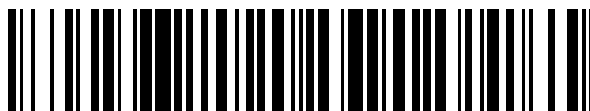


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 421**

51 Int. Cl.:

C07D 487/10 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.01.2014 PCT/US2014/013639**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014 WO2014120800**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.01.2014 E 14703750 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2951185**

54 Título: **Moduladores espiro-lactama del receptor NMDA y usos de los mismos**

30 Prioridad:

29.01.2013 US 201361757942 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

21.06.2017

73 Titular/es:

**APTINYX INC. (100.0%)
1801 Maple Avenue, Suite 4300
Evanston, IL 60201, US**

72 Inventor/es:

**LOWE, JOHN, A. y
KHAN, M., AMIN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 618 421 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

Moduladores espiro-lactama del receptor NMDA y usos de los mismos

5 Referencia cruzada con solicitudes relacionadas

Antecedentes

10 Un receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) es un receptor postsináptico ionotrópico que es sensible a, entre otros, los aminoácidos excitadores glutamato y glicina, y al compuesto sintético NMDA. El receptor NMDA controla el flujo tanto de los iones divalentes como el de los monovalentes en las células neurales postsinápticas, a través de un canal asociado a receptor (Foster *et al.*, Nature 1987, 329: 395-396, Mayer *et al.*, Trends in Pharmacol. Sci. 1990, 11: 254-260). Se ha implicado al receptor NMDA en la especificación de la arquitectura neuronal y la conectividad sináptica durante el desarrollo, y puede estar implicado en las modificaciones sinápticas dependientes de la experiencia. Además, también se piensa que los receptores NMDA están implicados en la potenciación duradera y los trastornos del sistema nervioso central.

20 El receptor NMDA desempeña un papel principal en la plasticidad sináptica que subyace a muchas funciones cognitivas superiores, tales como la adquisición de la memoria, la retención y el aprendizaje, así como en determinadas rutas cognitivas y en la percepción del dolor (Collingridge *et al.*, The NMDA Receptor, Oxford University Press, 1994). Además, determinadas propiedades de los receptores NMDA sugieren que podrían estar implicados en el procesamiento de la información en el cerebro que subyace a la misma conciencia.

25 El receptor NMDA ha atraído un interés particular dado que parece estar implicado en un amplio espectro de trastornos del SNC. Por ejemplo, durante la isquemia cerebral provocada por ictus o por lesión traumática, se liberan cantidades excesivas del aminoácido excitador glutamato a partir de las neuronas dañadas o privadas de oxígeno. Este exceso de glutamato se une a los receptores NMDA, los cuales abren sus canales iónicos abiertos por ligando; a su vez, el flujo de calcio de entrada produce un nivel alto de calcio intracelular, lo que activa una cascada bioquímica que da como resultado la degradación de proteínas y la muerte celular. También se piensa que este fenómeno, conocido como excitotoxicidad, es responsable del daño neurológico asociado con otros trastornos que varían desde la hipoglucemia y la parada cardíaca a la epilepsia. Además, existen informes preliminares que implican una implicación similar en la neurodegeneración crónica de las enfermedades de Huntington, de Parkinson y de Alzheimer. Se ha demostrado que la activación del receptor NMDA es responsable de las convulsiones posteriores al ictus y, en determinados modelos de epilepsia, se ha demostrado que la activación del receptor NMDA es necesaria para la generación de ataques epilépticos. También se ha reconocido la implicación neuropsiquiátrica del receptor NMDA, dado que el bloqueo del canal de Ca^{++} del receptor NMDA mediante el anestésico de animales PCP (fenciclidina) produce en los seres humanos un estado psicótico similar a la esquizofrenia (revisado en Johnson, K. y Jones, S., 1990). Adicionalmente, también se ha implicado a los receptores NMDA en determinados tipos de aprendizaje espacial.

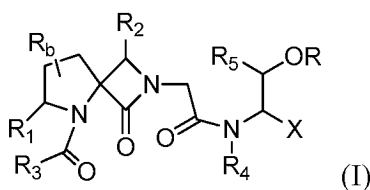
40 Se cree que el receptor NMDA consiste en varias cadenas de proteína incluidas en la membrana postsináptica. Los primeros dos tipos de subunidades descubiertas hasta ahora forman una gran región extracelular, la cual probablemente contiene la mayoría de los sitios de unión alostérica, varias regiones transmembrana en bucle y plegadas de manera que forman un poro o canal, el cual es permeable al Ca^{++} , y una región carboxilo terminal. La apertura y el cierre del canal están regulados por la unión de diversos ligandos a dominios (sitios alostéricos) de la proteína que se encuentra en la superficie extracelular. Se piensa que la unión de los ligandos afecta a un cambio conformacional en la estructura global de la proteína, lo que en última instancia se refleja en la apertura, la apertura parcial, el cierre parcial o el cierre del canal.

50 Los compuestos del receptor NMDA pueden ejercer un efecto doble (agonista/antagonista) sobre el receptor NMDA a través de los sitios alostéricos. Estos compuestos normalmente se denominan "agonistas parciales". En presencia del ligando del sitio principal, un agonista parcial desplazará parte del ligando y, de este modo, disminuirá el flujo de Ca^{++} a través del receptor. En ausencia o con un nivel reducido del ligando del sitio principal, el agonista parcial actúa aumentando el flujo de Ca^{++} a través del canal receptor.

55 Sigue existiendo en la técnica una necesidad de compuestos nuevos y más específicos/potentes que tengan la capacidad de unirse al sitio de unión a glicina de los receptores NMDA, y de proporcionar beneficios farmacéuticos. Además, sigue existiendo en la técnica médica una necesidad de formas de tales compuestos que se puedan administrar por vía oral.

60 Sumario

En el presente documento se proporcionan, al menos en parte, compuestos que son moduladores de NMDA, por ejemplo, agonistas parciales de NMDA. Por ejemplo, se desvelan en el presente documento compuestos representados por la fórmula:



y sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros y N-óxidos de los mismos, en la que

5 R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C_1-C_6 ;

R es H, alquilo C_1-C_6 o $-C(O)$ -alquilo C_1-C_6 ;

R_1 es H o alquilo C_1-C_6 ;

10 R_2 es H o alquilo C_1-C_6 ;

15 R_3 es alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , fenilo, o un heteroarilo de 4-6 miembros con uno, dos o tres heteroátomos cada uno seleccionado entre O, S o N, en el que R_3 puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a) o bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a);

20 R^a se selecciona entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), o alcoxi C_1-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos);

R_4 es H o alquilo C_1-C_6 ;

25 R_5 es H o alquilo C_1-C_6 ;

30 X se selecciona entre el grupo que consiste en: H, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, alcoxi C_1-C_6 , $-CO_2H$, $-C(O)NR^cR^d$, y un anillo heteroarilo de 4 a 6 miembros con uno, dos o tres heteroátomos cada uno seleccionado entre O, S o N, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo y fenilo; y

35 R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C_1-C_6 , o fenilo, o junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros, que puede tener un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, o N; en el que el anillo heterocíclico de 4-6 miembros puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C_1-C_6 ;

40 o en otras realizaciones, las variables expuestas en la fórmula (I) se definen de la siguiente manera:

R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C_1-C_6 (por ejemplo, H);

R es H, alquilo C_1-C_6 o $-C(O)$ -alquilo C_1-C_6 ;

45 R_1 es H o alquilo C_1-C_6 ;

R_2 es H o alquilo C_1-C_6 ;

50 R_3 es alquilo C_1-C_6 ; alcoxi C_1-C_6 ; $-O$ -alquilen C_1-C_6 -fenilo; alqueno C_2-C_6 ; alquino C_2-C_6 ; cicloalquilo C_3-C_6 ; fenilo; o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C_1-C_3), O y S, en el que R_3 está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C_1-C_6 -cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C_1-C_6);

60 R^a se selecciona entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), y alcoxi C_1-C_6

(opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos);

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

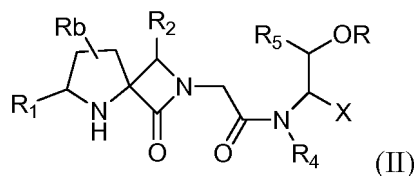
5 R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

10 X se selecciona entre el grupo que consiste en: H; alquilo C₁-C₆; -OH; alcoxi C₁-C₆; -CO₂H; -C(O)NR^cR^d; y heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

15 R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o R^c y R^d junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos de anillo; en el que el heterociclilo no incluye más de dos heteroátomos de anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R^c y R^d), y el segundo heteroátomo de anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; y en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

20 También se proporcionan en el presente documento, al menos en parte, compuestos que son moduladores de NMDA, por ejemplo, agonistas parciales de NMDA. Por ejemplo, se desvelan en el presente documento compuestos representados por la fórmula:

25



y sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros y N-óxidos de los mismos, en la que

30 R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C₁-C₆;

R es H, alquilo C₁-C₆ o -C(O)-alquilo C₁-C₆;

35 R₁ es H o alquilo C₁-C₆;

R₂ es H o alquilo C₁-C₆;

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

40 R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

45 X se selecciona entre el grupo que consiste en: H; alquilo C₁-C₆; -OH; alcoxi C₁-C₆; -CO₂H; -C(O)NR^cR^d; y heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

50 R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o R^c y R^d junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos de anillo; en el que el heterociclilo no incluye más de dos heteroátomos de anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R^c y R^d), y el segundo heteroátomo de anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; y en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

55 También se proporcionan en el presente documento composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden un compuesto divulgado y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, tales composiciones pueden ser adecuadas para la administración oral o intravenosa a un paciente.

La invención está definida por las reivindicaciones. En otro aspecto, se proporcionan compuestos para su uso en un método para el tratamiento de una afección seleccionada del grupo que consiste en autismo, ansiedad, depresión, trastorno bipolar, trastorno por déficit de atención, trastorno por déficit de atención e hiperactividad y (TDAH), esquizofrenia, un trastorno psicótico, un síntoma psicótico, aislamiento social, trastorno obsesivo compulsivo, fobia, síndrome de estrés postraumático, un trastorno de conducta, un trastorno del control de impulsos, un trastorno por abuso de sustancias, un trastorno del sueño, un trastorno de la memoria, un trastorno del aprendizaje, incontinencia urinaria, atrofia multisistémica, parálisis supranuclear progresiva, ataxia de Friedrich, síndrome de Down, síndrome del cromosoma X frágil, esclerosis tuberosa, atrofia olivopontocerebelosa, parálisis cerebral, neuritis óptica inducida por fármacos, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, glaucoma, demencia, demencia asociada al SIDA, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, espasticidad, mioclonia, espasmo muscular, síndrome de Tourette, epilepsia, isquemia cerebral, ictus, un tumor cerebral, lesión cerebral traumática, parada cardíaca, mielopatía, lesión de la médula espinal, neuropatía periférica, dolor neuropático agudo y neuropático crónico, en un paciente que lo necesite. Tales métodos pueden comprender administrar al paciente una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto divulgado o de sales, estereoisómeros, N-óxidos e hidratos farmacéuticamente aceptables del mismo.

En algunas realizaciones, se proporcionan compuestos para su uso en un método para el tratamiento de la depresión. Por ejemplo, depresión puede incluir uno o más de trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión psicótica, depresión posparto, trastorno afectivo estacional, trastorno bipolar, trastorno del estado de ánimo o depresión provocada por una afección médica crónica. En otras realizaciones, se proporcionan compuestos para su uso en un método para el tratamiento de la esquizofrenia. Tal esquizofrenia puede ser, por ejemplo, esquizofrenia paranoide, esquizofrenia desorganizada, esquizofrenia catatónica, esquizofrenia indiferenciada, esquizofrenia residual, depresión postesquizofrénica o esquizofrenia simple.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la potenciación de la unión de [³H]MK-801 en presencia del Compuesto B.

La Figura 2 muestra la potenciación de la unión de [³H]MK-801 en presencia del Compuesto C.

La Figura 3 muestra la potenciación de la unión de [³H]MK-801 en presencia del Compuesto D.

La Figura 4 muestra la potenciación de la unión de [³H]MK-801 en presencia del Compuesto H.

La Figura 5 muestra los resultados de potenciación duradera en cortes de hipocampo utilizando el Compuesto B.

Descripción detallada

La presente divulgación se dirige en general a compuestos que tienen la capacidad de modular el NMDA, por ejemplo, antagonistas o agonistas parciales del NMDA, y a composiciones y/o métodos para el uso de los compuestos divulgados.

Definiciones

"Tratar" incluye cualquier efecto, por ejemplo, aliviar, reducir, modular, o eliminar, lo que da como resultado la mejora de la afección, enfermedad, trastorno y similar.

El término "alqueno", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo insaturado, lineal o ramificado, que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono, tal como un grupo lineal o ramificado de 2-6 o 3-4 átomos de carbono, denominado en el presente documento, por ejemplo, alqueno C₂-C₆, y alqueno C₃-C₄, respectivamente. Los grupos alqueno ejemplares incluyen, pero sin limitación, vinilo, alilo, butenilo, pentenilo, etc.

El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado unido a un oxígeno (alquil-O-). Los grupos alcoxi ejemplares incluyen, pero sin limitación, alcoxis de 1-6 o 2-6 átomos de carbono, denominados en el presente documento como alcoxi C₁-C₆, y alcoxi C₂-C₆, respectivamente. Los grupos alcoxi ejemplares incluyen, pero no se limitan metoxi, etoxi, isopropoxi, etc.

El término "alquenoiloxi" usado en el presente documento, se refiere a un grupo alqueno lineal o ramificado unido a un oxígeno (alquenoil-O). Los grupos alquenoiloxi ejemplares incluyen, pero sin limitación, grupos con un grupo alqueno de 3-6 átomos de carbono, (también, por ejemplo, denominados alquenoiloxi C₃-C₆). Los grupos "alquenoiloxi" ejemplares incluyen, pero no se limitan a aliloiloxi, buteniloiloxi, etc.

El término "alquinoiloxi" usado en el presente documento, se refiere a un grupo alquino lineal o ramificado unido a un oxígeno (alquinoil-O)). Los grupos alquinoiloxi ejemplares incluyen, pero sin limitación, alquinoiloxi C₃-C₆, por ejemplo, propinoiloxi.

El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo saturado, lineal o ramificado,

tal como un grupo lineal o ramificado de 1-6, 1-4, o 1-3 átomos de carbono, denominado en el presente documento como alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₄, y alquilo C₁-C₃, respectivamente. Los grupos alquilo ejemplares incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-butilo, 3-metil-1-butilo, 3-metil-2-butilo, 2,2-dimetil-1-propilo, 2-metil-1-pentilo, 3-metil-1-pentilo, 4-metil-1-pentilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 3,3-dimetil-1-butilo, 2-etil-1-butilo, butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, etc. El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a grupos alquilo saturados, lineales o ramificados, en los que uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo están reemplazados por uno o más halógenos seleccionados independientemente. El término "haloalquilo" abarca grupos alquilo en los que todos los átomos de hidrógeno del grupo alquilo son halógenos reemplazados seleccionados independientemente (algunas veces denominados como grupos "perhalo" alquilo). Los grupos haloalquilo ejemplares incluyen, pero sin limitación, CH₂F, CH₂CH₂Cl, CF₃, CHFCH₂Cl.

El término "alquinilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo insaturado, lineal o ramificado, que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono, tal como un grupo lineal o ramificado de 2-6, o 3-6 átomos de carbono, denominado en el presente documento como alquinilo C₂-C₆, y alquinilo C₃-C₆, respectivamente. Los grupos alquinilo ejemplares incluyen, pero sin limitación, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, metrilpropinilo, etc.

La expresión "cicloalquilo puenteado", tal como se usa en el presente documento, se define como un grupo cicloalquilo monocíclico de 4 a 7 miembros en el que dos átomos no adyacentes están unidos mediante un grupo CH₂ o CH₂CH₂. Un "cicloalquilo puenteado" puede estar condensado con uno o más fenilos, parcialmente insaturados, o anillos saturados. Los ejemplos de grupos carboxílicos incluyen, pero sin limitación, biciclo[2,2,1]heptano, biciclo[2,2,2]octano, biciclo[2,2,2]octeno, etc.

El término "carbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere al radical -C(O)-. El término "ciano", como se usa en el presente documento, se refiere al radical -CN. El término "nitro" se refiere al radical -NO₂. El término "H" se refiere a hidrógeno.

El término "cicloalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo unido a un oxígeno (cicloalquil-O-).

El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo hidrocarburo monocíclico, saturado o parcialmente insaturado, de, por ejemplo, 3-6, o 4-6 carbonos, denominado en el presente documento, por ejemplo, "cicloalquilo C₃₋₆" o "cicloalquilo C₄₋₆", y derivado de un cicloalcano. Los grupos cicloalquilo ejemplares incluyen, pero sin limitación, ciclohexilo, ciclohexenilo, ciclopentilo, ciclobutilo, ciclopropilo o ciclopentilo.

Los términos "halo" o "halógeno", como se usan en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br, o I.

El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillo monocíclico aromático de 4-6 miembros que contiene uno o más heteroátomos, por ejemplo, de uno a tres heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno, y azufre. Donde sea posible, dicho anillo heteroarilo puede estar unido al radical adyacente a través de un carbono o nitrógeno. Los ejemplos de anillos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, furilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, oxadiazolilo (por ejemplo, 1,2,4-oxadiazolilo o 1,3,4-oxadiazolilo), piridilo y pirimidinilo.

Las expresiones "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" están reconocidas en la técnica y se refieren a estructuras de anillo saturado o parcialmente insaturado de 4 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a tres heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno, y azufre. Un heterociclo puede estar condensado con uno o más fenilos, parcialmente insaturados, o anillos saturados. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, pero sin limitación, pirrolidina, piperidina, morfolina, tiomorfolina y piperazina.

El término "heterocicilalcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere un grupo heterocicilil-alquil-O-.

El término "heterocicilioxialquilo" se refiere a un grupo heterocicilil-O-alquilo.

El término "heterocicloxi" se refiere a un grupo heterocicilil-O-. El término "cicloalquiloxi" se refiere a un grupo cicloalquil-O-.

El término "heteroariloxi" se refiere a un grupo heteroaril-O-.

Los términos "hidroxi" e "hidroxilo", como se usan en el presente documento, se refieren al radical -OH.

El término "ciano", como se usa en el presente documento, se refiere al radical =O.

Las expresiones "grupo protector de nitrógeno" o "grupo protector de amino" están reconocidas en la técnica y se usan en el presente documento para referirse a un resto químico que está unido covalentemente a un átomo de nitrógeno de

un grupo amino (primario o secundario) y que bloquea temporalmente (protege) la reactividad del grupo amino durante una etapa sintética y se retira selectivamente una vez que la etapa sintética se completa. Los grupos protectores de nitrógeno incluyen, por ejemplo, 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), terc-butoxicarbonilo (Boc), carbobenciloxycarbonilo (Cbz), p-metoxibenciloxycarbonilo, acetilo, trifluoroacetilo, benzoílo, ftalimido, bencilo (Bn), p-metoxibencilo, p-metoxifenilo, 3,4-dimetoxibencilo, trifenilmetilo, bencilideno y p-toluenosulfonilo (Ts). En algunas realizaciones, el grupo protector de nitrógeno puede tener una de las siguientes fórmulas: $-C(O)OR_{31}$ o $-C(O)R_{32}$ como se define en el presente documento. En determinadas realizaciones, R_{31} se selecciona entre el grupo que consiste en: alquilo C_1-C_6 ; haloalquilo C_1-C_6 ; alqueno C_2-C_6 ; alquino C_2-C_6 ; cicloalquilo C_3-C_{10} , en el que el cicloalquilo C_3-C_{10} está opcionalmente sustituido con 1-3 alquilos C_1-C_3 seleccionados independientemente; $-CH_2$ -cicloalquilo C_3-C_{10} en el que el cicloalquilo C_3-C_{10} está opcionalmente sustituido con 1-3 alquilos C_1-C_3 seleccionados independientemente; $-CH_2$ -fenilo, en el que el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C_1-C_3 , haloalquilo C_1-C_3 , alcoxi C_1-C_3 , haloalcoxi C_1-C_3 , nitro, halo, SO_2Me , ciano, y $-OC(O)CH_3$; y $-CH_2$ -piridilo. En determinadas realizaciones, R_{32} se selecciona entre el grupo que consiste en: H; alquilo C_1-C_6 ; haloalquilo C_1-C_6 ; fenilo, en el que el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C_1-C_3 , haloalquilo C_1-C_3 , alcoxi C_1-C_3 , haloalcoxi C_1-C_3 , nitro, halo, SO_2Me , ciano, y $-OC(O)CH_3$; y piridilo.

Como se utiliza en la presente divulgación, la expresión "agonista parcial del receptor NMDA" en general se refiere a un compuesto que tiene la capacidad de unirse a un sitio de unión a glicina de un receptor NMDA; a bajas concentraciones un agonista del receptor NMDA actúa sustancialmente como agonista y a altas concentraciones actúa sustancialmente como un antagonista. Estas concentraciones se determinan de forma experimental para todos y cada uno de los "agonistas parciales".

"Farmacéuticamente o farmacológicamente aceptable" incluye entidades y composiciones moleculares que no producen una reacción adversa, alérgica u otra desafortunada cuando se administra a un animal, o un ser humano, según sea apropiado. Para la administración a seres humanos, la preparación debería cumplir las normas de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza según exige la oficina de normas biológicas de la FDA (sigla del inglés: *U.S. Food and Drug Administration*: Administración de alimentos y fármacos de Estados Unidos).

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en el presente documento, se refiere a todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes isotónicos y de retardo de la absorción, y similares, que sean compatibles con la administración farmacéutica. El uso de tales medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Las composiciones también pueden contener otros compuestos activos que proporcionen funciones terapéuticas complementarias, adicionales o potenciadas.

La expresión "composición farmacéutica", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto como se divulga en el presente documento, formulado junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

"Individuo", "paciente" o "sujeto", se utilizan indistintamente e incluyen cualquier animal, incluyendo mamíferos, preferentemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado vacuno, ovejas, caballos o primates, y muy preferentemente seres humanos. Los compuestos de la invención pueden administrarse a un mamífero, tal como un ser humano, pero también pueden administrarse a otros mamíferos tales como un animal que necesite tratamiento veterinario, por ejemplo, animales domésticos (por ejemplo, perros, gatos y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas y similares). El mamífero tratado en los métodos de la invención es, a ser posible, un mamífero en el que se desee el tratamiento, por ejemplo, del dolor o de la depresión. "Modulación" incluye antagonismo (por ejemplo, inhibición), agonismo, antagonismo parcial y/o agonismo parcial.

En la presente memoria descriptiva, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad del compuesto objeto que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que el investigador, el veterinario, médico u otro facultativo busca. Los compuestos de la invención se administran en cantidades terapéuticamente eficaces para tratar una enfermedad. Como alternativa, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto es la cantidad necesaria para conseguir un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado, tal como una cantidad que da como resultado una reducción de un síntoma de la depresión.

La expresión "sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)", como se usa en el presente documento, se refiere a sales de grupos ácidos o básicos que pueden estar presentes en compuestos usados en las presentes composiciones. Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que son de naturaleza básica son capaces de formar una amplia diversidad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que pueden usarse para preparar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de tales compuestos básicos son aquellos que forman sales de adición de ácidos no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, incluyendo, pero sin limitación, sales malato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato de ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentsinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato,

etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que son de naturaleza ácida son capaces de formar sales de bases con diversos cationes farmacológicamente aceptables. Los ejemplos de tales sales incluyen sales de metal alcalino o metal alcalinotérreo y, en particular, sales de calcio, magnesio, sodio, litio, cinc, potasio y hierro. Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que incluyen un resto básico o ácido también pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con diversos aminoácidos. Los compuestos de la divulgación pueden contener grupos tanto ácidos como básicos; por ejemplo, un amino y un grupo de ácido carboxílico. En tal caso, el compuesto puede existir en forma de una sal de adición de ácidos, un zwitterión, o una sal de base.

Los compuestos de la divulgación pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por lo tanto, existen como estereoisómeros, tales como isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. El término "estereoisómeros" cuando se usa en el presente documento consiste en todos los isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. Estos compuestos pueden designarse mediante los símbolos "R" o "S", dependiendo de la configuración de sustituyentes en torno al átomo de carbono estereogénico. La presente invención abarca diversos estereoisómeros de estos compuestos y mezclas de los mismos. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereómeros. Las mezclas de enantiómeros o diastereómeros pueden designarse con una nomenclatura "(±)", pero el técnico experto reconocerá que una estructura puede denotar un centro quiral implícitamente.

Los compuestos de la divulgación pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por lo tanto, existen como isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. Los enantiómeros y diastereómeros pueden designarse mediante los símbolos "(+)", "(-)", "R" o "S", dependiendo de la configuración de sustituyentes en torno al átomo de carbono estereogénico, pero el técnico experto reconocerá que una estructura puede denotar un centro quiral implícitamente. Los isómeros geométricos, resultantes de la disposición de sustituyentes en torno a un doble enlace carbono-carbono o la disposición de sustituyentes en torno a un anillo cicloalquilo o heterocíclico, también pueden existir en los compuestos de la presente invención. El símbolo \cdots indica un enlace que puede ser un enlace sencillo, doble o triple como se describe en el presente documento. Los sustituyentes en torno a un doble enlace carbono-carbono se designan como que están en la configuración "Z" o "E", en la que los términos "Z" y "E" se usan de acuerdo con los estándares de la IUPAC. A menos que se especifique lo contrario, las estructuras que representan dobles enlaces abarcan isómeros tanto "E" como "Z". Los sustituyentes en torno a un doble enlace carbono-carbono pueden denominarse, como alternativa, como "cis" o "trans," donde "cis" representa sustituyentes en el mismo lado del doble enlace y "trans" representa sustituyentes en lados opuestos del doble enlace. La disposición de sustituyentes en torno a un anillo carbocíclico también puede designarse como "cis" o "trans." El término "cis" representa sustituyentes en el mismo lado del plano del anillo y el término "trans" representa sustituyentes en lados opuestos del plano del anillo. Las mezclas de compuestos en los que los sustituyentes están dispuestos en el mismo lado y en lados opuestos del plano del anillo se designan como "cis/trans".

El término "estereoisómeros" cuando se usa en el presente documento consiste en todos los isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. La presente invención abarca diversos estereoisómeros de estos compuestos y mezclas de los mismos.

Pueden prepararse enantiómeros individuales y diastereoisómeros de compuestos de la presente invención sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles en el mercado que contienen centros asimétricos o estereogénicos, o mediante la preparación de mezclas racémicas, seguido de métodos de resolución bien conocidos para aquellos con una habilidad habitual en la técnica. Estos métodos de resolución se ilustran mediante (1) unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, separación de la mezcla de diastereómeros resultantes mediante recristalización o cromatografía y liberación del producto ópticamente puro del auxiliar, (2) formación de sal empleando un agente de resolución ópticamente activo, (3) separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos en columnas cromatográficas quirales o (4) resolución cinética usando reactivos químicos o enzimáticos estereoselectivos. Las mezclas racémicas también pueden resolverse en sus enantiómeros componentes por métodos bien conocidos, tales como cromatografía quiral de fase quiral o cristalizando el compuesto en un disolvente quiral. En la técnica son bien conocidas las síntesis estereoselectivas, una reacción química o enzimática en la que un solo reactivo forma una mezcla desigual de estereoisómeros durante la creación de un nuevo estereocentro o durante la transformación de uno preexistente. Las síntesis estereoselectivas abarcan transformaciones tanto enantio como diastereoselectivas. Para ejemplos, véase Carreira y Kvaerno, *Classics in Stereoselective Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, 2009.

Los compuestos desvelados en el presente documento pueden existir en formas solvatadas y sin solvatar con disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como agua, etanol, y similares, y se pretende que la invención abarque tanto formas solvatadas como sin solvatar. En una realización, el compuesto es amorfo. En una realización, el compuesto es un polimorfo individual. En otra realización, el compuesto es una mezcla de polimorfos. En otra realización, el compuesto está en forma cristalina.

La invención también abarca compuestos marcados isotópicamente de la invención, que son idénticos a los enumerados en el presente documento, excepto porque uno o más átomos se sustituyen por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que suele encontrarse en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor o cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S ,

^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede tener uno o más átomos de H reemplazados por deuterio.

5 Determinados compuestos desvelados marcados isotópicamente (por ejemplo, los marcados con ^3H y ^{14}C) son útiles en ensayos de distribución de compuestos y/o sustratos en tejidos. Los isótopos tritados (es decir, ^3H) y de carbono-14 (es decir, ^{14}C) son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Adicionalmente, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que dan como resultado una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación) y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Generalmente, pueden prepararse compuestos marcados isotópicamente de la invención siguiendo procedimientos análogos a los desvelados en, por ejemplo, los Ejemplos en el presente documento, sustituyendo un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente.

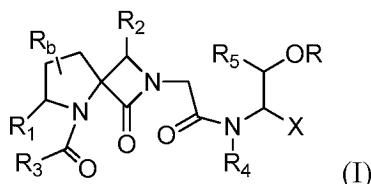
15 El término "profármaco" se refiere a compuestos que se transforman *in vivo* para producir un compuesto desvelado o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto. La transformación puede suceder por diversos mecanismos (tales como metabolismo de esterasa, amidasa, fosfatasa, oxidativo y/o reductivo) en diversas localizaciones (tales como en el lumen intestinal o tras circular por el intestino, sangre o hígado). Los profármacos son bien conocidos en la técnica (por ejemplo, véase Rautio, Kumpulainen, et al, Nature Reviews Drug Discovery 2008, 7, 255). Por ejemplo, si un compuestos de la invención o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto contiene un grupo funcional de ácido carboxílico, un profármaco puede comprender un éster formado por el reemplazo del átomo de hidrógeno del grupo ácido con un grupo, tal como alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), alcanoiloximetilo ($\text{C}_2\text{-C}_{12}$), 1-(alcanoiloxi)etilo que tiene de 4 a 9 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcanoiloxi)-etilo que tiene de 5 a 10 átomos de carbono, alcocarboniloximetilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, 1-(alcocarboniloxi)etilo que tiene de 4 a 7 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcocarboniloxi)etilo que tiene de 5 a 8 átomos de carbono, N-(alcocarbonil)aminometilo que tiene de 3 a 9 átomos de carbono, 1-(N-(alcocarbonil)amino)etilo que tiene de 4 a 10 átomos de carbono, 3-ftalidilo, 4-crotonolactonilo, gamma-butirolacton-4-ilo, di-N,N-alquilamino ($\text{C}_1\text{-C}_2$)-alquilo ($\text{C}_2\text{-C}_3$) (tal como β -dimetilaminoetilo), carbamoil-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_2$), N,N-dialquilcarbamoil ($\text{C}_1\text{-C}_2$)-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_2$) y piperidin-, pirrolidin- o morfolin-alquilo ($\text{C}_2\text{-C}_3$).

30 De un modo similar, si un compuesto de la invención contiene un grupo funcional de alcohol, un profármaco puede formarse mediante el reemplazo de un átomo de hidrógeno del grupo alcohol con un grupo, tal como alcanoiloximetilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), 1-(alcanoiloxi ($\text{C}_1\text{-C}_6$))etilo, 1-metil-1-(alcanoiloxi ($\text{C}_1\text{-C}_6$))etilo, alcocarboniloximetilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), N-alcocarbonilaminometilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), succinoilo, alcanoil ($\text{C}_1\text{-C}_6$), α -aminoalcanoil ($\text{C}_1\text{-C}_4$), arilacilo y α -aminoacilo, o α -aminoacil- α -aminoacilo, donde cada grupo α -aminoacilo se selecciona independientemente entre los L-aminoácidos de origen natural, $\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$, $-\text{P}(\text{O})(\text{Oalquilo } (\text{C}_1\text{-C}_6))_2$ o glicosilo (el radical resultante de la eliminación de un grupo hidroxilo de la forma hemiacetal de un carbohidrato).

Si el compuesto de la invención incorpora un grupo funcional de amina, puede formarse un profármaco, por ejemplo, mediante reacción de una amida o carbamato, un derivado de N-aciloxialquilo, un derivado de (oxidioxolenil)metilo, una N-base de Mannich, imina o enamina. Además, una amina secundaria puede escindirse metabólicamente para generar una amina primaria bioactiva, o una amina terciaria puede escindirse metabólicamente para generar una amina primaria o secundaria bioactiva. Para ejemplos, véase Simplicio, et al., Molecules 2008, 13, 519 y referencias de los mismos.

45 Compuestos

Los compuestos desvelados incluyen aquellos representados por la fórmula:



50 y sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros y N-óxidos de los mismos, en la que

R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

55 R es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ o $-\text{C}(\text{O})\text{-alquilo } \text{C}_1\text{-C}_6$;

R_1 es H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

60 R_2 es H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R₃ es alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, o un heteroarilo de 4-6 miembros con uno, dos o tres heteroátomos cada uno seleccionado entre O, S o N, en el que R₃ puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a) o bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a);

R^a se selecciona entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), o alcoxi C₁-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos);

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

X se selecciona entre el grupo que consiste en: H, alquilo C₁-C₆, -OH, alcoxi C₁-C₆, -CO₂H, -C(O)NR^cR^d, y un anillo heteroarilo de 4 a 6 miembros con uno, dos o tres heteroátomos cada uno seleccionado entre O, S o N, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros, que puede tener un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, o N; en el que el anillo heterocíclico de 4-6 miembros puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆;

o en otras realizaciones, las variables expuestas en la fórmula (I) se definen de la siguiente manera:

R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, H);

R es H, alquilo C₁-C₆ o -C(O)-alquilo C₁-C₆;

R₁ es H o alquilo C₁-C₆;

R₂ es H o alquilo C₁-C₆;

R₃ es alquilo C₁-C₆; alcoxi C₁-C₆; -O-alquilen C₁-C₆-fenilo; alqueno C₂-C₆; alquino C₂-C₆; cicloalquilo C₃-C₆; fenilo; o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que R₃ está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C₁-C₆-cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C₁-C₆);

R^a se selecciona entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), y alcoxi C₁-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos);

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

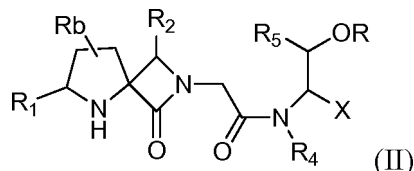
R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

X se selecciona entre el grupo que consiste en: H; alquilo C₁-C₆; -OH; alcoxi C₁-C₆; -CO₂H; -C(O)NR^cR^d; y heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o R^c y R^d junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterocicilo que incluye de 4 a 6 átomos de anillo; en el que el heterocicilo no incluye más de dos heteroátomos de anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R^c y R^d), y el segundo heteroátomo de anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; y en el que el heterocicilo está opcionalmente sustituido con 1-3

sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

5 También se proporcionan en el presente documento, al menos en parte, compuestos que son moduladores de NMDA, por ejemplo, agonistas parciales de NMDA. Por ejemplo, se desvelan en el presente documento compuestos representados por la fórmula:



10 y sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros y N-óxidos de los mismos, en la que

R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C₁-C₆;

15 R es H, alquilo C₁-C₆ o -C(O)-alquilo C₁-C₆;

R₁ es H o alquilo C₁-C₆;

R₂ es H o alquilo C₁-C₆;

20 R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

25 X se selecciona entre el grupo que consiste en: H; alquilo C₁-C₆; -OH; alcoxi C₁-C₆; -CO₂H; -C(O)NR^cR^d; y heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

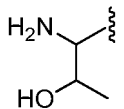
30 R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o R^c y R^d junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos de anillo; en el que el heterociclilo no incluye más de dos heteroátomos de anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R^c y R^d), y el segundo heteroátomo de anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; y en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

40 En algunas realizaciones, R₁ es H.

En algunas realizaciones, R₂ es H.

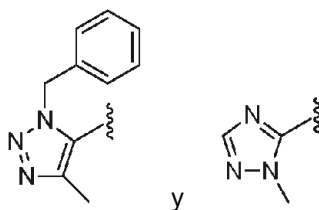
En algunas realizaciones, R₃ es alquilo C₁-C₆ no sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es metilo.

45 En algunas realizaciones, R₃ es alquilo C₁-C₆ sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a) y bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a). En algunas realizaciones, R₃ es alquilo C₁-C₆ sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C₁-C₆-cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C₁-C₆). En determinadas realizaciones, R₃ es



55 En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo. En algunas realizaciones, R₃ es heteroarilo, incluyendo de 5 a 6

átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C₁-C₆-cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C₁-C₆). En determinadas realizaciones, R₃ (aquí, heteroarilo) está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, CH₃) y bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente entre R^a). En determinadas realizaciones, R₃ (aquí, heteroarilo) está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -CH₃ y bencilo. En algunas realizaciones, R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en -CH₃,



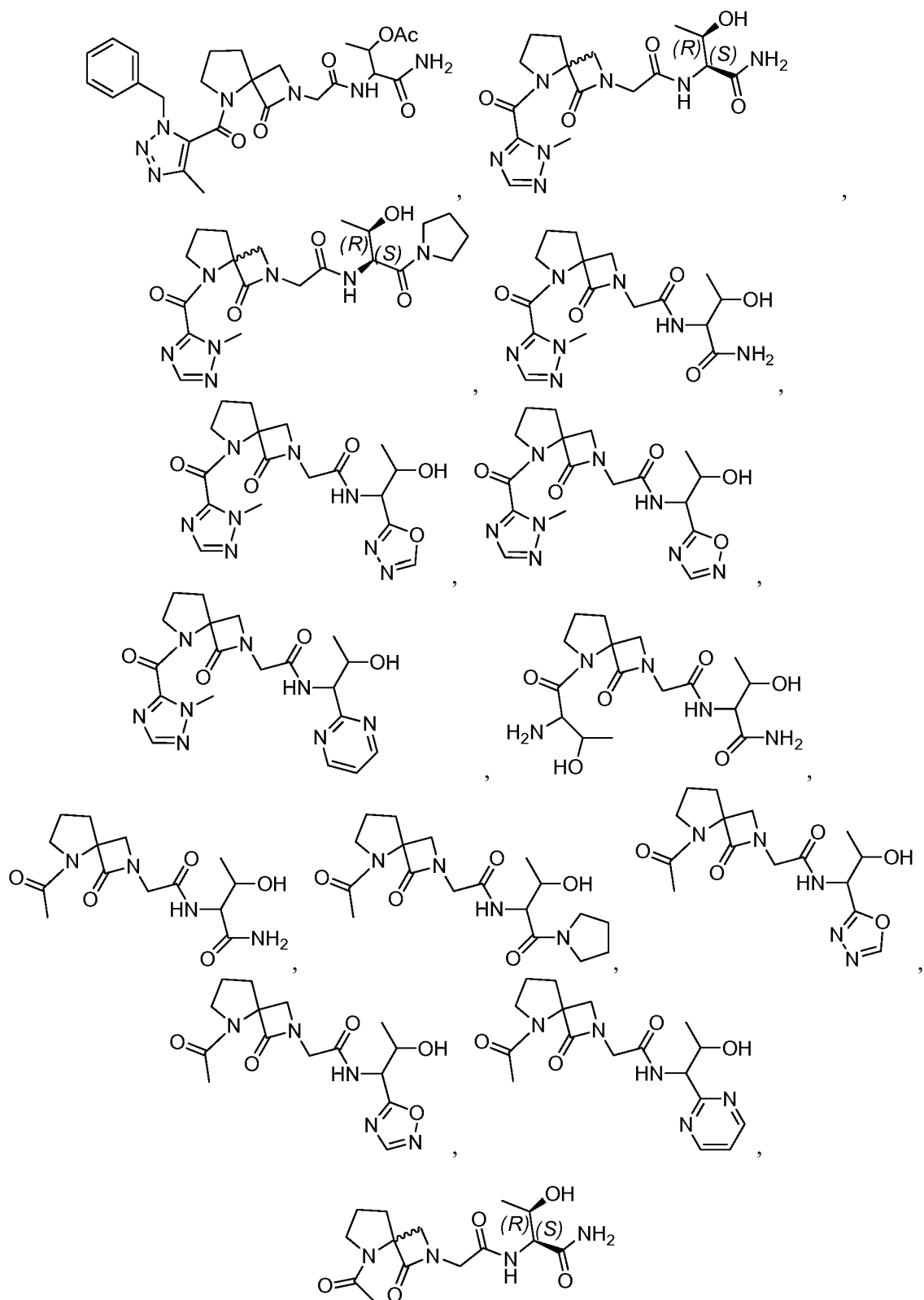
En algunas realizaciones, R₃ es -O-alquilen C₁-C₆-fenilo (por ejemplo, -O-CH₂-fenilo), que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C₁-C₆-cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C₁-C₆). En determinadas realizaciones, R₃ es benciloxi.

