfrió durante 2 h a -5 °C. Se filtró un sólido y se lavó cuidadosamente con hexano y se secó a vacío dando el ácido (65) (rendimiento 0,25 g).

#### Preparación de ácido 4-(1-ciclopropilpiperidin-4-il)benzoico (66)

(i) Se disolvió 4-(piperidin-4-il)benzoato de metilo (CAS 281235-04-9, 0,5 g, 2,27 mmol) en una mezcla de THF (10 ml) y MeOH (10 ml). Se añadieron ácido acético (1,38 g, 22,7 mmol) y [(1-etoxiciclopropil)oxi]trimetilsilano (0,8 g, 4,6 mmol) seguido por cianoborohidruro sódico (0,433 g, 6,9 mmol). La mezcla se agitó durante 7 h y luego se redujo a vacío. El residuo se disolvió en HCl 1N (3 ml) y agua (12 ml) y luego se lavó con acetato de etilo (2x10 ml). La fase acuosa se ajustó hasta pH 10 con carbonato potásico y se extrajo con acetato de etilo (3x10 ml). Los orgánicos reunidos se lavaron con salmuera, luego se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dando el éster metílico bruto (0,35 g). El éster bruto se purificó sobre gel de sílice eluyendo con hexano : acetato de etilo (85 : 15 v/v).

(ii) Se suspendió el éster metílico (0,20 g, se suponen 0,77 mmol) en NaOH al 10 % (2,5 ml) y se añadió agua (2,5 ml). La mezcla se calentó a 80 °C durante 2 h, luego se enfrió hasta 0 °C. La mezcla se acidificó hasta pH 2 con HCl 6N, luego se enfrió durante 2 h a -5 °C. Se filtró un sólido y se lavó cuidadosamente con hexano y se secó a vacío dando el ácido (66) (rendimiento 0,04 g).

#### Preparación de ácido 4-(1-ciclobutilpiperidin-4-il)benzoico (67)

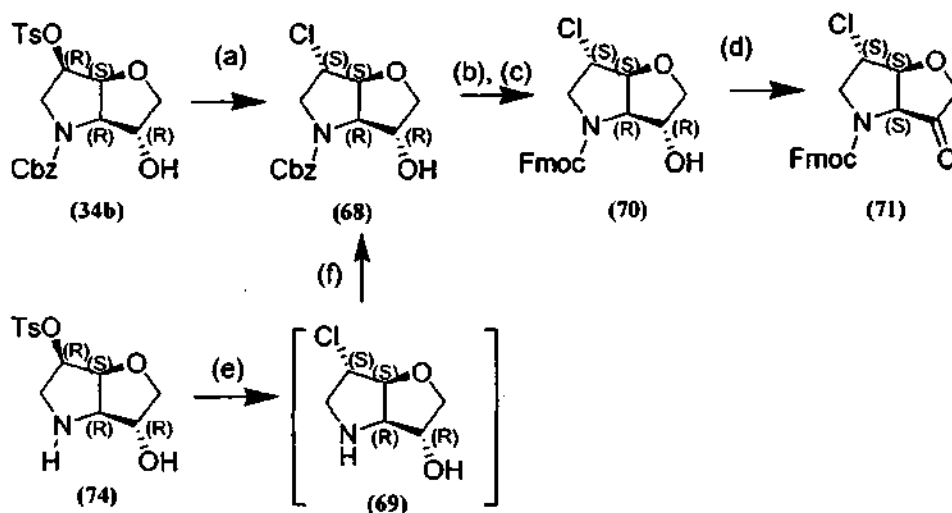
(i) Se disolvió 4-(piperidin-4-il)benzoato de metilo (CAS 281235-04-9, 0,25 g, 1,13 mmol) en una mezcla de THF (6 ml) y agua (0,1 ml). Se añadieron ácido acético (0,25 ml) y clobutanona (0,119 g, 1,7 mmol) seguido por cianoborohidruro sódico (0,15 g, 2,4 mmol). La mezcla se llevó a reflujo durante 5 h, luego se enfrió y se redujo a vacío. El residuo se disolvió en HCl 1N (4 ml) y agua (15 ml), luego se lavó con acetato de etilo (2 x 10 ml). La fase acuosa se ajustó hasta pH 10 con carbonato potásico y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). Los orgánicos reunidos se lavaron con salmuera, luego se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dando el éster metílico bruto (0,23 g).

(ii) Se suspendió éster metílico (0,23 g, se suponen 0,84 mmol) en NaOH al 10 % (2,5 ml) y se añadió agua (2,5 ml). La mezcla se calentó a 80 °C durante 2 h, luego se enfrió hasta 0 °C. La mezcla se acidificó hasta pH 2 con HCl 6N, luego se enfrió durante 2 h a -5 °C. Se filtró un sólido y se lavó cuidadosamente con hexano y se secó a vacío dando el ácido (67) (rendimiento 0,1 g).

Preparación de 6-cloro-3-oxotetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3a,S,6S,6a,S)-(9H-fluoren-9-il)metilo

(71). Siguiendo el Esquema 17.

(i) Preparación de 6-cloro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3R, 3aR, 6S, 6aS)-bencilo (68).



5

Esquema 17. (a) LiCl, DMF, 130 °C; (b) Pd-C, H<sub>2</sub>, etanol; (c) Fmoc-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (d) peryodiano de Dess-Martin, DCM anhidro; (e) LiCl, DMF, 130 °C; (f) Cbz-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O.

10 Se añadió cloruro de litio (2,38 g, 56,2 mmol) a una solución agitada de 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3R, 3aR, 6R, 6aS)-bencilo (34b) (2,435 g, 5,62 mmol) en dimetilformamida (75 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 130 °C durante 7 horas y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con diclorometano (100 ml), luego se añadió agua (50 ml) y la mezcla se filtró a través de Celite (la torta del filtro se lavó con diclorometano). El filtrado se separó, la fase orgánica se lavó con agua (2 x 50 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (1,54 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 60 : 40 dio el alcohol (68) (1,28 g, 77 %) como un sólido naranja-pardo. TLC (*R<sub>f</sub>* = 0,40, EtOAc : heptano 2 : 1), HPLC analítica, único pico principal, *R<sub>t</sub>* = 11,47 min., HPLC-MS 298,1 / 300,1 [M + H]<sup>+</sup>, 617,1 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>23,0</sup> -72,8° (c = 2,61, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 2 : 1; 1,78 y 2,24 (aproximadamente 1H total, cada s ancho, OH), 3,58-3,63 (1H, m, 1 x CbzNCH<sub>2</sub>), 3,83-3,88 (2H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,91 (0,66H, d, *J* = 13,08 Hz, 1 x CbzNCH<sub>2</sub>, mayoritario), 4,02 (0,33H, *J* = 13,09 Hz, 1 x CbzNCH<sub>2</sub>, minoritario), 4,24-4,26 (1H, m, CHCl), 4,39-4,42 (0,66H, m, CbzNCH minoritario y OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,43 (0,66H, d, *J* = 4,33 Hz, CbzNCH mayoritario), 4,52 (0,66H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 4,72-4,75 (1H, m, CHCHCl), 5,11-5,16 (1,66H, m, 2 x CH<sub>2</sub>Ph mayoritario y 1 x CH<sub>2</sub>Ph minoritario), 5,24 (0,33H, d, *J* = 12,29 Hz 1 x CH<sub>2</sub>Ph minoritario), 7,29-7,37 (5H, m, CH fenilo); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 53,57/53,74 (CbzNCH<sub>2</sub>), 57,91 / 58,38 (CHCl), 67,53 / 67,58 (CH<sub>2</sub>Ph), 67,69/68,64 (CbzNCH), 75,06/75,93 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 75,12 / 75,18 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 86,66/87,59 (CHCHCl), 127,85, 127,90, 128,24, 128,32, 128,56 y 128,69 (CH aromático), 135,97/136,15 (Cbz cuaternario), 154,41 / 154,96 (Cbz C=O).

15 (ii) 6-Cloro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3R, 3aR, 6S, 6aS)-(9H-Fluoren-9-il)metilo (70). Se añadió etanol (8,5 ml) gota a gota a una mezcla de paladio al 10 % sobre carbón (55 mg) y alcohol (68) (550 mg, 1,85 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se sustituyó el argón por hidrógeno y se agitó seguidamente la suspensión durante 1 hora 35 minutos antes de filtrar la mezcla a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol (45 ml) luego se eliminaron los disolventes a vacío del filtrado. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (3x5 ml) obteniendo (3R, 3aR, 6S, 6aS)-6-clorohexahidro-2H-furo[3,2-b]pirrol-3-ol (69) que se usó sin purificación posterior.

35

Una solución de carbonato sódico (0,49 g, 4,63 mmol) en agua (7,5 ml) seguida por una solución de cloruro de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (0,55 g, 2,13 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 ml) se añadió gota a gota durante 15 minutos mientras se agitaba a una solución del aminoalcohol (69) en 1,4-dioxano (5 ml). La mezcla se agitó durante 60 minutos, luego se añadió agua (50 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (3 x 25 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un aceite incoloro. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 10 : 90 hasta 45 : 55 dio el alcohol (70) (623 mg, 87 %) como un sólido blanco. TLC (*R<sub>f</sub>* = 0,45, EtOAc : heptano 1 : 1), HPLC analítica, único pico principal, *R<sub>t</sub>* = 16,54 min., HPLC-MS 386,1 / 388,1 [M + H]<sup>+</sup>, 408,1 / 410,1 [M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>27,5</sup> -51,9° (c = 2,31, CHCl<sub>3</sub>); (complejo de protón) δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 47,21 / 47,41 (Fmoc CH), 53,30 / 53,43 (FmocNCH<sub>2</sub>), 57,74 / 58,36 (CHCl), 66,04 / 67,42 (Fmoc CH<sub>2</sub>), 67,87 / 68,52 (FmocNCH), 74,81 / 75,09 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 74,92 / 75,51 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 86,57 / 87,24 (CHCHCl), 119,80 / 119,82 / 120,00 / 120,64 / 124,55 / 124,63 / 124,90 / 127,04 / 127,08 / 127,40 / 127,51 / 127,78 / 127,80 / 127,87 y 127,91 (aromático CH), 141,21 / 141,29 / 141,38 / 143,44 / 143,70 / 143,88 y 143,91 (aromático cuaternario), 154,13 / 154,79 (Fmoc C=O).