En algunas realizaciones, X es -C(O)NR^cR^d. En determinadas realizaciones, R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, y fenilo. Por ejemplo, R^c y R^d son ambos H.

En otras realizaciones, X es un anillo heteroarilo de 4 a 6 miembros. En algunas realizaciones, X es heteroarilo incluyendo de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo. En determinadas realizaciones, X se selecciona entre el grupo que consiste en 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,4-triazolilo (opcionalmente sustituido con 1-2 alquilos C₁-C₆ seleccionados independientemente), piridilo y pirimidinilo.

En algunas realizaciones (incluyendo cualquiera de las realizaciones anteriores descritas anteriormente), R es H o -C(O)-alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, -C(O)-CH₃). En algunas realizaciones (incluyendo cualquiera de las realizaciones anteriores descritas anteriormente), R₅ es alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, -CH₃). En algunas realizaciones (incluyendo cualquiera de las realizaciones anteriores descritas anteriormente), R₄ es H. En algunas realizaciones (incluyendo cualquiera de las realizaciones anteriores descritas anteriormente), R_b es H. Por ejemplo, realizaciones descritas en el presente documento, en las que R₃ es alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, heteroarilo, o -O-alquilen C₁-C₆-fenilo, pueden incluir una o más de las siguientes características: R₁ es H; R₂ es H; X es -C(O)NR^cR^d (por ejemplo, -C(O)NH₂) o heteroarilo (por ejemplo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,4-triazolilo (opcionalmente sustituido con 1-2 alquilos C₁-C₆ seleccionados independientemente), piridilo, o pirimidinilo)); R es H o -C(O)-alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, -C(O)-CH₃); R₅ es alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, -CH₃); R₄ es H; R_b es H. Como otro ejemplo, los compuestos de fórmula (II) pueden incluir una o más de las siguientes características: R₁ es H; R₂ es H; X es -C(O)NR^cR^d (por ejemplo, -C(O)NH₂) o heteroarilo (por ejemplo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,4-triazolilo (opcionalmente sustituido con 1-2 alquilos C₁-C₆ seleccionados independientemente), piridilo, o pirimidinilo)); R es H o -C(O)-alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, -C(O)-CH₃); R₅ es alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, -CH₃); R₄ es H; R_b es H.

En algunas realizaciones, un compuesto desvelado incluye aquellos representados en la Tabla 1 y/o en los Ejemplos, por ejemplo, uno que tiene la fórmula:



Los compuestos de la presente divulgación y formulaciones de los mismos pueden tener una pluralidad de centros quirales. Cada centro quiral puede ser independientemente *R*, *S*, o cualquier mezcla de *R* y *S*. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un centro quiral puede tener una proporción de *R*:*S* de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 50:50, entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 75:25, entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 85:15, entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 90:10, entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 95:5, entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 98:2, entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 99:1, entre aproximadamente 0:100 y 50:50, entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente

25:75, entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 15:85, entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 10:90, entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 5:95, entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 2:98, entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 1:99, entre aproximadamente 75:25 y 25:75, y aproximadamente 50:50. Las formulaciones de los compuestos desvelados que comprende una proporción mayor de uno o más isómeros (es decir, R y/o S) pueden poseer características terapéuticas mejoradas en relación a formulaciones racémicas de compuestos o mezclas de compuestos desvelados. En algunos casos, las fórmulas químicas contienen el descriptor "-(R)-" o "-(S)-" que está unido adicionalmente a una cuña sólida o una cuña de puntos. Este descriptor está destinado a mostrar un carbono de metino (CH) que está unido a tres sustituyentes diferentes y tiene también la configuración R o S indicada (véase, por ejemplo, la Tabla 1).

Los compuestos divulgados pueden proporcionar la apertura eficaz del canal de cationes en el receptor NMDA, por ejemplo, pueden unirse o asociarse con el sitio de glutamato del receptor NMDA para ayudar en la apertura del canal de cationes. Los compuestos divulgados pueden utilizarse para regular (activar o desactivar) el receptor NMDA a través de la acción como agonistas.

Los compuestos según se describen en el presente documento pueden ser agonistas parciales del sitio de glicina del receptor NMDA. Un agonista parcial, como se utiliza en este contexto, se entenderá que significa que a una concentración baja el análogo actúa como un agonista y a una concentración alta el análogo actúa como un antagonista. La unión de la glicina no está inhibida por el glutamato o por los inhibidores competitivos del glutamato, y tampoco se une al mismo sitio que el glutamato en el receptor NMDA. Existe en el receptor NMDA un segundo sitio de unión separado. El canal de iones abierto por ligando del receptor NMDA está, por lo tanto, bajo el control de al menos estos dos sitios alostéricos distintos. Los compuestos divulgados pueden tener la capacidad de unirse o asociarse con el sitio de unión a glicina del receptor NMDA. En algunas realizaciones, los compuestos divulgados pueden poseer una potencia que es 10 veces o más que la actividad de los agonistas parciales del sitio de glicina del receptor NMDA existentes.

Los compuestos divulgados pueden presentar un alto índice terapéutico. El índice terapéutico, como se utiliza en el presente documento, se refiere a la proporción de la dosis que produce toxicidad en el 50 % de la población (es decir, la DT_{50}) con respecto a la dosis mínima eficaz para el 50 % de la población (es decir, la DE_{50}). Por lo tanto, el índice terapéutico = $(DT_{50})/(DE_{50})$. En algunas realizaciones, un compuesto divulgado puede tener un índice terapéutico de al menos aproximadamente 10:1, de al menos aproximadamente 50:1, de al menos aproximadamente 100:1, de al menos aproximadamente 200:1, de al menos aproximadamente 500:1 o de al menos aproximadamente 1000:1.

Composiciones

En otros aspectos, se proporcionan formulaciones y composiciones que comprenden los compuestos divulgados y, de forma opcional, un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, una formulación contemplada comprende una mezcla racémica de uno o más de los compuestos divulgados.

Para su uso, las formulaciones contempladas pueden prepararse en cualquiera de una diversidad de formas. A modo de ejemplo, y sin limitación, los compuestos pueden prepararse en una formulación adecuada para la administración oral, la inyección subcutánea u otros métodos de administración de un agente activo a un animal, conocidos en la técnica farmacéutica.

Las cantidades de un compuesto divulgado, como se describe en el presente documento, en una formulación, pueden variar de acuerdo a factores tales como la patología, edad, sexo y peso del individuo. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse a lo largo del tiempo varias dosis divididas o la dosis puede reducirse o aumentarse de forma proporcional según indican las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones parentales en formas farmacéuticas unitarias para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La fórmula farmacéutica unitaria, como se utiliza en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico necesario.

La especificación para las formas farmacéuticas unitarias de la invención están estipuladas por, y dependen de forma directa de, (a) las características exclusivas del compuesto seleccionadas y el efecto terapéutico particular a conseguir y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de preparación de tal compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

Las composiciones terapéuticas normalmente deben ser estériles y ser estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración del fármaco. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de

una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio. Puede lograrse la absorción prolongada de las composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que retarde la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

5 Los compuestos pueden administrarse en una formulación de liberación prolongada, por ejemplo en una composición que incluya un polímero de liberación lenta. Los compuestos pueden prepararse con vehículos que protejan al compuesto frente a la liberación rápida, tales como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de suministro microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, ácido poliláctico y copolímeros poliláctico-poliglicólico (PLG). En general, los expertos en la materia conocen muchos métodos para la preparación de tales formulaciones.

15 Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto en la cantidad necesaria en un disolvente apropiado, a un ingrediente, o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se necesite, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en el vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferentes de preparación son el secado al vacío y la liofilización, lo que produce un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado, a partir de una solución previamente filtrada en esterilidad de los mismos.

20 En conformidad con un aspecto alternativo de la invención, para potenciar la solubilidad del compuesto el mismo puede formularse con uno o más compuestos adicionales.

25 Métodos

Se divulga un compuesto de la invención para su uso en métodos para el tratamiento de una afección en un paciente que lo necesite, mediante la administración una dosis terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En algunas realizaciones, la afección puede ser una afección mental. Por ejemplo, puede tratarse una enfermedad mental. En otro aspecto, puede tratarse una afección del sistema nervioso. Por ejemplo, puede tratarse una afección que afecta al sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico y/o al ojo. En algunas realizaciones, pueden tratarse enfermedades neurodegenerativas.

35 En algunas realizaciones, los métodos divulgados incluyen la administración de un compuesto para tratar pacientes que padecen autismo, ansiedad, depresión, trastorno bipolar, trastorno por déficit de atención, trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), esquizofrenia, un trastorno psicótico, un síntoma psicótico, aislamiento social, trastorno obsesivo-compulsivo (TOC), fobia, síndrome de estrés postraumático, un trastorno de conducta, un trastorno del control de impulsos, un trastorno por abuso de sustancias (por ejemplo, un síntoma de abstinencia, adicción a opiáceos, adicción a la nicotina y adicción al etanol), un trastorno del sueño, un trastorno de la memoria (por ejemplo, un déficit o pérdida de la capacidad, o una capacidad reducida para elaborar nuevas memorias), un trastorno del aprendizaje, incontinencia urinaria, atrofia multisistémica, parálisis supranuclear progresiva, ataxia de Friedrich, síndrome de Down, síndrome del cromosoma X frágil, esclerosis tuberosa, atrofia olivopontocerebelosa, parálisis cerebral, neuritis óptica inducida por fármacos, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, glaucoma, demencia, demencia asociada al SIDA, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, espasticidad, mioclonía, espasmo muscular, síndrome de Tourette, epilepsia, isquemia cerebral, ictus, un tumor cerebral, lesión cerebral traumática, parada cardíaca, mielopatía, lesión de la médula espinal, neuropatía periférica, dolor neuropático agudo y dolor neuropático crónico.

50 En algunas realizaciones, se divulgan métodos para el tratamiento de un trastorno de la memoria asociado con el envejecimiento, la esquizofrenia, los trastornos del aprendizaje especiales, ataques epilépticos, convulsiones postictus, isquemia cerebral, hipoglucemia, parada cardíaca, epilepsia, migraña, demencia asociada al SIDA, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer en su fase inicial y enfermedad de Alzheimer.

55 En determinadas realizaciones, puede utilizarse un compuesto en los métodos para el tratamiento de la esquizofrenia. Por ejemplo, pueden tratarse utilizando los métodos y composiciones contemplados en el presente documento la esquizofrenia paranoide, la esquizofrenia desorganizada (es decir, esquizofrenia hebefrénica), la esquizofrenia catatónica, la esquizofrenia indiferenciada, la esquizofrenia residual, la depresión postesquizofrénica y la esquizofrenia simple. También pueden tratarse utilizando las composiciones contempladas en el presente documento los trastornos psicóticos tales como los trastornos psicoafectivos, los trastornos delirantes, los trastornos psicóticos breves, los trastornos psicóticos compartidos y los trastornos psicóticos con delirios o alucinaciones.

60 La esquizofrenia paranoide puede caracterizarse cuando están presentes delirios o alucinaciones auditivas, pero el trastorno del pensamiento, el comportamiento desorganizado o el aplanamiento afectivo no lo son. Los delirios puede ser persecutorios y/o de grandeza, pero además de estos también pueden estar presentes otros temas tales como los celos, la religiosidad o la somatización. La esquizofrenia desorganizada puede caracterizarse cuando están presentes

juntos el trastorno del pensamiento y el afecto plano. La esquizofrenia catatónica puede caracterizarse cuando el paciente pueda estar casi inmóvil o presentar movimiento agitado sin propósito. Los síntomas pueden incluir estupor catatónico y flexibilidad cérea. La esquizofrenia indiferenciada puede caracterizarse cuando están presentes síntomas psicóticos, pero no se han cumplido los criterios para los tipos paranoide, desorganizado o catatónico. La esquizofrenia residual puede caracterizarse cuando están presentes síntomas positivos solo con una intensidad baja. La depresión postesquizofrénica puede caracterizarse cuando se presenta un episodio depresivo como consecuencia de una enfermedad esquizofrénica, en donde aún pueden estar presentes síntomas esquizofrénicos de bajo nivel. La esquizofrenia simple puede caracterizarse por el desarrollo gradual y progresivo de síntomas negativos notables sin antecedentes de episodios psicóticos.

En algunas realizaciones, se divulgan métodos para el tratamiento de síntomas psicóticos que pueden estar presentes en otros trastornos mentales, incluyendo, pero sin limitación, trastorno bipolar, trastorno de la personalidad límite, intoxicación por fármacos y psicosis inducida por fármacos. En otra realización, se divulgan métodos para tratamiento de las alucinaciones (por ejemplo, "no estrambóticas") que pueden estar presentes en, por ejemplo, el trastorno delirante.

También se divulgan métodos para el tratamiento del aislamiento social en afecciones incluyendo, pero sin limitación, trastorno de ansiedad social, trastorno de personalidad evitativo y trastorno de personalidad esquizoide.

En algunas realizaciones, se divulgan métodos para el tratamiento del dolor neuropático. El dolor neuropático puede ser agudo o crónico. En algunos casos, el dolor neuropático puede estar asociado con una afección tal como el herpes, VIH, lesión nerviosa traumática, ictus, postisquemia, fibromialgia, distrofia simpática refleja, síndrome del dolor regional complejo, lesión de la médula espinal, ciática, dolor del miembro fantasma, neuropatía diabética y dolor neuropático inducido por quimioterapia para el cáncer. También se divulgan métodos para potenciar el alivio del dolor y para proporcionar analgesia a un paciente.

Los métodos divulgados adicionales incluyen un método para el tratamiento del autismo y/o de un trastorno del espectro autista en un paciente que lo necesite, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto al paciente. En una realización, se divulga un método para reducir los síntomas del autismo en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto divulgado. Por ejemplo, tras la administración, el compuesto puede disminuir la incidencia de uno o más síntomas de autismo tal como la evitación del contacto visual, el fracaso para socializar, el déficit de atención, el mal humor, la hiperactividad, la sensibilidad anómala al sonido, el discurso inapropiado, el sueño interrumpido y la perseverancia. Tal incidencia disminuida puede medirse con respecto a la incidencia en el individuo no tratado o en un individuo/s no tratado/s.

También se divulga en el presente documento un método para modular en una célula la expresión de un gen de autismo diana, que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento. La expresión del gen de autismo puede seleccionarse de ABAT, APOE, CHRNA4, GABRA5, GFAP, GRIN2A, PDYN y PENK. En otra realización, se divulga un método para modular la plasticidad sináptica en un paciente que padece un trastorno relacionado con la plasticidad sináptica, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto.

En otra realización, también se proporcionan compuestos para su uso en un método para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, o por ejemplo, el tratamiento de la pérdida de memoria que por ejemplo, acompaña a la enfermedad de Alzheimer de fase inicial, en un paciente que lo necesite. También se divulga en el presente documento un método para modular la proteína amiloide de Alzheimer (por ejemplo, el péptido beta amiloide, por ejemplo la isoforma $A\beta_{1-42}$), *in vitro* o *in vivo* (por ejemplo, en una célula), que comprende poner en contacto la proteína con la cantidad eficaz de un compuesto divulgado. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un compuesto puede bloquear la capacidad de tal proteína amiloide para inhibir la potenciación duradera en cortes de hipocampo, así como la muerte de células neuronales apoptóticas. En algunas realizaciones, un compuesto divulgado puede proporcionar propiedades neuroprotectoras a un paciente de Alzheimer que lo necesite, por ejemplo, puede proporcionar un efecto terapéutico sobre la muerte de células neuronales asociada con la enfermedad de Alzheimer de fase tardía.

En una realización adicional, se proporcionan compuestos para su uso en un método para el tratamiento de la depresión que comprende administrar un compuesto descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el tratamiento puede aliviar la depresión o un síntoma de la depresión, sin afectar el comportamiento o la coordinación motora, y sin inducir o estimular la actividad de ataques epilépticos. Las afecciones de depresión ejemplares que se esperan tratar incluyen el trastorno depresivo mayor, el trastorno distímico, la depresión psicótica, la depresión posparto, el síndrome premenstrual, el trastorno disfórico premenstrual, el trastorno afectivo estacional (TAE), el trastorno bipolar (o trastorno maniaco-depresivo), el trastorno del estado de ánimo y las depresiones provocadas por afecciones médicas crónicas tales como el cáncer o dolor crónico, la quimioterapia, el estrés crónico y los trastornos de estrés posttraumático. Además, los pacientes que padecen cualquier forma de depresión a menudo experimentan ansiedad. Los diversos síntomas asociados con la ansiedad incluyen temor, pánico, palpaciones cardíacas, disnea, fatiga, náuseas y cefaleas, entre otros. La ansiedad o cualquiera de los síntomas pueden tratarse administrando un compuesto según se describe en el presente documento.

También se divulgan en el presente documento métodos para el tratamiento de una afección en pacientes resistentes a tratamiento, por ejemplo, pacientes que padecen una afección mental o del sistema nervioso central que no responden y/o no ha respondido a tratamientos adecuados con al menos uno, o al menos dos, de otros compuestos o productos terapéuticos. Por ejemplo, se divulga en el presente documento un método para el tratamiento de la depresión en un paciente resistente al tratamiento, que comprende a) identificar de forma opcional al paciente como resistente al tratamiento y b) administrar a dicho paciente una dosis eficaz de un compuesto.

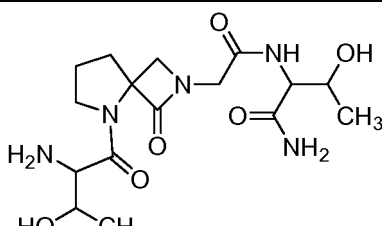
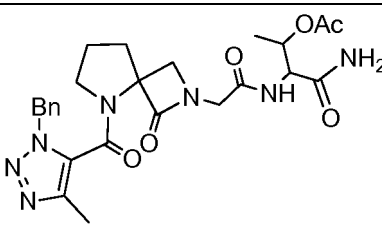
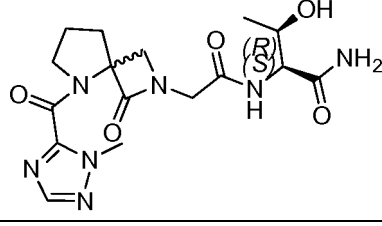
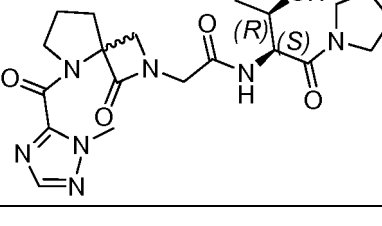
En algunas realizaciones, se divulga un compuesto para su uso para el cuidado agudo de un paciente. Por ejemplo, se puede administrar a un paciente un compuesto para tratar un episodio particular (por ejemplo, un episodio grave) de una afección contemplada en el presente documento.

También se contemplan en el presente documento politerapias que comprenden un compuesto en combinación con uno o más de otros agentes activos. Por ejemplo, puede combinarse un compuesto con uno o más antidepresivos, tales como antidepresivos tricíclicos, los IMAO, los ISRS y los inhibidores de recaptación doble o triple y/o los fármacos ansiolíticos. Los fármacos ejemplares que pueden utilizarse en combinación con un compuesto incluyen Anafranil, Adapin, Aventyl, Elavil, Norpramin, Pamelor, Pertofrane, Sinequan, Surmontil, Tofranil, Vivactil, Parnate, Nardil, Marplan, Celexa, Lexapro, Luvox, Paxil, Prozac, Zoloft, Wellbutrin, Effexor, Remeron, Cymbalta, Desyrel (trazodona) y Ludiomill. En otro ejemplo, puede combinarse un compuesto con una medicación antipsicótica. Los ejemplos no limitativos de antipsicóticos incluyen butirofenonas, fenotiazinas, tioxantenos, clozapina, olanzapina, risperidona, quetiapina, ziprasidona, amisulprida, asenapina, paliperidona, iloperida, zotepina, sertindol, lurasidona y aripiprazol. Debe entenderse que puede utilizarse combinaciones de un compuesto y de uno o más de los productos terapéuticos anteriores para el tratamiento de cualquier afección adecuada, y no se limitan a su uso como antidepresivos o antipsicóticos.

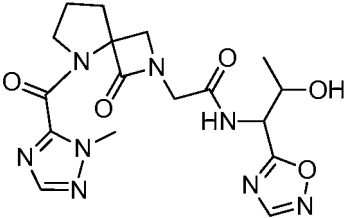
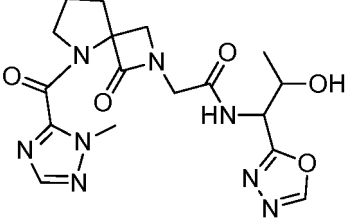
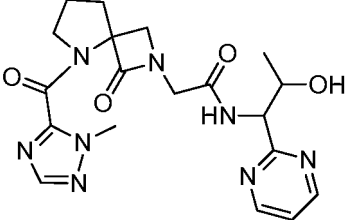
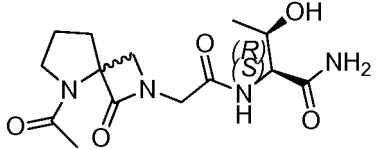
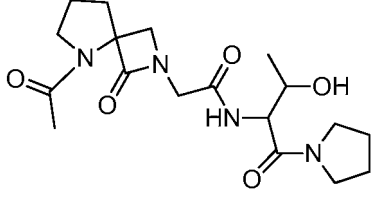
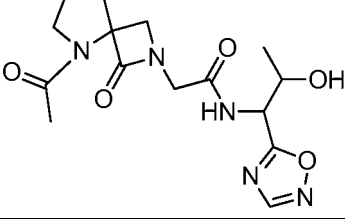
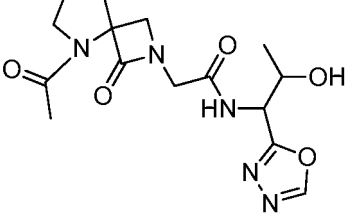
Ejemplos

La Tabla 1 siguiente muestra algunos compuestos ejemplares de la divulgación y proporciona características fisicoquímicas de los compuestos.

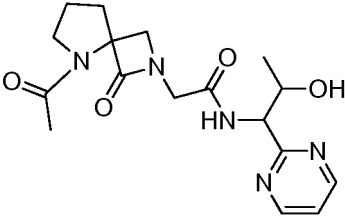
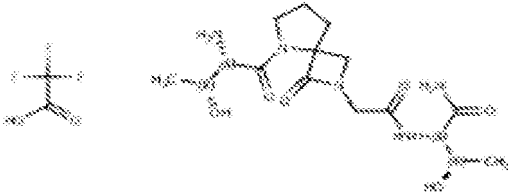
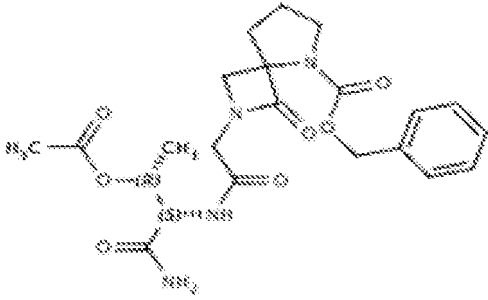
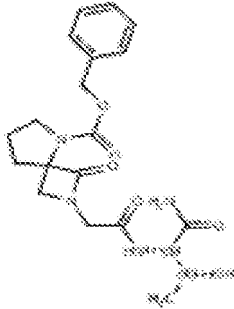
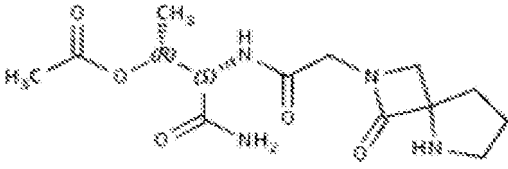
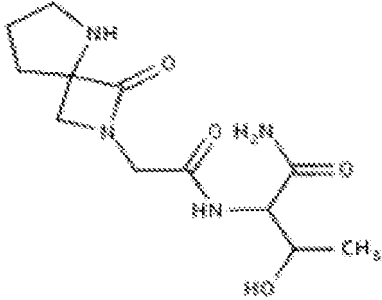
Tabla 1.

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-------------|---|---------------------|-------|-------|
| Compuesto A |  | 385 | -4,42 | 179 |
| Compuesto B |  | 525 | -0,79 | 169,8 |
| Compuesto C |  | 393 | -3,47 | 163,7 |
| Compuesto D |  | 447 | -2,61 | 141 |

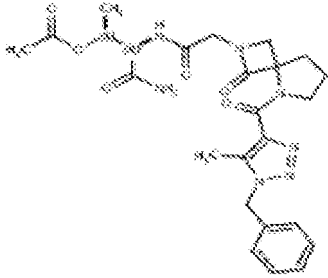
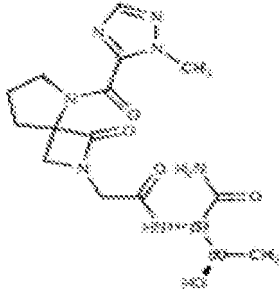
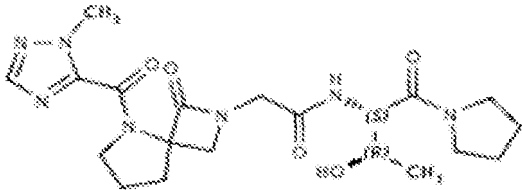
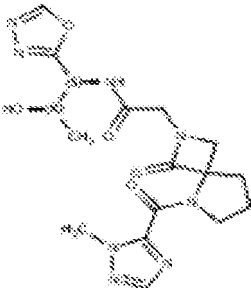
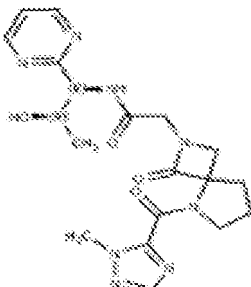
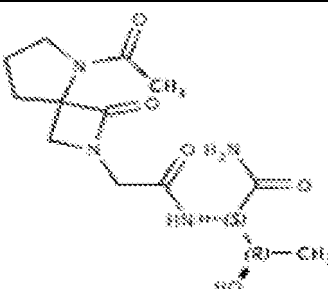
ES 2 618 421 T3

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-------------|---|---------------------|-------|-------|
| Compuesto E |  | 418 | -2,66 | 159,6 |
| Compuesto F |  | 418 | -3,36 | 159,6 |
| Compuesto G |  | 428 | -2,14 | 146,4 |
| Compuesto H |  | 326 | -3,44 | 133 |
| Compuesto I |  | 380 | -2,59 | 110,3 |
| Compuesto J |  | 351 | -2,63 | 128,9 |
| Compuesto K |  | 351 | -3,33 | 159,6 |

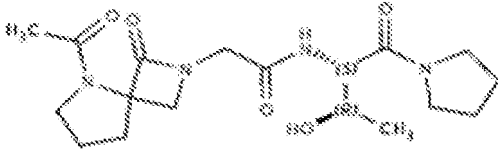
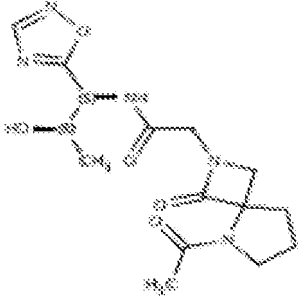
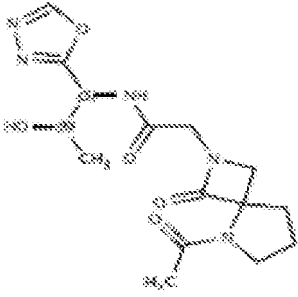
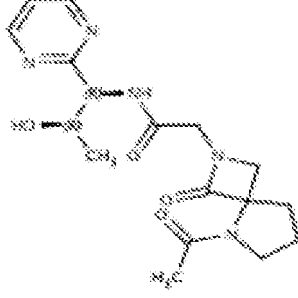
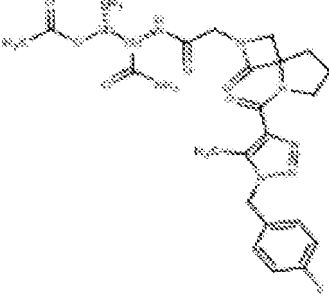
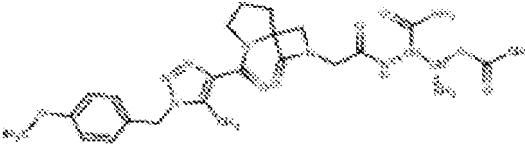
ES 2 618 421 T3

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-------------|---|---------------------|----------|--------|
| Compuesto L |  | 361 | -1,88 | 115,7 |
| 6S-FNL-6 |  | 499,4388 | -4,42387 | 179,29 |
| 6S-FNL-2 |  | 460,4803 | -0,65328 | 148,34 |
| 6S-FNL-4 |  | 418,4436 | -1,09441 | 142,27 |
| 6S-FNL-3 |  | 326,3483 | -2,60699 | 130,83 |
| 6S-FNL-5 |  | 284,3116 | -3,04811 | 124,76 |

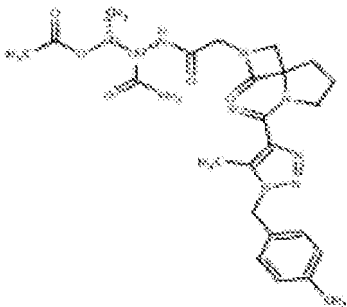
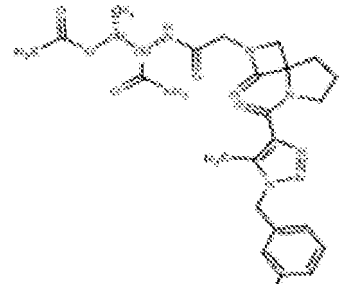
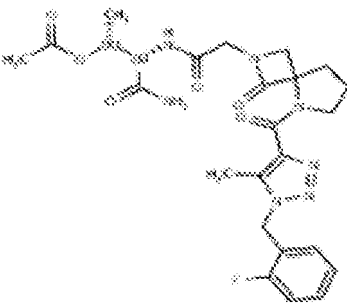
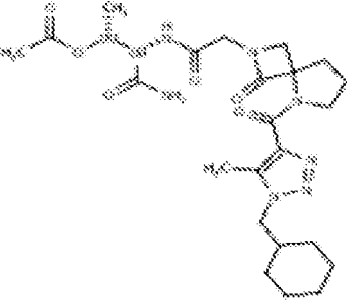
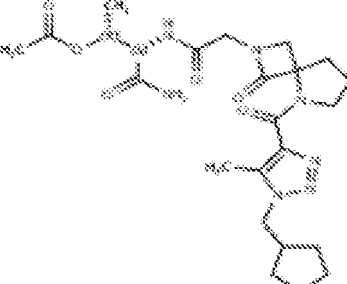
ES 2 618 421 T3

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-----------------------------|---|---------------------|----------|--------|
| 6S-FNL-24 |  | 525,5569 | 0,786001 | 169,82 |
| 6S-FNL-8 |  | 393,3977 | -3,46511 | 163,75 |
| 6S-FNL-9 |  | 447,4882 | -2,61196 | 140,97 |
| 6S-FNL-12 |  | 418,4072 | -3,35707 | 159,58 |
| 6S-FNL-21 |  | 428,4451 | -2,14114 | 146,44 |
| 6S-FNL-7-F1, 6S-FNL-7-F2 |  | 326,3483 | -3,43817 | 133,04 |

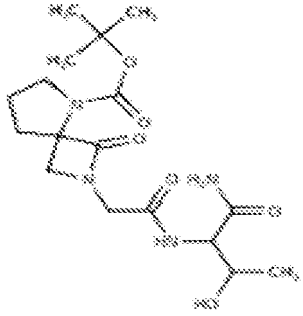
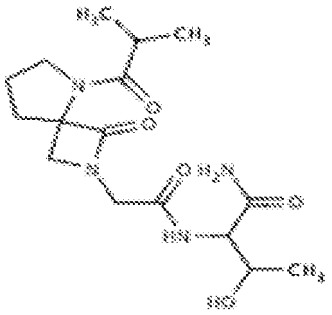
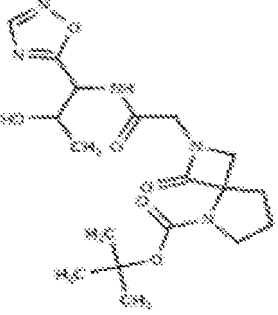
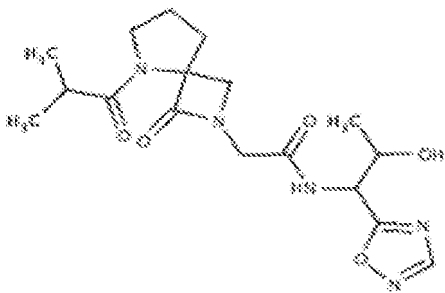
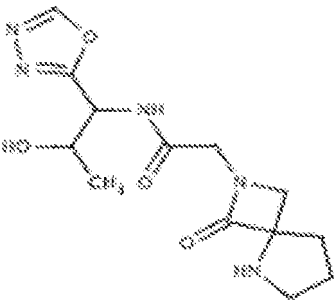
ES 2 618 421 T3

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-----------|---|---------------------|----------|--------|
| 6S-FNL-10 |  | 380,4387 | -2,58502 | 110,26 |
| 6S-FNL-16 |  | 351,3577 | -2,63355 | 128,87 |
| 6S-FNL-14 |  | 351,3577 | -3,33013 | 128,87 |
| 6S-FNL-19 |  | 361,3956 | -1,88186 | 115,73 |
| 6S-FNL-25 |  | 543,5474 | 0,643299 | 169,82 |
| 6S-FNL-26 |  | 555,5829 | 0,943672 | 179,05 |

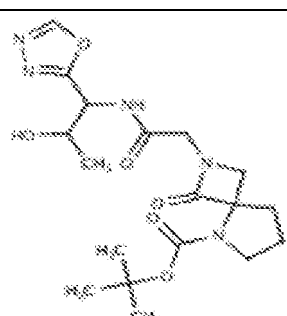
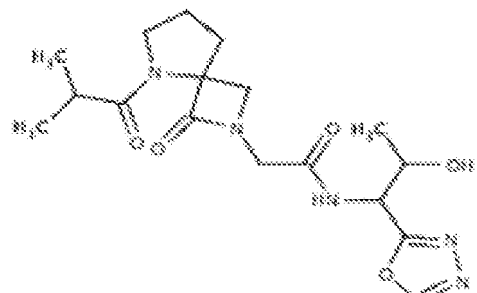
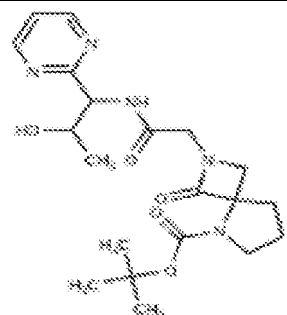
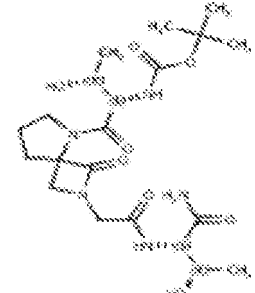
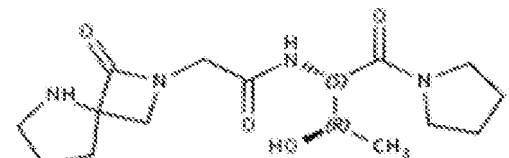
ES 2 618 421 T3

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-----------|---|---------------------|----------|--------|
| 6S-FNL-27 |  | 539,5835 | -0,27258 | 169,82 |
| 6S-FNL-28 |  | 543,5474 | 0,643299 | 169,82 |
| 6S-FNL-29 |  | 543,5474 | 0,643299 | 169,82 |
| 6S-FNL-30 |  | 531,6046 | 0,396191 | 169,82 |
| 6S-FNL-31 |  | 517,578 | -0,84076 | 169,82 |

ES 2 618 421 T3

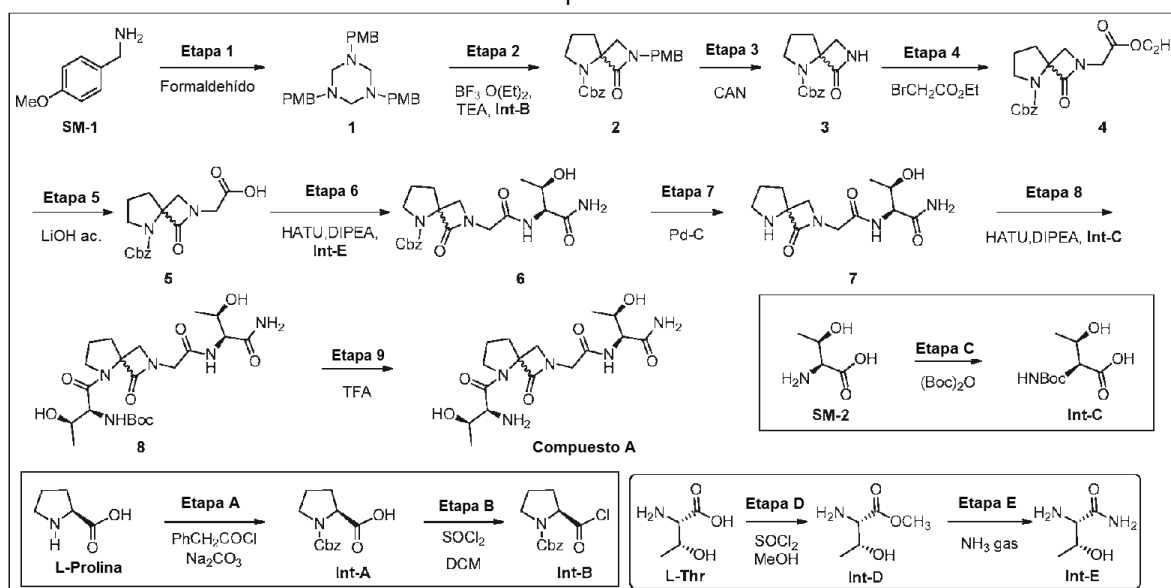
| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-----------|---|---------------------|----------|--------|
| 6S-FNL-23 |  | 384,4274 | -1,76492 | 142,27 |
| 6S-FNL-22 |  | 354,4014 | -2,19465 | 133,04 |
| 6S-FNL-18 |  | 409,4369 | 0,960294 | 138,1 |
| 6S-FNL-17 |  | 379,4109 | -1,39002 | 128,87 |
| 6S-FNL-11 |  | 309,3211 | -2,94007 | 120,59 |

ES 2 618 421 T3

| Compuesto | Estructura | Peso molecular (Da) | cLogP | tPSA |
|-----------|---|---------------------|----------|--------|
| 6S-FNL-15 |  | 409,4369 | -1,65688 | 138,1 |
| 6S-FNL-13 |  | 379,4109 | -2,08661 | 128,87 |
| 6S-FNL-20 |  | 419,4748 | -0,35934 | 124,96 |
| 6S-1 |  | 485,5313 | -2,93177 | 191,6 |
| 6S-3 |  | 338,402 | -2,19496 | 101,98 |

Ejemplo 1 - Síntesis del Compuesto A

Esquema 1.



5

Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de MP-1 (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se trituró con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,18 (d, $J = 8,0$ Hz, 6H), 6,81 (d, $J = 8,0$ Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

15

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de 1 (45 g, 100 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml) se le añadió gota a gota $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{Et})_2$ (37 ml, 301 mmol) a -40 °C. La mezcla anterior se añadió gota a gota a una solución en agitación de Int-B (95 g, 342 mmol) y Et_3N (210,2 ml, 1,50 mol) en CH_2Cl_2 seco (500 ml). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. La mezcla de reacción resultante se dejó calentar a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (1 x 150 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío (50 ml) y se secaron al vacío para proporcionar 2 (90 g, 65 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,06 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,90 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13, 3,96 (dd, $J = 15,5$ Hz, 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H).

CLEM m/z: 381 [$\text{M}^+ + 1$]

30

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

A una solución en agitación de 2 (46 g, 121 mmol) en MeCN (460 ml) y H_2O (200 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (199 g, 0,23 mol) en H_2O (460 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO_3 saturado (1 x 150 ml), seguido de salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para obtener 3 (12 g, 38 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17, 3,13 (dd, $J = 5,0$ Hz, 5,0 Hz, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H).

CLEM m/z: 261 [$\text{M}^+ + 1$]

45

45

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (12 g, 46,1 mmol) en acetonitrilo (120 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (37,6 g, 115,2 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (7,7 ml, 69,2 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/hexano para proporcionar 4 (12,5 g, 78,6 %) en forma de un jarabe de color pardo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H).
CLEM m/z: 369,3 [M⁺+Na].

Síntesis de ácido 2-(5-((benciloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

A una solución agitada de 4 (9,0 g, 26,0 mmol) en THF/H₂O (80 ml/30 ml) se le añadió LiOH·H₂O (2,73 g, 65,0 mmol) a TA y se agitó durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (25 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH~3 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (7,0 g, 85,3 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 12,5 (s, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H)

Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6)

A una solución en agitación de 5 (4 g, 12,5 mmol) en DCM (50 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (5,79 ml, 31,2 mmol), Int-E (1,78 g, 15,0 mmol), seguido de HATU (7,16 g, 18,7 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml), la capa orgánica se lavó con una solución de ácido cítrico (1 x 75 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna para obtener 6 (2,1 g, 40,3 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 7,80-7,73 (m, 1H), 7,38-7,31 (m, 5H), 7,23 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 5,08-5,01 (m, 1H), 4,86 (t, *J* = 4,0 Hz, 1H), 4,12-4,00 (m, 1H), 3,88-3,83 (m, 1H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,60-3,51 (m, 3H), 2,18-2,11 (m, 2H), 1,33-1,22 (m, 4H), 1,00 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H)

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butanamida (7)

A una solución en agitación de 6 (2,1 g, 5,02 mmol) en MeOH (20 ml) se le añadió (50 % húmedo) Pd al 10 %/C (1,0 g) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) a TA durante 2 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite usando EtOAc/MeOH (10 ml/10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 7 (1,4 g, 98,5 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 7,75 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,24 (s, 2H), 4,08-4,06 (m, 2H), 4,01-3,95 (m, 2H), 3,93-3,84 (m, 1H), 3,37-3,34 (m, 2H), 3,33 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 2,90-2,87 (m, 2H), 1,90 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,77-1,66 (m, 2H), 1,01 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H)
CLEM m/z: 285,3 [M⁺+1]

Síntesis de ((2S,3R)-1-(2-(2-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-5-il)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato de terc-butilo (8)

A una solución en agitación de 7 (300 mg, 1,05 mmol) en DCM (25 ml), DMF (0,5 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,58 ml, 3,15 mmol), Int-C (277 mg, 1,26 mmol), seguido de HATU (481 mg, 1,26 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 6 %/DCM para proporcionar 8 (400 mg, 70 % puro según CLEM) que se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para producir 8 puro (230 mg, pureza de CLEM 96 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 7,83 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,25 (s, 2H), 6,33 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,80-4,75 (m, 2H), 4,24-3,98 (m, 4H), 3,71-3,60 (m, 3H), 3,39-3,33 (m, 1H), 2,14-1,89 (m, 4H), 1,41 (s, 9H), 1,14-1,05 (m, 6H)
CLEM m/z: 486,3 [M⁺+1]

Síntesis de (2S,3R)-2-(2-(5-((2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)acetamido)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato de terc-butilo (Compuesto A)

A una solución en agitación de 8 (130 mg, 0,26 mmol) en DCM (3 ml) se le añadió TFA (152 mg, 1,34 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se codestiló con DCM para proporcionar el Compuesto A (110 mg, 82,7 %, pureza de

CLEM 93,32 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 4,33-4,28 (m, 1H), 4,23-4,19 (m, 4H), 4,05-4,01 (m, 1H), 3,91-3,87 (m, 1H), 3,71-3,65 (m, 2H), 3,55-3,49 (m, 1H), 2,30-2,24 (m, 2H), 2,02-1,97 (m, 2H), 1,27 (t, *J* = 4,0 Hz, 3H), 1,15 (t, *J* = 5,5 Hz, 3H). CLEM m/z: 386,3 [M⁺+1]

5 Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int A):

10 A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (al 50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó con HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

15 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H)
CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

20 Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió SOCl₂ (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

25 Síntesis de ácido (2S,3R)-2-((terc-butoxicarbonil) amino)-3-hidroxibutanoico (Int-C)

30 A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxibutanoico (MP-2) (30 g, 0,25 mol) en THF (150 ml) y agua (150 ml) se le añadió NaHCO₃ (65 g, 0,75 mol), seguido de Boc-anhídrido (66 ml, 0,302 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). La capa acuosa se acidificó usando HCl 2 N y después se extrajo con MeOH al 10 %/CH₂Cl₂. Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar Int-C (30 g, 63 %).

35 RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) : δ 5,92-5,70 (m, 2H), 5,55 (d, 1H), 4,42 (s a, 1H), 4,29 (d, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,25 (d, 3H).
CLEM m/z: 218 [M⁺-1]

Síntesis de 2-amino-3-hidroxibutanoato de (2S,3R)-metilo (Int-D)

40 A una solución en agitación de L-treonina (200 g, 1,68 mol) en metanol (1,2 l) se le añadió gota a gota SOCl₂ (244 ml, 3,36 mol) a 0 °C y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se sometió a reflujo durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se calentó a TA, se concentró al vacío y se decantó con n-hexano (2 x 50 ml). El residuo se disolvió en EtOH (1 l) y se neutralizó con Et₃N (471 ml, 3,36 mol) y se agitó de nuevo durante 2 h. El sólido precipitado se retiró por filtración; el filtrado obtenido se concentró al vacío para proporcionar Int-D (195 g, 80 %).

45 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 8,51 (s a, 3H), 4,13-4,10 (m, 1H), 3,91 (s a, 1H), 1,20 (d, 3H)
CLEM m/z: 134,1 [M⁺+1]

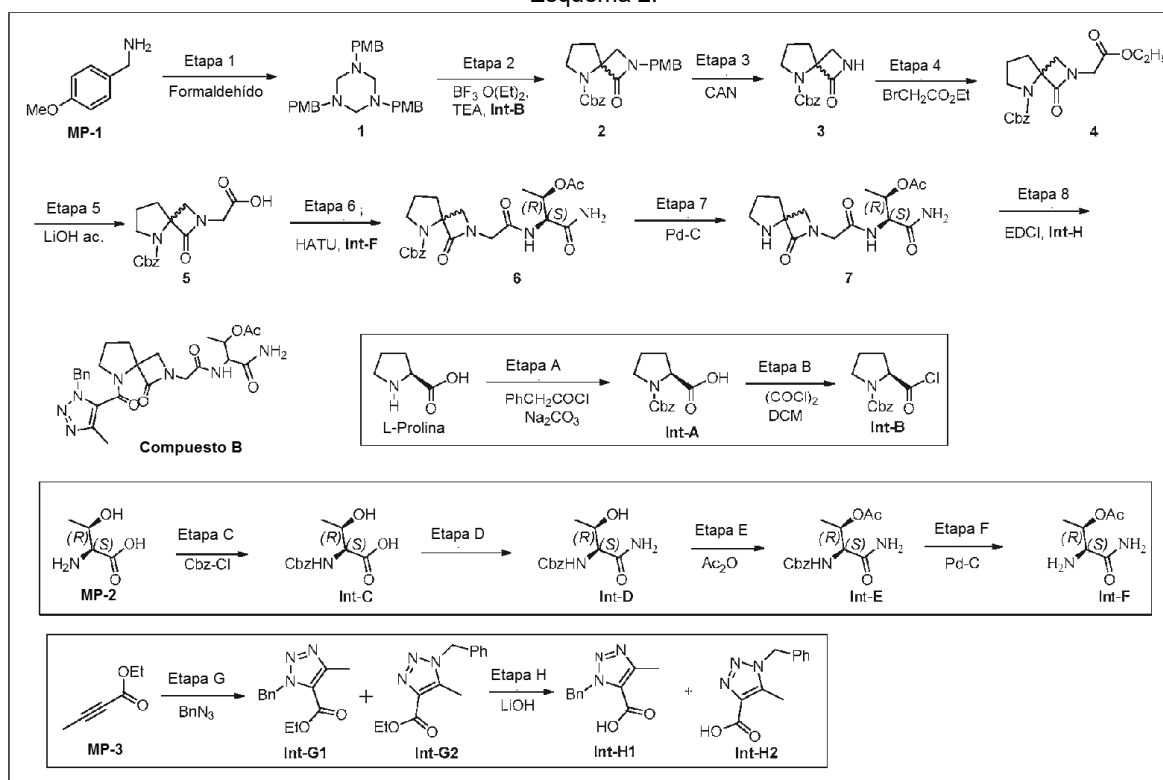
Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxibutanamida (Int-E)

50 Una solución de Int-D (190 g, 1,35 mol) en IPA (2 l) se recogió en un autoclave y se purgó con gas de NH₃ (7-8 kg) y se agitó a 35 °C durante 24 h. Después se retiró el gas de NH₃ y la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se le añadió CH₂Cl₂ y se filtró. El sólido obtenido se sometió a reflujo en EtOH durante 1 h a 78 °C. La masa de reacción se filtró en condiciones de calentamiento y se añadió n-hexano al filtrado y se agitó de nuevo durante 4 h más. El sólido precipitado obtenido se filtró y se secó al vacío para proporcionar Int-E (160 g, 47 %).

55 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 7,38 (s a, 1H), 7,02 (s a, 1H), 4,66 (s a, 1H), 3,77-3,70 (m, 1H), 2,93 (d, 1H), 2,72 (m a, 1H), 1,05 (d, 3H)
CLEM m/z: 119,1 [M⁺+1]
UPLC (pureza de ELSD): 99,9 %

Ejemplo 2 - Síntesis del Compuesto B

Esquema 2.



5

Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil)metanamina MP-1 (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (33 %ac, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

10

15

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 6,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H)

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

Una solución en agitación de Int-B (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml) se enfrió a -40 °C y se añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. A esta se le añadió gota a gota una mezcla de 1 (50g, 0,12 mol) y BF₃OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) a -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 2 (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

20

25

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13, 3,96 (dd, *J* = 15,5 Hz, 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H)

30

CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

A una solución en agitación de 2 (30 g, 78,94 mmol) en MeCN (300 ml) y H₂O (150 ml) enfriada a 0 °C, se le añadió una solución de CAN (129 g, 0,23 mol) en H₂O (300 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para proporcionar 3 (8 g,

35

40 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17, 3,13 (dd, *J* = 5,0 Hz, 5,0 Hz, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H)

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

5

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (10,0 g, 38,46 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadieron Cs₂CO₃ (31,34 g, 96,19 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (6,42 ml, 57,60 mmol) a TA y se agitó durante 16 h a TA. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/Hexano para proporcionar 4 (10,0 g, 75 %) en forma de un jarabe de color pardo.

10

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H)

15

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 2-(5-((benciloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

A una solución agitada de 4 (6,0 g, 17,34 mmol) en THF: H₂O (75 ml/40 ml) se le añadió LiOH.H₂O (1,82 g, 43,33 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH~2 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (4,5 g, 88,2 %) en forma de un sólido blanquecino.

20

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5 (s a, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H)

25

CLEM m/z: 319 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-3-acetoxi-1-amino-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de 2-bencilo (6)

A una solución en agitación de 5 (10 g, 31,44 mmol) en DMF (120 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (14,48 ml, 78,6 mmol), Int-F (5,95 g, 37,7 mmol), seguido de HATU (14,33 g, 37,7 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 1 %/DCM para proporcionar 6 (5,5 g, 38,1 %) en forma de un sólido blanquecino.

35

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,97 -7,88 (m, 1H), 7,49-7,46 (m, 5H), 7,35 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 5,11 (s, 2H), 5,08-5,02 (m, 1H), 4,41 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,21-4,11 (m, 1H), 3,87-3,79 (m, 4H), 3,13 (s, 1H), 2,18-2,21 (m, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,90-1,84 (m, 2H), 1,81-1,10 (m, 3H)

40

CLEM m/z: 483,5 [M⁺+Na].

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-4-oxo-3-(2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butan-2-ilo (7)

A una solución en agitación de 6 (5,5 g, 11,95 mmol) en metanol (50 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de humedad (2,0 g) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (5 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para dar 7 (3,80 g, 97,6 %) en forma de un sólido blanquecino.

45

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,97 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 5,19-5,13 (m, 1H), 4,46-4,41 (m, 1H), 4,03-3,90 (m, 2H), 3,39-3,30 (m, 3H), 2,91 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,97 (s, 3H), 1,78-1,70 (m, 2H), 1,29-1,15 (m, 3H), 1,50-1,10 (m, 2H).

50

CLEM m/z: 327,3 [M⁺+1]

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-bencil-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (Compuesto B)

A una solución en agitación de Int-H2 (4,0 g, 18,43 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml), DMF (0,1 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (3,34 ml, 36,86 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar cloruro de ácido. A una solución agitada del cloruro de ácido en DCM (40 ml) se le añadió *d* 7 (3,8 g, 11,65 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (6,44 ml, 37,04 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ (2 x 25 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el Compuesto B

60

65

(2,6 g, 42,5 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,87, 7,89 (dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 11,0 Hz, 2H), 7,38-7,31 (m, 2H), 7,17 (t, 3H), 5,63 (s, 2H), 5,20-5,16 (m, 1H), 4,43-4,41 (m, 1H), 4,24-4,14 (m, 1H), 4,02 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,38-3,33 (m, 1H), 2,20-2,14 (m, 2H), 1,97 (s, 3H), 1,92-1,80 (m, 5H), 1,16 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H)

5 CLEM m/z: 526,6 [M⁺+1]; HPLC: 51,34 % y 46,08 % (enantiómeros)

Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A)

10 A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (al 50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó usando HCl 6 N.

15 La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo claro.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H).

20 CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

25 A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió SOCl₂ (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de ácido (2S,3R)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-hidroxiбутаноico (Int-C)

30 A una solución en agitación de NaHCO₃ (529 g, 6,30 mol) en agua (1 l) se le añadió L-treonina (MP-2) (250 g, 2,10 mol) a TA y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota Cbz-Cl (850 ml, 2,52 mol, 50 % en PhCH₃) y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó de nuevo durante 28 h. A esta se le añadió MTBE (1 l) y se agitó durante 20 min. La capa acuosa separada en tolueno se agitó durante 20 min. La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N (pH ~1-2) y se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se agitó con dicitohexilamina (819 ml, 4,20 mol) durante 4 h para obtener un sólido de color blanco, se filtró y se secó. El sólido obtenido se sometió a reflujo con EtOAc (1,5 l) durante 1 h y después se filtró. El material sólido se disolvió en agua (1 l) y se acidificó con H₂SO₄ dil. y se agitó de nuevo durante 30 min. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1 l). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se trituró con n-hexano para proporcionar Int-C (230 g, 43 %) en forma de un sólido de color blanco.

35 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,55 (m a, 1H), 7,37-7,30 (m, 5H), 6,94 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,08-3,94 (m, 2H), 1,02 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

40 pureza de ELSD: 84,66 %

45 Síntesis de ((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (Int-D)

50 A una solución de Int-C (25 g, 98,8 mmol) en DCM (250 ml) se le añadió cloruro de amonio (7,86 g, 147 mmol), HATU (45 g, 118 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (45,5 ml, 261 mmol) y se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la capa orgánica se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico (1 x 150 ml), seguido de HCl 2 N (1 x 100 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar Int-D (16 g, 66 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

55 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,36-7,32 (m, 5H), 7,04 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,75 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,95-3,92 (m, 1H), 3,86-3,83 (m, 1H), 1,27-1,23 (m, 1H), 1,04 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H)

CLEM m/z: 253,3 [M⁺+1]

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxobutan-2-ilo (Int-E)

60 A una solución en agitación de Int-D (16 g, 63,4 mmol) en CH₂Cl₂ (250 ml) se le añadieron Et₃N (10,5 ml, 76,0 mmol) y DMAP (773 mg, 6,34 mmol), Ac₂O (7,12 ml, 76,0 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la capa orgánica se lavó con agua (1 x 150 ml), seguido de lavado con salmuera (1 x 100 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 1 %/DCM para proporcionar Int-E (15 g, 80,3 %) en forma de un sólido blanquecino.

65 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,45 (s, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 5,09-5,05 (m, 1H), 5,01 (s, 2H), 4,14-4,10 (m, 1H), 1,93 (s, 3H), 1,14 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

CLEM m/z: 295,1 [$M^+ + 1$]

Síntesis de acetato de (2R,3S)-3,4-diamino-4-oxobutan-2-ilo (Int-F)

- 5 A una solución en agitación de Int-E (15 g, 51 mmol) en metanol (500 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de humedad (4 g) y se agitó en una atmósfera de H_2 (presión de globo) a TA durante 4 h. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar Int-F (7,5 g, 91,9 %) en forma de un sólido blanquecino.
- 10 RMN 1H : (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,59 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 4,78 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,10 (m, 1H), 4,00-3,96 (m, 1H), 1,89 (s, 3H), 1,01 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).
CLEM m/z: 161,5 [$M^+ + 1$]

Síntesis de (azidometil)benceno (MP-4)

- 15 A una solución en agitación de bromuro de bencilo (30 g, 175 mmol) en dimetilformamida (300 ml) se le añadió azida sódica (45,6 g, 701 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (supervisado por TLC), la mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se diluyeron con agua (300 ml) y éter (200 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 200 ml) de agua enfriada. La capa orgánica separada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto MP-4 (18 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanquecino.
- 20 RMN 1H : (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,40-7,29 (m, 5H), 4,32 (s, 2H).

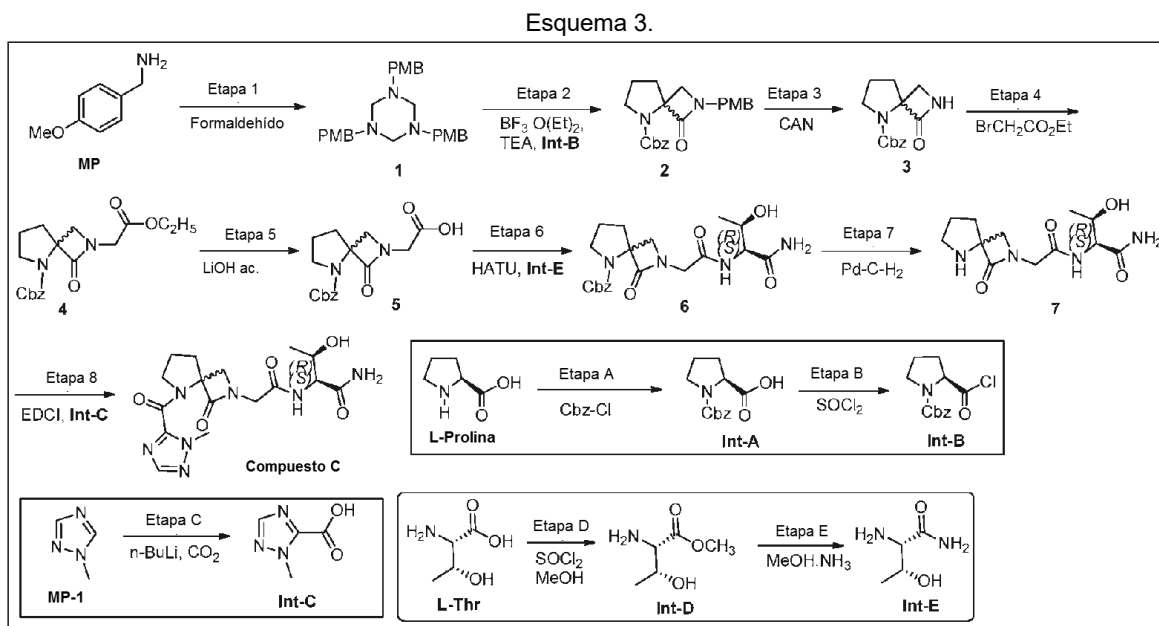
Síntesis de 1-bencil-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (Int-G1 e Int-G2)

- 25 A una solución en agitación de MP-3 (8,0 g, 71,3 mmol) en tolueno (80 ml) se le añadió MP4 (12,0 g, 107 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se evaporaron a presión reducida, el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 40 %/hexano para proporcionar dos isómeros Int-G1 (8 g) e Int-G2 (8,2 g).
- 30 RMN 1H (Int-G1): (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,30-7,26 (m, 5H), 5,86 (s, 2H), 4,34 (c, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,53 (s, 3H), 1,33 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H)
CLEM m/z: 246,3 [$M^+ + 1$].
RMN 1H (Int-G2): (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,36-7,31 (m, 3H), 7,16 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 5,53 (s, 2H), 4,43 (c, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,41 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H)
CLEM m/z: 246,3 [$M^+ + 1$]
- 35

Síntesis de ácido 1-bencil-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (Int-H2)

- 40 A una solución en agitación del compuesto Int-G2 (8,2 g, 33,4 mmol) en THF/ H_2O (82 ml/82 ml, 1:1) se le añadió LiOH. H_2O (4,2 g, 0,40 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N y el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua (25 ml), se secó a presión reducida para proporcionar el compuesto Int-H2 (7,0 g, 97,2 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN 1H (H_2): (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,01 (s a, 1H), 7,40-7,32 (m, 5H), 5,63 (s, 2H), 2,45 (s, 3H).
CLEM m/z: 218,3 [$M^+ + 1$].
- 45

Ejemplo 3 - Síntesis del Compuesto C



5

Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil) MP de metanamina (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según se determinó por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que finalmente se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,18 (d, 6H), 6,84 (d, 6H), 3,73 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

15

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (Int-B)

A una solución en agitación de Int-A (100 g, 0,40 mol) en CH₂Cl₂ (500 ml) se le añadió una cantidad catalítica de DMF (1 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. A esta se le añadió gota a gota cloruro de oxalilo (112,3 ml, 0,60 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B (100 g) como un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

20

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

25

A una solución en agitación de Int-B (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml) enfriada a -40 °C se le añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. A esta, se le añadió gota a gota una mezcla del compuesto 1 (50 g, 0,12 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) y BF₃·OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) a -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron a presión reducida para proporcionar 2 (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco. RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (d, 5H), 7,20 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 5,15-5,10 (m, 2H), 4,29 (d, 1H), 3,79 (d, 3H), 3,59 (d, 1H), 3,57-3,49 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,70-1,65 (m, 1H), 1,37 (t, 1H). CLEM (m/z): 381 [M⁺+1]

30

35

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

40

Una solución en agitación de 2 (60 g, 0,16 mol) en MeCN (200 ml) y H₂O (30 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (86,5 g, 0,16 mol) en H₂O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se

45

purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 70 %/n-hexano; finalmente, el material obtenido se trituró con EtOAc al 10 %/n-hexano para proporcionar 3 (15 g, 36,5 %).

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,99 (d, 1H), 7,42-7,30 (m, 5H), 5,19-5,00 (m, 2H), 3,55 (d, 1H), 3,50-3,32 (m, 2H), 3,19 (dd, 1H), 2,18-2,00 (m, 2H), 1,91-1,79 (m, 2H)

5 CLEM (m/z): 261 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

10 A una solución agitada de 3 (5 g, 19,23 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (8,1 g, 24,99 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (3,2 ml, 28,84 mmol) a TA y se continuó agitando durante 10 h a TA. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar 4 (4,4 g, 66 %)

15 RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (d, 5H), 5,19-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,25-2,21 (m, 1H), 2,05-2,01 (m, 1H), 1,95-1,92 (m, 1H), 1,30-1,25 (m, 3H).

CLEM (m/z): 345 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 2-(5-((benziloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

20 A una solución agitada de 4 (0,2 g, 0,63 mmol) en THF: H₂O (6 ml, 5:1) se le añadió LiOH.H₂O (66 mg, 1,57 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo completo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH~2 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (0,1 g).

25 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,41 (d, 5H), 5,07-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,21-2,09 (m, 2H), 1,95-1,92 (m, 2H), CLEM (m/z): 319,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-amino-3-hidroxi-butanoato de (2S,3R)-metilo (Int-D)

30 A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-butanoico (200 g, 1,68 mol) en metanol (1,2 l) se le añadió gota a gota SOCl₂ (244 ml, 3,36 mol) a 0 °C y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se sometió a reflujo durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se calentó a TA y se concentró a presión reducida y se lavó con n-hexano (2 x 50 ml). El residuo se disolvió en EtOH (1 l) y se neutralizó con Et₃N (471 ml, 3,36 mol) y se agitó de nuevo durante 2 h. El sólido precipitado se retiró por filtración, y el filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar Int-D (195 g, 80 %).

35 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,51 (s a, 3H), 4,13-4,10 (m, 1H), 3,91 (s a, 1H), 1,20 (d, 3H).

CLEM (m/z): 134,1 [M⁺+1]

Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-butanamida (Int-E)

40 Una solución de Int-D (190 g, 1,35 mol) en IPA (2 l) se recogió en un autoclave y se purgó con gas de NH₃ (7-8 kg) y se agitó a 35 °C durante 24 h. Después se retiró el gas de NH₃ y la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se le añadió CH₂Cl₂ y se filtró. El sólido obtenido se sometió a reflujo en EtOH durante 1 h a 78 °C. La masa de reacción se filtró en condiciones de calentamiento y se añadió n-hexano al filtrado y se agitó de nuevo durante 4 h más. El sólido precipitado se filtró y se secó a presión reducida para proporcionar Int-E (160 g, 47 %).

45 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,38 (s a, 1H), 7,02 (s a, 1H), 4,66 (s a, 1H), 3,77-3,70 (m, 1H), 2,93 (d, 1H), 2,72 (m a, 1H), 1,05 (d, 3H).

CLEM (m/z): 119,1 [M⁺+1]

50 UPLC (pureza de ELSD): 99,9 %

Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il) amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6)

55 A una solución en agitación de 5 (1 g, 3,13 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió HATU (1,4 g, 3,70 mmol), seguido de DIPEA (1,5 ml, 7,82 mmol) e Int-E (443 mg, 3,76 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se interrumpió con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna para proporcionar 6 (0,6 g, 46 %).

60 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,82 -7,65 (m, 1H), 7,41-7,38 (m, 5H), 7,27 (d, 1H), 7,12 (d, 1H), 5,10-5,01 (m, 2H), 4,89-4,85 (m, 1H), 4,25-3,99 (m, 3H), 3,94-3,90 (m, 1H), 3,74-3,69 (m, 1H), 3,52-3,45 (m, 2H), 2,22-2,09 (m, 2H), 1,92-1,79 (m, 2H), 1,27-1,25 (m, 1H), 1,09-1,01 (m, 3H).

CLEM (m/z): 419,3 [M⁺+1]

65

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butanamida (7)

A una solución en agitación de 6 (0,6 g, 1,43 mmol) en CH₃OH (20 ml) se le añadió Pd/C (0,15 g) y se agitó en una atmósfera de H₂ a TA durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con MeOH. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar 7 (0,3 g, 74 %).

CLEM (m/z): 339,3 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carboxílico (Int-C)

Una solución de MP 1 de 1-metil-1H-1,2,4-triazol (1 g, 12,0 mmol) en THF seco (10 ml) se enfrió a -78 °C en una atmósfera de N₂ y se añadió lentamente n-BuLi (7,5 ml, 12,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h, la mezcla de reacción se inactivó con hielo seco y se agitó durante 30 min y después se diluyó con agua y EtOAc (10 ml). La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para proporcionar Int-C (0,8 g, 53 %).

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,80 (s, 1H), 4,09 (s, 4H).

CLEM (m/z): 128,1 [M⁺+1]

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butanamida (Compuesto C)

A una solución en agitación de 7 (0,25 g, 0,88 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se le añadió HOBt (178 mg, 1,32 mmol), EDCI.HCl (0,2 g, 1,00 mmol), seguido de DIPEA (0,4 ml, 2,20 mmol) e Int-C (134 mg, 1,05 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, seguido de purificación por HPLC prep. para proporcionar el Compuesto C (0,07 g, 21 %).

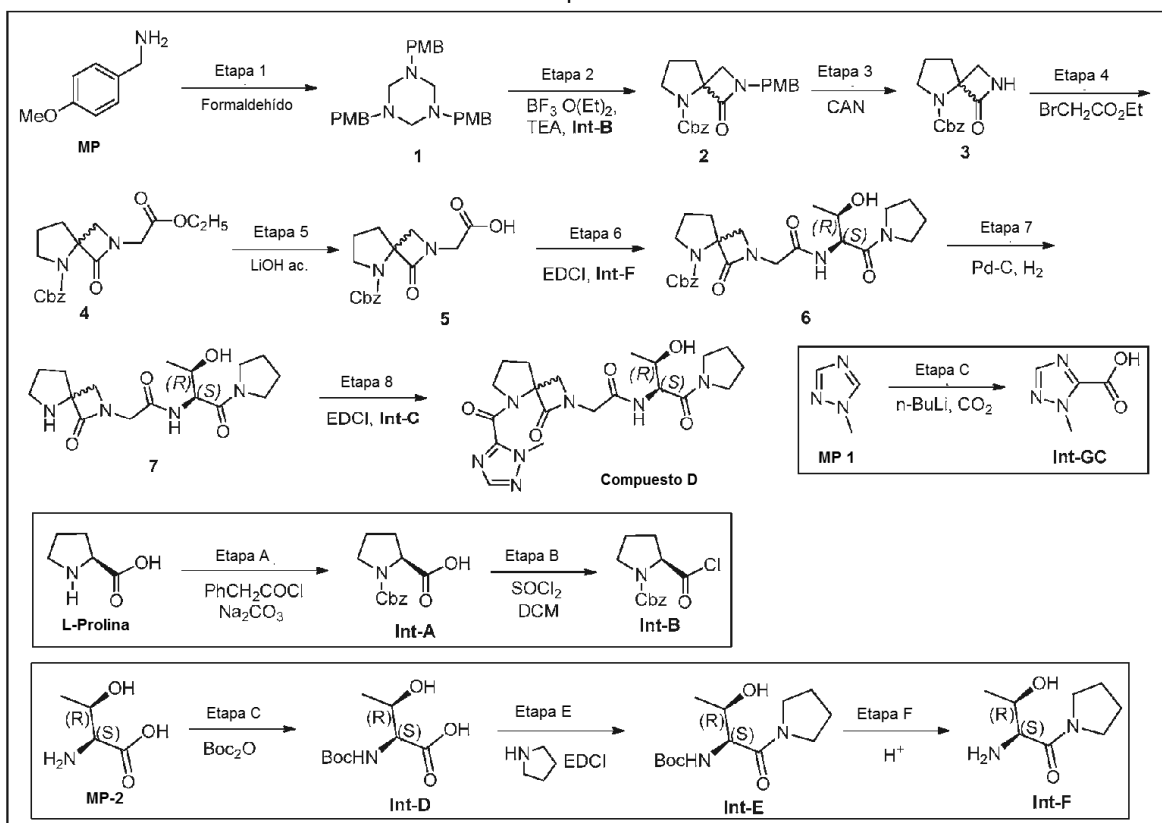
RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (s, 1H), 7,89 (t, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,12 (t, 1H), 4,93 (s, 1H), 4,19-4,15 (m, 2H), 4,03 (s, 3H), 3,96-3,91 (m, 4H), 3,44 (d, 1H), 2,25-2,20 (m, 3H), 1,97-1,91 (m, 2H), 1,07 (s, 3H).

CLEM (m/z): 394,2 [M⁺+1]

Pureza de HPLC: 93 %

Ejemplo 4 - Síntesis del Compuesto D

Esquema 4.



Síntesis de 1,3,5-tris (4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil) MP de metanamina (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, que finalmente se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, 6H), 6,84 (d, 6H), 3,73 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (Int-B)

A una solución en agitación de Int-A (100 g, 0,40 mol) en CH₂Cl₂ (500 ml) se le añadió una cantidad catalítica de DMF (1 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. A esta se le añadió gota a gota cloruro de oxalilo (112,3 ml, 0,60 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B (100 g). Este material se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de Int-B (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml) enfriada a -40 °C se le añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. Una mezcla de 1 (50 g, 0,12 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) y BF₃OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) se añadió gota a gota -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según se determinó por TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron a presión reducida para proporcionar 2 (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (d, 5H), 7,20 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 5,15-5,10 (m, 2H), 4,29 (d, 1H), 3,79 (d, 3H), 3,59 (d, 1H), 3,57-3,49 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,70-1,65 (m, 1H), 1,37 (t, 1H).

CLEM (m/z): 381 [M⁺+1]

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

Una solución en agitación de 2 (60 g, 0,16 mol) en MeCN (200 ml) y H₂O (30 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (86,5 g, 0,16 mol) en H₂O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 70 %/n-hexano. El material purificado se trituró con EtOAc al 10 %/n-hexano para proporcionar 3 (15 g, 36,5 %).

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,99 (d, 1H), 7,42-7,30 (m, 5H), 5,19-5,00 (m, 2H), 3,55 (d, 1H), 3,50-3,32 (m, 2H), 3,19 (dd, 1H), 2,18-2,00 (m, 2H), 1,91-1,79 (m, 2H)

CLEM (m/z): 261 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (5 g, 19,23 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (8,1 g, 24,99 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (3,2 ml, 28,84 mmol) a TA y se continuó agitando durante 10 h a TA. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar 4 (4,4 g, 66 %) en forma de un jarabe.

RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (d, 5H), 5,19-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,25-2,21 (m, 1H), 2,05-2,01 (m, 1H), 1,95-1,92 (m, 1H), 1,30-1,25 (m, 3H).

CLEM (m/z): 345 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 2-(5-((benziloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

A una solución agitada de 4 (0,2 g, 0,63 mmol) en THF: H₂O (6 ml, 5:1) se le añadió LiOH·H₂O (66 mg, 1,57 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo completo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH~2 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (0,1 g).

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,41 (d, 5H), 5,07-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,21-2,09 (m, 2H), 1,95-1,92 (m,

2H), CLEM (m/z): 319,4 [$M^+ + 1$]

Síntesis de ácido (2S,3R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxi-butanoico (Int-D)

5 A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-butanoico (MP 2) (10 g, 83,9 mmol) en 1,4-dioxano/agua (100 ml, 1: 1) se le añadió NaHCO_3 (21,1 g, 0,25 mol), seguido de Boc-anhídrido (21,9 ml, 0,101 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3-4) y después se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 150 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-D (15 g, en bruto). Este material se usó directamente sin purificación adicional.