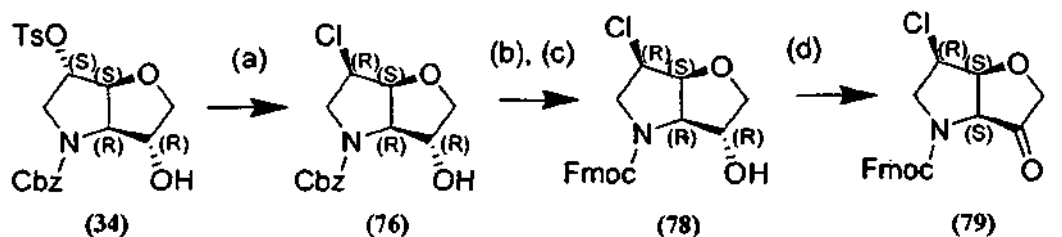
45

(iii) 6-Cloro-3-oxotetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*a*S, 6*S*, 6*a*S)-(9*H*-Fluoren-9-il)metilo (71). Se añadió peryodinato de Dess-Martin (1,32 g, 3,11 mmol) a una solución agitada de alcohol (70) (600 mg, 1,56 mmol) en diclorometano (15 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se agitó durante 19 horas, se diluyó con diclorometano (50 ml) y se lavó entonces con una mezcla de bicarbonato sódico acuoso saturado y solución 0,25M de tiosulfato sódico (1 : 1, 30 ml), bicarbonato sódico acuoso saturado (25 ml), salmuera (25 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío obteniendo un sólido blanco (935 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 15 : 85 hasta 100 : 0 dio cetona (71) (506 mg, 85 %) como un sólido blanco contaminado con ácido 2-yodosilbenzoico (< 5 %). TLC (*R<sub>f</sub>*= 0,35, EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal, *R<sub>t</sub>* = 15,81 min., HPLC-MS 384,1 / 386,1 [M + H]<sup>+</sup>, 406,1 / 408,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 424,1 / 426,1 [M + H<sub>2</sub>O Na]<sup>+</sup>, 789,1 / 791,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>25,5</sup> -144,6° (c = 2,18, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 0,55 : 0,45; 3,75-3,89 (1H, m, 1 x FmocNCH<sub>2</sub>), 3,93-4,03 (1,55H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O y 1 x FmocNCH<sub>2</sub> mayoritario), 4,12-4,22 (1,45H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O y 1 x FmocNCH<sub>2</sub> minoritario), 4,25 (0,55H, t ancho, *J* = 6,72 Hz, Fmoc CH mayoritario), 4,30-4,44 (2,45H, m, CHCl, 1 x FmocNCH<sub>2</sub> y Fmoc CH minoritario), 4,45 (0,45H, d, *J* = 4,46 Hz, FmocNCH minoritario), 4,50-4,58 (1,55H, m, 1 x Fmoc CH<sub>2</sub> y FmocNCH mayoritario), 4,85 (0,55H, d, *J* = 4,44 Hz, CHCHCl mayoritario), 4,90 (0,45H, d, *J* = 4,41 Hz, CHCHCl minoritario), 7,27-7,76 (8H, CH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 47,09 / 47,13 (Fmoc CH), 53,43 / 53,66 (FmocNCH<sub>2</sub>), 57,60 / 58,09 (CHCl), 60,47 / 60,87 (FmocNCH), 67,86 / 68,56 (Fmoc CH<sub>2</sub>), 70,75 (OCH<sub>2</sub>C=O), 86,32 / 87,32 (CHCHCl), 119,93 / 119,99 / 120,08 / 124,87 / 124,94 / 125,17 / 125,36 / 127,09 / 127,71 y 127,74 (CH aromático), 141,28 / 141,32 / 143,51 / 143,63 y 144,16 (aromático cuaternario), 154,88 / 154,94 (Fmoc C=O), 206,45 / 206,64 (OCH<sub>2</sub>C=O).

Preparación alternativa de 6-cloro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*a*R, 6*S*, 6*a*S)-bencilo (68). Se añadió cloruro de litio (142 mg, 3,34 mmol) a una solución agitada de 4-metilbencenosulfonato de (3*R*, 3*a*R, 6*R*, 6*a*S) 3-hidroxi-hexahidro-2H-furo[3,2-b]pirrol-6-ilo (74) (100 mg, 0,33 mmol) en dimetilformamida (3 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 130 °C durante 2,75 horas y luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente dando una solución que contenía el 6-cloroaminoalcohol (69). Se añadió una solución de carbonato sódico (89 mg, 0,84 mmol) en agua (1,5 ml) seguida por cloroformiato de bencilo (0,105 ml, 0,74 mmol). La mezcla se agitó durante 35 minutos y luego se añadieron diclorometano (10 ml) y agua (15 ml). Se separó la fase orgánica y la acuosa se extrajo con diclorometano (2x5 ml). La fase orgánica reunida se lavó con salmuera (5 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo negro (97 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 5 : 95 hasta 50 : 50 dio el 6-cloroalcohol (68) (48 mg, 48 %) como un aceite amarillo pálido. TLC (*R<sub>f</sub>*= 0,30, EtOAc : heptano 3 : 2), HPLC analítica, único pico principal, *R<sub>t</sub>* = 11,47 min., HPLC-MS 298,0 / 300,0 [M + H]<sup>+</sup>, 617,1 / 619,1 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -76,9° (c = 4,81, CHCl<sub>3</sub>).

Preparación de 6-cloro-3-oxotetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*a*S, 6*R*, 6*a*S)-(9*H*-Fluoren-9-il)metilo (79). Siguiendo el Esquema 18.

(i) Preparación de 6-cloro-3-hidroxitetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*a*R, 6*R*, 6*a*S)-bencilo (76).



40

Esquema 18. (a) LiCl, DMF, 140 °C; (b) Pd-C, H<sub>2</sub>, etanol; (c) Fmoc-Cl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, H<sub>2</sub>O; (d) peryodinato de Dess-Martin, DCM anhidro.

Se añadió cloruro de litio (1,37 g, 32,3 mmol) a una solución agitada de 3-hidroxi-6-(tosiloxi)tetrahydro-2H-furo[3,2-b]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*a*R, 6*S*, 6*a*S)-bencilo (34) (2,435g, 5,62 mmol) en dimetilformamida (25 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 140 °C durante 4,25 horas, luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano (75 ml) y agua (50 ml). La mezcla se filtró a través de Celite (la torta del filtro se lavó con diclorometano, 50 ml) y luego se separó el filtrado. La fase orgánica se lavó con agua (2 x 75 ml), luego se añadió agua (75 ml) y la mezcla se filtró a través de Celite (la torta del filtro se lavó con diclorometano, 50 ml). El filtrado se separó, la fase orgánica se lavó con agua (75 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo (0,34 g). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 0 : 100 hasta 50 : 50 dio el alcohol (76) (156 mg, 16 %) como un aceite verde-negro. TLC (*R<sub>f</sub>*= 0,35, EtOAc : heptano 2 : 1), HPLC analítica, único pico principal, *R<sub>t</sub>* = 11,01 min., HPLC-MS 298,1 / 300,1 [M + H]<sup>+</sup>, 320,1 / 322,0 [M + Na]<sup>+</sup>, 617,1 / 619,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>23,0</sup> -18,0° (c = 4,16, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 2 : 1; 2,19 (0,33H, d, *J* = 3,99 Hz, OH minoritario), 2,94 (0,66H, d, *J* = 3,16 Hz, OH mayoritario), 3,22-3,35 (1H, m, 1 x CbzNCH<sub>2</sub>), 3,84-3,91 (1H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,98-4,16 (3H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH, 1 x CbzNCH<sub>2</sub> y CHCl), 4,23 (1H, d, *J* = 4,68 Hz, CbzNCH), 4,42 (0,33H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,53 (0,66H, d ancho, *J* = 2,83 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH

55

mayoritario), 4,69 (1H, t ancho,  $J = 4,37$  Hz, CHCHCl), 5,08-5,22 (2H, m, CH<sub>2</sub>Ph), 7,31-7,39 (5H, m, CH fenilo);  $\delta_c$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 51,09 / 51,14 (CbzNCH<sub>2</sub>), 54,98 / 55,28 (CHCl), 67,62 / 67,68 (CH<sub>2</sub>Ph), 68,82 / 69,65 (CbzNCH), 75,36 / 75,51 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 76,39 / 77,26 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 81,34 / 82,19 (CHCHCl), 128,07, 128,10, 128,38, 128,49, 128,61 y 128,75 (CH aromático), 135,84/136,96 (Cbz cuaternario), 153,67 / 154,46 (Cbz C=O).

5

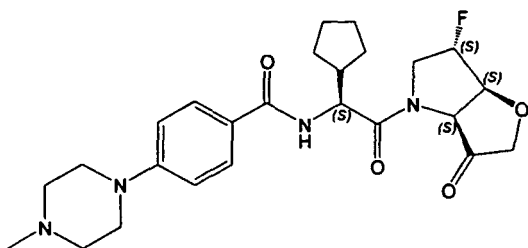
(ii) Preparación de 6-cloro-3-hidroxitetrahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-(9H-fluoren-9-il)metilo (78). Se añadió etanol (3,5 ml) gota a gota a una mezcla de paladio al 10 % sobre carbón (25 mg) y 6-cloro-3-hidroxitetrahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5H)-carboxilato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-bencilo (198 mg, 0,67 mmol) bajo una atmósfera de argón. Se sustituyó el argón por hidrógeno y se agitó seguidamente la suspensión durante 4,5 horas antes de filtrar la mezcla a través de Celite a vacío. La torta del filtro se lavó con etanol (20 ml) luego se eliminaron los disolventes a vacío del filtrado. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (3x5 ml) obteniendo (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-6-clorohexahidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol (77) que se usó sin purificación posterior. Se añadieron una solución de carbonato sódico (155 mg, 1,46 mmol) en agua (2,5 ml), luego una solución de cloruro de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (189 mg, 0,73 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 ml) mientras se agitaba a una solución del aminoalcohol (77) en 1,4-dioxano (1 ml). La mezcla se agitó durante 65 minutos, luego se añadió agua (20 ml) y el producto se extrajo en diclorometano (3x10 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando un residuo. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 10 : 90 hasta 50 : 50 dio el alcohol (78) (194 mg, 76 %) como un sólido blanco. TLC ( $R_f = 0,45$ , EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t = 15,51$  min., HPLC-MS 386,1 / 388,1 [M + H]<sup>+</sup>, 408,1 / 410,1 [M + Na]<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23,0</sup> -7,46° (c = 2,01, CHCl<sub>3</sub>);  $\delta_H$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros 1 : 1; 1,15 (0,5H, s, OH), 3,05 (0,5H, t,  $J = 9,58$  Hz, FmocNCH<sub>2</sub>), 3,09 (0,5H, s, OH), 3,23 (0,5H, t,  $J = 10,38$  Hz, FmocNCH<sub>2</sub>), 3,43 (0,5H, d,  $J = 4,37$  Hz, FmocNCH), 3,53 (0,5H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,62 (0,5H, dd,  $J = 10,20$  y 1,92 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,75 (0,5H, dd,  $J = 10,21$  y 4,53 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH), 3,84-3,97 (2H, m, 1 x FmocNCH<sub>2</sub>, 0,5 x OCH<sub>2</sub>CHOH y 0,5 x CHCl), 4,02 (0,5H, dd,  $J = 9,96$  y 4,65 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOH), 4,06-4,12 (0,5H, m, CHCl), 4,15-4,26 (1,5H, m, Fmoc CH y 0,5 x FmocNCH), 4,39-4,46 (1,5H, m, 0,5 x OCH<sub>2</sub>CHOH, 0,5 x Fmoc CH<sub>2</sub> y 0,5xCHCHCl), 4,50 (0,5H, dd,  $J = 10,64$  y 6,70 Hz, FmocCH<sub>2</sub>), 4,67 (0,5H, t,  $J = 4,29$  Hz, CHCHCl), 4,75 (0,5H, dd,  $J = 10,86$  y 3,69 Hz, Fmoc CH<sub>2</sub>), 4,82 (0,5H, dd,  $J = 10,82$  y 3,97 Hz, Fmoc CH<sub>2</sub>), 7,30-7,81 (8H, aromático CH);  $\delta_c$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 47,22 / 47,41 (Fmoc CH), 50,55 / 50,93 (FmocNCH<sub>2</sub>), 54,60 / 55,28 (CHCl), 65,94 / 67,60 (Fmoc CH<sub>2</sub>), 69,08 / 69,56 (FmocNCH), 75,00 / 75,35 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 76,23/76,86 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 81,27/81,84 (CHCHCl), 119,87 / 119,92 / 120,09 / 124,42 / 124,46 / 124,82 / 124,88 / 127,10 / 127,50 / 127,51 / 127,89 / 127,96 / 127,98 / 128,53 y 128,65 (CH aromático), 141,24 / 141,36 / 141,44 / 143,44 / 143,57 / 143,83 y 143,84 (aromático cuaternario), 153,41 / 154,42 (Fmoc C=O).