Síntesis de ((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)carbamato de terc-butilo (Int-E)

15 A una solución en agitación de Int-D (5 g, 22,8 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadió EDCI.HCl (5,2 g, 27,3 mmol), HOBt (4,6 g, 34,2 mmol), seguido de DIPEA (10,5 ml, 57 mmol) y pirrolidina (1,945 g, 27,3 mmol) en una atmósfera de N_2 a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua, seguido de NaHCO_3 saturado y ácido cítrico. La capa orgánica separada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar Int-E (3 g, 48 %). RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6,41 (d, 1H), 4,71 (d, 1H), 4,15 (t, 1H), 3,94 (c, 1H), 3,63-3,42 (m, 2H), 3,24 (c, 1H), 1,90-1,81 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 1,04 (s, 3H).
CLEM (m/z): 273,2 [$M^+ + 1$]

Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-1-(pirrolidin-1-il)butan-1-ona (Int-F)

25 A una solución agitada de Int-E (3 g, 11,0 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió éter-HCl (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se lavó con éter para proporcionar Int-F (2,0 g, 87 %).
RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,19 (s a, 3H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,62-3,59 (m, 1H), 3,49-3,42 (m, 1H), 3,39-3,35 (m, 2H), 1,96-1,90 (m, 4H), 1,17 (d, 3H).
CLEM (m/z): 173,3 [$M^+ + 1$]

Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro [3,4] octano-5-carboxilato de bencilo (6)

35 A una solución en agitación de 5 (1 g, 3,14 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadió EDCI (719 mg, 3,76 mmol), HOBt (635 mg, 4,71 mmol), seguido de DIPEA (2,8 ml, 15,7 mmol) y C (784 mg, 3,77 mmol) y a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se interrumpió con agua y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna para proporcionar 6 (0,8 g, 54 %).
CLEM (m/z): 473,4 [$M^+ + 1$]

Síntesis de N-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (7)

45 A una solución en agitación de 6 (0,8 g, 1,69 mmol) en CH_3OH (60 ml) se le añadió Pd/C (0,4 g) en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h en una atmósfera de H_2 . Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con MeOH. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar 7 (0,5 g) en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.
CLEM (m/z): 339,3 [$M^+ + 1$]

Síntesis de ácido 1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carboxílico (Int-C)

55 Una solución de MP 1 de 1-metil-1H-1,2,4-triazol (1 g, 12,0 mmol) en THF seco (10 ml) se enfrió a -78 °C y se añadió lentamente n-BuLi (7,5 ml, 12,0 mmol) en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó durante 1 h, se inactivó con hielo seco y se agitó durante 30 min y después se diluyó con agua y EtOAc (10 ml). La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para proporcionar Int-C (0,8 g, 53 %).
RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,80 (s, 1H), 4,09 (s, 3H).
CLEM (m/z): 128,1 [$M^+ + 1$]

Síntesis de N-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4] octan-2-il)acetamida (Compuesto D)

65

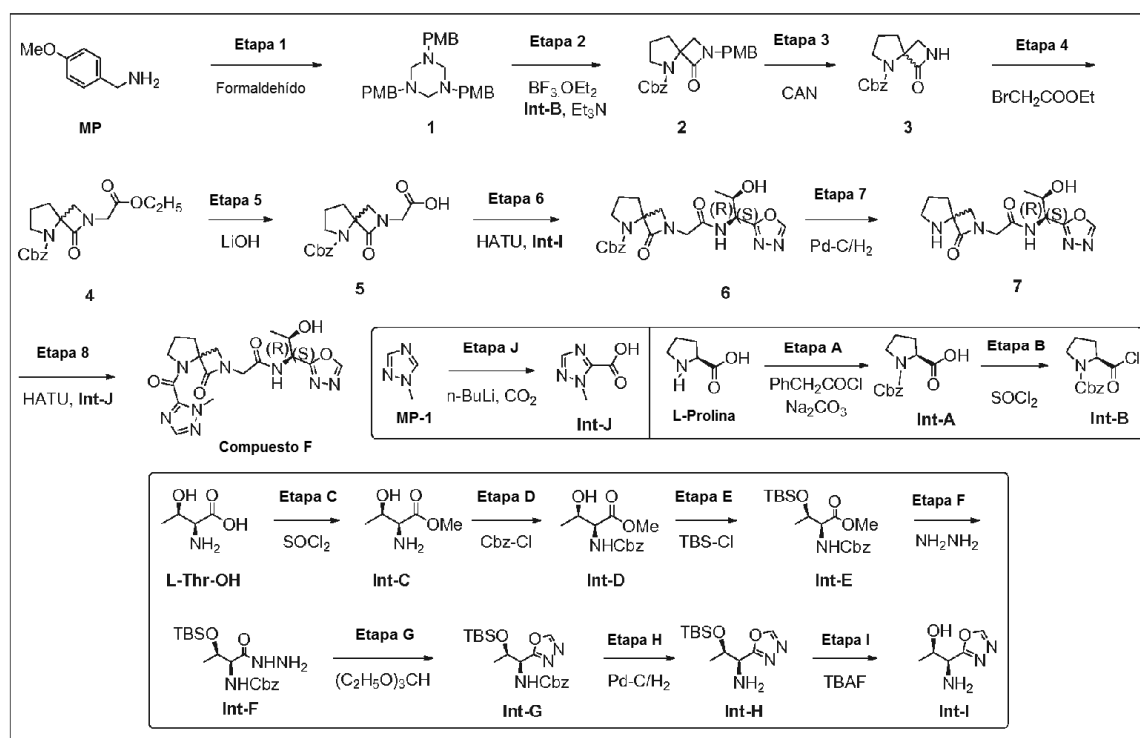
A una solución en agitación de 7 (0,315 g, 2,48 mmol) en CH_2Cl_2 (60 ml) se le añadió EDCI.HCl (336 mg, 1,76 mmol), HOBt (297 mg, 2,20 mmol), DIPEA (0,67 ml, 3,67 mmol) e Int-C (0,5 g, 1,47 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica separada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, seguido de purificación por HPLC prep. para proporcionar el Compuesto D (80 mg, 12 %).

RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,09 (s, 1H), 4,55-4,51 (m, 1H), 4,08 (d, 2H), 3,97 (s, 2H), 3,87-3,84 (m, 3H), 3,70-3,55 (m, 2H), 3,45 (t, 1H), 3,35-3,31 (m, 2H), 2,75 (s, 3H), 2,27-2,24 (m, 2H), 1,98-1,92 (m, 4H), 1,85-1,84 (m, 2H), 1,19 (d, 3H), CLEM (m/z): 448 [$\text{M}^+ + 1$]

Pureza de HPLC: 94 %

Ejemplo 5 - Síntesis del Compuesto F

Esquema 5.



Síntesis de 1,3,5-tris (4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de MP (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se trituro con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,18 (d, $J = 8,0$ Hz, 6H), 6,81 (d, $J = 8,0$ Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de 1 (45 g, 100 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml) se le añadió gota a gota $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (37 ml, 301 mmol) a -40 °C. A la solución en agitación anterior se le añadió gota a gota Int-B (95 g, 342 mmol) en CH_2Cl_2 seco (500 ml), seguido de Et_3N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (1 x 150 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío (50 ml) y se secaron al vacío para proporcionar 2 (90 g, 65 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,06 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,90 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13, 3,96 (dd, $J = 15,5$ Hz, 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t,

$J = 5,0$ Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H)
CLEM m/z: 381 [$M^+ + 1$]

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

A una solución en agitación de 2 (46 g, 121 mmol) en MeCN (460 ml) y H₂O (200 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (199 g, 0,23 mol) en H₂O (460 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado (1 x 150 ml), seguido de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para obtener 3 (12 g, 38 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17, 3,13 (dd, $J = 5,0$ Hz, 5,0 Hz, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H)

CLEM m/z: 261 [$M^+ + 1$]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (12 g, 46,1 mmol) en acetonitrilo (120 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (37,6 g, 115,2 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (7,7 ml, 69,2 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/hexano para proporcionar 4 (12,5 g, 78,6 %) en forma de un jarabe de color pardo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H)

CLEM m/z: 369,3 [$M^+ + Na$].

Síntesis de ácido 2-(5-((benciloxi) carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

A una solución agitada de 4 (9,0 g, 26,0 mmol) en THF/H₂O (80 ml/30 ml) se le añadió LiOH·H₂O (2,73 g, 65,0 mmol) a TA y se agitó durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (25 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH~3 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (7,0 g, 85,3 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5 (s a, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 3,69 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H)

Síntesis de 2-(2-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6)

A una solución en agitación del compuesto 5 (600 mg, 4,19 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (1,93 ml, 10,4 mmol), Int-I (1,60 g, 5,02 mmol), seguido de HATU (1,91 g, 5,02 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (1x30 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 20 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar 6 (600 mg, 33,3 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,21 (s, 1H), 7,35-7,32 (m, 5H), 5,13 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,13 (s, 2H), 5,09-5,00 (m, 1H), 4,12-3,94 (m, 2H), 3,70-3,33 (m, 6H), 2,16-2,11 (m, 4H), 1,08 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H)

CLEM m/z: 444,5 [$M^+ + 1$]

Síntesis de *N*-((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il) propil)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (7)

A una solución en agitación de 6 (600 mg, 1,35 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadió (al 50 % de humedad) Pd al 10 %/C (200 mg) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 3 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con EtOAc/MeOH (10 ml/10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 7 (400 mg, en bruto) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,21 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 5,29-5,07 (m, 1H), 4,10-3,91 (m, 2H), 3,61 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 3,40-3,31 (m, 1H), 3,16-2,93 (m, 2H), 2,02-1,91 (m, 2H), 1,80-1,76 (m, 2H), 1,32-1,28 (m, 1H), 1,24 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 1,09 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H)

CLEM m/z: 310,2 [$M^+ + 1$];

Síntesis de N-((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (Compuesto F)

5 A una solución en agitación de 7 (300 mg, 0,97 mmol) en DCM (30 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,44 ml, 2,42 mmol), Int-J (147 mg, 1,16 mmol), seguido de HATU (442 mg, 1,10 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar un jarabe de color amarillo que se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para proporcionar el

10 Compuesto F (80 mg, 19,7 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro.
 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,15 (s, 1H), 8,52 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,08 (s, 1H), 5,19-5,16 (m, 1H), 4,04 (s, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,94-3,84 (m, 5H), 3,44-3,41 (m, 1H), 2,27-2,21 (m, 2H), 1,93-1,85 (m, 2H), 1,10-1,08 (m, 3H)
 CLEM m/z: 419 [M⁺+1]
 HPLC: 96,64 %

15 Síntesis de ácido 1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carboxílico (Int-J)

A una solución agitada de MP-1 (2,0 g, 24,0 mmol) en THF (20 ml) se le añadió gota a gota *n*-butil-litio (19 ml, 12,0 mmol) a -78 °C y se agitó durante 2 h. Después, se añadió CO₂ sólido (2 g) y se agitó a -78 °C durante 1 h. La masa de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (3 ml) y el sólido obtenido se filtró. El sólido se trituró con éter dietílico/*n*-pentano (10 ml/10 ml). El sólido de color blanco se secó al vacío para proporcionar Int-J (2,0 g, 65,7 %) en forma de un sólido de color blanco.

20 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,70 (s, 1H), 4,01 (s, 3H)
 CLEM m/z: 128,3 [M⁺+1]

25 Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A)

A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (al 50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó con HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

30 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H)
 CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

40 Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió SOCl₂ (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

45

Síntesis de 2-amino-3-hidroxiбутаноato de (2S,3R)-metilo (Int-C)

A una solución en agitación de L-Thr-OH (60 g, 504 mmol) en CH₃OH (400 ml) se le añadió cloruro de tionilo (70 ml, 972 mmol) a 0 °C y se agitó a 75 °C durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-C (60 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

50 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,45 (s, 2H), 5,70 (s, 1H), 4,12-4,10 (m, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,73 (s, 3H), 1,20 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H).

55 Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-hidroxiбутаноato de (2S,3R)-metilo (Int-D)

A una solución en agitación de NaHCO₃ (89 g, 1,065 mol) en agua/1,4-dioxano (150 ml/450 ml) se le añadió Int-C (60 g, 355 mmol) a TA y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota Cbz-Cl (60,7 ml, 426 mmol) y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a TA y se agitó durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con EtOAc (300 ml). La capa orgánica separada se lavó con (2 x 200 ml) de una solución saturada de NaHCO₃, seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se trituró con *n*-hexano y éter dietílico (50 ml/50 ml) para proporcionar Int-D (60 g, 63,8 %) en forma de un sólido de color blanco.

60 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,37 -7,30 (m, 5H), 7,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,78 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H),

65

4,09-4,05 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 1,09 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H)
 CLEM m/z: 268,2 [$M^+ + 1$]

Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((terc-butildimetilsilil)oxi)butanoato de (2S,3R)-metilo (Int-E)

5 A una solución en agitación de Int-D (40 g, 149 mmol) en DMF (300 ml) se le añadieron DIPEA (69 ml, 374 mmol) TBDMS-Cl (30,91 ml, 179 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con éter (200 ml). La capa orgánica separada se lavó con (2 x 200 ml) de una solución saturada de NaHCO₃, seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar Int-E (40 g, 70,1 %) en forma de un jarabe incoloro.

10 RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39-7,32 (m, 5H), 5,43 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,45-4,43 (m, 1H), 4,29-4,26 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 1,21 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,09 (s, 6H)

15 CLEM m/z: 382,2 [$M^+ + 1$]

Síntesis de ((2S,3R)-3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-hidrazinil-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo

20 Una solución de Int-E (20 g, 52,4 mmol) en EtOH (200 ml) se añadió a hidrato de hidrazina (13,12 ml, 262 mmol), a TA y se agitó a 90 °C durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó etanol a presión reducida. El residuo en bruto se diluyó con agua (100 ml) y éter dietílico (200 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 15 %/hexano para proporcionar Int-F (4,0 g, 20 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,10 (s, 1H), 7,36-7,30 (m, 5H), 6,83 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,19 (s, 2H), 4,05-4,02 (m, 1H), 3,97-3,93 (m, 1H), 1,05 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,81 (s, 9H), 0,01 (s, 6H)

25

Síntesis de ((1S,2R)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)carbamato de bencilo (Int-G)

30 Una solución de Int-F (4 g, 10,4 mmol) en ortoformiato de trietilo (40 ml) se añadió a p-TSA (catalítico, 40 mg) a TA y después se agitó a 120 °C durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó ortoformiato de trietilo a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar Int-G (2,8 g, 68 %) en forma de un sólido de color blanco.

35 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,22 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 7,36-7,31 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 4,96-4,93 (m, 1H), 4,25 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 1,23 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,80 (s, 9H), 0,10 (s, 6H)

CLEM m/z: 392,4 [$M^+ + 1$]

Síntesis de (1S,2R)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propan-1-amina (Int-H)

40 A una solución en agitación de Int-G (2,8 g, 7,16 mmol) en metanol (30 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de humedad (1,4 g) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 2 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar Int-H (1,7 g, 92 %) en forma de un jarabe incoloro.

45 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,15 (s, 1H), 4,11 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H), 4,03 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 2,05 (s a, 2H), 1,17 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,76 (s, 9H), 0,02 (s, 6H)

CLEM m/z: 258,3 [$M^+ + 1$]

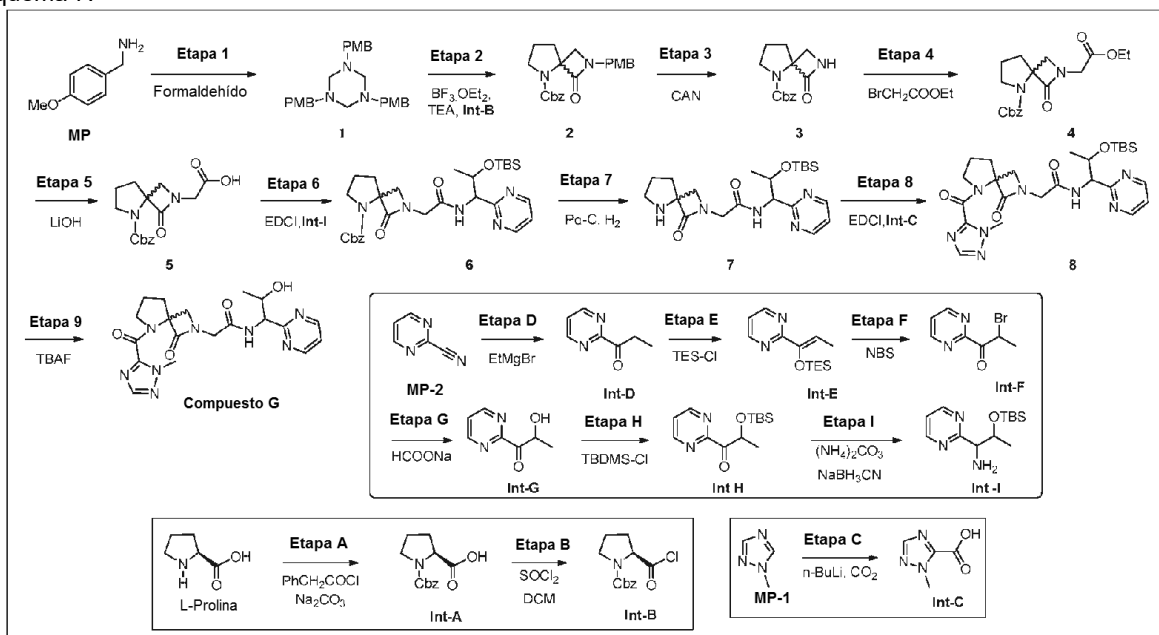
Síntesis de (1S,2R)-1-amino-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propan-2-ol (Int-I)

50 A una solución en agitación de Int-H (500 mg, 1,94 mmol) en THF (6 ml) se le añadió lentamente TBAF (1,01 ml) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó y se diluyó con EtOAc/H₂O (10 ml/2 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar Int-I (120 mg, en bruto) en forma de un jarabe espeso e incoloro.

55 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,12 (s, 1H), 3,94 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,85 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 3,17-3,13 (m, 3H), 1,05 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

Ejemplo 6 - Síntesis del Compuesto G

Esquema 7.



Síntesis de 1,3,5-tris(4metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

5
 10
 15
 A una solución en agitación de MP (200 g, 1,46mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se trituró con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.
 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 6,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

15
 20
 25
 A una solución en agitación de 1 (45 g, 100 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) se le añadió gota a gota BF₃.OEt₂ (37 ml, 301 mmol) a -40 °C. A la solución en agitación anterior se le añadió gota a gota Int-B (95 g, 342 mmol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml), seguido de Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. La mezcla de reacción resultante se dejó calentar a TA y se agitó durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (1 x 150 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío (50 ml) y se secaron al vacío para proporcionar 2 (90 g, 65 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.
 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13, 3,96 (dd, *J* = 15,5 Hz, 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H)
 CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

30
 35
 40
 A una solución en agitación de 2 (46 g, 121 mmol) en MeCN (460 ml) y H₂O (200 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (199 g, 0,23 mol) en H₂O (460 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado (1 x 150 ml), seguido de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para obtener 3 (12 g, 38 %) en forma de un sólido blanquecino.
 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17, 3,13 (dd, *J* = 5,0 Hz, 5,0 Hz, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H)
 CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

5 A una solución agitada de 3 (12 g, 46,1 mmol) en acetonitrilo (120 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (37,6 g, 115,2 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (7,7 ml, 69,2 mmol) a TA y se agitó durante 16 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/hexano para proporcionar 4 (12,5 g, 78,6 %) en forma de un jarabe de color pardo.

10 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H)
CLEM m/z: 369,3 [M⁺+Na].

Síntesis de ácido 2-(5-((benciloxi) carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

15 A una solución agitada de 4 (9,0 g, 26,0 mmol) en THF/H₂O (80 ml/30 ml) se le añadió LiOH.H₂O (2,73 g, 65,0 mmol) a TA y se agitó durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (25 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH~3 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (7,0 g, 85,3 %) en forma de un sólido blanquecino.

20 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 12,5 (s a, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H)

Síntesis de 2-(2-((2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6)

25 A una solución en agitación de 5 (1,3 g, 4,08 mmol) en DCM (30 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (2,1 ml, 12,2 mmol), Int J (1,09 g, 4,08 mmol), seguido de HOBT (938 mg, 6,13 mmol), EDCI.HCl (1,1 g, 6,13 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para obtener 6 (1,5 g, 65 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

30 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆) : δ 8,80-8,74 (m, 2H), 7,39-7,34 (m, 6H), 5,09 (s, 2H), 4,93 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,38-4,19 (m, 1H), 4,05-3,68 (m, 2H), 3,49-3,39 (m, 4H), 2,20-2,11 (m, 2H), 1,86-1,85 (m, 2H), 1,19-1,10 (m, 4H), 0,65 (s, 9H), -0,07 (s, 3H), -0,03 (s, 3H)
35 CLEM m/z: 568 [M⁺+1]

Síntesis de *N*-(2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (7)

40 A una solución en agitación de 6 (500 mg, 0,88 mmol) en EtOAc (25 ml) se le añadió (al 50 % de humedad) Pd al 10 %/C (250 mg) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) a TA durante 7 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 7 (320 mg, en bruto) en forma de un jarabe espeso de color amarillo. Este compuesto se usó directamente para la siguiente etapa sin ninguna purificación.

45 CLEM m/z: 434,5 [M⁺+1]

Síntesis de *N*-(2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (8)

50 A una solución en agitación de Int-C (93 mg, 0,73 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,4 ml, 2,21 mmol), el compuesto 7 (320 mg, 0,73 mmol), seguido de EDCI.HCl (211 mg, 1,10 mmol), HOBT (170 mg, 1,10 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar 8 (210 mg, en bruto) en forma de un jarabe espeso de color amarillo. Este compuesto se usó directamente para la siguiente etapa sin ninguna purificación.

55 CLEM m/z: 543,5 [M⁺+1]

Síntesis de *N*-(2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (Compuesto G)

60 A una solución en agitación del compuesto 8 (210 mg, 0,38 mmol) en THF (5 ml) se le añadió TBAF en THF (0,77 ml, 0,76 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM, seguido de TLC preparativa para proporcionar el Compuesto G (70 mg, 42 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo. RMN ¹H: (400 MHz, CD₃OD): δ 8,75-8,70 (m, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,36-7,30 (m, 1H), 5,16-5,13 (m, 1H), 4,53 (s, 1H), 4,41-4,43 (m, 2H), 4,29-4,03 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,96-3,81 (m, 2H),

65

3,58-3,54 (m, 1H), 2,37-2,34 (m, 2H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,22 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H)
CLEM m/z: 429 [$M^+ + 1$]

Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A)

5 A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na_2CO_3 (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (al 50 % en PhCH_3) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH_3 (1,5 l) y se acidificó con HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo. RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H).
15 CLEM m/z: 250,4 [$M^+ + 1$]

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

20 A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadió SOCl_2 (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-D)

25 A una solución en agitación de MP-2 (20 g, 190 mmol) en THF (200 ml) se le añadió bromuro de etil magnesio (1 M en THF, 227 ml, 228 mmol) a 0 °C durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de cloruro de amonio y EtOAc (150 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica extraída se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar Int-D (15 g, 57 %) en forma de un sólido blanquecino.
30 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,00 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 7,70 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,20-3,15 (m, 2H), 1,09 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). CLEM m/z: 137 [$M^+ + 1$]

Síntesis de (Z)-2-(1-((trietilsilil)oxi)prop-1-en-1-il)pirimidina (Int-E)

35 A una solución en agitación de Int-D (15 g, 110 mmol) en THF (100 ml) se le añadió lentamente LiHMDS (1 M en THF, 220 ml, 220 mmol) a 0 °C y se agitó durante 30 min. Después, se añadió gota a gota cloro trietilsilano (24,8 g, 165 mmol) en THF (50 ml) a 0 °C y se agitó durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de cloruro de amonio (50 ml) y EtOAc (150 ml). La capa orgánica separada se extrajo con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 5 %/hexano para proporcionar Int-E (20 g, 74 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.
40 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,75 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H), 7,32 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,36-6,31 (m, 1H), 1,77 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H), 0,95-0,87 (m, 9H), 0,71-0,65 (m, 6H)
45

Síntesis de 2-bromo-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-F)

50 A una solución en agitación de Int-E (20 g, 80 mmol) en THF/ H_2O (160 ml/40 ml) se le añadió lentamente N-bromosuccinimida (10,2 g, 88 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con H_2O y EtOAc (100 ml/150 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar Int-F (15 g, 87 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.
55 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,06 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H), 7,75 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,97-5,92 (m, 1H), 1,83 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H)

Síntesis de 2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-G)

60 A una solución en agitación de Int-F (15 g, 69 mmol) en MeOH (240 ml) se le añadió formiato sódico (18,9 g, 279 mmol) y la masa de reacción se agitó a 70 °C durante 8 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar Int-G (5,5 g, 51 %) en forma de un líquido incoloro.
65 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,73 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 7,55 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,28-5,26 (m, 1H), 1,24 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 0,99 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

Síntesis de (2-((terc-butildimetilsililoxi)-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-H)

A una solución en agitación de Int-G (5,5 g, 36 mmol) en DCM (150 ml) se le añadió imidazol (4,9 g, 72 mmol), DMAP (880 mg, 0,72 mmol) a 0 °C y se agitó durante 10 min. Después se añadió TBDMS-C1 (8,1 g, 54 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con H₂O (50 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar Int-H (3 g, 31 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 9,00 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 7,71 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 5,47-5,42 (m, 1H), 1,35 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,79 (s, 9H), 0,05 (s, 6H).

Síntesis de (2-((terc-butildimetilsililoxi)-1-(pirimidin-2-il)propan-1-amina (Int-I)

A una solución en agitación de Int-H (3 g, 11,2 mmol) en MeOH (50 ml) se le añadieron acetato sódico (1,8 g, 22,5 mmol), carbonato de amonio (8,8 g, 56,3 mmol), AcOH (0,6 ml, 11,2 mmol) a TA y se agitó a 70 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a TA y se añadió cianoborohidruro sódico (1,39 g, 22,5 mmol) y se agitó a 70 °C durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó MeOH y el residuo en bruto se diluyó con DCM/H₂O (50 ml/50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 % /DCM para proporcionar Int-I (2,4 g, 80 %) en forma de un semisólido.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 8,83 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 7,40 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,13 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,90 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 1,12 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,70 (s, 9H), 0,02 (s, 6H).

Síntesis de ácido 1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carboxílico (C)

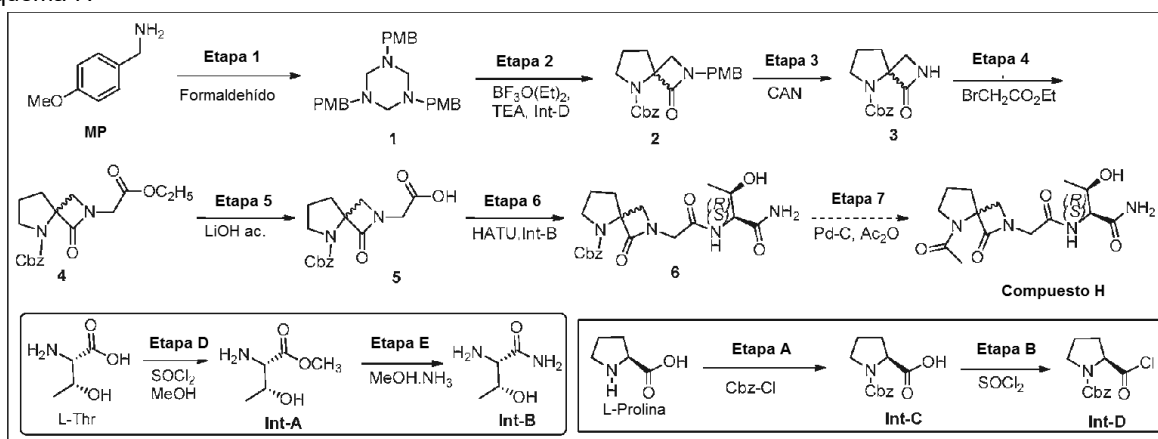
A una solución agitada de MP-1 (2,0 g, 24,0 mmol) en THF (20 ml) se le añadió gota a gota n-butil-litio (19 ml, 12,0 mmol) a -78 °C y se agitó durante 2 h, y después se inactivó mediante la adición de CO₂ sólido (2 g) a -78 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se trató con agua (3 ml) y el sólido obtenido se filtró. El sólido se trituró con éter dietílico/n-pentano (10 ml/10 ml), se secó al vacío para proporcionar Int-C (2,0 g, 65,7 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,70 (s, 1H), 4,01 (s, 3H).

CLEM m/z: 128,3 [M⁺+1]

Ejemplo 7 - Síntesis del Compuesto H

Esquema 7.

Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil) MP de metanamina (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, 6H), 6,84 (d, 6H), 3,73 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de Int-D (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ (500 ml) enfriada a -40 °C se le añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. A esta, se le añadió gota a gota una mezcla del compuesto 1 (50 g, 0,12 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) y BF₃·OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) a -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 2 (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (d, 5H), 7,20 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 5,15-5,10 (m, 2H), 4,29 (d, 1H), 3,79 (d, 3H), 3,59 (d, 1H), 3,57-3,49 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,70-1,65 (m, 1H), 1,37 (t, 1H)

CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

Una solución en agitación de 2 (60 g, 0,16 mol) en MeCN (200 ml) y H₂O (30 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (86,5 g, 0,48 mol) en H₂O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc 70 %/hexano; el material obtenido se trituró con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar 3 (15 g, 36,5 %). RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,99 (d, 1H), 7,42-7,30 (m, 5H), 5,19-5,00 (m, 2H), 3,55 (d, 1H), 3,50-3,32 (m, 2H), 3,19 (dd, 1H), 2,18-2,00 (m, 2H), 1,91-1,79 (m, 2H)

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (5 g, 19,23 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (15,6 g, 48 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (3,2 ml, 28,84 mmol) a TA y se continuó agitando a TA durante 10 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar 4 (3,7 g, 56 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (d, 5H), 5,19-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,25-2,21 (m, 1H), 2,05-2,01 (m, 1H), 1,95-1,92 (m, 1H), 1,30-1,25 (m, 3H)

CLEM (m/z): 345 [M⁺+1].

Síntesis de ácido 2-(5-((benciloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

A una solución agitada de 4 (2 g, 5,783 mmol) en THF: H₂O (24 ml, 5:1) se le añadió LiOH·H₂O (606 mg, 14,4 mmol) a TA y se agitó durante 4 h. Después del consumo completo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH~3-4 usando ácido cítrico y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (1,5 g, 83 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,41 (d, 5H), 5,07-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,21-2,09 (m, 2H), 1,95-1,92 (m, 2H). CLEM (m/z): 319,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6)

A una solución en agitación de 5 (1 g, 3,13 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió HATU (1,4 g, 3,70 mmol), seguido de DIPEA (1,5 ml, 7,82 mmol) y Int-B (443 mg, 3,76 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se interrumpió con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna para proporcionar 6 (0,6 g, 46 %).

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,82-7,65 (m, 1H), 7,41-7,38 (m, 5H), 7,27 (d, 1H), 7,12 (d, 1H), 5,10-5,01 (m, 2H), 4,89-4,85 (m, 1H), 4,25-3,99 (m, 3H), 3,94-3,90 (m, 1H), 3,74-3,69 (m, 1H), 3,52-3,45 (m, 2H), 2,22-2,09 (m, 2H), 1,92-1,79 (m, 2H), 1,27-1,25 (m, 1H), 1,09-1,01 (m, 3H)

CLEM m/z: 419,3 [M⁺+1]

Síntesis de (2S,3R)-2-(2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-3-hidroxitbutanamida (Compuesto H)

5 A una solución en agitación de 6 (1 g, 2,39 mmol) en EtOAc (50 ml) se le añadió anhídrido acético (0,48 g, 4,78 mmol), seguido de Pd/C (0,5 g) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con EtOAc (20 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna. La mezcla de compuesto obtenida se purificó por HPLC preparativa quiral para proporcionar la fracción I del Compuesto H (0,075 g), y la fracción II (0,062 g) en forma

10 de sólidos blanquecinos.
RMN ¹H (Fr-I): (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,87 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 4,84 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,10-4,03 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,79 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,61-3,56 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 2H), 2,19-2,15 (m, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,92-1,87 (m, 2H), 1,05 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

CLEM m/z: 327,3 [M⁺+1]

15 Pureza de HPLC de Fr-I (91,20 %).

RMN ¹H (Fr-II): (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,85 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 4,79 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,09-4,06 (m, 2H), 3,97 (s, 2H), 3,70 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,60-3,55 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 2H), 2,18-2,13 (m, 2H), 1,99 (s, 3H), 1,92-1,85 (m, 2H), 1,05 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

CLEM m/z: 327,4 [M⁺+1]

20 Pureza de HPLC de Fr-II (97,03 %)

Síntesis de 2-amino-3-hidroxitbutanoato de (2S,3R)-metilo (Int-A)

25 A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxitbutanoico (200 g, 1,68 mol) en metanol (1,2 l) se le añadió gota a gota SOCl₂ (244 ml, 3,36 mol) a 0 °C y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se sometió a reflujo durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se calentó a TA y se concentró al vacío y se decantó con n-hexano (2 x 50 ml). El residuo se disolvió en EtOH (1 l) y se neutralizó con Et₃N (471 ml, 3,36 mol) y se agitó de nuevo durante 2 h. El sólido precipitado se retiró por filtración; el filtrado obtenido se concentró al vacío para proporcionar Int-A (195 g, 80 %).

30 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,51 (s a, 3H), 4,13-4,10 (m, 1H), 3,91 (s a, 1H), 1,20 (d, 3H)

CLEM m/z: 134,1 [M⁺+1]

Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxitbutanamida (Int-B)

35 Una solución de Int-A (190 g, 1,35 mol) en IPA (2 l) se recogió en un autoclave y se purgó con gas de NH₃ (7-8 kg) y se agitó a 35 °C durante 24 h. Después de la finalización de la reacción, el NH₃ se expulsó y la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se añadió CH₂Cl₂ y se filtró. El sólido obtenido se sometió a reflujo en EtOH durante 1 h a 78 °C. La masa de reacción se filtró en condiciones de calentamiento y se añadió n-hexano al filtrado, y se agitó de nuevo durante 4 h más. El sólido precipitado obtenido se filtró y se secó al vacío para proporcionar Int-B (160 g, 47 %).

40 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,38 (s a, 1H), 7,02 (s a, 1H), 4,66 (s a, 1H), 3,77-3,70 (m, 1H), 2,93 (d, 1H), 2,72 (m a, 1H), 1,05 (d, 3H)

CLEM m/z: 119,1 [M⁺+1]

UPLC (pureza de ELSD): 99,9 %

Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-C)

45 A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (al 50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó usando HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar Int-C (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo claro.

50 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H)

CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

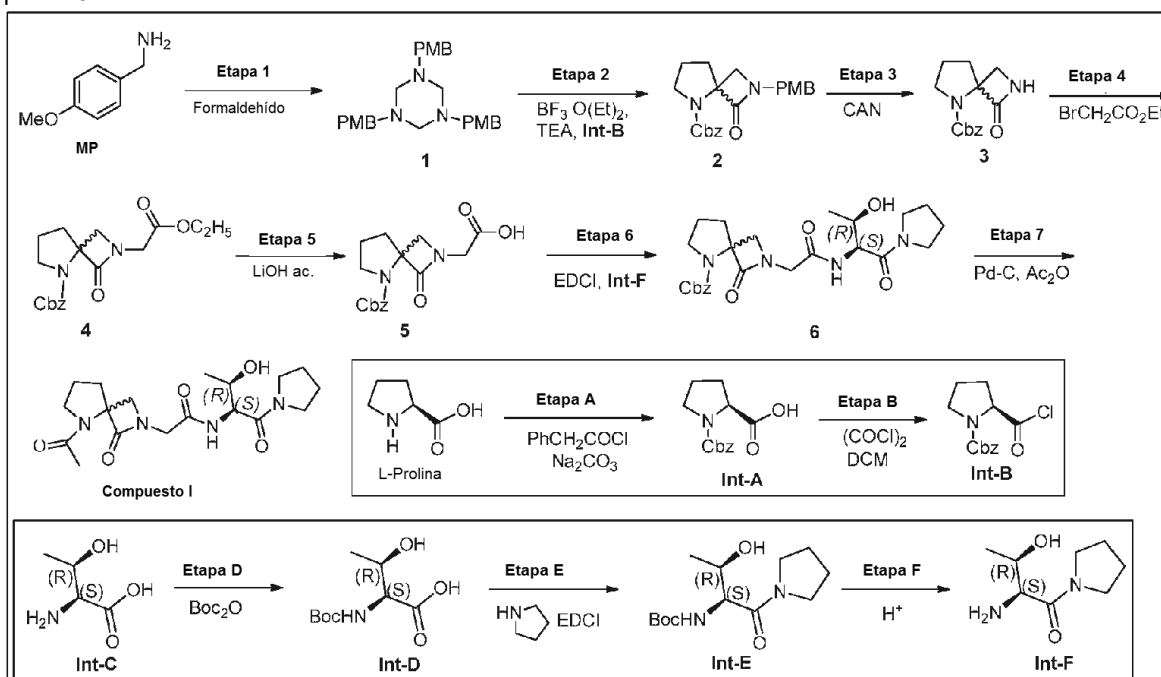
2-(Clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (Int-D)

60 A una solución en agitación de ácido 1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-C) (100 g, 0,40 mol) en CH₂Cl₂ (500 ml) se le añadió una cantidad catalítica de DMF (1 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. A esta se le añadió gota a gota cloruro de oxalilo (112,3 ml, 0,60 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-D (100 g) en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

65

Ejemplo 8 - Síntesis del Compuesto I

Esquema 8.



5

Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil) MP de metanamina (200g, 1,46mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que finalmente se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, 6H), 6,84 (d, 6H), 3,73 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

15

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de Int-B (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml) enfriada a -40 °C se le añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. A esta, se le añadió gota a gota una mezcla de 1 (50 g, 0,12 mol) y BF₃OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) a -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 2 (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (d, 5H), 7,20 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 5,15-5,10 (m, 2H), 4,29 (d, 1H), 3,79 (d, 3H), 3,59 (d, 1H), 3,57-3,49 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,70-1,65 (m, 1H), 1,37 (t, 1H)

CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

30

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

A una solución en agitación de 2 (60 g, 0,16 mol) en MeCN (200 ml) y H₂O (30 ml) enfriada a 0 °C se le añadió una solución de CAN (86,5 g, 0,48 mol) en H₂O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc 70 %/hexano; finalmente, el material obtenido se trituró con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar 3 (15 g, 36,5 %).

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,99 (d, 1H), 7,42-7,30 (m, 5H), 5,19-5,00 (m, 2H), 3,55 (d, 1H), 3,50-3,32 (m, 2H), 3,19 (dd, 1H), 2,18-2,00 (m, 2H), 1,91-1,79 (m, 2H)

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

40

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (5 g, 19,23 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadió CS₂CO₃ (15,6 g, 48 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (3,2 ml, 28,84 mmol) a TA y se continuó agitando durante 10 h a TA. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar 4 (3,7 g, 56 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (d, 5H), 5,19-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,25-2,21 (m, 1H), 2,05-2,01 (m, 1H), 1,95-1,92 (m, 1H), 1,30-1,25 (m, 3H)
CLEM (m/z): 345 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 2-(5-((benciloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (5)

A una solución agitada de 4 (2 g, 5,783 mmol) en THF: H₂O (24 ml, 5:1) se le añadió LiOH.H₂O (606 mg, 14,4 mmol) a TA y se agitó durante 4 h. Después del consumo completo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH ~3-4 usando ácido cítrico y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 5 (1,5 g, 83 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,41 (d, 5H), 5,07-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,21-2,09 (m, 2H), 1,95-1,92 (m, 2H), CLEM (m/z): 319,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6)

A una solución en agitación de 5 (1 g, 3,14 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió EDCI (719 mg, 3,76 mmol), DIPEA (2,8 ml, 15,7 mmol), seguido de HOBt (635 mg, 3,76 mmol) e Int-F (784 mg, 3,77 mmol) y a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se interrumpió con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna para proporcionar 6 (0,8 g, 57 %).
CLEM m/z: 473,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-N-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)acetamida (Compuesto I)

A una solución en agitación de 6 (0,3 g, 0,63 mmol) en EtOAc (50 ml) se le añadió anhídrido acético (0,13 g, 1,27 mmol), seguido de Pd/C (0,15 g) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con EtOAc (10 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar Compuesto I (0,09 g, 37 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,83-4,75 (m, 1H), 4,44-4,38 (m, 1H), 3,93-3,83 (m, 3H), 3,72-3,67 (m, 1H), 3,64-3,61 (m, 4H), 3,60-3,58 (m, 1H), 3,57-3,46 (m, 2H), 2,13-2,10 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,07-1,97 (m, 4H), 1,91-1,87 (m, 2H), 1,04 (d, *J* = 10,8 Hz, 3H)

CLEM m/z: 381,3 [M⁺+1]

Pureza de HPLC: 46,41 y 47,86 (isómeros).