(iii) Se añadió peryodinano de Dess-Martin (383 mg, 0,90 mmol) a una solución agitada del alcohol (78) (174 mg, 0,45 mmol) en diclorometano (4 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se agitó durante 19 horas, luego se diluyó con diclorometano (20 ml), se lavó con una mezcla de bicarbonato sódico acuoso saturado y solución 0,25M de tiosulfato sódico (1 : 1, 10 ml), bicarbonato sódico acuoso saturado (10 ml), salmuera (10 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío obteniendo un sólido blanco (310 mg). La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 20 : 80 hasta 40 : 60 dio cetona (79) (141 mg, 82 %) como un sólido blanco. TLC ( $R_f = 0,35$ , EtOAc : heptano 1:1), HPLC analítica, único pico principal,  $R_t = 15,04$  min., HPLC-MS 384,1 / 386,1 [M + H]<sup>+</sup>, 406,1 / 408,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 424,1 / 426,1 [M + H<sub>2</sub>O + Na]<sup>+</sup>, 789,1 / 791,2 [2M + Na]<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23,5</sup> -101,2° (c = 2,03, CHCl<sub>3</sub>);  $\delta_H$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3,49 (1H, s ancho, FmocNCH<sub>2</sub>), 3,92 (0,5H, s ancho, FmocNCH<sub>2</sub>), 4,09-4,13 (1H, m, OCH<sub>2</sub>C=O), 4,13-4,49 (5,5H, m, 0,5 x FmocNCH<sub>2</sub>, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O, FmocNCH, CHCHCl, Fmoc CH y 1 x Fmoc CH<sub>2</sub>), 4,50-4,61 (1H, m, 1 x Fmoc CH<sub>2</sub>), 4,88 (1H, s ancho, CHCHCl), 7,27-7,76 (8H, aromático CH);  $\delta_c$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 47,07 / 47,16 (Fmoc CH), 51,33 / 51,50 (FmocNCH<sub>2</sub>), 55,36 / 55,77 (CHCl), 60,94 / 61,26 (FmocNCH), 67,94 / 68,44 (Fmoc CH<sub>2</sub>), 71,31 (OCH<sub>2</sub>C=O), 80,38/81,22 (CHCHCl), 119,98 / 124,88/125,12 / 125,31 / 127,09 / 127,14 y 127,82 (CH aromático), 141,32 / 143,42 / 143,70 y 144,15 (aromático cuaternario), 154,46 (Fmoc C=O), 206,85 / 206,96 (OCH<sub>2</sub>C=O).

#### Química en fase sólida

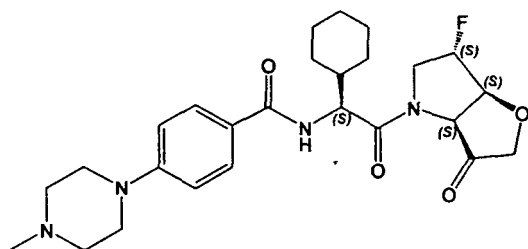
Se utilizan bloques de construcción de Fmoc-cetona (por ejemplo cetona (63, 71 y 79)) en una síntesis en fase sólida de inhibidores ejemplo (1-9) de fórmula general I. Los procedimientos usados eran directamente análogos a los descritos con detalle en el documento WO02057270, usando el enlazador basado en trifluoroacetato del ácido 4-[[hidrazinocarbonil]amino]metil]ciclohexano carboxílico, cubiertas para fase sólida (de Mimotopes), química convencional Fmoc y ruptura acidolítica seguida por purificación por HPLC semipreparativa (véase el documento WO02057270 página 124-127 para los detalles genéricos completos). Ejemplos alternativos de la invención se pueden preparar fácilmente por los procedimientos generales detallados en el documento WO02057270 mediante el uso del bloque de construcción requerido de Fmoc-cetona, Fmoc-ciclopentilglicina o Fmoc-ciclohexilglicina y el ácido carboxílico P3 activado apropiado. Cada análogo purificado se analizó dando los siguientes datos de caracterización:

Ejemplo 1. *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2H-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5H,6H,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida



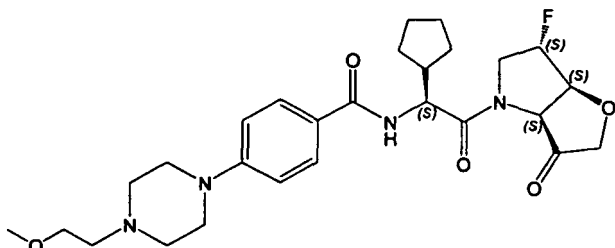
HPLC-MS  $R_t = 3,00$  min, 473,1 [M + H]<sup>+</sup>, 491,3 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

- 5 Ejemplo 2. *N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3a*S*,6*S*,6a*S*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6a*H*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida



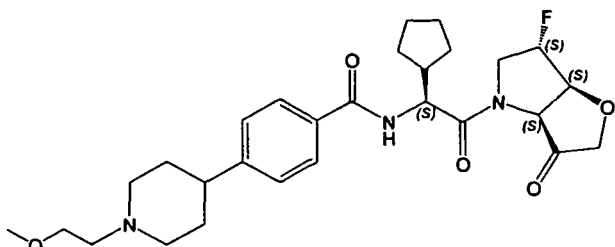
- 10 HPLC-MS  $R_t = 3,87$  min, 487,2 [M + H]<sup>+</sup>, 505,2 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

Ejemplo 3. *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3a*S*,6*S*,6a*S*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6a*H*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)benzamida



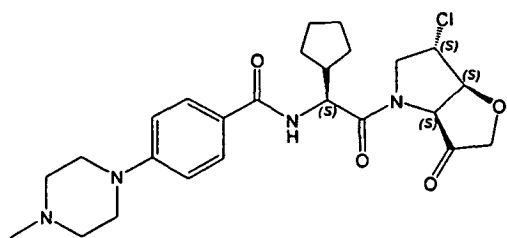
- 15 HPLC-MS  $R_t = 3,19$  min, 517,2 [M + H]<sup>+</sup>, 535,3 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

20 Ejemplo 4. *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3a*S*,6*S*,6a*S*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6a*H*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)benzamida



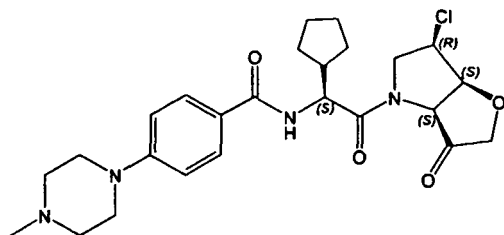
- 25 HPLC-MS  $R_t = 3,44$  min, 516,3 [M + H]<sup>+</sup>, 534,3 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

Ejemplo 5. *N*-((*S*)-2-((3a*S*,6*S*,6a*S*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6a*H*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida



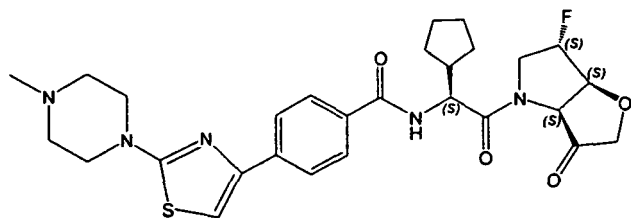
HPLC-MS  $R_t = 3,80$  min, 489,2/491,2 [M + H]<sup>+</sup>, 507,2/509,2 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

- 5 Ejemplo 6. *N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*R*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida



- 10 HPLC-MS  $R_t = 3,77$  min, 489,2/491,2 [M + H]<sup>+</sup>, 507,2/509,2 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

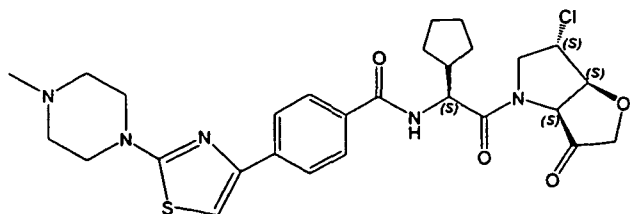
Ejemplo 7. *N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida



15

HPLC-MS  $R_t = 4,33$  min, 556,2 [M + H]<sup>+</sup>, 574,2 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

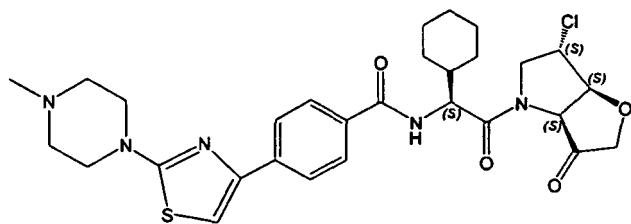
- 20 Ejemplo 8. *N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida



25

HPLC-MS  $R_t = 4,4$  min, 572,2/574,2 [M + H]<sup>+</sup>, 590,1/592,1 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

Ejemplo 9. *N*-((*S*)-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-1-ciclohexil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida

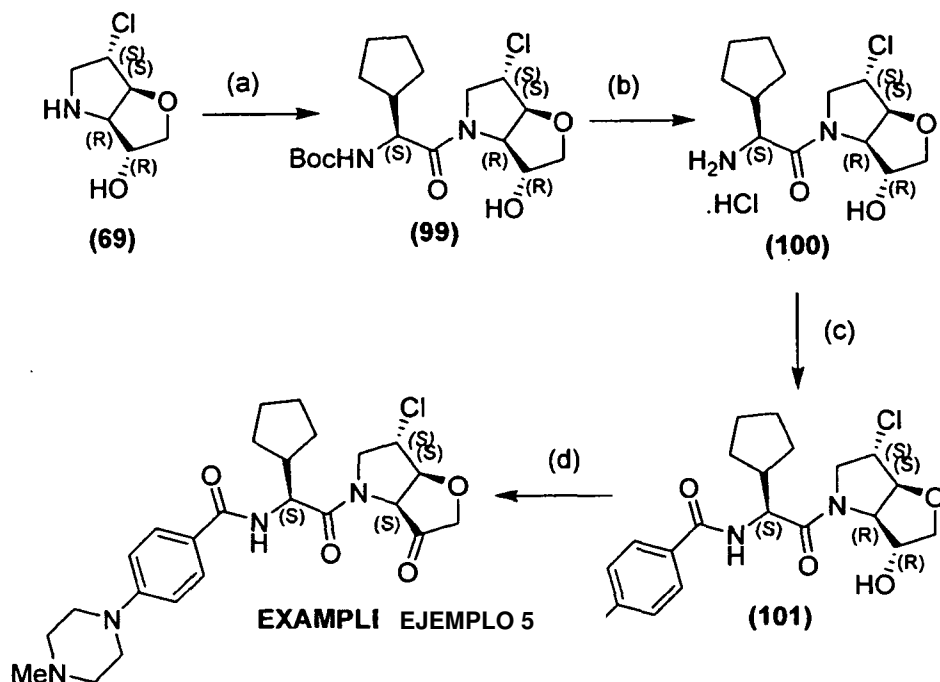


HPLC-MS  $R_t = 4,7$  min, 586,2/588,2 [M + H]<sup>+</sup>, 604,2/606,2 [M + H + 18]<sup>+</sup>.

## 5 Química en solución

De forma alternativa, la base libre o la sal clorhidrato del bloque de construcción del alcohol bicíclico (por ejemplo clorhidrato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-fluorohexahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol o clorhidrato de (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-clorohexahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol (69) o clorhidrato de (3*R*, 3*aR*, 6*R*, 6*aS*)-6-clorohexahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol se usan en una síntesis en solución de compuesto de fórmula general I como sigue;

Preparación de *N*-((*S*)-2-((3*aS*, 6*S*, 6*aS*)-6-Chloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*, 6*H*, 6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida (ejemplo 5). Siguiendo el Esquema 19.



15

Esquema 19. (a) Boc-Cpg-F, DMF; o Boc-Cpg-OH, HBTU, HOBT, NMM, DMF; (b) HCl, 1,4-dioxano; (c) ácido 4-(4-metilpiperazin-1-il)benzoico, HBTU, HOBT, NMM, DMF; (d) peryodiano de Dess-Martin, DCM.

20 (i) (*S*)-2-((3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-cloro-3-hidroxidihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*, 6*H*, 6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetilcarbamato de *tert*-butilo (99). Una solución de 1-ciclopentil-2-fluoro-2-oxoetilcarbamato de (*S*)-*tert*-butilo (4,77 g, 19,47 mmol) en dimetilformamida (15 ml) se añadió bajo argón a (3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-clorohexahidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ol (69) (se suponen 18,54 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas y luego se eliminaron los disolventes a vacío. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo : heptano 10 : 90, hasta 50 : 50 dio el alcohol (99) como un sólido blanco (3,56 g, 49 %). TLC ( $R_f = 0,45$ , EtOAc : heptano 2 : 1), HPLC-MS 333,1 / 335,1 [M + 2*H*-*t*Bu]<sup>+</sup>, 389,2 / 391,2 [M + H]<sup>+</sup>, 411,2 / 413,2 [M + Na]<sup>+</sup>, 799,3 / 801,3 [2M + Na]<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20,5</sup> -46,7° 2,03, CHCl<sub>3</sub>;  $\delta_H$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 7 : 3; 1,10-1,82 (8H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1,40 (9H, s, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2,14-2,25 (1H, m, BocNHCHCH), 3,56-3,63 (1,4H, m, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario y 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario), 3,78 (0,3H, dd, *J* = 12,14 y 3,82 Hz, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 3,83-3,90 (0,6H, m, 2xOCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,10-4,15 (1,4H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario y 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario), 4,22 (0,3H, t, *J* = 8,96 Hz, BocNHCH minoritario), 4,24-4,29 (1,4H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario y NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario), 4,29-4,34 (0,3H, m, NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 4,33 (0,3H, d, *J* = 4,41 Hz, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 4,40 (0,7H, t, *J* =



9,88 Hz, BocNHCH mayoritario), 4,40-4,42 (0,3H, s ancho, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,52 (0,7H, dd, *J* = 5,34 y 1,01 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOHCH mayoritario), 4,60 (0,3H, d, *J* = 4,40 Hz, OCH<sub>2</sub>CHOHCH minoritario), 4,72 (1H, d, *J* = 5,23 Hz, OCHCHCl), 5,30 (0,3H, d ancho, *J* = 5,08 Hz, NH minoritario), 5,34 (0,7H, d ancho, *J* = 10,06 Hz, NH mayoritario); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 24,74 / 24,95 / 25,38 / 28,41 / 28,88 / 29,16 y 29,32 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 28,24 / 28,29 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 42,57 / 43,67 (BocNHCHCH), 52,16 / 53,92 (NCH<sub>2</sub>CHCl), 55,44 / 55,68 (BocNHCH), 57,02 / 58,30 (CHCl), 68,64 / 69,82 (OCH<sub>2</sub>CHOHCH), 73,69 / 75,20 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 74,97 / 77,25 (CHOH), 80,81 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 85,88 / 88,30 (OCHCHCl), 155,57 / 156,49 (Boc C=O), 171,98 / 172,44 (CH<sub>2</sub>NC=O).

(ii) Preparación de clorhidrato de (S)-2-amino-1-((3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-cloro-3-hidroxi-dihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*, 6*H*, 6*aH*)-il)-2-ciclopentil-etanona (100). Se añadió una solución de HCl en 1,4-dioxano (4,0M, 45 ml, 180 mmol) a Boc-alcohol (99) (3,54 g, 9,11 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas 15 minutos, luego se eliminaron los disolventes a vacío y el residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (3 x 25 ml) dejando la sal clorhidrato (100) como un sólido blanco que se usó sin purificación posterior (se supone cuantitativa). TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,0, EtOAc : heptano 3 : 1), HPLC-MS 289,1 / 291,1 [M + H]<sup>+</sup>, 599,2 [2M + Na]<sup>+</sup>.

(iii) Preparación de *N*-((S)-2-((3*R*, 3*aR*, 6*S*, 6*aS*)-6-cloro-3-hidroxi-dihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*, 6*H*, 6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida (101). Se añadió 4-metilmorfolina (2,09 ml, 19,14 mmol) a una suspensión de hexafluorofosfato de 2-(1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HBTU, 3,63 g, 9,57 mmol), 1-hidroxibenzotriazol monohidrato (1,46 g, 9,57 mmol) y ácido 4-(4-metilpiperazin-1-il)benzoico (2,21 g, 10,02 mmol, de Maybridge) en dimetilformamida (15 ml). La suspensión se agitó y se sometió a ultrasonidos durante 5 minutos antes de añadirla a una solución de sal clorhidrato (100) (preparada como antes, se suponen 9,11 mmol) en dimetilformamida (10 ml). El matraz de reacción con el ácido activado se aclaró en la mezcla de reacción bruta con una alícuota adicional de dimetilformamida (10 ml). La reacción se agitó durante 19 horas y luego se eliminaron a vacío la mayoría de los disolventes. El residuo se disolvió en diclorometano (200 ml) y se lavó con solución saturada de hidrogenocarbonato sódico (200 ml). La fase acuosa se extrajo con diclorometano (1 x 100 ml luego 1 x 50 ml), se lavaron las fases orgánicas reunidas con salmuera (100 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío. La cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con mezclas de metanol : diclorometano 1 : 99 hasta 7 : 93 dio el alcohol (101) como un sólido naranja (3,57 g, 80 %). TLC (*R*<sub>f</sub> = 0,25-0,30 doble mancha, MeOH : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 4 : 96), HPLC analítica, pico principal ancho, *R*<sub>t</sub> = 9,60-10,96 min., HPLC-MS 491,2 / 493,2 [M + H]<sup>+</sup>, 1003,4 [2M + Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> -36,9° (c = 2,04, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 4 : 1; 1,20-1,85 (8H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2,29-2,42 (1H, m, NHCHCH), 2,33 (3H s, NCH<sub>3</sub>), 2,54 (4H, t ancho, *J* = 5,66 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 3,27-3,33 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 3,56-3,63 (1,6H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario y 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario), 3,82-3,91 (0,4H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario y 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 4,08-4,13 (1H, m, 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario y 1 x OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,15 (0,8H, dd, *J* = 13,63 y 1,10 Hz, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario), 4,27 (0,8H, d, *J* = 3,73 Hz, CHCl mayoritario), 4,31-4,35 (1H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH mayoritario y CHCl minoritario), 4,38 (0,2H, d, *J* = 12,1 Hz, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 4,46-4,48 (0,2H, m, OCH<sub>2</sub>CHOH minoritario), 4,59-4,63 (1H, m, OCH<sub>2</sub>CHOHCH), 4,76 (0,2H, d, *J* = 5,2 Hz, OCHCHCl minoritario), 4,73 (0,8H, d, *J* = 5,22 Hz, OCHCHCl mayoritario), 4,80 (0,2H, t, *J* = 9,8 Hz, NHCH minoritario), 4,99 (0,8H, t, *J* = 9,79 Hz, NHCH mayoritario), 6,76 (0,2H, d, *J* = 9,7 Hz, NH minoritario), 6,81 (0,8H, d, *J* = 9,71 Hz, NH mayoritario), 6,83-6,88 (2H, m, CH aromático), 7,67-7,71 (2H, m, CH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 24,71 / 25,37 / 29,00 y 29,32 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 42,96 / 43,94 (NHCHCH), 46,11 (NCH<sub>3</sub>), 47,56 / 47,72 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 52,22 (NCH<sub>2</sub>CHCl), 54,34 / 54,76 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 54,46 / 54,71 (NHCH), 57,02 / 58,22 (CHCl), 68,67 / 69,99 (OCH<sub>2</sub>CHOHCH), 73,79 (OCH<sub>2</sub>CHOH), 74,83 / 78,38 (CHOH), 85,87 / 88,29 (OCHCHCl), 114,01 / 114,13 / 128,57 y 128,78 (CH aromático), 122,29 / 123,34 (aromático cuaternario), 153,43 / 153,72 (aromático cuaternario), 166,64 / 167,36 (NHC=O), 171,72 / 172,25 (CH<sub>2</sub>NC=O).

(iv) *N*-((S)-2-((3*aS*, 6*S*, 6*aS*)-6-Chloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*, 6*H*, 6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida (ejemplo 5). Se añadió peryodinano de Dess-Martin (6,00g, 14,15 mmol) a una solución agitada del alcohol (101) (3,47 g, 7,07 mmol) en diclorometano (80 ml) bajo una atmósfera de argón. La mezcla se agitó durante 21,5 horas y luego se diluyó con diclorometano (550 ml). La fase orgánica se lavó con solución acuosa de hidróxido sódico (1M, 210 ml) luego se extrajo la fase acuosa con diclorometano (210 ml). La fase orgánica se lavó con solución acuosa de hidróxido sódico (1M, 210 ml), salmuera (210 ml), luego se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se redujo a vacío dejando *N*-((S)-2-((3*aS*, 6*S*, 6*aS*)-6-cloro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*, 6*H*, 6*aH*)-il)-1-ciclopentil-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida como un sólido naranja pálido (2,62 g, 76 %). HPLC analítica, pico principal ancho, *R*<sub>t</sub> = 9,50-11,30 min., HPLC-MS 3,80 min. 489,1 / 491,2 [M + H]<sup>+</sup>, 507,2 / 509,2 [M + H<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup>, [α]<sub>D</sub><sup>24,0</sup> -91,0° (c = 2,58, CHCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub> (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) mezcla de rotámeros mayoritario : minoritario 4 : 1; 1,20-1,90 (8H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2,27-2,39 (1H, m, NHCHCH), 2,32 (3H, s ancho, NCH<sub>3</sub>), 2,53 (4H, t ancho, *J* = 4,96 Hz, CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 3,26-3,31 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 3,55-3,78 (0,2H, m, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 3,96 (0,8H, dd, *J* = 12,37 y 3,82 Hz, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario), 4,01 (0,8H, d, *J* = 17,07 Hz, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O mayoritario), 4,04 (0,2H, d, *J* = 17 Hz, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O minoritario), 4,13 (0,8H, d, *J* = 17,14 Hz, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O mayoritario), 4,20 (0,2H, d, *J* = 17 Hz, 1 x OCH<sub>2</sub>C=O minoritario), 4,25-4,32 (0,4H, m, CHCl minoritario y 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl minoritario), 4,39 (0,8H, d, *J* = 2,71 Hz, CHCl mayoritario), 4,51 (0,8H, d, *J* = 12,39 Hz, 1 x NCH<sub>2</sub>CHCl mayoritario), 4,65-4,72 (0,2H, m, NCHC=O minoritario), 4,80-4,89 (1,6H, m, OCHCHCl mayoritario y NHCH mayoritario), 4,93 (0,8H, d, *J* = 4,96 Hz, NCHC=O mayoritario), 4,97-5,01 (0,2H, m, OCHCHCl minoritario), 5,38 (0,2H, m, NHCH minoritario), 6,69-6,92 (3H, m, NH y 2 x CH aromático), 7,63-7,73 (2H, m, CH aromático); δ<sub>C</sub> (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 24,88 / 25,28 / 25,38 / 28,26 / 28,99 y 29,36 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 43,31 / 43,84 y 43,87 (NHCHCH), 46,10 (NCH<sub>3</sub>), 47,47 / 47,69 y 47,81 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 53,64 (NCH<sub>2</sub>CHCl), 54,26 (NHCH), 54,75

(NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>), 58,31 (CHCl), 60,28 / 60,31 (OCH<sub>2</sub>C(=O)CH), 68,44 (OCH<sub>2</sub>C(=O)CH hidrato), 70,94 (OCH<sub>2</sub>C=O), 77,48 (OCH<sub>2</sub>C=O hidrato), 85,63 / 87,18 y 89,64 (OCHCHCl), 102,08 (OCH<sub>2</sub>C=O hidrato), 113,95 / 114,13 / 114,17 / 128,56 / 128,60 y 128,87 (CH aromático), 122,05 / 123,34 (aromático cuaternario), 153,73 / 153,43 (aromático cuaternario), 166,68 / 167,93 (NHC=O), 172,16 / 172,41 (CH<sub>2</sub>NC=O), 206,08 / 206,46 (cetona C=O).

Formación de sal clorhidrato ejemplo.

La cetona ejemplo (base libre) (1 mmol) se disolvió en acetonitrilo (16,7 ml) y se añadió HCl 0,1 N (1,5 eq, 15 ml) estandarizado. La mezcla se congeló y se liofilizó dejando la sal clorhidrato de ejemplo como un sólido.

Ejemplo A. Ensayos para Actividad Cisteína Proteasa

Los compuestos de esta invención se pueden poner a prueba en uno de un número de ensayos bioquímicos basados en la bibliografía que se diseñan para dilucidar las características de inhibición de compuestos. Los datos a partir de estos tipos de ensayos permiten que se midan y cuantifiquen la potencia y los intervalos de reacción. Esta información, bien sola o bien en combinación con otra información, permitiría que se determine la cantidad de compuesto requerida produciendo un efecto farmacológico dado.