Síntesis de ácido (2S,3R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxi-2-butanoico (Int-D)

A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-2-butanoico (Int-C) (10 g, 83,9 mmol) en 1,4-dioxano/agua (100 ml, 1: 1) se le añadió NaHCO₃ (21,1 g, 0,25 mol), seguido de Boc-anhídrido (21,9 ml, 0,101 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3-4) y después se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 150 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar Int-D (15 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de ((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)carbamato de terc-butilo (Int-E)

A una solución en agitación de Int-D (5 g, 22,8 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió EDCI.HCl (5,2 g, 27,3 mmol) HOBt (4,6 g, 34,2 mmol), seguido de DIPEA (10,5 ml, 57 mmol) y pirrolidina (1,945 g, 27,3 mmol) en una atmósfera de N₂ a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua, seguido de NaHCO₃ saturado y ácido cítrico. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para

proporcionar Int-E (3 g, 48 %). RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,41 (d, 1H), 4,71 (d, 1H), 4,15 (t, 1H), 3,94 (c, 1H), 3,63-3,42 (m, 2H), 3,24 (c, 1H), 1,90-1,81 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 1,04 (s, 3H)
CLEM m/z: 273,2 [M⁺+1]

5 Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-1-(pirrolidin-1-il)butan-1-ona (Int-F):

A una solución en agitación de Int-E (3 g, 11,0 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió éter-HCl (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se lavó con éter para proporcionar Int-F (2,0 g, 87 %).

10 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,19 (s a, 3H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,62-3,59 (m, 1H), 3,49-3,42 (m, 1H), 3,39-3,35 (m, 2H), 1,96-1,90 (m, 4H), 1,17 (d, 3H)
CLEM m/z: 173,3 [M⁺+1]

15 Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A)

A una solución en agitación de L-Prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (al 50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó usando HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo claro.

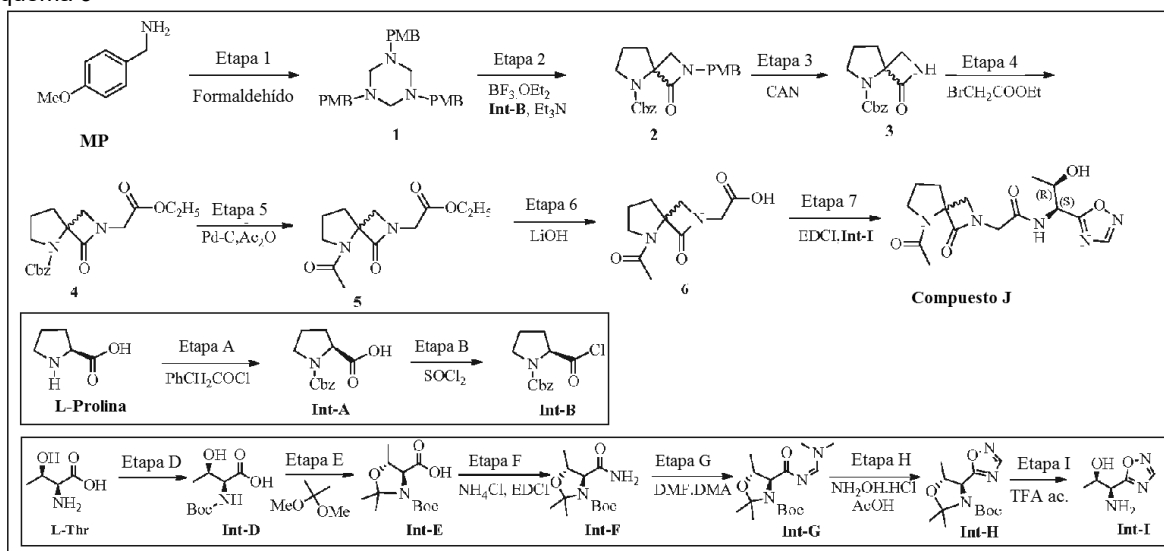
20 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H)
CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

25 Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de bencilo (Int-B)

30 A una solución en agitación de Int-A (100 g, 0,40 mol) en CH₂Cl₂ (500 ml) se le añadió una cantidad catalítica de DMF (1 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. A esta se le añadió gota a gota cloruro de oxalilo (112,3 ml, 0,60 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B (100 g) como un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

35 Ejemplo 9 - Síntesis del Compuesto J

Esquema 9



40 Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

45 A una solución en agitación de (4-metoxifenil)metanamina (MP) (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión

reducida para obtener un material en bruto; que se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, 6H), 6,84 (d, 6H), 3,73 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

5 Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de Int-B (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ (500 ml) enfriada a -40 °C se le añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. A esta, se le añadió gota a gota una mezcla del compuesto 1 (50 g, 0,12 mol) y BF₃·OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) a -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 2 (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

10
15
RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (d, 5H), 7,20 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 5,15-5,10 (m, 2H), 4,29 (d, 1H), 3,79 (d, 3H), 3,59 (d, 1H), 3,57-3,49 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,70-1,65 (m, 1H), 1,37 (t, 1H)
CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

20 Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

A una solución en agitación de 2 (60 g, 0,16 mol) en MeCN (200 ml) y H₂O (30 ml) enfriada a 0 °C se le añadió una solución de CAN (86,5 g, 0,48 mol) en H₂O (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc 70 %/hexano; el material obtenido se trituró con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar 3 (15 g, 36,5 %) en forma de un líquido.

25
30
RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,99 (d, 1H), 7,42-7,30 (m, 5H), 5,19-5,00 (m, 2H), 3,55 (d, 1H), 3,50-3,32 (m, 2H), 3,19 (dd, 1H), 2,18-2,00 (m, 2H), 1,91-1,79 (m, 2H)
CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5 carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (5 g, 19,23 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (8,1 g, 24,99 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (3,2 ml, 28,84 mmol) a TA y se continuó agitando durante 10 h a TA. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar 4 (4,4 g, 66 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

35
40
RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,38 (d, 5H), 5,19-5,04 (m, 2H), 4,49-3,17 (m, 8H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,25-2,21 (m, 1H), 2,05-2,01 (m, 1H), 1,95-1,92 (m, 1H), 1,30-1,25 (m, 3H)
CLEM (m/z): 345 [M⁺+1]

45 Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetato de etilo (5)

A una solución en agitación de 4 (3,2 g, 9,24 mmol) en EtOAc (20 ml) se le añadió anhídrido acético (1,8 g, 17,64 mmol), seguido de Pd/C (1,2 g) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con EtOAc (20 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc para dar 5 (2,0 g, 86 %) en forma de un líquido de color amarillo.

50
55
RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,21 (s, 1H), 4,17-4,08 (m, 2H), 3,82 (s, 1H), 3,78 (s, 1H), 3,57-3,41 (m, 2H), 3,30-3,29 (m, 1H), 2,12-2,09 (m, 2H), 2,07 (s, 3H), 1,92-1,87 (m, 2H), 1,19 (t, J = 14,0 Hz, 3H)
CLEM m/z: 255,2 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6)

A una solución agitada de 5 (0,65 g, 2,55 mmol) en THF: H₂O (10 ml, 1:1) se le añadió LiOH·H₂O (0,268 g, 6,38 mmol) a TA y se agitó durante 5 h. Después del consumo completo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH ~2 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6 (0,58 g, 51 %) en forma de un sólido blanquecino.

60
65
RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,50 (s a, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,72 (s, 1H), 3,65 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,55-3,42 (m, 2H), 3,30 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 2,11-2,08 (m, 2H), 1,99 (s, 3H), 1,89-1,86 (m, 2H)

CLEM m/z: 225,1 [M⁺-1]

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaspiro[3,4]octan-2-il)-N-((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,2,4-oxadiazol-5-il)propil)acetamida (Compuesto J)

5 A una solución en agitación de 6 (0,5 g, 2,21 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se le añadió EDCI (0,63 g, 3,31 mmol), HOBT (0,44 g, 3,31 mmol), seguido de DIPEA (1,4 g, 10,85 mmol) e Int-I (0,37 g, 2,65 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 2 %:DCM para proporcionar Compuesto J (0,09 g, 12 %) en forma de un líquido de color amarillo.

10 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,94 (s, 1H), 8,61 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,23-5,20 (m, 1H), 5,16-5,09 (m, 1H), 4,20-4,01 (m, 1H), 3,91-3,85 (m, 1H), 3,73-3,71 (m, 1H), 3,65 (s, 1H), 3,59-3,57 (m, 1H), 3,49-3,34 (m, 1H), 2,16-2,09 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,98-1,89 (m, 3H), 1,13-1,11 (m, 3H)

15 CLEM m/z: 352,2 [M⁺+1]

Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A)

20 A una solución en agitación de ácido (S)-pirrolidin-2-carboxílico (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se le añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se acidificó usando HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l); Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo claro.

25 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,40-7,30 (m, 5H), 5,19-5,01 (m, 2H), 4,25 (dd, 1H), 3,51-3,50 (m, 2H), 2,29-2,15 (m, 1H), 1,89-1,80 (m, 3H)

30 CLEM m/z: 250 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

35 A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió SOCl₂ (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de ácido 2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxi-butanoico (Int-D)

40 A una solución en agitación de ácido 2-amino-3-hidroxi-butanoico (10 g, 83,9 mmol) en 1,4-dioxano/agua (100 ml, 1: 1) se le añadió NaHCO₃ (21,1 g, 0,25 mol), seguido de Boc-anhídrido (21,9 ml, 0,101 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3-4) y después se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 150 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar Int-D (15 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de ácido 3-((*tert*-butoxicarbonil)-2,2,5-trimetiloxazolidin-4-carboxílico (Int-E)

50 A una solución en agitación de Int-D (15 g, 59,28 mmol) en THF (150 ml) se le añadió PPTS (1,47 g, 5,92 mmol), seguido de 2,2-dimetoxipropano (21,79 ml, 0,17 mol) a 0 °C en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se calentó de nuevo a reflujo durante 6 h. La mezcla de reacción se diluyó con una solución acuosa de NaHCO₃ y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~2) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar Int-E (18 g, en bruto).

55 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13,25 (s a, 1H), 4,11-4,05 (m, 1H), 3,79 (d, 1H), 1,50 (s, 3H), 1,67 (s, 3H), 1,45 (s, 9H), 1,29 (d, 3H)

Síntesis de 4-carbamoil-2,2,5-trimetiloxazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (Int-F)

60 A una solución en agitación de Int-E (18 g, 69,4 mmol) en CH₂Cl₂ (180 ml) se le añadió EDCI.HCl (19,88 g, 0,104 mol) HOBT (14,16 g, 0,104 mol), seguido de NH₄Cl (5,56 g, 0,104 mol) y DIPEA (31,9 ml, 0,173 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con ácido cítrico acuoso, NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para dar un material en bruto; que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar Int-F (13 g, 72,5 %).

65 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,51 (s a, 1H), 7,14 (s a, 1H), 3,97-3,95 (m, 1H), 3,71 (d, 1H), 1,51 (d, 6H), 1,34 (s,

9H), 1,24 (d, 3H)
 CLEM (IEN): 159,1 [(M⁺+1)-Boc]

Síntesis de 4-(((dimetilamino)metileno)carbamoil)-2,2,5-trimetiloxazolidin-3-carboxilato de (Z)-*tert*-butilo (Int-G)

Una solución de Int-F (13 g, 50,3 mmol) en DMF.DMA (130 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 3 h en una atmósfera de N₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-G (15,7 g, en bruto). Este material en bruto se recogió directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 2,2,5-trimetil-4-(1,2,4-oxadiazol-5-il)oxazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (Int-H)

A una solución en agitación de Int-G (15,7 g, 50,09 mmol) en etanol (157 ml) se le añadió clorhidrato de hidroxilamina (6,96 g, 0,10 mol) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se calentó a reflujo y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se añadió ácido acético (28,6 ml, 0,50 mol) a la mezcla de reacción a TA, y después se sometió a reflujo durante 16 h. Los disolventes de la mezcla de reacción se evaporaron al vacío para dar un material en bruto; que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 10 %/Hexano para proporcionar Int-H (4,5 g, 32 %).

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,35 (s, 2H), 4,61 (d, 1H), 4,22-4,15 (m, 1H), 1,55 (s, 6H), 1,37 (s, 2H), 1,25 (d, 3H), 1,21 (s, 6H)
 CLEM (IEN): 284 [M⁺+1]

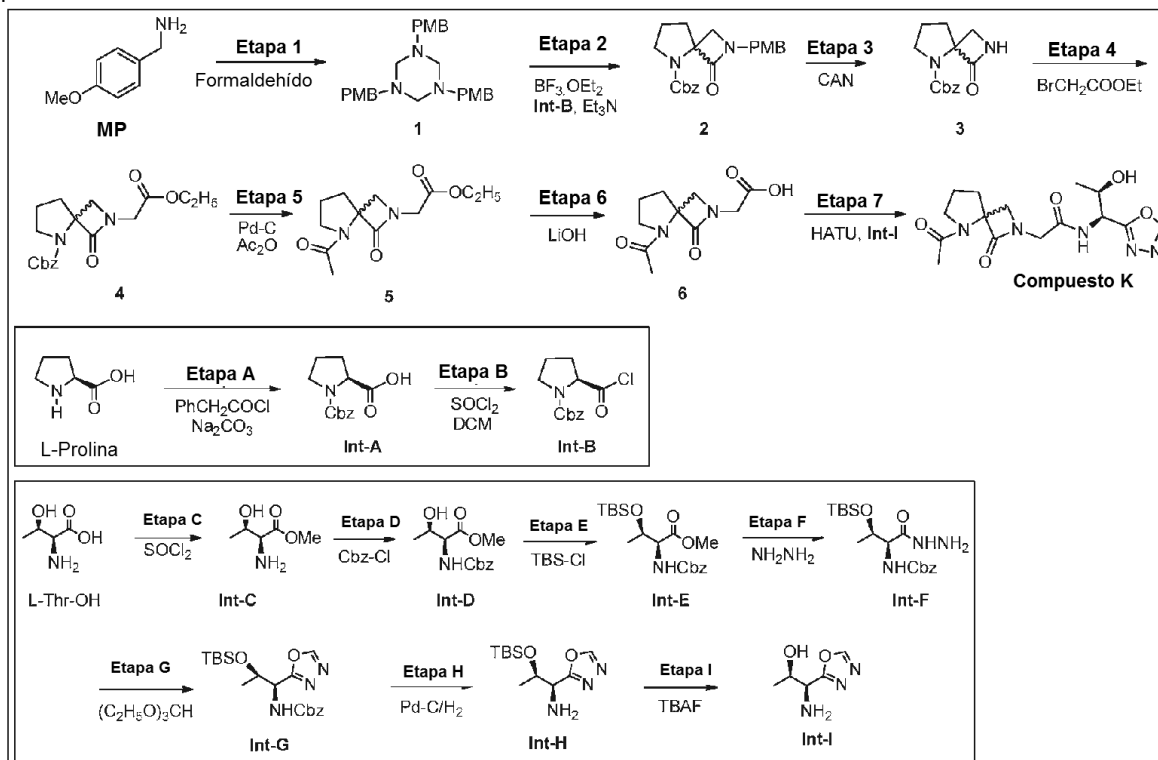
Síntesis de 1-amino-1-(1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-2-ol (Int-I)

A una solución en agitación de Int-H (5 g, 17,6 mmol) en agua (25 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 5 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en agua y se neutralizó con NaHCO₃ acuoso. Los disolventes de la mezcla de reacción se evaporaron al vacío y se extrajeron con MeOH al 5 %/CH₂Cl₂ (4 x 150 ml). La capa orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar Int-I (2,5 g, en bruto).

RMN ¹H: (400 MHz, D₂O): δ 8,84 (s, 1H), 4,05 (d, 1H), 3,98-3,95 (m, 1H), 3,67 (s, 1H), 3,58 (d, 1H), 1,15 (d, 3H), 1,12 (d, 3H)
 CLEM (IEN): 144,1 [M⁺+1].

Ejemplo 10 - Síntesis del Compuesto K

Esquema 10.



Síntesis de 1,3,5-tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil) MP de metanamina (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 6,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H)

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de 1 (45 g, 100 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) se le añadió gota a gota BF₃.OEt₂ (37 ml, 301 mmol) a -40 °C. A la solución en agitación anterior se le añadió gota a gota Int-B (95 g, 342 mmol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml), seguido de Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 2 (90g, 65 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13, 3,96 (dd, *J* = 15,5 Hz, 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H)

CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

Una solución en agitación de 2 (46 g, 121 mmol) en MeCN (460 ml) y H₂O (200 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (199 g, 0,23 mol) en H₂O (460 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para obtener 3 (12 g, 38 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17, 3,13 (dd, *J* = 5,0 Hz, 5,0 Hz, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H)

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (12 g, 46,1 mmol) en acetonitrilo (120 ml) se le añadió Cs₂CO₃ (37,6 g, 115,2 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (7,7 ml, 69,2 mmol) a TA y se agitó durante 16 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/hexano para proporcionar 4 (12,5 g, 78,6 %) en forma de un jarabe de color pardo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,35 -7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H)

CLEM m/z: 369,3 [M⁺+Na].

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetato de etilo (5)

A una solución en agitación de 4 (12,5 g, 36 mmol) en EtOAc (100 ml) se le añadió anhídrido acético (7,36 g, 72,2 mmol), Pd al 10 %/C (5,0 g) al 50 % de humedad y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con EtOAc (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 5 (8,0 g, 87,9 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,21 (s, 1H), 4,17 (s, 1H), 4,14-4,12 (m, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,68 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,56-3,51 (m, 1H), 3,46-3,43 (m, 1H), 3,29 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 2,11-2,09 (m, 1H), 1,97 (s, 2H), 1,90-1,89 (m, 3H), 1,20 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Síntesis de ácido 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6)

A una solución agitada de 5 (8,0 g, 31,49 mmol) en THF: H₂O (80 ml/30 ml) se le añadió LiOH.H₂O (3,30 g, 78,7 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a

presión reducida. El residuo se diluyó con agua (25 ml), se extrajo con éter (2 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH ~2 usando HCl 2 N y se extrajo con MeOH al 5 %/DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6 (6,5 g, 91,5 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5 (s a, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,66-3,64 (m, 2H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,42 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 2,73, 2,63 (dd, *J* = 16,0 Hz, *J* = 15 Hz, 2H), 2,10-2,07 (m, 1H)
 CLEM m/z: 227,2 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-N-((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)acetamida (Compuesto K)

A una solución en agitación de 6 (200 mg, 1,39 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,64 ml, 3,47 mmol), Int-I (5,95 g, 1,68 mmol), seguido de HATU (637 mg, 1,68 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 8 %/DCM para proporcionar un jarabe de color amarillo, que se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para proporcionar el Compuesto K (100 mg, 20,4 %) en forma de un líquido incoloro.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,18 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 8,54 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,15-5,06 (m, 2H), 4,16-4,12 (m, 1H), 4,05, 4,00 (dd, *J* = 4,4 Hz, 4,4 Hz, 1H), 3,89-3,82 (m, 1H), 3,72 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,61-3,56 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 1H), 3,37-3,33 (m, 1H), 2,18-2,08 (m, 2H), 2,02 (s, 3H), 1,93-1,90 (m, 2H), 1,10 (t, *J* = 6,4 Hz, 3H)

CLEM m/z: 352,3 [M⁺+1]

UPLC: 47,2 % y 44,3 %

Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A)

A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroforniato de bencilo (50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó con HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H)

CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió SOCl₂ (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 2-amino-3-hidroxi-butanoato de (2S,3R)-metilo (Int-C)

A una solución en agitación de L-Thr-OH (60 g, 504 mmol) en CH₃OH (400 ml) se le añadió cloruro de tionilo (70 ml, 972 mmol) a 0 °C y se agitó a 75 °C durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-C (60 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,45 (s, 2H), 5,70 (s, 1H), 4,12-4,10 (m, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,73 (s, 3H), 1,20 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H).

Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-hidroxi-butanoato de (2S,3R)-metilo (Int-D)

A una solución en agitación de NaHCO₃ (89 g, 1,065 mol) en agua/1,4-dioxano (150 ml/450 ml) se le añadió Int-C (60 g, 355 mmol) a TA y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota Cbz-Cl (60,7 ml, 426 mmol) y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a TA y se agitó durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con EtOAc (300 ml). La capa orgánica separada se lavó con (2 x 200 ml) de una solución saturada de NaHCO₃, seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se trituró con *n*-hexano y éter dietílico (50 ml/50 ml) para proporcionar Int-D (60 g, 63,8 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,37 -7,30 (m, 5H), 7,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,78 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,09-4,05 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 1,09 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H)

CLEM m/z: 268,2 [M⁺+1]

Síntesis de 2-((benciloxil)carbonil)amino)-3-(terc-butildimetilsilil)oxi)butanoato de (2S,3R)-metilo (Int-E)

A una solución en agitación de Int-D (40 g, 149 mmol) en DMF (300 ml) se le añadieron DIPEA (69 ml, 374 mmol), TBDMS-Cl (30,91 ml, 179 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con éter (200 ml). La capa orgánica separada se lavó con (2 x 200 ml) de una solución saturada de NaHCO₃, seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar Int-E (40 g, 70,1 %) en forma de un jarabe incoloro.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39-7,32 (m, 5H), 5,43 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,45-4,43 (m, 1H), 4,29-4,26 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 1,21 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,09 (s, 6H)
CLEM m/z: 382,2 [M⁺+1].

Síntesis de ((2S,3R)-3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-hidrazinil-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (Int F):

Una solución de Int-E (20 g, 52,4 mmol) en EtOH (200 ml) se añadió a hidrato de hidrazina (13,12 ml, 262 mmol), a TA y se agitó a 90 °C durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó etanol a presión reducida. El residuo en bruto se diluyó con agua (100 ml) y éter dietílico (200 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 15 %/hexano para proporcionar Int-F (4,0 g, 20 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,10 (s, 1H), 7,36-7,30 (m, 5H), 6,83 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,19 (s, 2H), 4,05-4,02 (m, 1H), 3,97-3,93 (m, 1H), 1,05 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,81 (s, 9H), 0,01 (s, 6H)

Síntesis de ((1S,2R)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)carbamato de bencilo (Int-G)

Una solución de Int-F (4 g, 10,4 mmol) en ortoformiato de trietilo (40 ml) se añadió a p-TSA (catalítico, 40 mg) a TA y después se agitó a 120 °C durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó ortoformiato de trietilo a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar Int-G (2,8 g, 68 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,22 (s, 1H), 7,85 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,36-7,31 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 4,96-4,93 (m, 1H), 4,25 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,80 (s, 9H), 0,10 (s, 6H)
CLEM m/z: 392,4 [M⁺+1]

Síntesis de (1S,2R)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propan-1-amina (Int-H)

A una solución en agitación de Int-G (2,8 g, 7,16 mmol) en metanol (30 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de humedad (1,4 g) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 2 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar Int-H (1,7 g, 92 %) en forma de un jarabe incoloro.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,15 (s, 1H), 4,11 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,03 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 2,05 (s a, 2H), 1,17 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,76 (s, 9H), 0,02 (s, 6H)
CLEM m/z: 258,3 [M⁺+1]

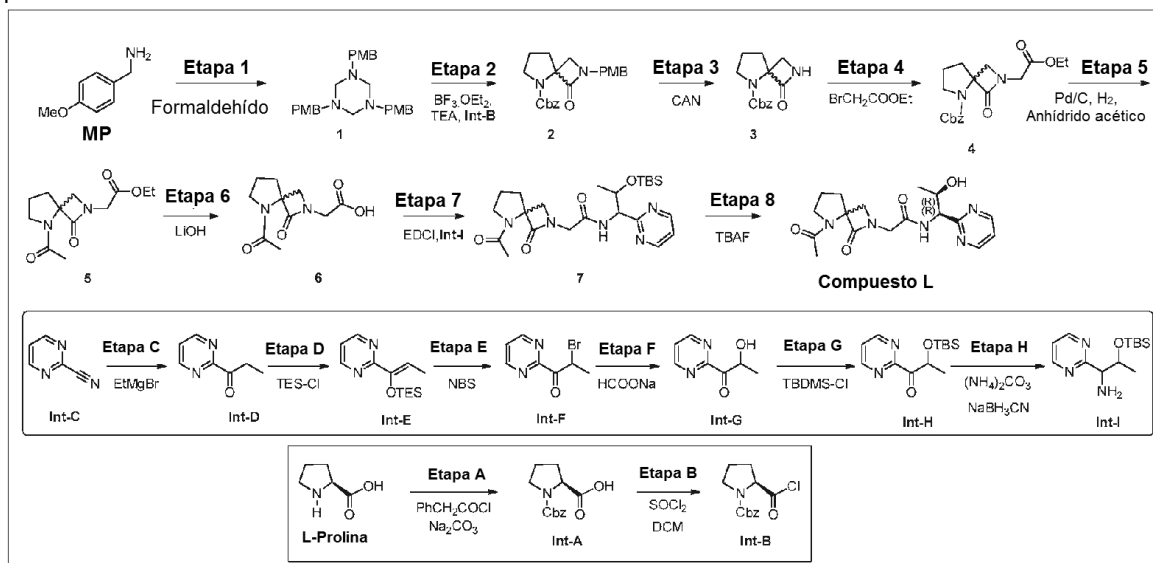
Síntesis de (1S,2R)-1-amino-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propan-2-ol (Int-I)

A una solución en agitación de Int-H (500 mg, 1,94 mmol) en THF (6 ml) se le añadió lentamente TBAF (1,01 ml) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó y se diluyó con EtOAc/H₂O (10 ml/2 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar Int-I (120 mg, en bruto) en forma de un jarabe espeso e incoloro.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,12 (s, 1H), 3,94 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 3,85 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,17-3,13 (m, 3H), 1,05 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

Ejemplo 11 - Síntesis del Compuesto L

Esquema 11.



5

Síntesis de 1,3,-Tris(4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (1)

A una solución en agitación de (4-metoxifenil) MP de metanamina (200g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que se lavó con n-hexano para proporcionar 1 (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 6,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H)

15

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de bencilo (2)

A una solución en agitación de 1 (45 g, 100 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) se le añadió gota a gota BF₃.OEt₂ (37 ml, 301 mmol) a -40 °C. Se añadió Int-B (95 g, 342 mmol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml), seguido gota a gota de Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 2 (90g, 65 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13, 3,96 (dd, *J* = 15,5 Hz, 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H)

CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

30

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de bencilo (3)

A una solución en agitación de 2 (46 g, 121 mmol) en MeCN (460 ml) y H₂O (200 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución de CAN (199 g, 0,23 mol) en H₂O (460 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para obtener 3 (12 g, 38 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17, 3,13 (dd, *J* = 5,0 Hz, 5,0 Hz, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H)

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

45

Síntesis de 2-(2-etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (4)

A una solución agitada de 3 (12 g, 46,1 mmol) en acetonitrilo (120 ml) se le añadió CS₂CO₃ (37,6 g, 115,2 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (7,7 ml, 69,2 mmol) a TA y se agitó durante 16 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/hexano para proporcionar 4 (12,5 g, 78,6 %) en forma de un jarabe de color pardo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H)
CLEM m/z: 369,3 [M⁺+Na].

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetato de etilo (5)

A una solución en agitación de 4 (12,5 g, 36 mmol) en EtOAc (100 ml) se le añadió anhídrido acético (7,36 g, 72,2 mmol), Pd al 10 %/C (5,0g) al 50 % de humedad y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con EtOAc (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 5 (8,0 g, 87,9 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,21 (s, 1H), 4,17 (s, 1H), 4,14-4,12 (m, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,68 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,56-3,51 (m, 1H), 3,46-3,43 (m, 1H), 3,29 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 2,11-2,09 (m, 1H), 1,97 (s, 2H), 1,90-1,89 (m, 3H), 1,20 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H)
CLEM m/z: 255 [M⁺-1]

Síntesis de ácido 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6)

A una solución agitada de 5 (8,0 g, 31,49 mmol) en THF: H₂O (80 ml/30 ml) se le añadió LiOH.H₂O (3,30 g, 78,7 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (25 ml), se extrajo con éter (2 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH ~2 usando HCl 2 N y se extrajo con MeOH al 5 %/DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6 (6,5 g, 91,5 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5 (s, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,66-3,64 (m, 2H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,42 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 2,73, 2,63 (dd, *J* = 16,0 Hz, *J* = 15 Hz, 2H), 2,10-2,07 (m, 1H)

CLEM m/z: 227,2 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-*N*-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)-acetamida (7)

A una solución en agitación de 6 (400 mg, 1,77 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,9 ml, 5,32mmol), Int-I (474 mg, 1,77mmol), HOBT (410 mg, 2,66mmol), EDCI.HCl (509 mg, 2,66 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 4 /DCM para proporcionar 7 (300 mg, 35 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,78 (d, *J* = 16,0 Hz, 2H), 8,35 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,37 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H), 4,88 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,37 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,90 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,85 (s, 2H), 3,76 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,63-3,57 (m, 1H), 3,49-3,43 (m, 1H), 3,13 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 2,13-2,10 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,16 (d, *J* = 5,5 Hz, 3H), 0,64 (s, 9H), 0,06 (s, 6H)

CLEM m/z: 474,6 [M⁺-1]

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-*N*-((1*R*, 2*R*)-2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)acetamida (Compuesto L)

A una solución en agitación de 7 (300 mg, 0,63 mmol) en THF (20 ml) se le añadió lentamente TBAF (1,26 ml) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar una mezcla (110 mg) de isómeros, que se purificó de nuevo por un método de purificación de HPLC preparativa quiral para proporcionar el Compuesto L (60 mg, 26 %) en forma de un líquido incoloro. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,76 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 8,28 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,37 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,91-4,79 (m, 2H), 4,15-4,10 (m, 1H), 3,92-3,78 (m, 2H), 3,67 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,60-3,54 (m, 1H), 3,49-3,31 (m, 2H), 2,13-2,11 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,08-1,87 (m, 2H), 1,09 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

CLEM m/z: 362,4 [M⁺+1]

HPLC: 97,5 %

Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (Int-A):

A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na₂CO₃ (576 g, 5,43 mol) y se

agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformiato de bencilo (50 % en PhCH₃) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH₃ (1,5 l) y se acidificó con HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar Int-A (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H)

CLEM m/z: 250,4 [M⁺+1]

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (Int-B)

A una solución en agitación de Int-A (2,5 g, 0,01 mol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió SOCl₂ (2,7 g, 0,02 mol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar Int-B. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-D)

A una solución en agitación de Int-C (20 g, 190mmol) en THF (200 ml) se le añadió bromuro de etil magnesio (1 M en THF, 227 ml, 228mmol) a 0 °C durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de cloruro de amonio y EtOAc (150 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica extraída se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar Int-D (15g, 57 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 7,70 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,20-3,15 (m, 2H), 1,09 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). CLEM m/z: 137 [M⁺+1]

Síntesis de (Z)-2-(1-((trietilsilil)oxi)prop-1-en-1-il)pirimidina (Int-E)

A una solución en agitación de Int-D (15 g, 110 mmol) en THF (100 ml) se le añadió lentamente LiHMDS (1 M en THF, 220 ml, 220 mmol) a 0 °C y se agitó durante 30 min. Después, se añadió gota a gota cloro trietilsilano (24,8 g, 165 mmol) en THF (50 ml) a 0 °C y se agitó durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de cloruro de amonio (50 ml) y EtOAc (150 ml). La capa orgánica separada se extrajo con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 5 %/hexano para proporcionar Int-E (20 g, 74 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,75 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,32 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 6,36-6,31 (m, 1H), 1,77 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,95-0,87 (m, 9H), 0,71-0,65 (m, 6H).

Síntesis de 2-bromo-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-F)

A una solución en agitación de Int-E (20 g, 80 mmol) en THF/H₂O (160 ml/40 ml) se le añadió lentamente N-bromosuccinimida (10,2 g, 88 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con H₂O y EtOAc (100 ml/150 ml). La capa orgánica separada se extrajo con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar Int-F (15 g, 87 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,06 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,75 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,97-5,92 (m, 1H), 1,83 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

Síntesis de 2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-G)

A una solución en agitación de Int-F (15 g, 69mmol) en MeOH (240 ml) se le añadió formiato sódico (18,9 g, 279 mmol) y la masa de reacción se agitó a 70 °C durante 8 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar Int-G (5,5 g, 51 %) en forma de un líquido incoloro.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,73 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 7,55 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,28-5,26 (m, 1H), 1,24 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 0,99 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

Síntesis de 2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (Int-H)

A una solución en agitación de Int-G (5,5 g, 36 mmol) en DCM (150 ml) se le añadió imidazol (4,9 g, 72 mmol), DMAP (880 mg, 0,72 mmol) a 0 °C y se agitó durante 10 min. Después se añadió TBDMS-Cl (8,1 g, 54 mmol) a 0 °C y se agitó

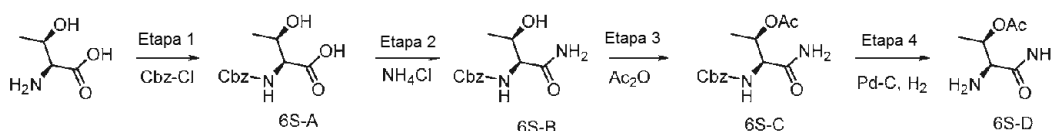
a TA durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con H₂O (50 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar Int-H (3g, 31 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 9,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 7,71 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,47-5,42 (m, 1H), 1,35 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,79 (s, 9H), 0,05 (s, 6H)

Síntesis de (2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)pronan-1-amina (Int-I)

A una solución en agitación de Int-H (3 g, 11,2 mmol) en MeOH (50 ml) se le añadieron acetato sódico (1,8 g, 22,5mmol), carbonato de amonio (8,8 g, 56,3mmol), AcOH (0,6 ml, 11,2 mmol) a TA y después la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 2 h. La temperatura de la reacción se enfrió a TA y se añadió cianoborohidruro sódico (1,39 g, 22,5 mmol) y se agitó a 70 °C durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó MeOH y el residuo en bruto se diluyó con DCM/H₂O (50 ml/50 ml). La capa orgánica separada se extrajo con una solución de salmuera (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 % /DCM para proporcionar Int-I (2,4 g, 80 %) en forma de un semisólido. RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 8,83 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,40 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,13 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,90 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,12 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,70 (s, 9H), 0,02 (s, 6H)
CLEM m/z: 268 [M⁺+1]

Esquema 6S-I-1



Síntesis de ácido (2S,3R)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-hidrobutanoico (6S-A):

A una solución en agitación de NaHCO₃ (529 g, 6,30 mol) en agua (1 l) se le añadió L-treonina (250 g, 2,10 mol) a TA y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota Cbz-Cl (850 ml, 2,52 mol, 50 % de PhCH₃) y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó de nuevo durante 28 h. A esta se le añadió MTBE (1 l) y se agitó durante 20 min. La capa acuosa separada en tolueno se agitó durante 20 min. La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N (pH ~1-2) y se extrajo con EtOAc, (3 x 1,5 l). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se agitó con dicitohexilamina (819 ml, 4,20 mol) durante 4 h para obtener un sólido de color blanco, se filtró y se secó. El sólido obtenido se sometió a reflujo con EtOAc (1,5 l) durante 1 h y después se filtró. El material sólido se disolvió en agua (1 l) y se acidificó con H₂SO₄ dil. y se agitó de nuevo durante 30 min. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1 l). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se trituró con n-hexano para proporcionar 6S-A (230 g, 43 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,55 (m a, 1H), 7,37-7,30 (m, 5H), 6,94 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,08-3,94 (m, 2H), 1,02 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

pureza de ELSD: 84,66 %

Síntesis de ((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (6S-B):

Una solución de 6S-A (25 g, 98,8 mmol) en DCM (250 ml) se le añadió cloruro de amonio (7,86 g, 147 mmol), HATU (45 g, 118 mmol), *N,N*-diisopropilamina (45,5 ml, 261 mmol) y se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la capa orgánica se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico (1 x 150 ml), seguido de HCl 2 N (1 x 100 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar 6S-B (16 g, 66 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,36-7,32 (m, 5H), 7,04 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,75 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,95-3,92 (m, 1H), 3,86-3,83 (m, 1H), 1,27-1,23 (m, 1H), 1,04 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H).

CLEM m/z: 253,3 [M⁺+1]

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-4-oxobutan-2-ilo (6S-C):

A una solución en agitación de 6S-B (16 g, 63,4 mmol) en CH₂Cl₂ (250 ml) se le añadieron Et₃N (10,5 ml, 76,0 mmol) y DMAP (773 mg, 6,34 mmol), Ac₂O (7,12 ml, 76,0 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la capa orgánica se lavó con agua (1 x 150 ml), seguido de lavado con salmuera (1 x

100 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 1 %/DCM para proporcionar 6S-C (15 g, 80,3 %) en forma de un sólido blanquecino.

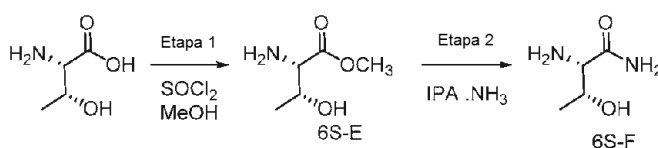
5 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,45 (s, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 5,09-5,05 (m, 1H), 5,01 (s, 2H), 4,14-4,10 (m, 1H), 1,93 (s, 3H), 1,14 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H)
CLEM m/z: 295,1 [$\text{M}^+ + 1$]

Síntesis de acetato de (2R,3S)-3,4-diamino-4-oxobutan-2-ilo (6S-D):

10 A una solución en agitación de 6S-C (15 g, 51 mmol) en metanol (500 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de humedad (4 g) y se agitó en una atmósfera de H_2 (presión de globo) durante 4 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-D (7,5 g, 91,9 %) en forma de un sólido blanquecino.

15 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,59 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 4,78 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,10 (m, 1H), 4,00-3,96 (m, 1H), 1,89 (s, 3H), 1,01 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H). CLEM m/z: 161,5 [$\text{M}^+ + 1$]

Esquema 6S-I-2



20 Síntesis de 2-amino-3-hidroxi-butanoato de (2S,3R)-metilo (6S-E):

A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-butanoico (200 g, 1,68 mol) en metanol (1,2 l) se le añadió gota a gota SOCl_2 (244 ml, 3,36 mol) a 0 °C y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se sometió a reflujo durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se calentó a TA y se concentró al vacío y se decantó con n-hexano (2 x 50 ml). El residuo se disolvió en EtOH (1 l) y se neutralizó con Et_3N (471 ml, 3,36 mol) y se agitó de nuevo durante 2 h. El sólido precipitado se retiró por filtración; el filtrado obtenido se concentró al vacío para proporcionar 6S-E (195 g, 80 %).

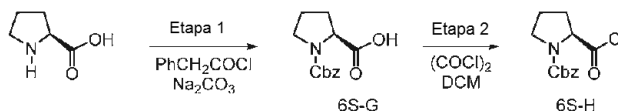
25 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,51 (s a, 3H), 4,13-4,10 (m, 1H), 3,91 (s a, 1H), 1,20 (d, 3H).
CLEM m/z: 134,1 [$\text{M}^+ + 1$]

30 Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-butanimida (6S-F):

Una solución de 6S-E (190 g, 1,35 mol) en IPA (2 l) se recogió en un autoclave y se purgó con gas de NH_3 (7-8 kg) y se agitó a 35 °C durante 24 h. Después de la finalización de la reacción, el NH_3 se expulsó y la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se añadió CH_2Cl_2 y se filtró. El sólido obtenido se sometió a reflujo en EtOH durante 1 h a 78 °C. La masa de reacción se filtró en condiciones de calentamiento y se añadió n-hexano al filtrado, y se agitó de nuevo durante 4 h más. El sólido precipitado obtenido se filtró y se secó al vacío para proporcionar 6S-F (160 g, 47 %).

40 RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,38 (s a, 1H), 7,02 (s a, 1H), 4,66 (s a, 1H), 3,77-3,70 (m, 1H), 2,93 (d, 1H), 2,72 (m a, 1H), 1,05 (d, 3H).
CLEM m/z: 119,1 [$\text{M}^+ + 1$].

Esquema 6S-I-3



45 Síntesis de ácido (S)-1-((benciloxi)carbonil)pirrolidin-2-carboxílico (6S-G):

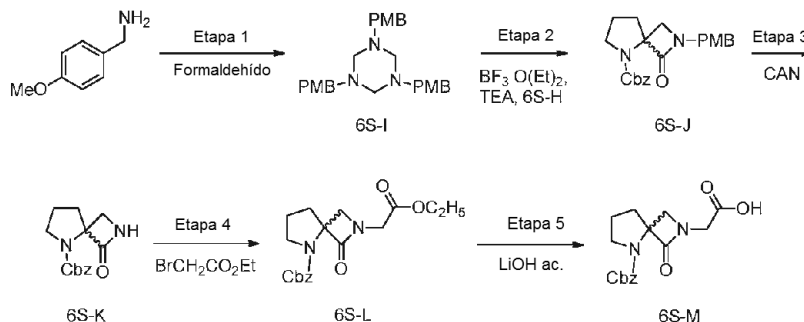
A una solución en agitación de L-prolina (250 g, 2,17 mol) en agua (1 l) se le añadió Na_2CO_3 (576 g, 5,43 mol) y se agitó durante 1 h. Después de enfriarse a 0 °C, se añadió gota a gota cloroformato de bencilo (50 % en PhCH_3) (444 g, 2,61 mol) a la mezcla de reacción y se agitó de nuevo durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a TA y se agitó adicionalmente durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (1 l) y éter (1,5 l). La capa acuosa separada se trató con PhCH_3 (1,5 l) y se acidificó usando HCl 6 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 1,5 l), los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-G (450 g, 84 %) en forma de un jarabe de color amarillo claro.

55 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,71 (s a, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 5,07-4,99 (m, 2H), 4,25-4,15 (m, 1H), 3,45-3,34 (m, 2H), 2,25-2,14 (m, 1H), 1,94-1,79 (m, 3H).
CLEM m/z: 250,4 [$\text{M}^+ + 1$]

Síntesis de 2-(clorocarbonil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-bencilo (6S-H):

5 A una solución en agitación de 6S-G (90 g, 361 mmol) en CH₂Cl₂ (400 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (42 ml, 542 mmol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. Después de la formación completa de cloruro de ácido, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-H (95 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Esquema 6S-I-4



10

1,3,5-Tris (4-metoxibencil)-1,3,5-triazinano (6S-I):

15 A una solución en agitación de (4-metoxifenil)metanamina (200 g, 1,46 mol) en EtOH (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota formaldehído (ac. al 33 %, 105 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), seguido de salmuera. La capa orgánica separada se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto; que finalmente se lavó con n-hexano para proporcionar el compuesto 6S-I (200 g, 30,6 %) en forma de un sólido de color blanco.

20 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 6,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 6H), 3,71 (s, 9H), 3,50 (s, 6H), 3,29 (s, 6H).

2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-J):

25 A una solución en agitación de 6S-H (100 g, 0,37 mol) en CH₂Cl₂ seco (500 ml) enfriada a -40 °C se le añadió gota a gota Et₃N (210,2 ml, 1,50 mol). La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 45 min. A esta se le añadió gota a gota una mezcla de 6S-I (50 g, 0,12 mol) en CH₂Cl₂ (150 ml) y BF₃·OEt₂ (47,6 g, 0,33 mol) a -40 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, seguido de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se mantuvo en el refrigerador para cristalización. Los cristales obtenidos se filtraron y se lavaron con EtOAc frío y se secaron al vacío para proporcionar 6S-J (82 g, 58 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco.

30 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,36-7,30 (m, 5H), 7,24 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,29 (s, 1H), 4,13-3,96 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,11 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H).

35 CLEM m/z: 381 [M⁺+1]

1-Oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-K):

40 A una solución en agitación de 6S-J (30 g, 78,94 mmol) en MeCN (300 ml) y H₂O (150 ml) enfriada a 0 °C, se le añadió una solución de CAN (129 g, 0,23 mol) en H₂O (300 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La masa resultante se vertió en agua enfriada con hielo y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ saturado, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un material en bruto. El material obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc para proporcionar 6S-K (8 g, 40 %) en forma de un sólido blanquecino.

45 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (s, 1H), 7,36-7,29 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 3,53 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,17-3,13 (m, 1H), 2,17-2,10 (m, 2H), 1,82-1,76 (m, 2H).

CLEM m/z: 261 [M⁺+1]

2-(2-Etoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-L)

50 A una solución agitada de 6S-K (10,0 g, 38,46 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se le añadieron CS₂CO₃ (31,34 g, 96,19 mmol) y 2-bromoacetato de etilo (6,42 ml, 57,60 mmol) a TA y se agitó durante 16 h a TA. Los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica

separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 80 %/Hexano para proporcionar 6S-L (10,0 g, 75 %) en forma de un jarabe de color pardo.

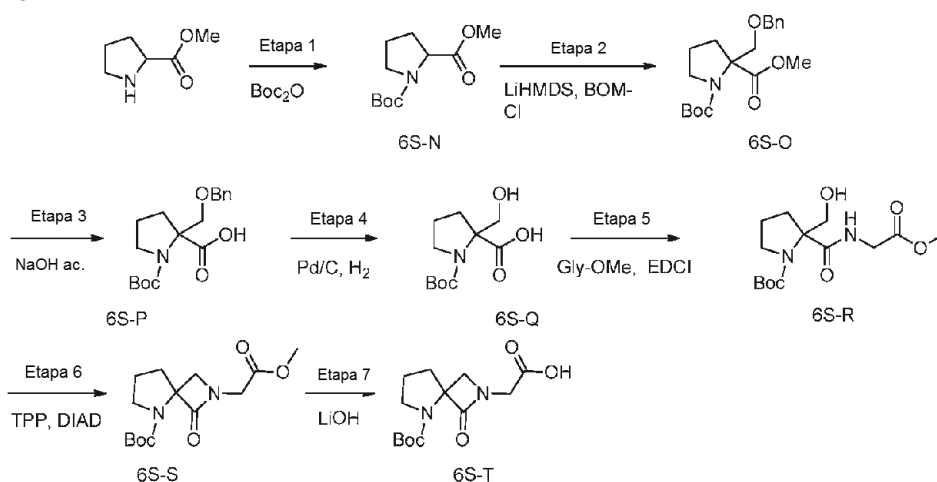
5 RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,13-4,10 (m, 2H), 3,69 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,21-1,14 (m, 3H).
CLEM m/z: 261 [$\text{M}^+ + 1$]

Ácido 2-(5-((benciloxi)carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6S-M):

10 A una solución agitada de 6S-L (6,0 g, 17,34 mmol) en THF: H_2O (75 ml/40 ml) se le añadió $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1,82 g, 43,33 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua, se lavó con éter, la capa acuosa se acidificó a pH=2 usando HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto, para proporcionar 6S-M (4,5 g, 88,2 %) en forma de un sólido blanquecino.

15 RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 12,5 (s a, 1H), 7,35-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,21 (s, 1H), 4,18 (s, 1H), 3,69 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,47-3,44 (m, 3H), 2,16 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H)
CLEM m/z: 319 [$\text{M}^+ + 1$]

20 Esquema 6S-I-5:



Síntesis de pirrolidin-1,2-dicarboxilato de 2-metil 1-terc-butilo (6S-N):

25 A una solución en agitación de metil éster de prolina (70 g, 422 mmol) en CH_2Cl_2 (700 ml) se le añadió Et_3N (183 ml, 1,26 mol) a 0°C y se agitó durante 10 min. Después, se añadió Boc-anhídrido (184 ml, 845 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua (200 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con ácido cítrico (1 x 150 ml), salmuera (1 x 200 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 50 %/n-hexano para obtener 6S-N (80 g, 83 %) en forma de un jarabe espeso.

30 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 4,15-4,13 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,35-3,30 (m, 2H), 2,23-2,15 (m, 1H), 1,86-1,78 (m, 3H), 1,41 (s, 9H);
CLEM (m/z): 129 [$(\text{M}^+ + 1)$ -Boc];

35

Síntesis de 2-((benciloxi)metil)pirrolidin-1,2-dicarboxilato de 2-metil 1-terc-butilo (6S-O):

40 A una solución en agitación de 6S-N (25 g, 109 mmol) en THF (250 ml) se le añadió LiHMDS (240 ml, 240 mmol) a -20°C y se agitó durante 2 h. A esa se le añadió gota a gota BOM-cloruro (23 ml, 163 mmol) a -30°C y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se interrumpió con una solución acuosa de NH_4Cl (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (2 x 150 ml), seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para obtener un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/n-hexano para proporcionar 6S-O (30 g, 79 %) en forma de un jarabe espeso. RMN ^1H : (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 7,36-7,22 (m, 5H), 4,59-4,48 (m, 2H), 4,02-3,88 (m, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,49-3,35 (m, 2H), 3,34-3,30 (m, 1H), 2,31-2,23 (m, 1H), 2,04-1,89 (m, 2H), 1,82-1,78 (m, 1H);

45 CLEM (m/z): 249,4 [$(\text{M}^+ + 1)$ -Boc]

Síntesis de ácido 2-((benciloxi)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)pirrolidin-2-carboxílico (6S-P):

A una solución en agitación de 6S-O (30 g, 86 mmol) en metanol (70 ml) se le añadió una solución de NaOH (6,88 g en 70 ml de H₂O) a TA. La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), el disolvente de la reacción se evaporó a presión reducida y se diluyó con EtOAc (2 x 200 ml). La capa acuosa separada se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3) y se extrajo con EtOAc (2 x 250 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar un material en bruto, que se trituró con n-hexano para obtener 6S-P (25 g, 86,8 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,35 (s a, 1H), 7,37-7,29 (m, 5H), 4,56-4,48 (m, 2H), 4,06-4,00 (m, 1H), 3,92-3,89 (m, 1H), 3,66-3,45 (m, 1H), 3,37-3,28 (m, 1H), 2,31-2,20 (m, 1H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,87-1,75 (m, 2H), 1,38 (s, 9H). CLEM (m/z): 335,3 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 1-(terc-butoxicarbonil)-2-(hidroximetil)pirrolidin-2-carboxílico (6S-Q):

A una solución en agitación de 6S-P (25 g, 74 mmol) en metanol (150 ml) se le añadió Pd al 10 %/C (7 g) al 50 % de humedad a TA y se agitó durante 10 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y el lecho se lavó con metanol (100 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-Q (15 g, 82,8 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,66 (s a, 1H), 3,96-3,83 (m, 1H), 3,63-3,59 (m, 1H), 3,49-3,41 (m, 1H), 3,34-3,25 (m, 1H), 2,30-2,17 (m, 1H), 1,95-1,72 (m, 3H), 1,38 (s, 9H).

Síntesis de 2-(hidroximetil)-2-((2-metoxi-2-oxoetil)carbamoil)pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo (6S-R):

A una solución en agitación de 6S-Q (25 g, 102 mmol) en CH₂Cl₂ (250 ml) se le añadieron DIPEA (54,3 ml, 303 mmol), EDCI (23,2 g, 122 mmol), HOBt (16,5 g, 122 mmol), metil éster de glicina.HCl (15,3 g, 122 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con ácido cítrico (1 x 100 ml), seguido de una solución de bicarbonato (1 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar 6S-R (20 g, 62,5 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,02 (d, *J* = 19,5 Hz, 1H), 5,01 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 4,03-4,00 (m, 3H), 3,84-3,76 (m, 2H), 3,71-3,68 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 2,27-2,23 (m, 2H), 1,98-1,75 (m, 2H), 1,38 (s, 9H);

Masa (IEN): m/z 217,2 [M⁻Boc+1]

Síntesis de 2-(2-metoxi-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de terc-butilo (6S-S):

A una solución en agitación de trifetilfosfina (72,5 g, 276 mmol) en THF (200 ml) se le añadió DIAD (54,5 g, 276 mmol) a TA y se agitó durante 30 min. Después, se añadió lentamente 6S-R (35 g, 110 mmol) en (60 ml) THF y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material en bruto se trituró con éter dietílico al 30 %/n-hexano (2 x 500 ml). El disolvente orgánico filtrado se concentró y el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 30 %/n-hexano para proporcionar 6S-S (30 g, en bruto) en forma de un semisólido.

RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 4,50-4,37 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,74-3,63 (m, 2H), 3,47-3,31 (m, 1H), 3,69-3,60 (m, 1H), 3,42-3,33 (m, 2H), 3,28-3,23 (m, 1H), 2,18-2,14 (m, 2H), 1,90-1,76 (m, 2H), 1,40 (s, 9H)

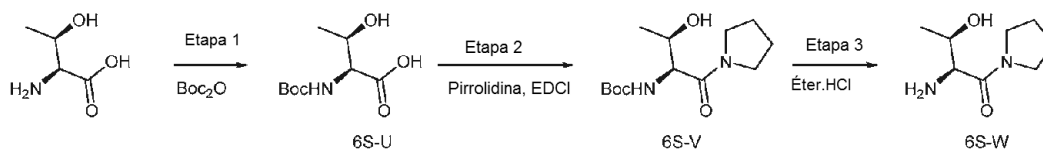
Masa (IEN): m/z 319,3 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 2-(5-(terc-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6S-T):

A una solución en agitación de 6S-S (10 g, 33,5 mmol) en THF/H₂O (100 ml) se le añadió LiOH.H₂O (2,11 g, 50,2 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se evaporó a presión reducida. El material en bruto se lavó con éter dietílico (2 x 200 ml). La capa acuosa separada se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar 6S-T (5 g, 52,6 %)

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,80 (s a, 1H), 4,14-4,10 (m, 1H), 3,74-3,54 (m, 2H), 3,38-3,33 (m, 2H), 3,30-3,23 (m, 1H), 2,14-2,08 (m, 2H), 1,83-1,76 (m, 2H), 1,39 (s, 9H); CLEM (m/z): 283,3 [M⁻-1], HPLC: 97,6 %

Esquema 6S-I-6



Ácido (2S,3R)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxi-butanoico (6S-U)

A una solución en agitación de ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-butanoico (10 g, 83,9 mmol) en 1,4-dioxano/agua (100 ml, 1: 1) se le añadió NaHCO₃ (21,1 g, 0,25 mol), seguido de Boc-anhídrido (21,9 ml, 0,101 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3-4) y después se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 150 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-U (15 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

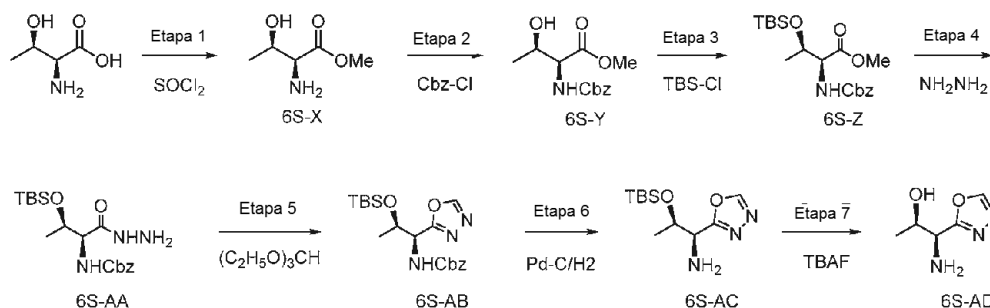
((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)carbamato de terc-butilo (6S-V):

A una solución en agitación de 6S-U (5 g, 22,8 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió EDCI.HCl (5,2 g, 27,3 mmol), HOBt (4,6 g, 34,2 mmol), seguido de DIPEA (10,5 ml, 57 mmol) y pirrolidina (1,945 g, 27,3 mmol) en una atmósfera de N₂ a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua, seguido de NaHCO₃ saturado y ácido cítrico. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar 6S-V (3 g, 48 %). RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,41 (d, 1H), 4,71 (d, 1H), 4,15 (t, 1H), 3,94 (c, 1H), 3,63-3,42 (m, 2H), 3,24 (c, 1H), 1,90-1,81 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 1,04 (s, 3H). CLEM (m/z): 273,2 [M⁺+1]

(2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-1-(pirrolidin-1-il)butan-1-ona (6S-W):

A una solución agitada de 6S-V (3 g, 11,0 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió éter dietílico saturado con HCl (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se lavó con éter para proporcionar 6S-W (2,0 g, 87 %). RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,19 (s a, 3H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,62-3,59 (m, 1H), 3,49-3,42 (m, 1H), 3,39-3,35 (m, 2H), 1,96-1,90 (m, 4H), 1,17 (d, 3H). CLEM (m/z): 173,3 [M⁺+1]

Esquema 6S-I-7

Síntesis de 2-amino-3-hidroxi-butanoato de (2S,3R)-metilo (6S-X):

A una solución en agitación de L-treonina (50 g, 420 mmol) en CH₃OH (250 ml) se le añadió cloruro de tionilo (62,4 ml, 840mmol) a 0 °C y se agitó a 75 °C durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-X (60 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,45 (s, 2H), 5,70 (s, 1H), 4,12-4,10 (m, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,73 (s, 3H), 1,20 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-hidroxi-butanoato de (2S,3R)-metilo (6S-Y):

A una solución en agitación de 6S-X (60 g, 353 mmol) en agua/1,4-dioxano (150 ml/300 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se añadió NaHCO₃ (88,9 g, 1,059 mol) a 0 °C y se agitó durante 15 min. Se añadió gota a gota Cbz-Cl (60,7 ml, 426 mmol) y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a TA y se agitó durante 12 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con EtOAc (300 ml). La capa orgánica separada se lavó con (2 x 200 ml) de una solución saturada de NaHCO₃, seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se trituró con n-hexano (500 ml) para proporcionar 6S-Y (70 g, 74 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,37 -7,30 (m, 5H), 7,20 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,78 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 4,09-4,05 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 1,09 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

CLEM m/z: 268,2 [$M^+ + 1$]

Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)butanoato de (2S,3R)-metilo (6S-Z):

- 5 A una solución en agitación de 6S-Y (50 g, 187 mmol) en DMF (400 ml) se le añadieron DIPEA (86 ml, 468 mmol), TBDMS-Cl (33,66 ml, 224 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con EtOAc (500 ml). La capa orgánica separada se lavó con (2 x 200 ml) de H₂O, seguido de una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar 6S-Z (50 g, 70,1 %) en forma de un jarabe incoloro.
- 10 RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39-7,32 (m, 5H), 5,43 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,45-4,43 (m, 1H), 4,29-4,26 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 1,21 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,09 (s, 6H)
CLEM m/z: 382,2 [$M^+ + 1$]

15 Síntesis de ((2S,3R)-3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-hidrazinil-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (6S-AA):

- Una solución de 6S-Z (50 g, 131 mmol) en EtOH (400 ml) se añadió a hidrato de hidrazina (32,8 g, 656 mmol), a TA y después se agitó a 90 °C durante 24 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó etanol a presión reducida. El residuo en bruto se diluyó con agua (100 ml) y EtOAc (500 ml). Después de separar la capa orgánica, se lavó con (2 x 100 ml) de agua, seguido de una solución de salmuera (1 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar 6S-AA (25 g, 50 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro.
- 20 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,10 (s, 1H), 7,36-7,30 (m, 5H), 6,83 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,19 (s, 2H), 4,05-4,02 (m, 1H), 3,97-3,93 (m, 1H), 1,05 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,81 (s, 9H), 0,01 (s, 6H).
- 25 CLEM m/z: 392,4 [$M^+ + 1$]

Síntesis de ((1S,2R)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)carbamato de bencilo (6S-AB):

- Una solución de 6S-AA (25 g, 65,6 mmol) en ortoformiato de trietilo (250 ml) se añadió a p-TSA (catalítico, 250 mg) a TA y después se agitó a 80 °C durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se evaporó ortoformiato de trietilo a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para proporcionar 6S-AB (15 g, 58 %) en forma de un jarabe espeso.
- 30 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,22 (s, 1H), 7,85 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,36-7,31 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 4,96-4,93 (m, 1H), 4,25 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,80 (s, 9H), 0,10 (s, 6H);
- 35 CLEM m/z: 392,4 [$M^+ + 1$]

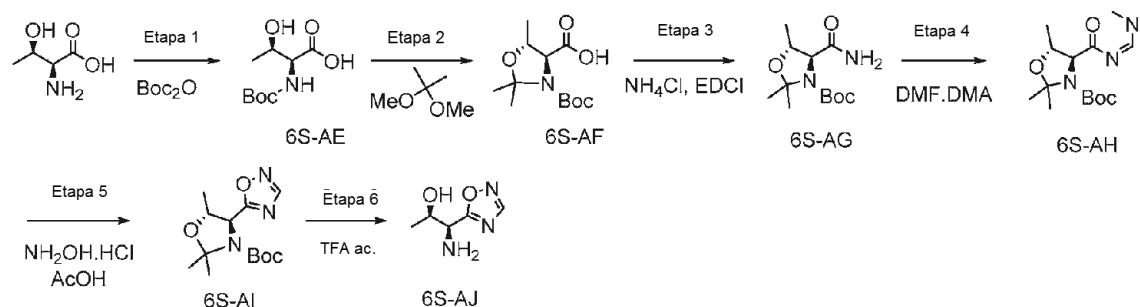
Síntesis de (1S,2R)-2-(((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propan-1-amina (6S-AC):

- A una solución en agitación de 6S-AB (15 g, 38,3 mmol) en metanol (200 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de humedad (5 g) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AC (10 g, en bruto) en forma de un jarabe espeso.
- 40 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,15 (s, 1H), 4,11 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,03 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 2,05 (s, 2H), 1,17 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,76 (s, 9H), 0,02 (s, 6H)
- 45 CLEM m/z: 258,3 [$M^+ + 1$]

Síntesis de (1S,2R)-1-amino-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propan-2-ol (6S-AD):

- A una solución en agitación de 6S-AC (10 g, 38,9 mmol) en THF (100 ml) se añadió lentamente TBAF (20,3 g, 77,8 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó y se diluyó con EtOAc/H₂O (200 ml/50 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar 6S-AD (5 g, en bruto) en forma de un jarabe espeso.
- 50 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,12 (s, 1H), 3,94 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 3,85 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,17-3,13 (m, 3H), 1,05 (d, J = 6,0 Hz, 3H).
- 55 CLEM m/z: 144 [$M^+ + 1$]

Esquema 6S-I-8:

Síntesis de ácido 2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxi-butanoico (6S-AE):

5 A una solución en agitación de ácido 2-amino-3-hidroxi-butanoico (10 g, 83,9 mmol) en 1,4-dioxano/agua (100 ml, 1: 1) se le añadió NaHCO_3 (21,1 g, 0,25 mol), seguido de Boc-anhídrido (21,9 ml, 0,101 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~3-4) y después se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 150 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar 6S-AE (15 g, en bruto). Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de ácido 3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2,5-trimetiloxazolidin-4-carboxílico (6S-AF).

15 A una solución en agitación de 6S-AE (15 g, 59,28 mmol) en THF (150 ml) se le añadió PPTS (1,47 g, 5,92 mmol), seguido de 2,2-dimetiloxopropano (21,79 ml, 0,17 mol) a 0 °C en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se calentó de nuevo a reflujo durante 6 h. La mezcla de reacción se diluyó con una solución acuosa de NaHCO_3 y se lavó con EtOAc (1 x 100 ml). La capa acuosa se acidificó usando una solución de ácido cítrico (pH ~2) y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío para proporcionar 6S-AF (18 g, en bruto).
 20 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 13,25 (s a, 1H), 4,11-4,05 (m, 1H), 3,79 (d, 1H), 1,50 (s, 3H), 1,67 (s, 3H), 1,45 (s, 9H), 1,29 (d, 3H).

Síntesis de 4-carbamoil-2,2,5-trimetiloxazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (6S-AG):

25 A una solución en agitación de 6S-AF (18 g, 69,4 mmol) en CH_2Cl_2 (180 ml) se le añadió HOBt (14,16 g, 0,104 mol), EDCI.HCl (19,88 g, 0,104 mol), seguido de NH_4Cl (5,56 g, 0,104 mol) y DIPEA (31,9 ml, 0,173 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se lavó con ácido cítrico acuoso, NaHCO_3 , seguido de salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida para dar un material en bruto; que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/ CH_2Cl_2 para proporcionar 6S-AG (13 g, 72,5 %).
 30 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,51 (s a, 1H), 7,14 (s a, 1H), 3,97-3,95 (m, 1H), 3,71 (d, 1H), 1,51 (d, 6H), 1,34 (s, 9H), 1,24 (d, 3H).
 35 CLEM (IEN): 159,1 [$\text{M}^+ + 1$]-Boc]

Síntesis de 4-(((dimetilamino)metilene)carbamoil)-2,2,5-trimetiloxazolidin-3-carboxilato de (*Z*)-*tert*-butilo (6S-AH):

40 Una solución de 6S-AG (13 g, 50,3 mmol) en DMF.DMA (130 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 3 h en una atmósfera de N_2 . Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AH (15,7 g, en bruto). Este material en bruto se recogió directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 2,2,5-trimetil-4-(1,2,4-oxadiazol-5-il)oxazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (6S-AI):

45 A una solución en agitación de 6S-AH (15,7 g, 50,09 mmol) en etanol (157 ml) se le añadió clorhidrato de hidroxilamina (6,96 g, 0,10 mol) en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se calentó a reflujo y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), se añadió ácido acético (28,6 ml, 0,50 mol) a la mezcla de reacción y después se sometió a reflujo durante 16 h. Los disolventes de la mezcla de reacción se evaporaron al vacío para dar un material en bruto; que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 10 %/Hexano para proporcionar 6S-AI (4,5 g, 32 %).
 50 RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6,35 (s, 2H), 4,61 (d, 1H), 4,22-4,15 (m, 1H), 1,55 (s, 6H), 1,37 (s, 2H), 1,25 (d, 3H), 1,21 (s, 6H).
 55 CLEM (IEN): 284 [$\text{M}^+ + 1$]
 Masa (m/z): 283 [M^+]

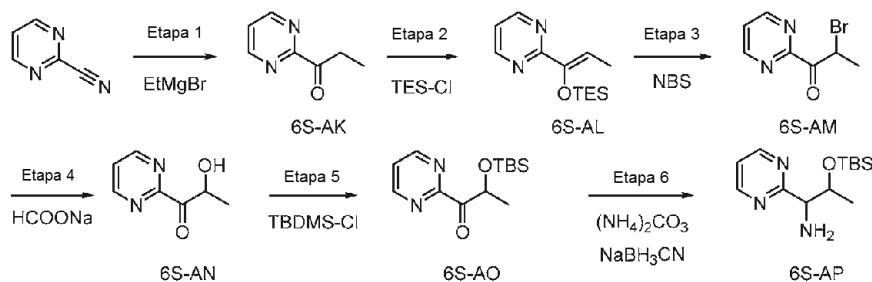
Síntesis de 1-amino-1-(1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-2-ol (6S-AJ):

A una solución en agitación de 6S-AI (5 g, 17,6 mmol) en agua (25 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 5 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en agua y se neutralizó con NaHCO₃ acuoso. El disolvente de la mezcla de reacción se evaporó al vacío y se extrajo con MeOH al 5 %/CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). La capa orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AJ (2,5 g, en bruto).

RMN ¹H: (400 MHz, D₂O): δ 8,84 (s, 1H), 4,05 (d, 1H), 3,98-3,95 (m, 1H), 3,67 (s, 1H), 3,58 (d, 1H), 1,15 (d, 3H), 1,12 (d, 3H).

CLEM (IEN): 144,1 [M⁺+1]

Esquema 6S-I-9

15 Síntesis de 1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (6S-AK):

A una solución en agitación de pirimidin-2-carbonitrilo (20 g, 190 mmol) en THF (200 ml) se le añadió bromuro de etil magnesio (1 M en THF, 227 ml, 228 mmol) a 0 °C durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de cloruro de amonio y EtOAc (150 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica extraída se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar 6S-AK (15 g, 57 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 7,70 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,20-3,15 (m, 2H), 1,09 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H); CLEM *m/z*: 137 [M⁺+1]

Síntesis de (Z)-2-(1-((trietilsilil)oxi)prop-1-en-1-il)pirimidina (6S-AL):

A una solución en agitación de 6S-AK (15 g, 110 mmol) en THF (100 ml) se le añadió lentamente LiHMDS (1 M en THF, 220 ml, 220 mmol) a 0 °C y se agitó durante 30 min. Después, se añadió gota a gota cloro trietilsilano (24,8 g, 165 mmol) en THF (50 ml) a 0 °C y se agitó durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de cloruro de amonio (50 ml) y EtOAc (150 ml). La capa orgánica separada se extrajo con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 5 %/hexano para proporcionar 6S-AL (20 g, 74 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,75 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,32 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 6,36-6,31 (m, 1H), 1,77 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,95-0,87 (m, 9H), 0,71-0,65 (m, 6H).

40 Síntesis de 2-bromo-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (6S-AM):

A una solución en agitación de 6S-AL (20 g, 80 mmol) en THF/H₂O (160 ml/40 ml) se le añadió lentamente N-bromosuccinamida (10,2 g, 88 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con H₂O y EtOAc (100 ml/150 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar 6S-AM (15 g, 87 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,06 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,75 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,97-5,92 (m, 1H), 1,83 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

Síntesis de 2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (6S-AN):

A una solución en agitación de 6S-AM (15 g, 69 mmol) en MeOH (240 ml) se le añadió formiato sódico (18,9 g, 279 mmol) y la masa de reacción se agitó a 70 °C durante 8 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía

en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar 6S-AN (5,5 g, 51 %) en forma de un líquido incoloro. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,73 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 7,55 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,28-5,26 (m, 1H), 1,24 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 0,99 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H)

5 Síntesis de (2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propan-1-ona (6S-AO):

A una solución en agitación de 6S-AN (5,5 g, 36 mmol) en DCM (150 ml) se le añadió imidazol (4,9 g, 72mmol), DMAP (880 mg, 0,72 mmol) a 0 °C y se agitó durante 10 min. Después se añadió TBDMS-Cl (8,1 g, 54 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con H₂O (50 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar 6S-AO (3 g, 31 %) en forma de un sólido blanquecino.

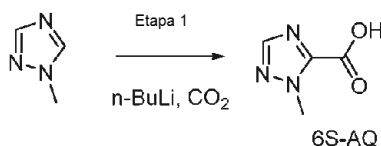
15 RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 9,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), 7,71 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,47-5,42 (m, 1H), 1,35 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,79 (s, 9H), 0,05 (s, 6H)

Síntesis de (2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propan-1-amina (6S-AP):

20 A una solución en agitación de 6S-AO (3 g, 11,2 mmol) en MeOH (50 ml) se le añadieron acetato sódico (1,8 g, 22,5 mmol), carbonato de amonio (8,8 g, 56,3 mmol), AcOH (0,6 ml, 11,2 mmol) a TA. Después, la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 2 h. La temperatura de la reacción se enfrió a TA y se añadió cianoborohidruro sódico (1,39 g, 22,5 mmol) y se agitó a 70 °C durante 6 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), el MeOH se evaporó y el residuo en bruto se diluyó con DCM/H₂O (50 ml/50 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar 6S-AP (2,4 g, 80 %) en forma de un semisólido.

25 RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 8,83 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,40 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,13 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,90 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,12 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,70 (s, 9H), 0,02 (s, 6H).

30 Esquema 6S-I-10

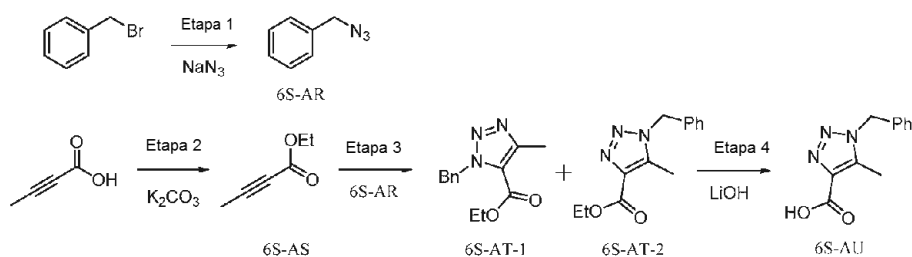


Síntesis de ácido 1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carboxílico (6S-AQ):

35 A una solución agitada de 1-metil-1H-1,2,4-triazol (2,0 g, 24,0 mmol) en THF (20 ml) se le añadió gota a gota n-butil-litio (19 ml, 12,0 mmol) a -78 °C y se agitó durante 2 h. Después, se añadió CO₂ sólido (2 g) y la reacción se agitó a -78 °C durante 1 h. La masa de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la de reacción se interrumpió con agua (3 ml) y el sólido obtenido se filtró. El sólido se trituró con éter dietílico/n-pentano (10 ml/10 ml). El sólido de color blanco se secó al vacío para proporcionar 6S-AQ (2,0 g, 65,7 %) en forma de un sólido de color blanco.

40 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,70 (s, 1H), 4,01 (s, 3H);
CLEM m/z: 128,3 [M⁺+1]

45 Esquema 6S-I-11



Síntesis de (azidometil)benceno (6S-AR):

50 A una solución en agitación de bromuro de bencilo (30 g, 175 mmol) en dimetilformamida (300 ml) se le añadió azida sódica (45,6 g, 701 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C durante 16 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles

se diluyeron con agua (300 ml) y éter (200 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 200 ml) de agua enfriada. Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AR (18 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanquecino.
 RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,40-7,29 (m, 5H), 4,32 (s, 2H).

5

Síntesis de but-2-inoato de etilo (6S-AS):

A una solución en agitación de ácido but-2-inoico (2 g, 23,8 mmol) en dimetil formamida (20 ml) se le añadió lentamente carbonato potásico (8,21 g, 59,5 mmol) a 0 °C en una atmósfera inerte. Después, se añadió yoduro de etilo (2,85 ml, 35,7 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 12 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 100 ml) de agua enfriada y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AS (1,4 g, en bruto) en forma de un sólido de color rojizo.
 RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 4,23 (c, J = 6,5 Hz, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,32 (t, J = 7,0 Hz, 3H);

15

Síntesis de 1-bencil-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-AT-1 y 6S-AT-2):

A una solución en agitación de 6S-AS (8,0 g, 71,3 mmol) en tolueno (80 ml) se le añadió 6S-AR (12,0 g, 107 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se evaporaron a presión reducida, el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 40 %/hexano para proporcionar dos isómeros 6S-AT-1 (8 g) y 6S-AT-2 (8,2 g). RMN ¹H (6S-AH-1): (400 MHz, CDCl₃): δ 7,30-7,26 (m, 5H), 5,86 (s, 2H), 4,34 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 2,53 (s, 3H), 1,33 (t, J = 7,2 Hz, 3H), CLEM m/z: 246,3 [M⁺+1]. RMN ¹H (6S-AH-2): (400 MHz, CDCl₃): δ 7,36-7,31 (m, 3H), 7,16 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 5,53 (s, 2H), 4,43 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,41 (t, J = 7,2 Hz, 3H).
 CLEM m/z: 246,3 [M⁺+1].

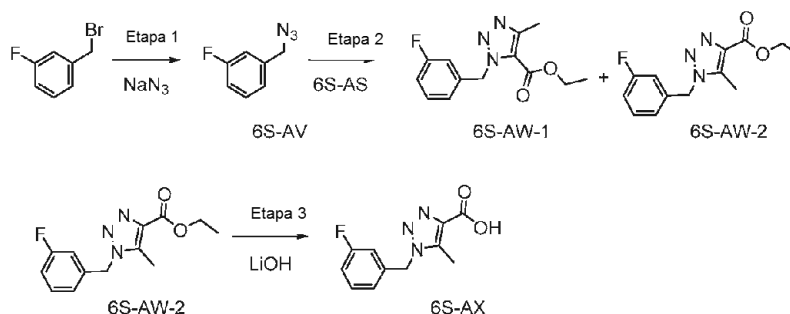
25

Síntesis de ácido 1-bencil-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-AU):

A una solución en agitación del compuesto 6S-AT-2 (8,2 g, 33,4 mmol) en THF/H₂O (82 ml/82 ml, 1:1) se le añadió LiOH.H₂O (4,2 g, 0,40 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N y el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua (25 ml), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-AU (7,0 g, 97,2 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (H₂): (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13,01 (s a, 1H), 7,40-7,32 (m, 5H), 5,63 (s, 2H), 2,45 (s, 3H).
 CLEM m/z: 218,3 [M⁺+1]

35

Esquema 6S-I-12



Síntesis de 1-(azidometil)-3-fluorobenceno (6S-AV):

40

A una solución en agitación de 1-(bromometil)-3-fluorobenceno (1 g, 5,29 mmol) en dimetilformamida (10 ml) se le añadió azida sódica (859 mg, 13,2 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 90 °C durante 12 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se diluyeron con agua (100 ml) y acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 100 ml) de agua enfriada. Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AV (700 mg, 87,7 %) en forma de un jarabe de color amarillo.
 RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,35-7,31 (m, 2H), 7,18-7,10 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 4,40 (s, 2H)
 IR: 2102 cm⁻¹

45

Síntesis de 1-(3-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-AW-1 y 6S-AW-2):

A una solución en agitación de 6S-AV (2,4 g, 15,8 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadió 6S-AG (1,78 g, 15,8 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 80 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se evaporaron a presión reducida, el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar 6S-AW-1 (1 g, 24 %) y 6S-AW-2 (1,5 g, 36,1 %)

55

en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ^1H (6S-AW-2, confirmado por NOE): (500 MHz, DMSO- d_6): δ 7,44 -7,39 (m, 1H), 7,19-7,15 (m, 1H), 7,03 (dd, J = 10,5 Hz, 8,0 Hz, 2H), 5,67 (s, 2H), 4,29 (c, J = 7,5 Hz, 2H), 2,50 (s, 3H), 1,30 (t, J = 7,0 Hz, 3H);

Masa m/z: 264,2 [M^+ +1]

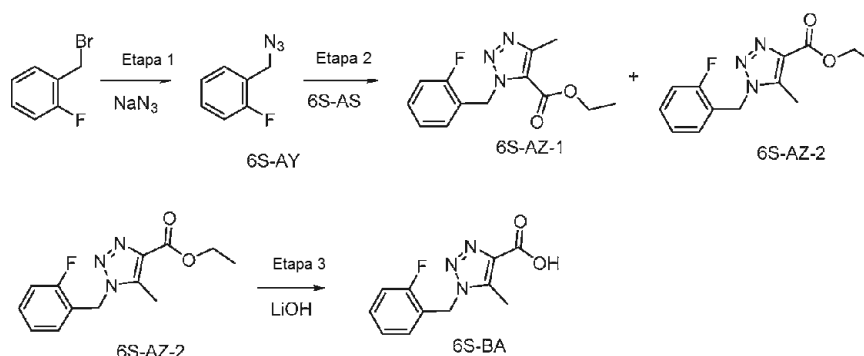
5

Síntesis de ácido 1-(3-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-AX):

A una solución en agitación de 6S-AW-2 (1,5 g, 5,7 mmol) en THF/ H_2O (10 ml/5 ml, 1:1), EtOH (2 ml) se le añadió LiOH. H_2O (490 mg, 11,4 mmol) a TA y se agitó durante 6 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N. El sólido precipitado se filtró y se co-distiló con tolueno (20 ml x 2), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-AX (1,34 g, 82 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ^1H : (500 MHz, DMSO- d_6): δ 12,5 (s a, 1H), 4,16 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 2,50 (s, 3H), 1,84-1,79 (m, 1H), 1,68-1,49 (m, 5H), 1,21-0,96 (m, 5H);

15

Esquema 6S-I-13



Síntesis de 1-(azidometil)-2-fluorobenceno (6S-AY):

20

A una solución en agitación de 1-(bromometil)-2-fluorobenceno (1 g, 5,29 mmol) en dimetilformamida (10 ml) se le añadió azida sódica (859 mg, 13,22 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 90 °C durante 16 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 100 ml) de agua enfriada y la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-AY (700 mg, en bruto) en forma de un jarabe de color amarillo.