Medidas de Inhibición de Ki de Catepsina *in vitro*

Se prepararon soluciones madre de sustrato o inhibidor a 10 mM en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100 % (Rathburns, Glasgow, Reino Unido) y se diluyeron según se requirió apropiadamente. En todos los casos la concentración de DMSO en los ensayos se mantuvo a menos del 1 % (vol./vol.). Las constantes de inhibición en el equilibrio ( $K_i^{SS}$ ) para cada compuesto se midieron en condiciones del estado estacionario controlando la actividad enzimática como una función de concentración del inhibidor. Los valores se calcularon en la suposición de comportamiento competitivo puro (Cornish-Bowden, A. Fundamentals of enzyme kinetics Portland Press; 1995, 93-128). La catepsina K humana recombinante (0,25 nM finales; B. Turk, Josef, Stefan Institute, Ljubljana, Eslovenia), se sometió rutinariamente a ensayos en acetato de sodio 100 mM; pH 5,5 conteniendo EDTA 1 mM, L-cisteína 10 mM y Z-Leu-Arg-AMC 1,8 mM ([S]= $K_M$ ).

Medida de las constantes de unión macroscópica patente (Michaelis) ( $K_M^{app}$ ) para sustratos

La constante de unión macroscópica patente ( $K_M^{app}$ ) para cada sustrato se calculó, a partir de la dependencia de actividad enzimática como una función de concentración de sustrato. Las velocidades observadas se trazaron en el eje de las ordenadas frente a la concentración de sustrato relacionada en el eje de las abscisas y los datos se ajustaron por análisis en regresión directos (Prism v 3.02; GraphPad, San Diego, EE.UU.) usando Ecuación 1 (Cornish-Bowden, A. Fundamentals of enzyme kinetics Portland Press; 1995, 93-128).

$$v_i = \frac{V_{max}^{app} \cdot [S_o]}{[S_o] + K_M^{app}} \quad (1)$$

En la Ecuación 1 " $v_i$ " es la velocidad inicial observada, " $V_{max}^{app}$ " es la actividad máxima observada a concentración de sustrato saturada, " $K_M^{app}$ " es la constante de unión macroscópica patente (de Michaelis) para el sustrato, "[S<sub>o</sub>]" es la concentración inicial de sustrato.

Medida de las constantes de inhibición

La constante de inhibición patente ( $K_i$ ) para cada compuesto se determinó sobre la base de que la inhibición era reversible y tuvo lugar por un mecanismo competitivo puro. Los valores de  $K_i$  se calcularon a partir de la dependencia de la actividad enzimática como una función de concentración de inhibidores, por análisis de regresión directa (Prism v 3.02) usando Ecuación 2 (Cornish-Bowden, A., 1995).

$$v_i = \frac{V_{max}^{app} \cdot [S]}{[S] + \{K_M^{app} \cdot ([I] / K_i)\}} \quad (2)$$

En la Ecuación 2 " $v_i$ " es la actividad residual observada, " $V_{max}^{app}$ " es la actividad máxima observada (*es decir* en ausencia de inhibidor), " $K_M^{app}$ " es la constante de unión macroscópica patente (Michaelis) para el sustrato, "[S]" es la concentración inicial de sustrato,  $K_i'$  es la constante de disociación patente e "[I]" es la concentración de inhibidor.

En situaciones donde la constante de disociación patente ( $K_i^{app}$ ) se aproximó a las concentraciones enzimáticas, los valores de " $K_i^{app}$ " se calcularon usando una solución cuadrática en la forma descrita en la Ecuación 3 (Morrison, J.F. Trends Biochem. Sci., 7, 102-105, 1982; Morrison, J.F. Biochim. Biophys. Acta, 185, 269-286, 1969; Stone, S.R. y

Hofsteenge, J. *Biochemistry*, 25, 4622-4628, 1986).

$$v_i = \frac{F\{E_o - I_o - K_i^{app} + \sqrt{(E_o - I_o - K_i^{app})^2 + 4.K_i^{app}.E_o}\}}{2} \quad (3)$$

$$K_i^{app} = K_i(1 + [S_o] / K_M^{app}) \quad (4)$$

- 5 En la Ecuación 3 "v<sub>i</sub>" es la actividad residual observada, "F" es la diferencia entre la actividad máxima (*es decir* en ausencia de inhibidor) y la actividad enzimática mínima, "E<sub>o</sub>" es la concentración total de enzima, "K<sub>i</sub><sup>app</sup>" es la constante de disociación patente e 'I<sub>o</sub>' es la concentración de inhibidor. Las curvas se ajustaron por análisis de regresión no lineal (Prism) usando un valor fijado para la concentración enzimática. La Ecuación 4 se usó explicando las cinéticas de sustrato, donde "K<sub>i</sub>" es la constante de inhibición, "[S<sub>o</sub>]" es la concentración de sustrato inicial y "K<sub>M</sub><sup>app</sup>" es la constante de unión macroscópica patente (de Michaelis) para el sustrato (Morrison, 1982).

La velocidad de reacción de segundo orden de inhibidor con enzima

- 15 Donde fue aplicable, la dependencia de concentración de la velocidad de reacción observada (k<sub>obs</sub>) de cada compuesto con enzima se analizó determinando la velocidad de inactivación enzimática en condiciones de pseudo-primer orden en presencia de sustrato (Morrison, J.F., *TIBS*, 102-105, 1982; Tian, W.X. y Tsou, C.L., *Biochemistry*, 21, 1028-1032, 1982; Morrison, J.F. y Walsh, C.T., a partir de Meister (Ed.), *Advances in Enzymol.*, 61, 201-301, 1988; Tsou, C.L., a partir de Meister (Ed.), *Advances in Enzymol.*, 61, 381-436, 1988). Se llevaron a cabo ensayos por adición de diversas concentraciones de inhibidor a tampón de ensayo conteniendo sustrato. Se iniciaron ensayos por la adición de enzima a la mezcla de reacción y el cambio en fluorescencia sometido a seguimiento a lo largo del tiempo. Durante el curso del ensayo se consumió menos del 10 % del sustrato.

$$F = v_s t + \frac{(v_o - v_s) [1 - e^{-(k_{obs} t)}]}{k_{obs}} + D \quad (5)$$

- 25 Las curvas de progreso de fluorescencia de actividad se ajustaron por análisis de regresión no lineal (Prism) usando Eq. 5 (Morrison, 1969; Morrison, 1982); donde "F" es la respuesta de fluorescencia, "t" es tiempo, "v<sub>o</sub>" es la velocidad inicial, "v<sub>s</sub>" es la velocidad en estado estacionario en el equilibrio, "k<sub>obs</sub>" es la constante de velocidad de pseudo-primer orden observada y "D" es la ordenada en el origen a tiempo cero (*es decir* el desplazamiento en el eje de las ordenadas de la curva). La constante de velocidad de segundo orden se obtuvo a partir de la pendiente de una línea de un trazado de k<sub>obs</sub> frente a la concentración de inhibidor (*es decir* k<sub>obs</sub>/[I]). Corrigiendo las cinéticas de sustrato, se usó Eq. 6, donde "[S<sub>o</sub>]" es la concentración de sustrato inicial y "K<sub>M</sub><sup>app</sup>" es la constante de unión macroscópica patente (Michaelis) del sustrato.

$$k_{inact} = \frac{k_{obs} (1 + [S_o] / K_M^{app})}{[I]} \quad (6)$$

- 35 Los compuestos de la invención se pusieron a prueba por los ensayos anteriormente descritos y se observó que muestran actividad inhibidora de catepsina K con una constante inhibidora K<sub>i</sub> *in vitro* de menos de o igual a 100 nM.

Incubaciones de Microsomales Hepáticos

- 40 Se adquirieron microsomas hepáticos humanos y de rata de BD Gentest (Woburn, MA, EE.UU.) y se adquirió sal tetrasódica reducida de dinucleótido β-nicotinamida-adenina 2'-fosfato (NADPH) de Sigma-Aldrich (Poole, Dorset, Reino Unido). Todas las incubaciones de microsomas hepáticos se llevaron a cabo en fosfato de potasio 50 mM a pH 7,4, con una concentración de proteína microsomal final de 0,5 mg/ml. Se tomaron compuestos de soluciones madre de DMSO 5 mM y tampón de incubación diluido dando una concentración final de 25 mM, con una concentración de DMSO final de 45 0,5 % v/v. En breve, los compuestos se añadieron al tampón de incubación junto con los microsomas hepáticos y se incubaron a 37 °C durante 10 minutos. La reacción se inició después por la adición de NADPH, previamente disuelto en tampón de incubación, dando una concentración final de 1 mM y reincubándose a 37 °C. Se retiraron alícuotas a 2 y a 60 minutos y se desactivaron con un volumen igual de acetonitrilo frío. Después de mezclar vigorosamente, el material de proteína precipitada se retiró por filtración (placas de filtro Multiscreen Solvinert, Millipore, Bedford, MA, EE.UU.) y el filtrado se analizó por HPLC en fase reversa con detección espectrométrica de masas, usando seguimiento de ión individual de las especies [M+H]<sup>+</sup>. El recambio metabólico se determinó por comparación de áreas de picos de los cromatogramas iónicos del compuesto parental a 2 y a 60 minutos y se expresó como porcentaje que queda en 1 hora.

## Incubaciones de Plasma:

Se adquirió plasma humano y de rata de Innovative Research Inc. (Southfield, MI, EE.UU.). Se tomaron compuestos de soluciones madres de DMSO 5 mM y se añadieron a plasma, que se hubo incubado previamente a 37 °C, dando una concentración final de 25 mM y reincubándose. Las alícuotas se retiraron a 2 y 60 minutos y se desactivaron con un volumen igual de acetonitrilo frío. Después de mezclar vigorosamente, el material de proteína precipitada se retiró por filtración (placas de filtro Multiscreen Solvinert, Millipore; Bedford, MA, EE.UU.) y el filtrado se analizó por HPLC en fase reversa con detección espectrométrica de masas, usando seguimiento de ión individual de las especies  $[M+H]^+$ . El recambio metabólico se determinó por comparación de áreas de picos de los cromatogramas iónicos del compuesto parental a 2 y a 60 minutos y se expresó como porcentaje que queda en 1 hora.

## Determinaciones de LogD:

Se llevaron a cabo determinaciones de  $\text{LogD}_{(\text{PBS})}$  en placas de microvaloración de 96 pocillos usando un procedimiento de "matraz oscilante" miniaturizado. En resumen, se tomaron compuestos de soluciones madres de DMSO 10 mM y se añadieron a pocillos que contenían volúmenes iguales de solución salina tamponada con fosfato (10 mM; pH 7,4) (PBS) y 1-octanol (Sigma-Aldrich, Poole, Dorset, Reino Unido) dando una concentración final de 50 mM. Las placas se taparon después y se mezclaron vigorosamente durante 1 hora en un agitador de placas de microvaloración, después de lo que se dejaron reposar, permitiendo separarse a las fases de PBS y de octanol. La fase de PBS se analizó por HPLC en fase reversa con detección espectrométrica de masas, usando seguimiento de ión individual de las especies  $[M+H]^+$ .  $\text{LogD}_{(\text{PBS})}$  se determinó por comparación del área de pico del cromatograma iónico del compuesto en la fase de PBS con aquella de un estándar de 50 mM del mismo compuesto disuelto en acetonitrilo/agua (50:50) y se calculó usando la fórmula siguiente:

$$\text{LogD} = \text{Log} \left[ \frac{\text{AUC}_{\text{std}} - \text{AUC}_{\text{pbs}}}{\text{AUC}_{\text{pbs}}} \right]$$

Donde  $\text{AUC}_{\text{std}}$  y  $\text{AUC}_{\text{pbs}}$  son las áreas de picos de los cromatogramas iónicos de estándar y de prueba respectivamente. Las determinaciones de  $\text{LogD}_{(\text{PBS})}$  se hicieron también usando PBS at pH 6,9 y 5,5 ajustando el pH del tampón antes del comienzo del ensayo, con HCl 0,1 M.

## Ensayo de Resorción de Osteoclasto Humano

La resorción de hueso se estudio usando un modelo donde las células precursoras de osteoclasto humanas se cultivaron en láminas de hueso bovino durante 9 días y se dejaron diferenciarse en osteoclastos que reabsorben hueso. Se permitió después reabsorber hueso a los osteoclastos maduros formados. El ensayo se llevó a cabo por Pharmatest Services Ltd, Itäinen Pitkakatu 4C, Turku, Finlandia. Después del periodo de cultivo, los productos de degradación de colágeno óseo se cuantificaron del medio de cultivo como un índice de resorción ósea. Los compuestos inhibidores se añadieron en los cultivos celulares después del periodo de diferenciación y se determinaron sus efectos sobre la actividad de resorción de osteoclastos maduros. Los estudios incluyeron un grupo de línea base sin compuestos añadidos y un grupo de control positivo donde se añadió un inhibidor E64 de catepsina K potente.