25

RMN ^1H : (500 MHz, CDCl_3): δ 7,35-7,31 (m, 2H), 7,18-7,08 (m, 2H), 4,40 (s, 2H);

IR: 2102 (cm^{-1})

Síntesis de 1-(2-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-AZ-1 y 6S-AZ-2):

30

A una solución en agitación de 6S-AY (1,5 g, 13,39 mmol) en tolueno (15 ml) se le añadió 6S-AS (3,03 g, 20,08 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción, se dejó a TA y los volátiles se evaporaron a presión reducida para proporcionar un residuo en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 15 %/hexano para proporcionar 6S-AZ-1 (500 mg, 14,2 %) y 6S-AZ-2 (800 mg, 22,8 %) en forma de un sólido de color amarillo.

35

RMN ^1H (6S-AZ-2, confirmado por NOESY1D): (500 MHz, CDCl_3): δ 7,33-7,30 (m, 1H), 7,12-7,05 (m, 3H), 5,58 (s, 2H), 4,42 (c, J = 7,0 Hz, 2H), 2,51 (s, 3H), 1,41 (t, J = 7,2 Hz, 3H);

Síntesis de ácido 1-(2-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-BA):

40

A una solución en agitación de 6S-AZ-2 (800 mg, 3,04 mmol) en THF/ H_2O (10 ml/10 ml, 1:1) se le añadió LiOH. H_2O (318 mg, 7,60 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N y el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua (5 ml), seguido de n-pentano (5 ml), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-BA (600 mg, 84 %) en forma de un sólido blanquecino.

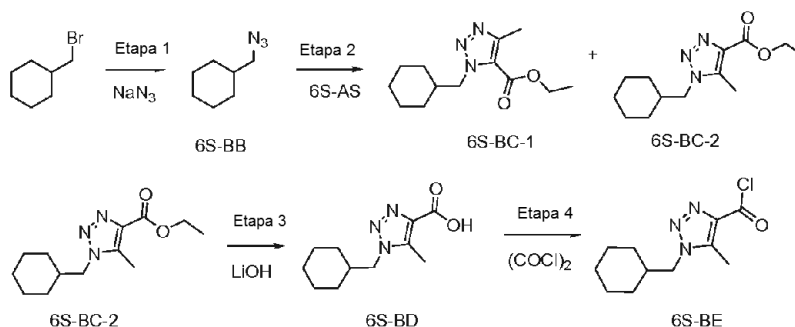
45

RMN ^1H (l_2): (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,03 (s a, 1H), 7,45-7,39 (m, 1H), 7,28-7,16 (m, 3H), 5,65 (s, 2H), 2,50 (s, 3H);

Masa m/z: 236,1 [M^+ +1]

50

Esquema 6S-1-14

Síntesis de (azidometil)ciclohexano (6S-BB):

5 A una solución en agitación de (bromometil)ciclohexano (2 g, 11,2 mmol) en dimetilformamida (10 ml) se le añadió azida sódica (2,18 g, 33,8 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 90 °C durante 12 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se diluyeron con agua (100 ml) y acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 100 ml) de agua enfriada. Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BB (1,0 g, 64,5 %) en forma de un jarabe de color pardo.

10 RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 3,10 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,15-1,98 (m, 4H), 1,77-1,66 (m, 4H), 1,56-1,53 (m, 1H), 1,00-0,95 (m, 2H)

Síntesis de 1-(ciclohexilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-BC-1 y 6S-BC-2):

15 A una solución en agitación de 6S-BB (1,0 g, 7,18 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadió 6S-AS (1,20 g, 10,7 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar 6S-BC-1 (400 mg, 22,1 %) y 6S-BC-2 (700 mg, 38,8 %) en forma de un sólido blanquecino.

20 RMN ¹H (6S-BC-2, confirmado por Noesy): (400 MHz, CDCl₃): δ 4,42 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 4,10 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 2,56 (s, 3H), 1,95-1,88 (m, 1H), 1,76-1,69 (m, 3H), 1,68-1,61 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 3H), 1,03 (t, J = 11,6 Hz, 3H), 0,97-0,89 (m, 2H);

25 Masa m/z: 252,3 [M⁺+1]

Síntesis de ácido 1-(ciclohexilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-BD)

30 A una solución en agitación de 6S-BC-2 (700 mg, 2,78 mmol) en THF/H₂O (10 ml/5 ml, 1:1), EtOH (2 ml) se le añadió LiOH.H₂O (230 mg, 5,57 mmol) a TA y se agitó durante 6 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N. El sólido precipitado se filtró y se lavó con agua (2 ml), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-BD (600 mg, 96,7 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (6S-BD): (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5 (s a, 1H), 4,16 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 2,50 (s, 3H), 1,84-1,79 (m, 1H), 1,68-1,49 (m, 5H), 1,21-0,96 (m, 5H);

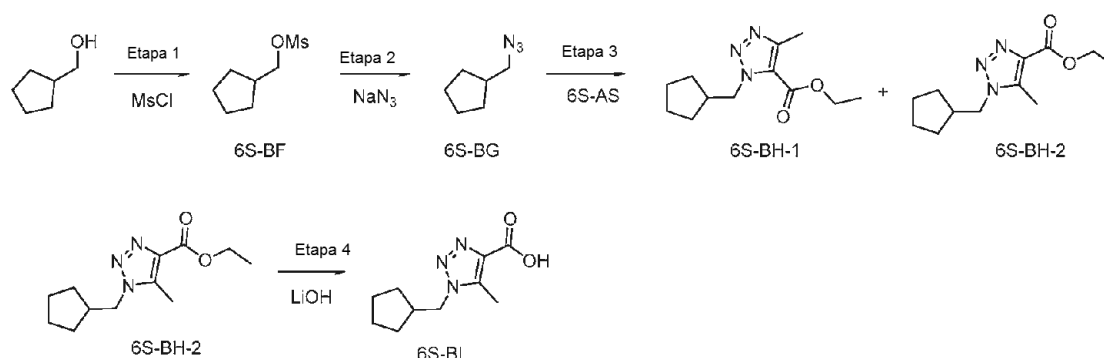
35 Masa m/z: 224,2 [M⁺+1]

Síntesis de cloruro de 1-(ciclohexilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonilo (6S-BE):

40 A una solución en agitación de 6S-BD (200 mg, 0,89 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml), DMF (0,1 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (0,14 ml, 17,8 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 3 h. Después de la formación del cloruro de ácido, los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar 6S-BE (210 mg, en bruto).

Esquema 6S-I-15

45



Síntesis de metanosulfonato de ciclopentilmetilo (6S-BF):

- 5 A una solución en agitación de ciclopentilmetanol (2 g, 20 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) se le añadieron Et_3N (7,21 ml, 50 mmol) y cloruro de mesilo (2,31 ml, 30 mmol) a -78°C y se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la capa orgánica se lavó con agua (1x 30 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 50 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BF (2 g, en bruto) en forma de un jarabe de color pardo. El material en bruto obtenido se usó para la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.
- 10 RMN ^1H : (500 MHz, CDCl_3): δ 4,11 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,33-2,27 (m, 1H), 1,83-1,77 (m, 2H), 1,65-1,57 (m, 4H), 1,32-1,25 (m, 2H)

Síntesis de (azidometil)ciclopentano (6S-BG):

- 15 A una solución en agitación de 6S-BF (2 g (en bruto), 11,2 mmol) en DMF (20 ml) se le añadió azida sódica (2,19 g, 33,7 mmol) a TA y se calentó a 80°C durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se diluyó con agua (100 ml) y EtOAc (50 ml). La capa orgánica separada se lavó con agua (1x 100 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 100 ml). Después de separar la capa orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BG (1,2 g, en bruto) en forma de un jarabe de color pardo. El material en bruto obtenido se usó para la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.
- 20 RMN ^1H : (400 MHz, CDCl_3): δ 3,20 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,18-2,11 (m, 1H), 1,84-1,76 (m, 2H), 1,69-1,53 (m, 4H), 1,28-1,20 (m, 2H)

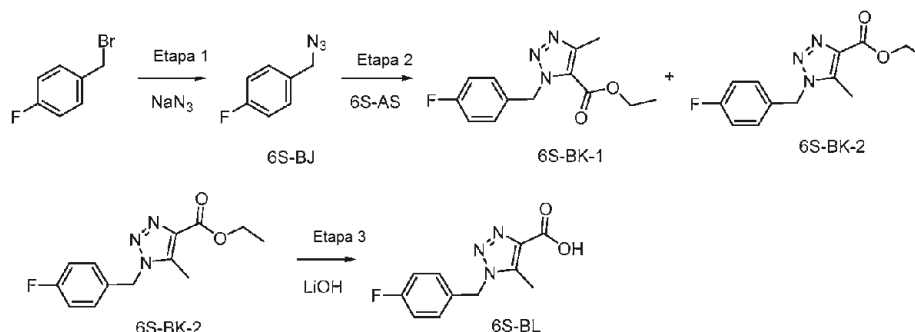
Síntesis de 1-(ciclopentilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-BH-1 y 6S-BH-2):

- 25 A una solución en agitación de 6S-BG (1,2 g (en bruto), 9,6 mmol) en tolueno (15 ml) se le añadió 6S-AS (1,29 g, 11,5 mmol) a TA y se calentó a 100°C durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la masa de reacción se evaporó a presión reducida para obtener un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/n-hexano para proporcionar 6S-BH-1 (300 mg, 13,2 %) y 6S-BH-2 (600 mg, 26,4 %) en forma de un sólido de color blanco.
- 30 RMN ^1H : (6S-BH-2, identificado por NOESY): (400 MHz, CDCl_3): δ 4,45-4,39 (m, 2H), 4,21 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 2,57 (s, 3H), 2,46-2,42 (m, 1H), 1,73-1,56 (m, 6H), 1,43 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,34-1,25 (m, 2H)
CLEM m/z: 238,2 [$\text{M}^+ + 1$]

ácido 1-(ciclopentilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-BI):

- 35 A una solución agitada de 6S-BH-2 (600 mg, 2,53 mmol) en THF: H_2O (10 ml/3 ml) se le añadió $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (265 mg, 6,30 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (10 ml) y se acidificó a pH ~ 2 usando ácido cítrico. El precipitado obtenido se filtró y se trituró con n-hexano (10 ml) para proporcionar 6S-BI (400 mg, 75,7 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H : (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,9 (s a, 1H), 4,24 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,40-2,32 (m, 1H), 1,62-1,50 (m, 6H), 1,27-1,21 (m, 2H);
CLEM m/z: 210,2 [$\text{M}^+ + 1$]
- 40
- 45

Esquema 6S-1-16

Síntesis de 1-(azidometil)-4-fluorobenceno (6S-BJ):

5 A una solución en agitación de 1-(bromometil)-4-fluorobenceno (1 g, 5,29 mmol) en dimetilformamida (10 ml) se le añadió azida sódica (859 mg, 13,22 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 80 °C durante 12 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 100 ml) de agua enfriada y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BJ (800 mg, en bruto) en forma de un jarabe de color amarillo.

10 IR: (2100 cm⁻¹)

Síntesis de 1-(4-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-BK-1 y 6S-BK-2):

15 A una solución en agitación de 6S-AS (500 mg, 4,46 mmol) en tolueno (5 ml) se le añadió 6S-BJ (1,01 g, 6,69 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 12 h. Después de la finalización de la reacción, se dejó a TA y los volátiles se evaporaron a presión reducida para proporcionar un residuo en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/hexano para proporcionar 6S-BK-1 (250 mg, 21,3 %) y 6S-BK-2 (400 mg, 34,1 %) en forma de un sólido de color amarillo.

20 RMN ¹H (6S-BK-2, confirmado por NOESY 1D): (500 MHz, CDCl₃): δ 7,18-7,15 (m, 2H), 7,04 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 5,50 (s, 2H), 4,41 (c, J = 7,5 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H), 1,41 (t, J = 7,0 Hz, 3H);

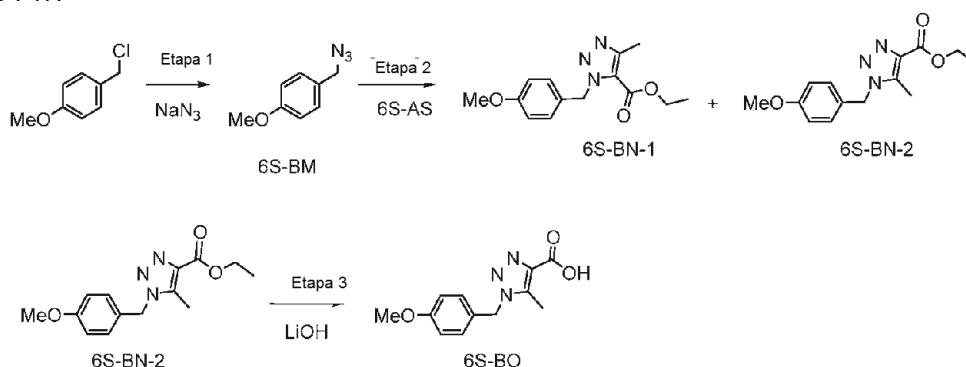
Síntesis de ácido 1-(4-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-BL):

25 A una solución en agitación de 6S-BK-2 (800 mg, 3,04 mmol) en THF/H₂O (5 ml/5 ml, 1:1) se le añadió LiOH·H₂O (318 mg, 7,60 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N y el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua (5 ml), seguido de n-pentano (5 ml), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-BL (400 mg, 56 %) en forma de un sólido de color blanco.

30 RMN ¹H (6S-BL): (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13,02 (s a, 1H), 7,28 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 7,20 (t, J = 9,0 Hz, 2H), 5,61 (s, 2H), 2,51 (s, 3H);

Masa m/z: 236,1 [M⁺+1]

35 Esquema 6S-I-17:

Síntesis de 1-(azidometil)-4-metoxibenceno (6S-BM):

40 A una solución en agitación de 1-(clorometil)-4-metoxibenceno (2 g, 12,7 mmol) en dimetilformamida (20 ml) se le añadió azida sódica (2,07 g, 31,7 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a

100 °C durante 12 h. Después de la finalización de la reacción como se indicó por TLC, la mezcla de reacción se dejó enfriar a TA; los volátiles se diluyeron con agua (200 ml) y acetato de etilo (200 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 200 ml) de agua enfriada y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BM (1,4 g, en bruto) en forma de un sólido de color rojizo.

5 RMN ¹H: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,24 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 4,26 (s, 2H), 3,81 (s, 3H);
IR: 2097cm⁻¹

Síntesis de 4-(etoximetil)-1-(4-metoxibencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol (6S-BN-1 y 6S-BN-2):

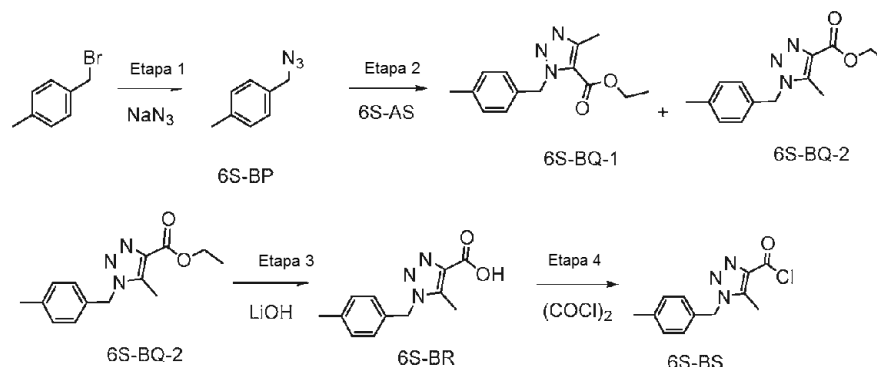
10 A una solución en agitación de 6S-AS (1 g, 8,92 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadió 6S-BM (2,18 g, 13,39 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar a TA; los volátiles se evaporaron a presión reducida, el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para proporcionar 6S-BN-1 (200 mg, 8,1 %) y 6S-BN-2 (300 mg, 12,2 %)

15 RMN ¹H (6S-BN-2, confirmado por NOESY): (500 MHz, CDCl₃): δ 7,12 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,86 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,46 (s, 2H), 4,41 (c, J = 7,5 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,45 (s, 3H), 1,41 (t, J = 7,0 Hz, 3H)

Síntesis de ácido 1-(4-metoxibencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-BO):

20 A una solución en agitación de 6S-BN-2 (300 mg, 1,09 mmol) en THF/H₂O (2 ml/2 ml, 1:1) se le añadió LiOH·H₂O (114 mg, 2,72 mmol) a TA y se agitó durante 6 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N y el sólido precipitado se filtró. El sólido obtenido se trituró con n-pentano (2 ml), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-BO (130 mg, 48 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (6S-BO): (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,85 (s, 1H), 7,17 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 5,53 (s, 2H), 3,72 (s, 3H), 2,50 (s, 3H)

Esquema 6S-1-18:



30 Síntesis de 1-(azidometil)-4-metilbenceno (6S-BP):

A una solución en agitación de 1-(bromometil)-4-metilbenceno (1 g, 5,40 mmol) en dimetilformamida (15 ml) se le añadió azida sódica (878 mg, 13,51 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 100 °C durante 12 h. Después de la finalización de la reacción supervisada (por TLC), la mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se diluyeron con agua (100 ml) y acetato de etilo (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con (3 x 200 ml) de agua enfriada y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BP (700 mg, en bruto) en forma de un jarabe de color pardo.

35 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,26-7,20 (m, 4H), 4,37 (s, 2H), 2,30 (s, 3H);
IR: 2097cm⁻¹

40

Síntesis de 5-metil-1-(4-metilbencil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxilato de etilo (6S-BQ-1 y 6S-BQ-2):

A una solución en agitación de 6S-AS (4,72 g, 42,5 mmol) en tolueno (30 ml) se le añadió 6S-BP (2,5 g, 17,0 mmol) a TA en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se dejó a TA; los volátiles se evaporaron a presión reducida, el residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc al 50 %/hexano para proporcionar 6S-BQ-1 (1,5 g, 33,7 %) y 6S-BQ-2 (2 g, 45 %) en forma de un sólido pegajoso de color amarillo.

45 RMN ¹H (6S-BQ-2, confirmado por NOESY): (500 MHz, CDCl₃): δ 7,14 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,05 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 5,48 (s, 2H), 4,40 (c, J = 7,5 Hz, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H)

50

Síntesis de ácido 5-metil-1-(4-metilbencil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (6S-BR):

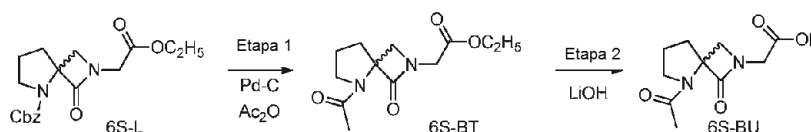
A una solución en agitación de 6S-BQ-2 (500 mg, 1,92 mmol) en THF/H₂O (10 ml/10 ml, 1:1) se le añadió LiOH.H₂O (201 mg, 4,80 mmol) a TA y se agitó durante 6 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2 N (pH ~2) y el sólido precipitado se filtró. El sólido obtenido se trituró con n-pentano (2 ml), se secó a presión reducida para proporcionar 6S-BR (350 mg, 78,8 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H (6S-BR): (500 MHz, CDCl₃): δ 7,16 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,08 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 5,49 (s, 2H), 2,48 (s, 3H), 2,33 (s, 3H);
CLEM m/z: 232,1 [M⁺+1]

10 Síntesis de cloruro de 5-metil-1-(4-metilbencil)-1H-1,2,3-triazol-4-carbonilo (6S-BR):

A una solución en agitación de 6S-BR (250 mg, 1,08 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml), DMF (0,1 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (0,18 ml, 2,16 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar cloruro de ácido 6S-BU (250 mg, en bruto).

Esquema 6S-1-19



20 Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetato de etilo (6S-BT):

A una solución en agitación de 6S-L (12,5 g, 36 mmol) en EtOAc (100 ml) se le añadió anhídrido acético (7,36 g, 72,2 mmol), Pd al 10 %/C (5,0 g) al 50 % de humedad y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con EtOAc (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BT (8,0 g, 87,9 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

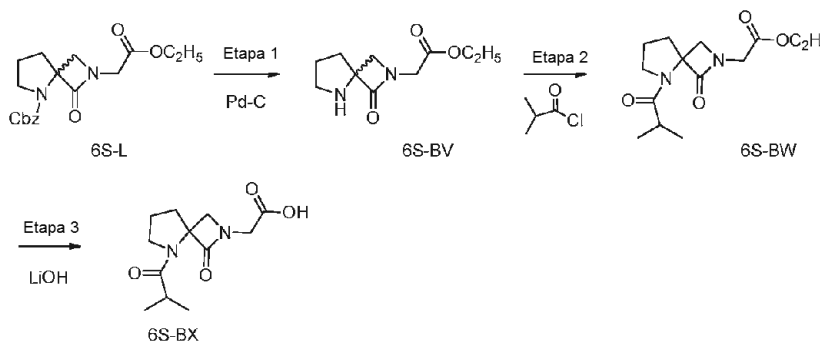
RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,21 (s, 1H), 4,17 (s, 1H), 4,14-4,12 (m, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,68 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,56-3,51 (m, 1H), 3,46-3,43 (m, 1H), 3,29 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 2,11-2,09 (m, 1H), 1,97 (s, 2H), 1,90-1,89 (m, 3H), 1,20 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

30 Ácido 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6S-BU):

A una solución agitada de 6S-BT (8,0 g, 31,49 mmol) en THF: H₂O (80 ml/30 ml) se le añadió LiOH.H₂O (3,30 g, 78,7 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (25 ml), se extrajo con éter (2 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH ~2 usando HCl 2 N y se extrajo con MeOH al 5 %/DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6S-BU (6,5 g, 91,5 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5 (s a, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,66-3,64 (m, 2H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,42 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 2,73-2,63 (m, 2H), 2,10-2,07 (m, 1H);
CLEM m/z: 227,2 [M⁺+1]

Esquema 6S-1-20:



45 Síntesis de 2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetato de etilo (6S-BV):

A una solución en agitación de 6S-L (3,8 g, 10,98 mmol) en metanol (50 ml) se le añadió Pd al 10 %/C al 50 % de

humedad (800 mg) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 2 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con metanol (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BV (2 g, 86,2 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,11-3,92 (m, 4H), 3,40-3,26 (m, 4H), 1,94-1,91 (m, 2H), 1,75-1,67 (m, 2H), 1,91 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H);

Síntesis de 2-(5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetato de etilo (6S-BW):

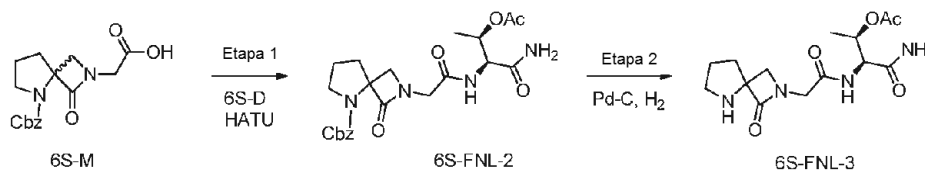
A una solución en agitación de 6S-BV (2,0 g, 9,43 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se le añadió TEA (3,25 ml, 23,58 mmol), seguido de cloruro de isobutirilo (1,07 ml, 14,14 mmol) a 0 °C y se agitó durante 3 h a TA. Después de haberse completado la reacción, la masa de reacción se diluyó con agua (30 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-BW (2,4 g, en bruto) en forma de un jarabe espeso. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,20 (s, 2H), 4,14-4,08 (m, 1H), 3,80-3,76 (m, 1H), 3,62-3,57 (m, 2H), 3,51-3,46 (m, 2H), 2,68-2,63 (m, 1H), 2,09-2,05 (m, 2H), 1,89-1,85 (m, 2H), 1,21-1,16 (m, 3H), 1,03-0,95 (m, 6H);

Síntesis de ácido 2-(5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acético (6S-BX):

A una solución agitada de 6S-BW (2,4 g (en bruto), 8,51 mmol) en THF: H₂O (20 ml/20 ml) se le añadió LiOH·H₂O (893 mg, 21,27 mmol) a TA y se agitó durante 4 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), los volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con EtOAc (1 x 50 ml). La capa acuosa separada se acidificó a pH~4 usando ácido cítrico y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6S-BX (1,2 g, 57 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,83 (s a, 1H), 4,13 (s, 2H), 3,70-3,46 (m, 4H), 2,70-2,64 (m, 1H), 2,10-2,06 (m, 2H), 1,91-1,85 (m, 2H), 1,01-0,96 (m, 6H)

Esquema 6S-1:



Síntesis de 2-(2-(((2R,3S)-3-acetoxi-1-amino-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-FNL-2):

A una solución agitada de 6S-M (0,1 g, 0,31 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió HATU (141 mg, 0,37 mmol), seguido de 6S-D (59 mg, 0,37 mmol) y DIPEA (0,14 ml, 0,37 mmol). La mezcla de reacción resultante se dejó calentar a TA y se agitó durante 10 h. Esta se inactivó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía en columna proporcionó (6S-FNL-2) (30 mg, 21 %).

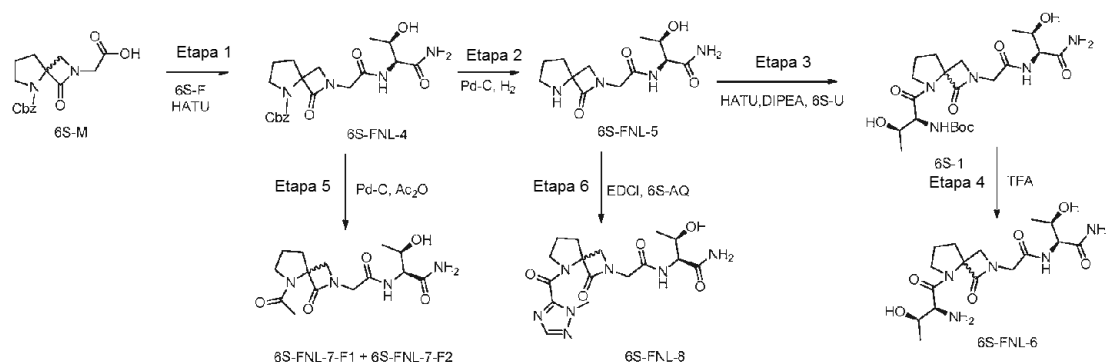
RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,27 (m, 5H), 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,55-5,49 (m, 1H), 5,43-5,39 (m, 1H), 5,34 (s, 2H), 4,79-4,76 (m, 1H), 4,39-4,11 (m, 1H), 3,94-3,89 (m, 2H), 3,84-3,70 (m, 1H), 3,62-3,53 (m, 1H), 2,41-2,36 (m, 1H), 2,23-2,15 (m, 1H), 2,08 (s, 3H), 2,02-1,88 (m, 2H), 1,35-1,22 (m, 3H)

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-4-oxo-3-(2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butan-2-ilo (6S-FNL-3):

A una solución agitada de (6S-FNL-2) (0,4 g, 0,86 mmol) en MeOH (20 ml) se le añadió Pd al 10 %/C (0,1 g) en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El material en bruto se trituró con éter para proporcionar (6S-FNL-3) (0,2 g, 70 %).

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,04 (s, 1H), 7,54 (s a, 1H), 7,18 (s, 2H), 5,18-5,12 (m, 1H), 4,48-4,42 (m, 1H), 3,98-3,92 (m, 2H), 3,41-3,37 (m, 1H), 3,29-3,26 (m, 1H), 2,92-2,87 (m, 2H), 1,98-1,87 (m, 5H), 1,77-1,72 (m, 2H), 1,18-1,12 (m, 3H).

Esquema 6S-2



Síntesis de 2-(2-((1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-FNL-4):

5 A una solución en agitación de 6S-M (0,1 g, 0,31 mmol) en DMF (2 ml) se le añadieron 6S-F (55 mg, 0,47 mmol), DIPEA (96,87 mg, 0,78 mmol), HATU (143 mg, 0,37 mmol) a 0 °C y en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se dejó calentar a TA y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con agua, seguido de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía en columna proporcionó (6S-FNL-4) (40 mg, 30 %). RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃): δ 8,09-7,36 (m, 1H), 7,35-7,33 (m, 5H), 6,60 (s a, 1H), 5,37 (s a, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,56-4,39 (m, 3H), 4,13-3,99 (m, 1H), 3,70-3,51 (m, 4H), 3,48-3,39 (m, 1H), 2,43-2,39 (m, 1H), 2,27-2,21 (m, 1H), 2,07-1,91 (m, 1H), 1,59-1,42 (m, 1H), 1,28-1,20 (m, 3H)

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butanamida (6S-FNL-5):

15 A una solución en agitación de (6S-FNL-4) (0,2 g, 0,47 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadió Pd al 10 %/C (40 mg) en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 4 h a TA. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El material en bruto se trituró con éter para proporcionar (6S-FNL-5) (0,11 g, 83 %). RMN ¹H: (400 MHz, CD₃OD): δ 4,23-4,21 (m, 1H), 4,20-4,10 (m, 1H), 4,05 (s, 2H), 3,53-3,47 (m, 2H), 3,12-3,00 (m, 2H), 2,22-2,07 (m, 2H), 2,01-1,82 (m, 2H), 1,18 (d, J = 6,4 Hz, 3H) UPLC (pureza de ELSD): 99,9 %

Síntesis de ((2S,3R)-1-(2-(2-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-5-il)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato de *tert*-butilo (6S-1):

25 A una solución en agitación de (6S-FNL-5) (300 mg, 1,05 mmol) en DCM (25 ml), DMF (0,5 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,58 ml, 3,15 mmol), 6S-U (277 mg, 1,26 mmol), seguido de HATU (481 mg, 1,26 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 6 %/DCM para proporcionar un material en bruto (400 mg, 70 % puro según CLEM), se purificó adicionalmente por cromatografía preparativa para producir 6S-1 puro (230 mg, rendimiento del 44,9 %) en forma de un sólido blanquecino.

30 Columna preparativa: Kromasil 250 x 21,2, 10 µm. Fase móvil: n-Hexano: [DCM: MeOH (80:20)] RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,83 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,25 (s, 2H), 6,33 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,80-4,75 (m, 2H), 4,24-3,98 (m, 4H), 3,71-3,60 (m, 3H), 3,39-3,33 (m, 1H), 2,14-1,89 (m, 4H), 1,41 (s, 9H), 1,14-1,05 (m, 6H); CLEM m/z: 486,3 [M⁺+1]

Síntesis de (2S,3R)-2-(2-(5-(((2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-3-hidroxi-1-oxobutanamida (6S-FNL-6):

35 A una solución en agitación del compuesto 6S-1 (130 mg, 0,26 mmol) en DCM (3 ml) se le añadió TFA (152 mg, 1,34 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se co-distiló con una mezcla de disolventes de pentano (2 ml), éter dietílico (2 ml), DCM (1 ml) para proporcionar (6S-FNL-6) (110 mg, 82,7 %, pureza de CLEM 93,32 %) en forma de un sólido de color blanco.

40 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,33 -4,28 (m, 1H), 4,23-4,19 (m, 4H), 4,05-4,01 (m, 1H), 3,91-3,87 (m, 1H), 3,71-3,65 (m, 2H), 3,55-3,49 (m, 1H), 2,30-2,24 (m, 2H), 2,02-1,97 (m, 2H), 1,27 (t, J = 4,0 Hz, 3H), 1,15 (t, J = 5,5 Hz, 3H); CLEM m/z: 386,3 [M⁺+1]

(2S,3R)-2-(2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-3-hidroxi butanamida (6S-FNL-7):

A una solución en agitación de (6S-FNL-4) (1 g, 2,39 mmol) en EtOAc (50 ml) se le añadió anhídrido acético (0,48 g, 4,78 mmol), seguido de Pd/C (0,5 g) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con EtOAc (20 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna. La mezcla de compuesto obtenida se purificó por HPLC preparativa quiral para proporcionar (6S-FNL-7-F1) en la fracción-I (0,075 g), (6S-FNL-7-F2) en la fracción-II (0,062 g) en forma de sólidos de color blanquecino.

RMN ¹H (Fr-I): (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,87 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 4,84 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,10-4,03 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,79 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 3,61-3,56 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 2H), 2,19-2,15 (m, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,92-1,87 (m, 2H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

CLEM m/z: 327,3 [M⁺+1].

Pureza de HPLC: Fr-I (91,20 %), Fr-II (97,03 %)

RMN ¹H (Fr-II): (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,85 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 4,79 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 4,09-4,06 (m, 2H), 3,97 (s, 2H), 3,70 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,60-3,55 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 2H), 2,18-2,13 (m, 2H), 1,99 (s, 3H), 1,92-1,85 (m, 2H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

CLEM m/z: 327,4 [M⁺+1]

Pureza de HPLC: Fr-II 97,03 %

(2S,3R)-3-hidroxi-2-(2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butanamida (6S-FNL-8):

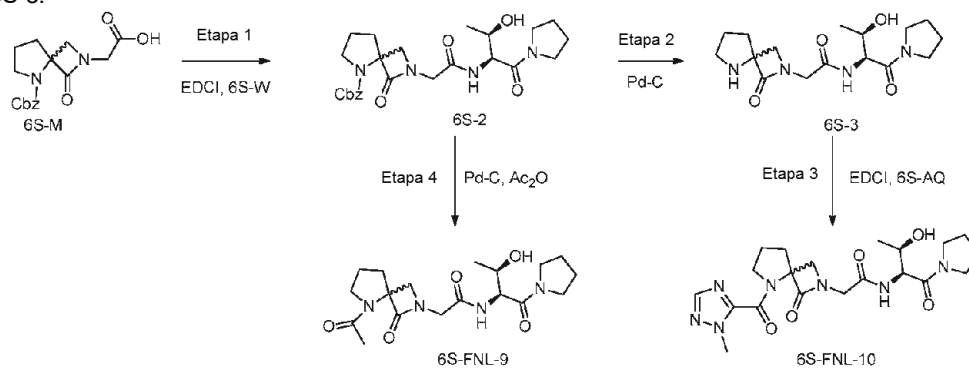
A una solución en agitación de (NRX-2079) (6S-FNL-5) (0,25 g, 0,88 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se le añadió HOBt (178 mg, 1,32 mmol), EDCI.HCl (0,2 g, 1,00 mmol), seguido de DIPEA (0,4 ml, 2,20 mmol) y 6S-AQ (134 mg, 1,05 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, seguido de purificación por HPLC prep. para proporcionar NRX-2310 (6S-FNL-8) (0,07 g, 21 %).

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-d₆): δ 8,09 (s, 1H), 7,89 (t, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,12 (t, 1H), 4,93 (s, 1H), 4,19-4,15 (m, 2H), 4,03 (s, 3H), 3,96-3,91 (m, 4H), 3,44 (d, 1H), 2,25-2,20 (m, 3H), 1,97-1,91 (m, 2H), 1,07 (s, 3H).

CLEM (m/z): 394,2 [M⁺+1]

Pureza de HPLC: 93 %

Esquema 6S-3:

2-(2-(((2S,3R)-3-Hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-2):

A una solución en agitación de 6S-M (1 g, 3,14 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió EDCI (719 mg, 3,76 mmol), HOBt (635 mg, 4,71 mmol), seguido de DIPEA (2,8 ml, 15,7 mmol) y 6S-W (784 mg, 3,77 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se interrumpió con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna para proporcionar 6S-2 (0,8 g, 54 %).

CLEM (m/z): 473,4 [M⁺+1]

N-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4] octan-2-il)acetamida (6S-3)

A una solución en agitación de 6S-2 (0,8 g, 1,69 mmol) en CH₃OH (60 ml) se le añadió Pd/C (0,4 g) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con MeOH. El filtrado

obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-3 (0,5 g) en forma de un material en bruto. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

CLEM (m/z): 339,3 [M⁺+1]

5 N-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-9):

A una solución en agitación de 6S-3 (0,315 g, 2,48 mmol) en CH₂Cl₂ (60 ml) se le añadió EDCI.HCl (336 mg, 1,76 mmol), HOBT (297 mg, 2,20 mmol), DIPEA (0,67 ml, 3,67 mmol) y 6S-AQ (0,5 g, 1,47 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto. Este material se purificó por cromatografía en columna, seguido de purificación por HPLC prep. para proporcionar (6S-FNL-9): (80 mg, 12 %).