Los monocitos de sangre periférica humana se suspendieron en medio de cultivo y se les permitió atacar láminas óseas bovinas. Las láminas de hueso se transfirieron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos que contenían medio de cultivo con cantidades apropiadas de factores de crecimiento importantes que favorecían la diferenciación de los osteoclastos, incluyendo M-CSF, ligando RANK y TGF- $\beta$ . Las células se incubaron en un incubador de CO<sub>2</sub> en atmósfera humidificada de aire al 95 % y dióxido de carbono al 5 % a 37 °C. En el día 7 cuando se completó la diferenciación osteoclástica, el medio de cultivo se reemplazó con medio de cultivo conteniendo condiciones que favorecían la actividad osteoclástica. El cultivo celular se continuó durante 2 días adicionales, durante los que se permitió a los osteoclastos maduros formados reabsorber hueso en presencia de vehículo, de inhibidor control o de compuestos de prueba. Al final del cultivo, se determinaron productos de degradación de colágeno liberados en el medio de cultivo usando un procedimiento de ELISA comercialmente disponible (CrossLaps® para cultivo, Nordic Bioscience, Herlev, Dinamarca) como un índice de resorción ósea (véase Bagger, Y. Z. y cols., J. Bone. Miner. Res. 14 (supl. 1), S370).

En este ensayo, los ejemploS seleccionados de la invención presentaron inhibición del 75 % de resorción ósea a una concentración de 1000 nM.

## Ensayo de Resorción de Osteoclastos de Rata

Se estudió resorción ósea usando un modelo donde osteoclastos maduros derivados de hueso de rata se cultivaron en láminas óseas bovinas durante 3 días y se les permitió reabsorber hueso en presencia de inhibidor, control positivo (E-64) o vehículo. Más específicamente, se retiraron tibias, fémures y húmeros de cachorros de rata de 1 día de edad. Las

superficies endosteales de los huesos se rasparon con un bisturí liberando osteoclastos en el medio de cultivo y se permitió unirse a los osteoclastos a láminas óseas bovinas. Después del periodo de cultivo, se cuantificaron productos de degradación de colágeno óseo a partir del medio de cultivo como un índice de resorción ósea. El ensayo se llevó a cabo por Pharmatest Services Ltd, Itäinen Pitkakatku 4C, Turku, Finlandia.

5

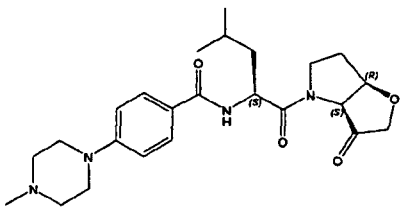
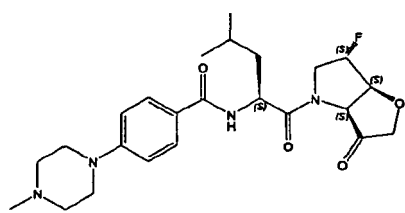
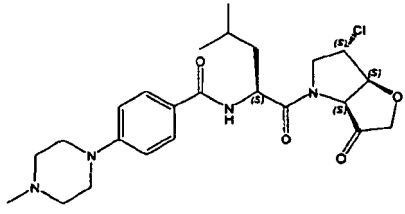
En este ensayo, los ejemplos seleccionados de la invención presentaron inhibición del 75 % de resorción ósea a una concentración de 1000 nM.

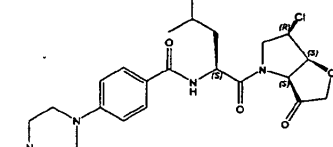
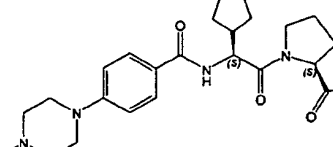
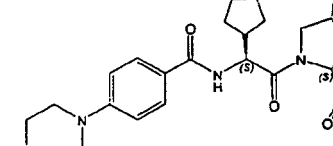
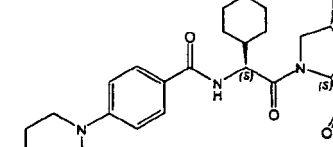
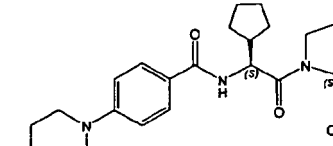
10

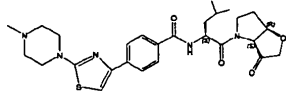
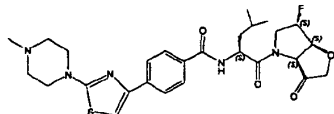
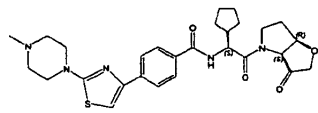
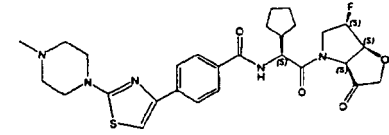
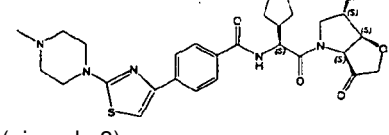
Serán patentes diversas modificaciones y variaciones de los aspectos descritos de la invención para aquellos expertos en la técnica sin apartarse del alcance de la invención. Aunque la invención se ha descrito en conexión con las realizaciones específicamente preferidas, debería entenderse que la invención según se reivindica no estaría limitada indebidamente a tales realizaciones específicas. De hecho, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos de llevar a cabo la invención que son obvias para aquellos expertos en los campos relevantes estén dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

15

tabla 1: Comparación de propiedades biológicas para los compuestos preferentes (1-9) y compuestos de la técnica anterior (42), (10), (11), (12), (13), (14), (15) y (8,19).

Ejemplo	Ki <i>In vitro</i> (nM) vs Catep K	Estabilidad en plasma humano % queda. @ 1h	HLM % queda @ 1hr	Estabilidad en plasma rata % queda. @ 1h	RLM % queda. @ 1hr	Biodisponibilidad oral en la rata (%F)	Depuración en la rata (ml/min/kg)
 <p>Compuesto de la técnica anterior 42 (Quibell, M. et. al. Bioorg. Med.Chem., 13,609-625,2005), Compuesto de la técnica anterior 45a (Quibell, M. et. al. Bioorg. Med. Chem., 12, 5689-5710, 2004);</p>	8,7	95	95	84,2	76,6	31,5	79
 <p><b>(10)</b></p> <p>Ejemplo de la técnica anterior (aunque sin ejemplificar de forma específica (Nilsson, M. et. al. documento WO05066180)</p>	3,6	100	96,8	94,2	93,6	40	81
 <p><b>(14)</b></p>	1,8	85,5	84,8	92,8	85,5	Sin datos	Sin datos

<p>Ejemplo de la técnica anterior (aunque sin ejemplificar de forma específica (Nilsson, M. et. al. documento WO05066180)</p>											
<p> <b>(15)</b></p> <p>Ejemplo de la técnica anterior (aunque sin ejemplificar de forma específica (Nilsson, M. et. al. documento WO05066180)</p>	3,7	90,3	80,3	88,9	81,6	Sin datos	Sin datos				
<p> <b>(12)</b></p> <p>Ejemplo de la técnica anterior (aunque sin ejemplificar de forma específica (Quibell, M. et. al. documento WO02057270)</p>	1,8	97,2	91,2	94,1	93,9	45	56				
<p> (ejemplo 1)</p>	1,7	96,4	100	95,9	82	88	23				
<p> (ejemplo 2)</p>	14,9	93,1	98,2	100	73,3	80	25				
<p> (ejemplo 3)</p>	0,5	97,4	85,6	96,6	81,3	37	107				

 <p>(11)</p> <p>Ejemplo de la técnica anterior (aunque sin ejemplificar de forma específica (Quibell, M. et. al. documento WO02057270)</p>	1,7	92,6	82,6	88,6	4,8	Sin datos	Sin datos
 <p>(8,19)</p> <p>Ejemplo 8,19 reivindicado en la técnica anterior (Nilsson, M. et. al. documento WO05066180, página 57)</p>	1,5	70,2	66,7	90,2	4,4	Sin datos	Sin datos
 <p>(13)</p> <p>Ejemplo de la técnica anterior (aunque sin ejemplificar de forma específica (Quibell, M. et. al. documento WO02057270)</p>	1,3	82,5	79,4	93	4,3	Sin datos	Sin datos
 <p>(ejemplo 7)</p>	0,9	96,3	74	88	3,5	Sin datos	Sin datos
 <p>(ejemplo 8)</p>	0,3	96	54,1	85,1	7,7	Sin datos	Sin datos

5 Tabla 2:  $K_i$  *in vitro* del documento WO-A-02057270 de la técnica anterior frente a catepsina K humana recombinante. Los compuestos seleccionados de la presente invención son significativamente más potentes que los detallados de forma específica en el documento WO-A-02057270 de la técnica anterior cuando se ensayan *in vitro* frente a catepsina K humana recombinante (comparar las tablas 1 y 2).

Ejemplo N° (documento WO-A-02057270)	$K_i$ (nM) vs Catepsina Humana K
1	>20000
2	>50000
3	>4000
4	>100000
5	>100000

ES 2 388 685 T3

6	>20000
7	>15000
8	390
9	90
10	87
11	1300
12	170
13	560
14	300
15	60
16	110
17	235
18	130
19	530
20	390
21	210
22	450
23	>3000
24	>2000
25	620
26	>8000
27	>20000
28	>2500
29	>17000
30	>100000
31	>1500
32	>16000
33	>36000
34	>67000
35	>32000
36	570
37	>3500
38	>4000
39	>7500
40	>3500



ES 2 388 685 T3

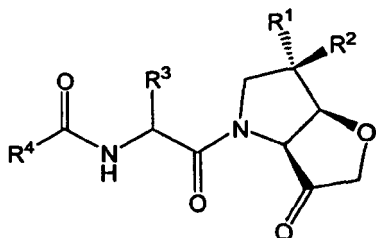
41	>45000
42	>1500
43	>25000
44	>40000
45	>8500
46	>20000
47	830
48	>6500
49	>6000
50	>10000
51	>1500
52	>25000
53	200
54	>2000
55	>2000
56	>4000
57	390
58	>23000
59	>2000
60	>20000
61	>16000
62	>10000
63	>250
64	>8000
65	100
66	>2500
67	>2000
68	>2500
69	>15000
70	>2500
71	>20000
72	>20000
73	>35000
74	>40000
75	>50000

# ES 2 388 685 T3

76	>10000
77	>100000
78	>2000
79	>200
80	>150
81	>50000
82	>50000

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o a una sal, hidrato, complejo o profármaco del mismo,



(I)

5

en la que:

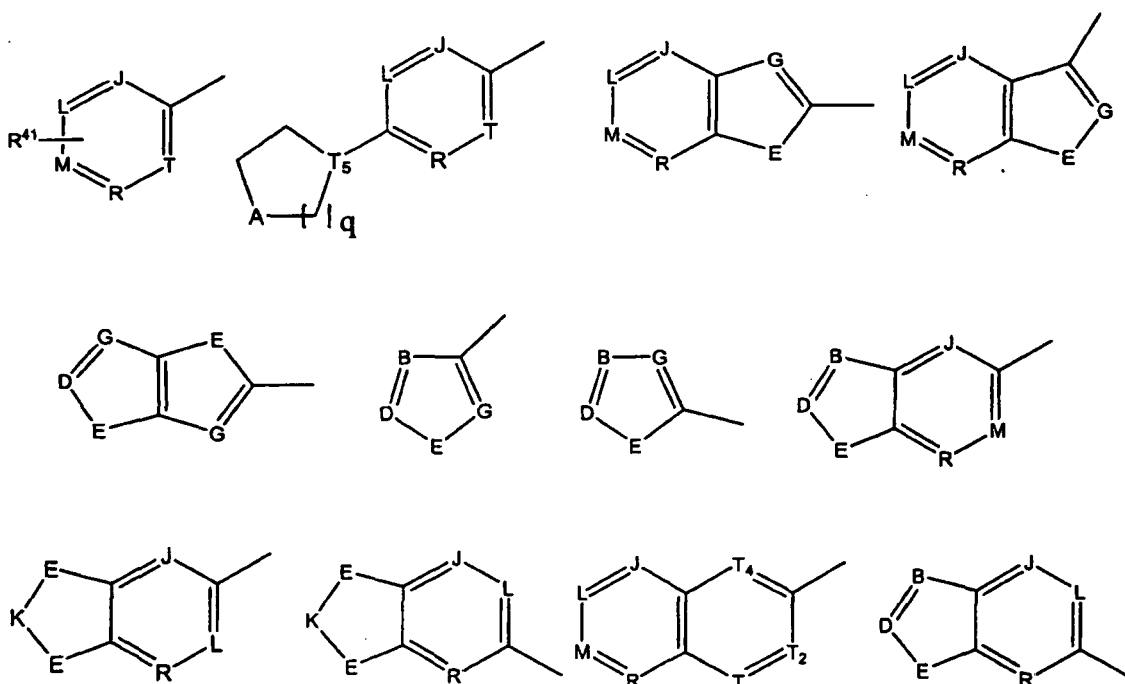
uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es H y el otro se selecciona de F y Cl, o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos F;

10

R<sup>3</sup> se selecciona de ciclopentilo y ciclohexilo;

R<sup>4</sup> es un anillo arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros monocíclico o de 8 a 10 miembros bicíclico que incluye hasta cuatro heteroátomos como se muestra a continuación:

15



20

en los que R<sup>41</sup> es:

H, alquilo, cicloalquilo, Ar-alquilo, Ar, OH, O-alquilo, O-cicloalquilo, O-Ar-alquilo, OAr, SH, S-alquilo, S-cicloalquilo, S-Ar-alquilo, SAr, SO-alquilo, SO-cicloalquilo, SO-Ar-alquilo, SO-Ar, SO<sub>2</sub>H, SO<sub>2</sub>-alquilo, SO<sub>2</sub>-cicloalquilo, SO<sub>2</sub>-Ar-alquilo, SO<sub>2</sub>Ar, NH-alquilo, NH<sub>2</sub>, NH-cicloalquilo, NH-Ar-alquilo, NHar, NHCO-alquilo, NHCO-cicloalquilo, NHCO-Ar-alquilo, NHCOAr, N(alquilo)<sub>2</sub>, N(cicloalquilo), o N(Ar-alquilo)<sub>2</sub> o NAr<sub>2</sub> o, cuando es parte de un grupo CHR<sup>41</sup> o CR<sup>41</sup>, R<sup>41</sup> puede ser halógeno;

25

A se selecciona de:

CH<sub>2</sub>, >CHR<sup>41</sup>, O, S, >SO<sub>2</sub>, >NR<sup>42</sup> y N-óxido (>N→O), donde R<sup>41</sup> es como se ha definido anteriormente y R<sup>42</sup> se selecciona de H, alquilo, cicloalquilo, Ar y Ar-alquilo;

30

B, D y G se seleccionan cada uno independientemente de

$\text{>CR}^{41}$ , donde  $\text{R}^{41}$  es como se ha definido anteriormente, N y N-óxido ( $\text{>N}\rightarrow\text{O}$ );

5

E se selecciona de:

$\text{CH}_2$ ,  $\text{>CHR}^{41}$ , O, S,  $\text{>SO}_2$ ,  $\text{>NR}^{42}$  y N-óxido ( $\text{>N}\rightarrow\text{O}$ ), donde  $\text{R}^{41}$  y  $\text{R}^{42}$  se definen como anteriormente;

10

K se selecciona de:

$\text{CH}_2$ ,  $\text{>CHR}^{42}$ , donde  $\text{R}^{42}$  se define como anteriormente;

J, L, M, R, T,  $\text{T}_2$  y  $\text{T}_4$  se seleccionan independientemente de:

15

$\text{CR}^{41}$  donde  $\text{R}^{41}$  es como se ha definido anteriormente, N y N-óxido ( $\text{>N}\rightarrow\text{O}$ );

$\text{T}_5$  se selecciona de:

20

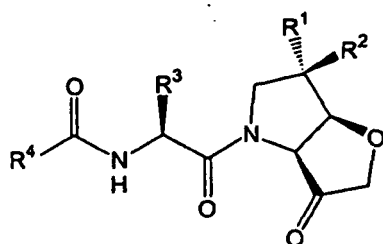
CH y N;

$q'$  es 1, 2 o 3;

donde el profármaco es un derivado de cetol o hemiacetal de la funcionalidad cetona exocíclica presente en el núcleo bicíclico de tetrahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-3-ona del compuesto de fórmula (I).

25

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es de la fórmula la



(Ia)

30

en la que  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  son como se definen en la reivindicación 1.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en el que uno de  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  es H, y el otro es Cl.

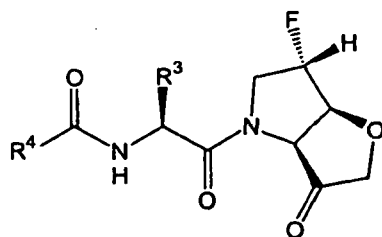
35

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en el que uno de  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  es H, y el otro es F.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en el que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son ambos F.

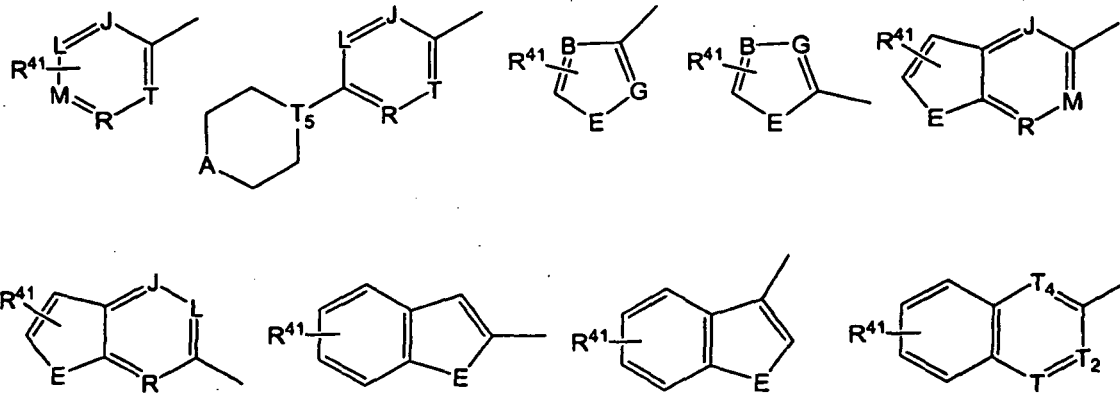
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 que es de la fórmula Ib

40



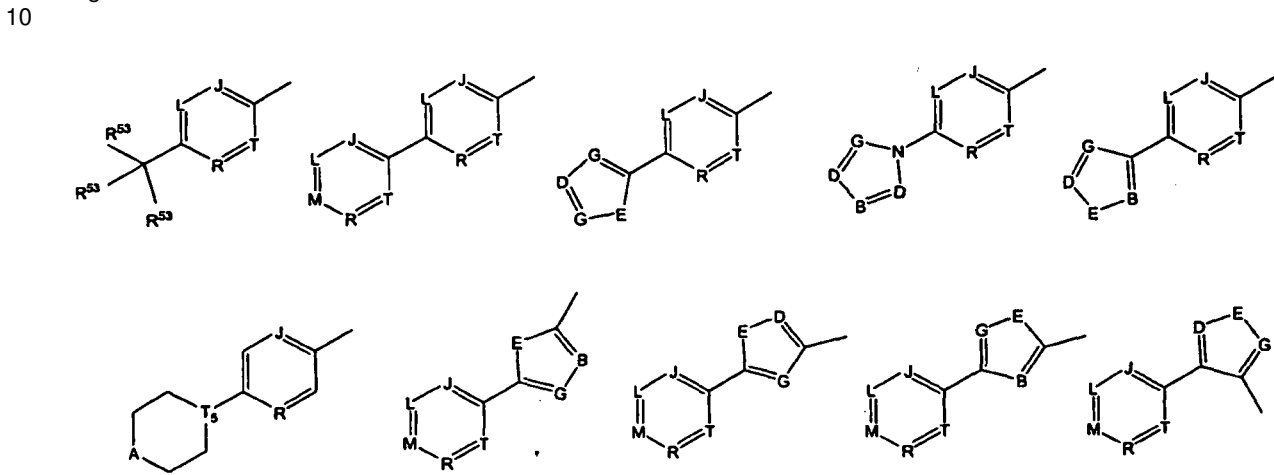
(Ib)

7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que  $\text{R}^4$  se selecciona de los siguientes:



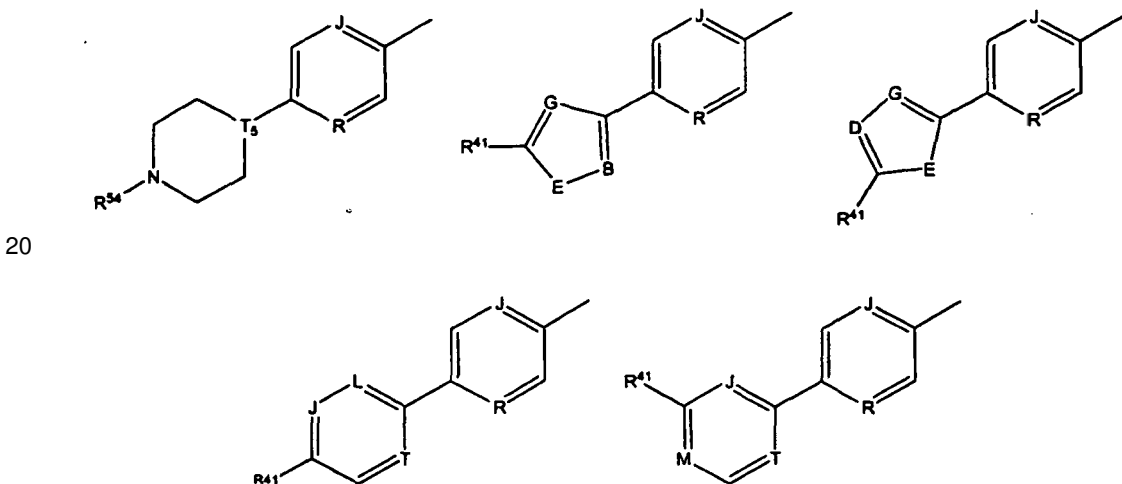
5 en los que B, E, G, J, L, M, R, T, T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub> y R<sup>41</sup> son como se definen en la reivindicación 1.

8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que R<sup>4</sup> se selecciona de los siguientes:



15 en los que A, B, D, E, G, J, L, M, R, T y T<sub>5</sub> son como se han definido anteriormente y R<sup>53</sup> es H o alquilo C<sub>1-4</sub>.

9. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el grupo R<sup>4</sup> se selecciona de los siguientes:



en los que B, D, E, G, J, L, M, T, T<sub>5</sub> y R<sup>41</sup> son como se han definido anteriormente y R<sup>54</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido con uno o más grupos alcoxi C<sub>1-6</sub> o cicloalquilo C<sub>3-6</sub>.

- 5 10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que R<sup>54</sup> se selecciona dese selecciona de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, s-butilo, i-butilo, *terc*-butilo, ciclobutilo y 2-metoxietilo.
- 10 11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que R<sup>41</sup> se selecciona de amino, metilamino, dimetilamino, isopropilamino, isopropil(metil)amino, ciclopropilamino, ciclopropil(metil)amino, ciclopentilamino, morfolino, piperidin-1-ilo, piperidin-1-ilmetilo, morfolinometilo, 4-metilpiperazin-1-ilo, 4-(2-metoxietil)piperazin-1-ilo, 1-morpholinoetilo, 1-(dimetilamino)etilo, 1-(metilamino)etilo, 4-fluoro-1-metilpirrolidin-2-ilo, 4,4-difluoropiperidin-1-ilo, piperidin-4-ilo, 1-metilpiperidin-4-ilo, piridin-3-ilamino, piridin-2-ilamino y 1-metilpirrolidin-3-ilo.
12. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes que se selecciona de los siguientes:
- 15 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-etilpiperazin-1-il)benzamida
- 20 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-propilpiperazin-1-il)benzamida
- 25 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-isopropilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)benzamida
- 30 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)benzamida
- 4-(4-ciclobutilpiperazin-1-il)-*N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)benzamida
- 35 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida
- 40 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-etilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-propilpiperidin-4-il)benzamida
- 45 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-isopropilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)benzamida
- 50 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(1-ciclopropilpiperidin-4-il)benzamida
- 4-(1-ciclobutilpiperidin-4-il)-*N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)benzamida
- 55 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 60 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 65 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*)-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-

- (2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 5 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-etilpiperazin-1-il)benzamida
- 10 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-propilpiperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-isopropilpiperazin-1-il)benzamida
- 15 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-ciclopropilpiperazin-1-il)benzamida
- 20 4-(4-ciclobutilpiperazin-1-il)-*N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*, 6*aH*-il)-2-oxoetil)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida
- 25 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(1-etilpiperidin-4-il)benzamida
- 30 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(1-propilpiperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(1-isopropilpiperidin-4-il)benzamida
- 35 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(1-ciclopropilpiperidin-4-il)benzamida
- 40 4-(1-ciclobutilpiperidin-4-il)-*N*-((*S*)-1-ciclohexil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*, 6*aH*-il)-2-oxoetil)benzamida
- 45 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(2-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 50 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(5-metil-2-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-il)tiazol-4-il)benzamida
- 55 *N*-((*S*)-1-ciclopentil-2-((3*aS*,6*S*,6*aS*)-6-fluoro-3-oxodihidro-2*H*-furo[3,2-*b*]pirrol-4(5*H*,6*H*,6*aH*-il)-2-oxoetil)-4-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida.
- 60 13. Una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y un diluyente, excipiente y/o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario.
- 65 14. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica o veterinaria de acuerdo con la reivindicación 12, comprendiendo dicho procedimiento mezclar un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 un diluyente, excipiente y/o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico o veterinario.

15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para uso en medicina.

5 16. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada de osteoporosis, enfermedad de Paget, enfermedad de Chagas, malaria, enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis, hipercalcemia, enfermedad ósea metabólica, enfermedades que implican degradación de la matriz o del cartílago tales como osteoartritis, artritis reumatoide y enfermedades neoplásicas y trastornos por cáncer de huesos tales como metástasis ósea y dolor asociado.

10 17. Un procedimiento para validar como agente terapéutico una cisteína proteinasa conocida o teórica, comprendiendo el procedimiento:

15 valorar la unión *in vitro* de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 a una cisteína proteasa aislada conocida o teórica, proporcionando una medida de potencia; y opcionalmente, una o más de las etapas de:

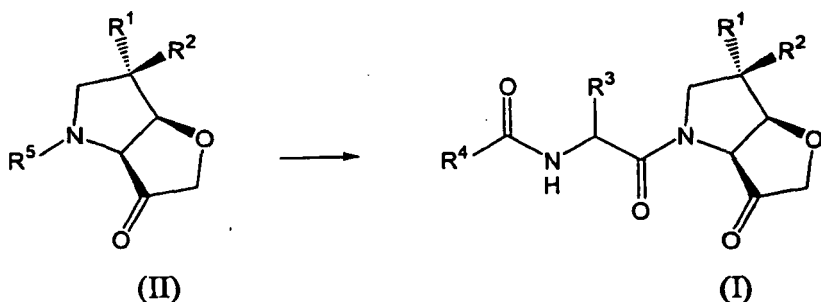
20 valorar la unión de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 a proteinasas homólogas estrechamente relacionadas de las proteinasas constitutivas objetivo y generales (por ejemplo, tripsina) para proporcionar una medida de selectividad;

controlar un marcador funcional basado en células de una actividad cisteína proteasa particular, en presencia de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12; y

25 controlar un marcador funcional basado en un modelo animal de una actividad cisteína proteasa particular en presencia de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

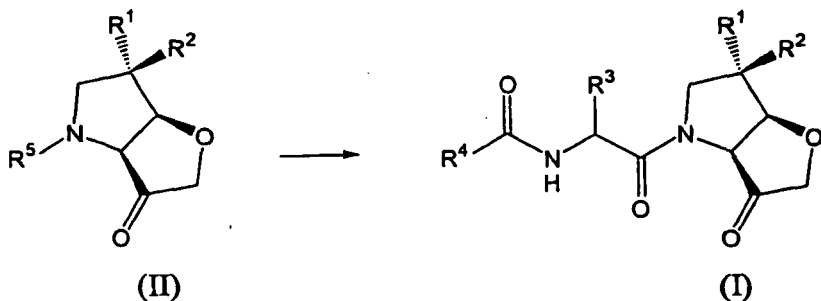
18. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho procedimiento convertir un compuesto de fórmula (II), en la que R<sup>5</sup> es un grupo protector, en un compuesto de fórmula (I)

30



comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de convertir un compuesto de fórmula (III) en un compuesto de fórmula (II)

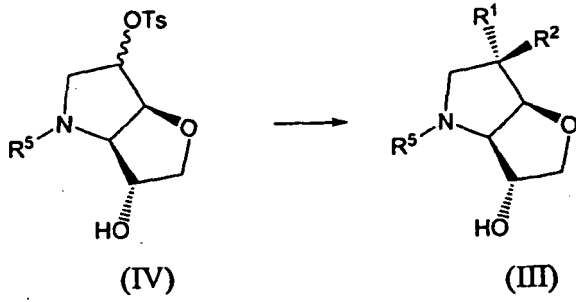
35



comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de convertir un compuesto de fórmula (IV) en un compuesto de fórmula (III)

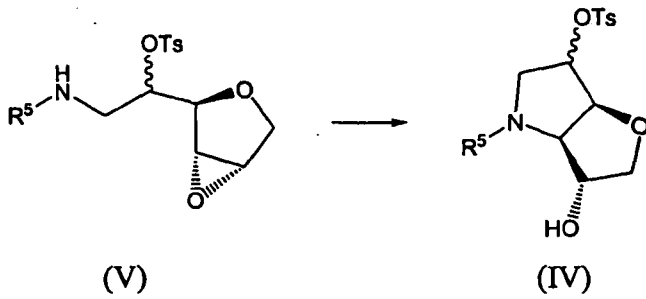
40





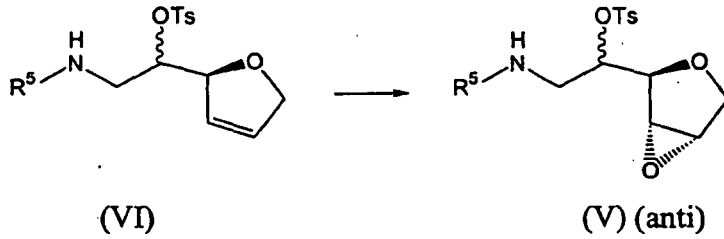
comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de convertir un compuesto de fórmula (V) en un compuesto de fórmula (IV)

5



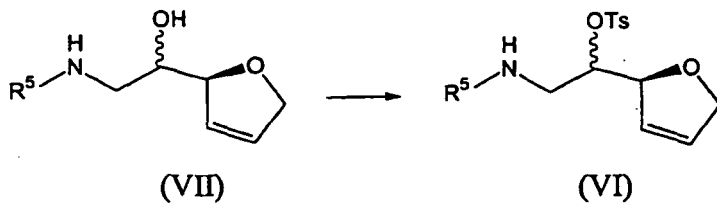
comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de convertir un compuesto de fórmula (VI) en un compuesto de fórmula (V)

10



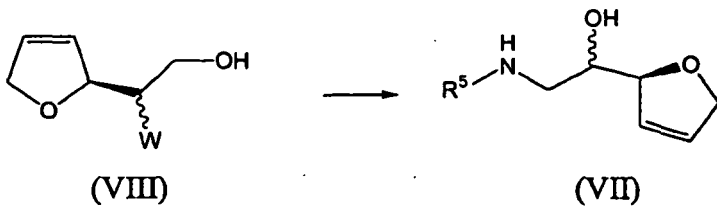
comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de convertir un compuesto de fórmula (VII) en un compuesto de fórmula (VI)

15



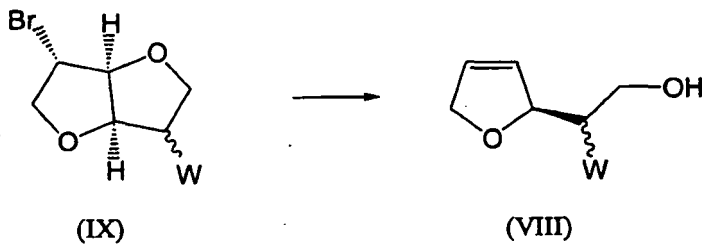
comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de convertir un compuesto de fórmula (VIII) en un compuesto de fórmula (VII)

20



en la que W es halógeno o tosilo;

- 5 comprendiendo dicho procedimiento opcionalmente la etapa precedente de preparar dicho compuesto de fórmula VIII a partir de un compuesto de fórmula IX



- 10 19. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 18 que comprende las etapas de:

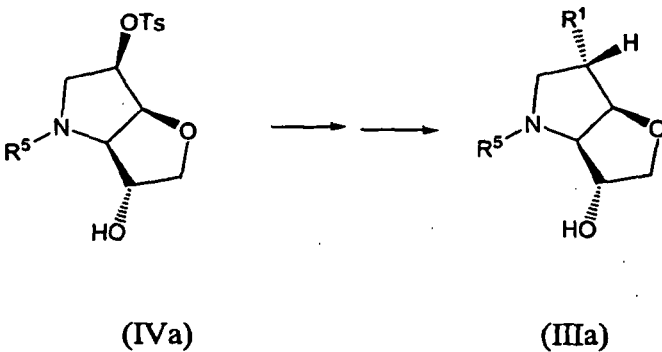
hacer reaccionar un compuesto de fórmula (W), en la que W es halógeno u OTs, con amoníaco acuoso y alcohol; y

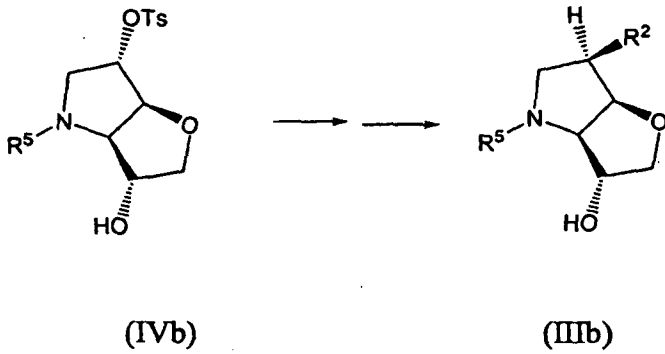
convertir el producto formado en la etapa (a) en un compuesto de fórmula (VII).

15

20. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 18 o la reivindicación 19, en el que R<sup>5</sup> es benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo (Boc) o fluoren-9-ilmtoxycarbonilo (Fmoc).

- 20 21. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 18 que comprende la etapa de convertir un compuesto de fórmula (IVa) en un compuesto de fórmula (IIIa) o un compuesto de fórmula (IVb) en un compuesto de fórmula (IIIb)





22. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 21, en el que:

- 5 (i)  $R^1$  o  $R^2$  es F y  $R^5$  es benciloxycarbonilo (Cbz), comprendiendo dicho procedimiento hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IVa) o (IVb) con fluoruro potásico y Kryptofix 222 en acetonitrilo con calor o fluoruro de terc-butilamonio en acetonitrilo con calor; o
- 10 (ii)  $R^1$  o  $R^2$  es Cl y  $R^5$  es benciloxycarbonilo (Cbz) o terc-butoxicarbonilo (Boc), y dicho procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IVa) o (IVb) con cloruro de litio en acetona o dimetilformamida o dimetil sulfóxido con calor.

23. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que:

- 15  $R^4$  es un resto 4-(4-alkilpiperazin)fenilo,  $R^3$  es un resto a ciclopentilglicina o ciclohexilglicina y  $R^1$  es flúor;
- $R^4$  es un resto 4-(4-alkilpiperazin)fenilo,  $R^3$  es un resto a ciclopentilglicina o ciclohexilglicina y  $R^1$  es cloro; o
- $R^4$  es un resto 4-(2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-4-il)fenilo,  $R^3$  es un resto ciclopentilglicina y  $R^1$  es cloro.