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,09 (s, 1H), 4,55-4,51 (m, 1H), 4,08 (d, 2H), 3,97 (s, 2H), 3,87-3,84 (m, 3H), 3,70-3,55 (m, 2H), 3,45 (t, 1H), 3,35-3,31 (m, 2H), 2,75 (s, 3H), 2,27-2,24 (m, 2H), 1,98-1,92 (m, 4H), 1,85-1,84 (m, 2H), 1,19 (d, 3H), CLEM (m/z): 448 [M⁺+1]

Pureza de HPLC: 94 %

20 Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-N-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)acetamida (6S-FNL-10):

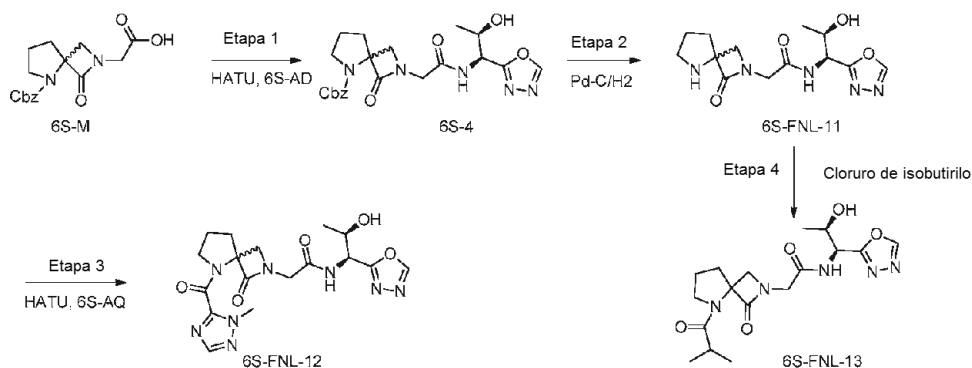
A una solución en agitación de 6S-2 (300 mg, 0,63 mmol) en EtOAc (20 ml) se le añadió anhídrido acético (0,13 g, 1,27 mmol), seguido de Pd/C (150 mg) en una atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h en una atmósfera de H₂. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se lavó con EtOAc (20 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar (6S-FNL-10) (90 mg, 37,5 %) en forma de un sólido blanquecino.

RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,08 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,83-4,75 (m, 1H), 4,44-4,38 (m, 1H), 3,93-3,83 (m, 3H), 3,72-3,67 (m, 1H), 3,64-3,57 (m, 3H), 3,55-3,46 (m, 1H), 3,29-3,23 (m, 3H), 2,13-2,09 (m, 2H), 2,07 (s, 3H), 1,98-1,82 (m, 4H), 1,79-1,73 (m, 2H), 1,11-0,98 (m, 3H);

CLEM m/z: 381,3 [M⁺+1];

Pureza de HPLC: 94,2 %

Esquema 6S-4



35 Síntesis de 2-(2-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-4):

A una solución en agitación de 6S-M (600 mg, 4,19 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (1,93 ml, 10,4 mmol), 6S-AD (1,60 g, 5,02 mmol), seguido de HATU (1,91 g, 5,02 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (1x30 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 20 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-4 (600 mg, 33,3 %) en forma de un jarabe de color amarillo.

RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,21 (s, 1H), 7,35-7,32 (m, 5H), 5,13 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,13 (s, 2H), 5,09-5,00 (m, 1H), 4,12-3,94 (m, 2H), 3,70-3,33 (m, 6H), 2,16-2,11 (m, 4H), 1,08 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H);

CLEM m/z: 444,5 [M⁺+1]

50 Síntesis de N-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-11):

A una solución en agitación de 6S-4 (600 mg, 1,35 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadió (al 50 % de humedad) Pd al

10 %/C (200 mg) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 3 h a TA. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituroó con EtOAc/MeOH (10 ml/10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (6S-FNL-11) (400 mg, en bruto) en forma de un jarabe de color amarillo.

5 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,21 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 5,29-5,07 (m, 1H), 4,10-3,91 (m, 2H), 3,61 (d, *J* = 16,5 Hz, 1H), 3,40-3,31 (m, 1H), 3,16-2,93 (m, 2H), 2,02-1,91 (m, 2H), 1,80-1,76 (m, 2H), 1,32-1,28 (m, 1H), 1,24 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 1,09 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H);
CLEM *m/z*: 310,2 [M⁺+1];

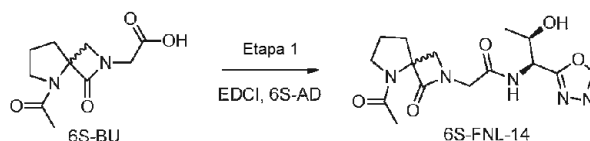
10 Síntesis de *N*-((1*S*,2*R*)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)-2-(5-(1-metil-1*H*-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-12):

15 A una solución en agitación de (6S-FNL-11) (300 mg, 0,97 mmol) en DCM (30 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,44 ml, 2,42 mmol), 6S-AQ (147 mg, 1,16 mmol), seguido de HATU (442 mg, 1,10 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar un jarabe de color amarillo, que se purificó por el método de purificación de HPLC preparativa para proporcionar (6S-FNL-12) (80 mg, 19,7 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,15 (s, 1H), 8,52 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,08 (s, 1H), 5,19-5,16 (m, 1H), 4,04 (s, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,94-3,84 (m, 5H), 3,44-3,41 (m, 1H), 2,27-2,21 (m, 2H), 1,93-1,85 (m, 2H), 1,10-1,08 (m, 3H);
20 CLEM *m/z*: 419 [M⁺+1];
HPLC: 96,64 %

25 Síntesis de *N*-((1*S*,2*R*)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)-2-(5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-13):

30 A una solución agitada de (6S-FNL-11) (250 mg, 0,8 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió TEA (242 mg, 2,4 mmol) a 0 °C. Después se añadió lentamente cloruro de isobutirilo (102 mg, 0,96 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 ml). La capa orgánica se lavó con ácido cítrico (1 x 20 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 20 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂, seguido de purificación de HPLC preparativa para proporcionar un compuesto (6S-FNL-13) (80 mg, 26,3 %) en forma de un sólido blanquecino.
35 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,19 (s, 1H), 8,64-8,57 (m, 1H), 5,17-5,13 (m, 1H), 5,12-5,08 (m, 1H), 4,17-4,09 (m, 2H), 3,84-3,76 (m, 1H), 3,70-3,64 (m, 2H), 3,57-3,51 (m, 1H), 3,37-3,34 (m, 1H), 2,77-2,70 (m, 1H), 2,17-2,05 (m, 2H), 1,90-1,79 (m, 2H), 1,13 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,03-0,97 (m, 6H);
40 CLEM *m/z*: 380,4 [M⁺+1];
HPLC: 98,5 % (ambos enantiómeros)

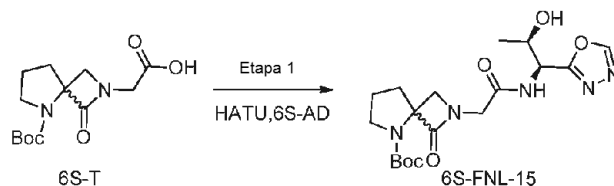
Esquema 6S-5:



45 2-(5-Acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-*N*-((1*S*,2*R*)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)acetamida (6S-FNL-14):

50 A una solución en agitación de 6S-BU (200 mg, 1,39 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,64 ml, 3,47 mmol), 6S-AD (5,95 g, 37,7 mmol), seguido de HATU (637 mg, 1,68 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 8 %/DCM para proporcionar un jarabe de color amarillo, que se purificó por el método de purificación de HPLC preparativa para proporcionar (6S-FNL-14) (100 mg, 20,4 %) en forma de un líquido incoloro.
55 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,18 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 8,54 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,15-5,06 (m, 2H), 4,16-4,12 (m, 1H), 4,05 - 4,00 (m, 1H), 3,89-3,82 (m, 1H), 3,72 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,61-3,56 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 1H), 3,37-3,33 (m, 1H), 2,18-2,08 (m, 2H), 2,02 (s, 3H), 1,93-1,90 (m, 2H), 1,10 (t, *J* = 6,4 Hz, 3H)
60 CLEM *m/z*: 352,3 [M⁺+1];
UPLC: 47,2 % y 44,3 %

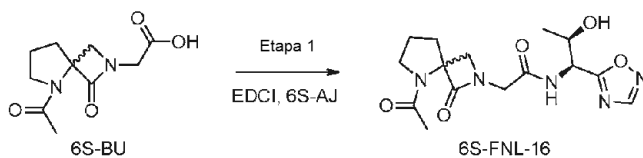
Esquema 6S-6:



5 Síntesis de 2-(2-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (6S-FNL-15):

10 A una solución en agitación de 6S-T (500 mg, 1,76 mmol) en DCM (20 ml) se le añadieron DIPEA (0,88 ml, 5,1 mmol), 6S-AD (302 mg, 2,11 mmol), seguido de HATU (801 mg, 2,11 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (1 x 20 ml), seguido de una solución de salmuera (1 x 20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar (6S-FNL-15) (220 mg, 31,6 %) en forma de un jarabe espeso. RMN ¹H: (400 MHz, D₂O): δ 8,99 (s, 1H), 5,46-5,38 (m, 1H), 4,80 (s, 2H), 4,56-4,43 (m, 1H), 4,14-3,93 (m, 1H), 3,64-3,46 (m, 3H), 2,38-2,34 (m, 2H), 2,00-1,96 (m, 2H), 1,50 (s, 9H), 1,34 (d, J = 6,0 Hz, 3H); CLEM (m/z): 410,6 [M⁺+1]; HPLC: 92,4 %

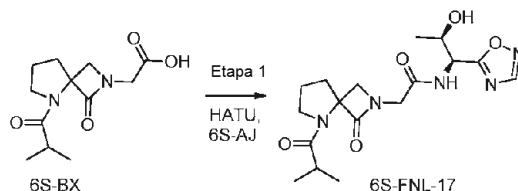
Esquema 6S-7:



20 2-(5-Acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-N-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,2,4-oxadiazol-5-il)propil)acetamida (6S-FNL-16):

25 A una solución en agitación de 6S-BU (0,5 g, 2,21 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se le añadió EDCI (0,63 g, 3,31 mmol), HOBT (0,44 g, 3,31 mmol) y 6S-AJ (0,37 g, 2,65 mmol), seguido de DIPEA (1,4 g, 10,85 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la reacción se diluyó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %: DCM para proporcionar (6S-FNL-16) (0,09 g, 12 %) en forma de un líquido de color amarillo. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,94 (s, 1H), 8,61 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 5,23-5,20 (m, 1H), 5,16-5,09 (m, 1H), 4,20-4,01 (m, 1H), 3,91-3,85 (m, 1H), 3,73-3,71 (m, 1H), 3,65 (s, 1H), 3,59-3,57 (m, 1H), 3,49-3,34 (m, 1H), 2,16-2,09 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,98-1,89 (m, 3H), 1,13-1,11 (m, 3H). CLEM m/z: 352,2 [M⁺+1]

Esquema 6S-8:



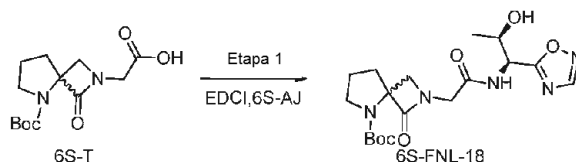
40 Síntesis de N-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,2,4-oxadiazol-5-il)propil)-2-(5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-17):

45 A una solución en agitación de 6S-BX (500 mg, 1,96 mmol) en DMF (5 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (1,15 ml, 6,86 mmol), 6S-AJ (604 mg, 2,35 mmol), seguido de HATU (893 mg, 2,35 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 12 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y EtOAc (50 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de ácido cítrico (1 x 100 ml), una solución de salmuera (2 x 50 ml), seguido de agua (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar (6S-FNL-17) (128 mg, 17,2 %) en forma de un sólido espeso.

RMN ^1H : (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,94 (s, 1H), 8,68-8,60 (m, 1H), 5,22-5,10 (m, 2H), 4,20-4,07 (m, 2H), 3,86-3,79 (m, 1H), 3,71-3,65 (m, 2H), 3,58-3,51 (m, 1H), 3,38-3,34 (m, 1H), 2,77-2,66 (m, 1H), 2,15-1,91 (m, 4H), 1,14 (d, $J = 4,0$ Hz, 3H), 1,03-0,97 (m, 6H); CLEM m/z : 380,4 [$\text{M}^+ + 1$]; UPLC: 94,01 %

5

Esquema 6S-9:



10 Síntesis de 2-(2-(((1S,2R)-2-hidroxi-1-(1,2,4-oxadiazol-5-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de *terc*-butilo (6S-FNL-18):

A una solución en agitación de 6S-T (1 g, 3,51 mmol) en DMF (10 ml) se le añadieron DIPEA (1,75 ml, 10,53 mmol), EDCI (1,0 g, 5,26 mmol), HOBT (710 mg, 5,26 mmol), seguido de 6S-AJ (602 mg, 4,21 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar (6S-FNL-18) (150 mg, 10,5 %) en forma de un jarabe espeso.

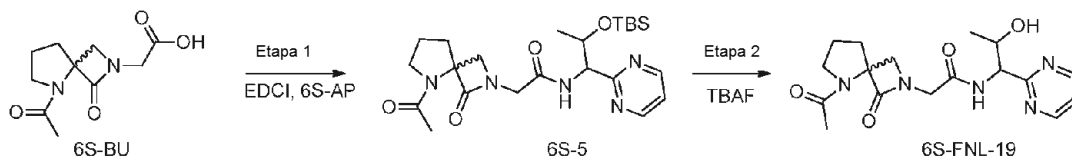
15

RMN ^1H : (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,95 (s, 1H), 8,52 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,25 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,19-5,10 (m, 1H), 4,21-4,17 (m, 2H), 3,86-3,80 (m, 1H), 3,71-3,67 (m, 1H), 3,55 (t, $J = 4,4$ Hz, 2H), 3,27-3,23 (m, 1H), 2,13-2,08 (m, 2H), 1,82-1,74 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,10 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H);

20

Masa (IEN): m/z 432,4 [$\text{M}^+ + \text{Na}$];
HPLC: 98,35 % (ambos isómeros)

25 Esquema 6S-10:



30 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-N-(2-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)acetamida (6S-5):

A una solución en agitación de 6S-BU (400 mg, 1,77 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,9 ml, 5,32 mmol), 6S-AP (474 mg, 1,77 mmol), EDCI.HCl (509 mg, 2,66 mmol), HOBT (410 mg, 2,66 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar 6S-5 (300 mg, 35 %) en forma de un jarabe espeso e incoloro.

35

RMN ^1H : (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,78 (d, $J = 16,0$ Hz, 2H), 8,35 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 4,88 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,37 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 3,90 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 3,85 (s, 2H), 3,76 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 3,63-3,57 (m, 1H), 3,49-3,43 (m, 1H), 3,13 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 2,13-2,10 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,16 (d, $J = 5,5$ Hz, 3H), 0,64 (s, 9H), 0,06 (s, 6H); CLEM m/z : 474,6 [$\text{M}^+ - 1$]

40

Síntesis de 2-(5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)-N-((1R, 2R)-2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)acetamida (6S-FNL-19):

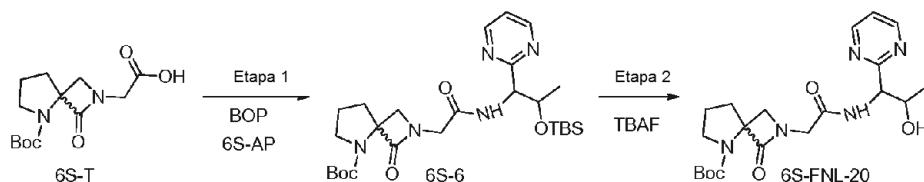
A una solución en agitación de 6S-5 (300 mg, 0,63 mmol) en THF (20 ml) se le añadió lentamente TBAF (1,26 ml) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar una mezcla (110 mg) de isómeros, que se purificó de nuevo por un método de purificación de HPLC preparativa quiral para proporcionar (6S-FNL-19) (60 mg, 26 %) en forma de un líquido incoloro. RMN ^1H : (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,76 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 8,28 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,37 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,91-4,79 (m, 2H), 4,15-4,10 (m, 1H), 3,92-3,78 (m, 2H), 3,67 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,60-3,54 (m, 1H), 3,49-3,31 (m, 2H), 2,13-2,11 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,08-1,87 (m, 2H), 1,09 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H);

50

CLEM m/z : 362,4 [$\text{M}^+ + 1$];
HPLC: 97,5 %

55

Esquema 6S-11:



5 Síntesis de 2-(2-((2-(*tert*-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (6S-6):

10 A una solución en agitación de 6S-T (300 mg, 1,05 mmol) en DCM (20 ml) se le añadieron DIPEA (0,55 ml, 3,16 mmol), 6S-AP (338 mg, 1,26 mmol), seguido de BOP (696 mg, 1,57 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar 6S-6 (150 mg, 26 %) en forma de un jarabe espeso. CLEM (*m/z*): 534,7 [M⁺+1]

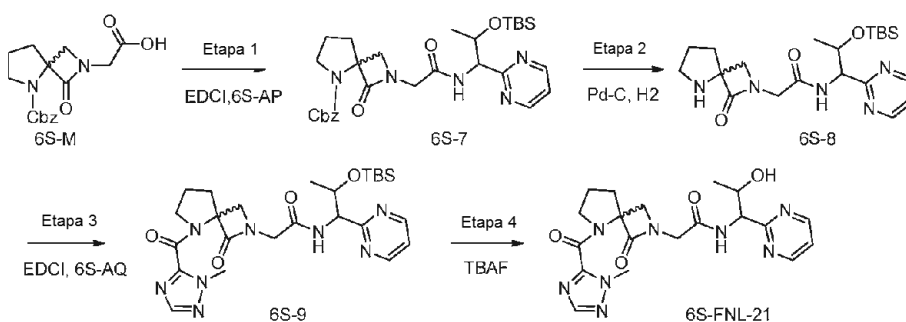
15 Síntesis de 2-(2-((2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (6S-FNL-20):

20 A una solución en agitación de 6S-6 (300 mg, 0,56 mmol) en THF (10 ml) se le añadió TBAF (1 M en THF) (1,11 ml, 1,12 mmol) a 0 °C en una atmósfera de N₂ y se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo en bruto, que se diluyó con agua (10 ml) y EtOAc (20 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 30 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por purificación de HPLC preparativa para obtener (6S-FNL-20) (40 mg, 17 %) en forma de un sólido de color blanco.

25 RMN ¹H: (400 MHz, CD₃OD): 8,79-8,72 (m, 2H), 7,39-7,34 (m, 1H), 5,13-5,08 (m, 1H), 4,81-4,70 (m, 1H), 4,50-4,40 (m, 1H), 4,35-4,21 (m, 1H), 3,91-3,75 (m, 2H), 3,48-3,37 (m, 3H), 2,33-2,22 (m, 2H), 1,97-1,85 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,18-1,16 (m, 3H);
 CLEM (*m/z*): 420,5 [M⁺+1];
 HPLC: 99,3 %

30

Esquema 6S-12:



35 Síntesis de 2-(2-((2-(*tert*-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de bencilo (6S-7):

40 A una solución en agitación de 6S-M (1,3 g, 4,08 mmol) en DCM (30 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (2,1 ml, 12,2 mmol), 6S-AP (1,09 g, 4,08 mmol), seguido de EDCI.HCl (1,1 g, 6,13 mmol), HOBT (938 mg, 6,13 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar un material en bruto, que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para obtener 6S-7 (1,5 g, 65 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

45 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆): 88,80-8,74 (m, 2H), 7,39-7,34 (m, 6H), 5,09 (s, 2H), 4,93 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,38-4,19 (m, 1H), 4,05-3,68 (m, 2H), 3,49-3,39 (m, 4H), 2,20-2,11 (m, 2H), 1,86-1,85 (m, 2H), 1,19-1,10 (m, 4H), 0,65 (s, 9H), -0,07 (s, 3H), -0,03 (s, 3H);
 CLEM *m/z*: 568 [M⁺+1]

Síntesis de *N*-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-8):

A una solución en agitación de 6S-7 (500 mg, 0,88 mmol) en EtOAc (25 ml) se le añadió (al 50 % de humedad) Pd al 10 %/C (250 mg) y se agitó en una atmósfera de H₂ (presión de globo) a TA durante 7 h. Después de la finalización de la reacción (según TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite y se trituró con EtOAc (10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 6S-8 (320 mg, en bruto) en forma de un jarabe espeso de color amarillo. Este compuesto se usó directamente para la siguiente etapa sin ninguna purificación.

CLEM *m/z*: 434,5 [M⁺+1]

Síntesis de *N*-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-9):

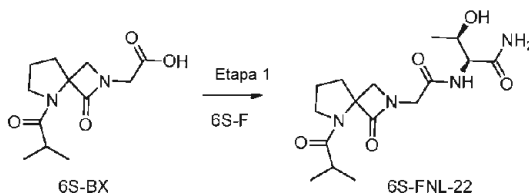
A una solución en agitación de 6S-AQ (93 mg, 0,73 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,4 ml, 2,21 mmol), 6S-8 (320 mg, 0,73 mmol), seguido de EDCI.HCl (211 mg, 1,10 mmol), HOBT (170mg, 1,10 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para proporcionar 6S-9 (210 mg, en bruto) en forma de un jarabe espeso de color amarillo. Este compuesto se usó directamente para la siguiente etapa sin ninguna purificación. CLEM *m/z*: 543,5 [M⁺+1]

Síntesis de *N*-(2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(5-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-21):

A una solución en agitación de 6S-9 (210 mg en bruto, 0,38 mmol) en THF (5 ml) se le añadió TBAF en THF (0,77 ml, 0,76 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 3 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM, seguido de TLC preparativa para proporcionar (6S-FNL-21) (70 mg, 42 %) en forma de un jarabe espeso de color amarillo.

RMN ¹H: (400 MHz, CD₃OD): 8,75-8,70 (m, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,36-7,30 (m, 1H), 5,16-5,13 (m, 1H), 4,53 (s, 1H), 4,41-4,43 (m, 2H), 4,29-4,03 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,96-3,81 (m, 2H), 3,58-3,54 (m, 1H), 2,37-2,34 (m, 2H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,22 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); CLEM *m/z*: 429 [M⁺+1].

Esquema 6S-13:

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(2-(5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)butanamida (6S-FNL-22):

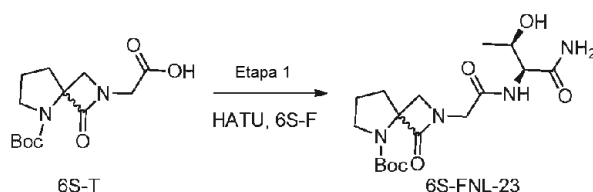
A una solución en agitación de 6S-BX (500 mg, 1,96 mmol) en DMF (3 ml) se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (1,02 ml, 5,88 mmol), 6S-F (277mg, 2,35 mmol), seguido de HATU (893 mg, 2,35 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 16 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se inactivó con una solución de salmuera (15 ml) y se extrajo con MeOH al 10 %/DCM (2 x 15 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar (6S-FNL-22) (100 mg, 14,4 %) en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H: (400 MHz, D₂O): 8,4,37-4,34 (m, 2H), 4,08-3,96 (m, 2H), 3,84-3,79 (m, 1H), 3,72-3,68 (m, 1H), 3,67-3,61 (m, 1H), 2,93-2,86 (m, 1H), 2,37-2,25 (m, 2H), 2,11-2,02 (m, 2H), 1,38-1,29 (m, 4H), 1,14-1,09 (m, 6H);

CLEM *m/z*: 355,5 [M⁺+1];

HPLC: 99,97 %

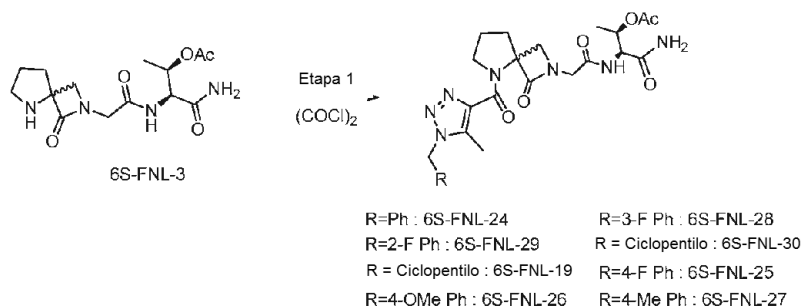
Esquema 6S-14:



Síntesis de 2-(2-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-oxoetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (6S-FNL-23):

- 5 A una solución en agitación de 6S-T (2 g, 7,04 mmol) en DMF (10 ml) se le añadieron DIPEA (3,78 ml, 21,12 mmol), 6S-F (997 mg, 8,44 mmol), seguido de HATU (3,2 g, 8,44 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para proporcionar 6S-FNL-23 (1,1 g, 40,7 %) en forma de un sólido de color blanco.
- 10 RMN ¹H: (400 MHz, D₂O): δ 4,33-4,26 (m, 3H), 4,21-4,12 (m, 1H), 4,05-3,86 (m, 1H), 3,59-3,55 (m, 2H), 3,53-3,35 (m, 1H), 2,33-2,27 (m, 2H), 1,97-1,90 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,25-1,22 (m, 3H);
- 15 Masa (IEN): *m/z* 383,4 [M⁺-1];
 HPLC: 97,8 % (ambos isómeros)

Esquema 6S-15



20 Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-bencil-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4] octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-24):

- 25 A una solución en agitación de 6S-AU (4,0 g, 18,43 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml), DMF (0,1 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (3,34 ml, 36,86 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar un cloruro de ácido. A una solución agitada de cloruro de ácido en DCM (40 ml) se le añadió (6S-FNL-3) (3,8 g, 11,65 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (6,44 ml, 37,04 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ (2 x 25 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-24) (2,6 g, 42,5 %) en forma de un sólido blanquecino.
- 30 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,87, 7,89 (dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 11,0 Hz, 2H), 7,38-7,31 (m, 2H), 7,17 (t, 3H), 5,63 (s, 2H), 5,20-5,16 (m, 1H), 4,43-4,41 (m, 1H), 4,24-4,14 (m, 1H), 4,02 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,38-3,33 (m, 1H), 2,20-2,14 (m, 2H), 1,97 (s, 3H), 1,92-1,80 (m, 5H), 1,16 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H)
- 35 CLEM *m/z*: 526,6 [M⁺+1];
 HPLC: 51,34 % y 46,08 % (enantiómeros)

40 Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-(4-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-25):

- 45 A una solución en agitación de 6S-BL (100 mg, 0,42 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml), DMF (0,1 ml) se le añadieron cloruro de oxalilo (108 mg, 0,85 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar un cloruro de ácido (150 mg, en bruto). A una solución agitada de cloruro de ácido (150 mg, 0,59 mmol, en bruto) en DCM (10 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (193 mg, 0,59 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (229 mg, 1,77 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 8 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una

solución saturada de NaHCO₃ (2 x 30 ml), seguido de una solución de ácido cítrico (1 x 20 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-25) (100 mg, 31,2 %) en forma de un sólido blanquecino.

5 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,99 (dd, *J* = 8,4 Hz, 8,8 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,28-7,16 (m, 5H), 5,63 (s, 2H), 5,20-5,16 (m, 1H), 4,44-4,40 (m, 1H), 4,20 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,92-3,81 (m, 3H), 3,39-3,29 (m, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,22-2,15 (m, 2H), 1,92-1,86 (m, 2H), 1,81 (s, 3H), 1,16 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H);
 CLEM *m/z*: 544,6 [M⁺+1];
 HPLC: 97,6 % (ambos enantiómeros)

10

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-(4-metoxibencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-26):

15 A una solución en agitación de 6S-BO (140 mg, 0,57 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml), DMF (0,2 ml) se le añadió cloruro de oxalio (0,1 ml, 1,14 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar un cloruro de ácido (160 mg, en bruto). A una solución agitada de cloruro de ácido (160 mg, en bruto) en DCM (10 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (186 mg, 0,57 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (220 mg, 1,71 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 1,5 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de salmuera (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 5 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-26) (79 mg, 24 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-d₆): δ 8,17 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,42 (d, *J* = 18,8 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,55 (s, 2H), 5,17-5,16 (m, 1H), 4,46-4,45 (m, 1H), 3,99-3,91 (m, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,40-3,36 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,40-2,36 (m, 2H), 2,21-2,14 (m, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,96-1,92 (m, 2H), 1,40 (s, 2H), 1,12 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). CLEM *m/z*: 556,6 [M⁺+1];
 HPLC: 92,2 % (ambos enantiómeros)

30 Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(5-metil-1-(4-metilbencil)-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-27):

35 A una solución agitada de 6S-BS (250 mg, en bruto, 1 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (391 mg, 1,2 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (387 mg, 3 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 8 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de NaHCO₃ (2 x 20 ml), seguido de una solución de ácido cítrico (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-27) (100 mg, 18,5 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,97 (dd, *J* = 9,2 Hz, 9,6 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,17 (d, *J* = 8,0 Hz, 3H), 7,07 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,58 (s, 2H), 5,20-5,14 (m, 1H), 4,44-4,40 (m, 1H), 4,25 (s, 2H), 3,92-3,80 (m, 3H), 3,38 (dd, *J* = 15,2 Hz, 14,8 Hz, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,20-2,15 (m, 2H), 1,92-1,86 (m, 2H), 1,81 (s, 3H), 1,16 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). CLEM *m/z*: 540,6 [M⁺+1];
 45 HPLC: 98,3 % (ambos enantiómeros)

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-(3-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-28):

50 A una solución agitada de 6S-AX (170 mg, 0,72 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (235 mg, 0,72 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (280 mg, 2,17 mmol), HATU (547 mg, 1,44 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 18 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de NaHCO₃ (1 x 20 ml), una solución de ácido cítrico (1 x 20 ml), seguido de una solución de salmuera (2 x 30 ml). Las capas orgánicas separadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-28) (185 mg, 47,3 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,95 (dd, *J* = 8,8 Hz, 8,4 Hz, 1H), 7,50-7,39 (m, 2H), 7,17 (t, *J* = 11,2 Hz, 2H), 7,01 (dd, *J* = 9,6 Hz, 7,6 Hz, 2H), 5,75 (s, 2H), 5,21-5,16 (m, 1H), 4,44-4,40 (m, 1H), 4,26-4,15 (m, 1H), 4,06-4,03 (m, 1H), 3,95-3,81 (m, 3H), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,23-2,12 (m, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,93-1,81 (m, 2H), 1,17 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H);
 60 CLEM *m/z*: 544,3 [M⁺+1];
 HPLC: 97,4 % (ambos enantiómeros)

65

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-(2-fluorobencil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-29):

- 5 A una solución en agitación de 6S-BA (100 mg, 0,42 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml), DMF (0,1 ml) se le añadieron cloruro de oxalilo (108 mg, 0,85 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar un cloruro de ácido (100 mg, en bruto). A una solución agitada de cloruro de ácido (100 mg, 0,39 mmol, en bruto) en DCM (5 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (144 mg, 0,47 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (142 mg, 1,17 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 8 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción
- 10 se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 30 ml), seguido de una solución de ácido cítrico (1 x 20 ml). Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-29) (120 mg, 56,8 %) en forma de un sólido blanquecino.
- 15 RMN ¹H: (400 MHz, DMSO-d₆): 8,00-7,91 (m, 1H), 7,50-7,39 (m, 2H), 7,28-7,13 (m, 4H), 5,67 (s, 2H), 5,21-5,16 (m, 1H), 4,44-4,40 (m, 1H), 4,20 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 3,90-3,81 (m, 3H), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,22-2,15 (m, 2H), 1,92-1,86 (m, 2H), 1,82 (s, 3H), 1,20 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); CLEM *m/z*: 544,6 [M⁺+1]; HPLC: 98,6 % (ambos enantiómeros)

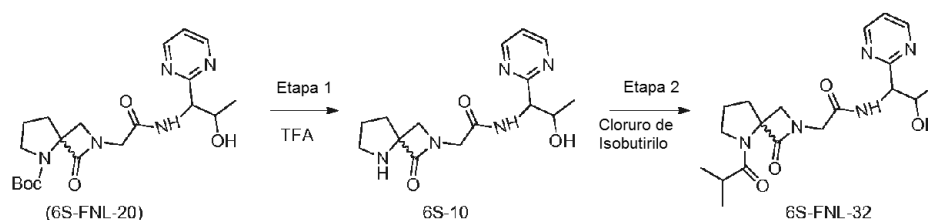
Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-(ciclohexilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-30):

- 25 A una solución agitada de 6S-BE (200 mg (en bruto), 0,82 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (270 mg, 0,82 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (320 mg, 2,48 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 8 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de NaHCO₃ (1 x 20 ml), una solución de ácido cítrico (1 x 20 ml), seguido de una solución de salmuera (2 x 30 ml). Las capas orgánicas separadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-30) (86 mg, 19,7 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,98 (dd, *J* = 8,8 Hz, 9,2 Hz, 1H), 7,47 (dd, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,16 (dd, *J* = 7,6 Hz, 10,0 Hz, 1H), 5,22-5,13 (m, 1H), 4,43-4,39 (m, 1H), 4,20-4,14 (m, 3H), 4,02-3,99 (m, 1H), 3,87 (t, *J* = 6,0 Hz, 4H), 2,48 (s, 3H), 2,20-2,11 (m, 2H), 2,42-2,30 (s, 1H), 1,88-1,85 (m, 2H), 1,82 (s, 3H), 1,64-1,59 (m, 4H), 1,48-1,45 (m, 2H), 1,27-1,11 (m, 4H), 0,84 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H);
- 35 CLEM *m/z*: 532,6 [M⁺+1]; HPLC: 91,2 %.

Síntesis de acetato de (2R,3S)-4-amino-3-(2-(5-(1-(ciclopentilmetil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamido)-4-oxobutan-2-ilo (6S-FNL-31):

- 40 A una solución en agitación de 6S-BI (250 mg, 1,19 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml), DMF (0,1 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (0,2 ml, 2,38 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida en presencia de una atmósfera de N₂ para proporcionar un cloruro de ácido (300 mg, en bruto). A una solución agitada de cloruro de ácido (300 mg, en bruto) en DCM (5 ml) se le añadieron (6S-FNL-3) (358 mg, 1,19 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,57 ml, 3,57 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a
- 45 TA durante 1 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de salmuera (2 x 10 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentraron a presión reducida para obtener un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto (6S-FNL-31) (100 mg, 16,2 %) en forma de un sólido de color pardo.
- 50 RMN ¹H: (500 MHz, DMSO-d₆, D₂O): 8,52-8,19 (m, 1H), 4,39-4,37 (m, 1H), 4,22-4,14 (m, 2H), 3,98-3,96 (m, 2H), 3,91-3,85 (m, 2H), 3,38-3,34 (m, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,41 (s, 2H), 2,36-2,31 (m, 4H), 2,19 (s, 3H), 1,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 3H), 1,58-1,47 (m, 4H), 1,22-1,16 (m, 4H). CLEM *m/z*: 518,6 [M⁺+1]; HPLC: 90 % (ambos enantiómeros)

55 Esquema 6S-16:



Síntesis de N-(2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-10):

A una solución en agitación de (6S-FNL-20) (1 g, 2,38 mmol) en DCM (20 ml) se le añadió TFA (1,75 ml, 2,38 mmol) a 0 °C y se agitaron a TA durante 2 h. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo en bruto, que se trituró con n-pentano (10 ml) para proporcionar 6S-10 (1 g, en bruto) en forma de un jarabe espeso, que se usó directamente para la siguiente etapa sin ninguna purificación.

RMN ¹H: (400 MHz, D₂O): 9,10 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,96-8,85 (m, 1H), 7,89-7,60 (m, 1H), 4,40-4,22 (m, 1H), 4,12-4,00 (m, 2H), 3,95-3,84 (m, 1H), 3,78-3,67 (m, 1H), 3,50-3,44 (m, 2H), 3,20-3,16 (m, 1H), 2,44-2,36 (m, 2H), 2,21-2,07 (m, 2H), 1,15-1,12 (m, 3H);
CLEM (IEN): *m/z* 320,3 [M⁺+1];

Síntesis de N-(2-hidroxi-1-(pirimidin-2-il)propil)-2-(5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3,4]octan-2-il)acetamida (6S-FNL-32):

A una solución en agitación del compuesto 6S-10 (1 g, 2,30 mmol) en DCM (25 ml) se le añadió TEA (0,96 ml, 6,9 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 5 min. Después, se añadió lentamente cloruro de isobutirilo (292 mg, 2,76 mmol) y se agitó durante 2 h a TA. Después del consumo del material de partida (según TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml). La capa orgánica separada se lavó con una solución de salmuera (1 x 30 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con MeOH al 10 %/EtOAc para obtener (6S-FNL-32) (230 mg, 25,7 %) en forma de un jarabe espeso.

RMN ¹H: (500 MHz, CD₃OD): 8,75 (d, *J* = 12,5 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 4,52-4,45 (m, 1H), 4,22-4,00 (m, 1H), 3,96-3,66 (m, 2H), 3,64-3,57 (m, 1H), 3,47-3,33 (m, 3H), 2,84-2,65 (m, 2H), 2,31-2,24 (m, 2H), 2,06-1,99 (m, 2H), 1,39-1,24 (m, 3H), 1,19-1,05 (m, 6H);
CLEM (IEN): *m/z* 390,4 [M⁺+1];
HPLC: 98,4 %

Ejemplo 12 - Ensayo de unión de [³H] MK-801Métodos

Se realizaron ensayos como se describe en Moskal *et al.* (Moskal, J.R., Kuo, A.G., Weiss, C., Wood, P.L., O'Connor Hanson, A., Kelso, S., Harris, R.B., Disterhoft, J.F., 2005. GLYX-13: a monoclonal antibody-derived peptide that acts as an N-methyl-D-aspartate receptor modulator. *Neuropharmacology*. 49, 1077-87). Se midió la potenciación de la unión de [³H]MK-801 (5 nM, 22,5 Ci/mmol) a membranas corticales de rata bien lavadas (200 µg) en condiciones de no equilibrio (15 minutos @ 25 °C) en presencia de concentraciones crecientes de los compuestos de ensayo y glutamato 50 µM. Los niveles cero se determinaron en ausencia de cualquier ligando glicina y en presencia de 5,7 DCKA 30 µM. La estimulación máxima se midió en presencia de glicina 1 mM y estaba presente en todas las muestras glutamato 50 µM. La facilitación de la unión de [³H]MK-801 por parte de los compuestos de ensayo se calculó utilizando una ecuación de 3 parámetros del logaritmo de agonista frente a la respuesta (Graph pad Prism, EE.UU.), y se calcularon para los compuestos de prueba la potencia (CE₅₀, expresada en pM) y la actividad máxima (% de estimulación máxima).

Resultados

La potencia y la actividad máxima para los Compuestos B-D y H son como se muestra en las Tablas 2 y 3 y las Figuras 1-4.

Tabla 2.

| Compuestos | pCE50 (pM) | Actividad (%) |
|------------|------------|---------------|
| B | 6 | 47 |
| C | 7 | 10 |
| D | 159 | 5 |
| H | 195 | 20 |

Tabla 3. Datos biológicos adicionales

| Comp. | Ensayo de unión de [³ H] MK-801: CE50 (M) | Datos de actividad unificados: unión de MK-801 CE ₅₀ (pM) | Datos de actividad unificados: LTP Aumento (porcentaje) | Datos de actividad unificados: LTP Concentración (uM) | Datos de actividad unificados: LTP, significativo (S) o no significativo (NS) | Datos de actividad unificados: inhibición del tiempo de flotación de Porsolt (porcentaje) | Datos de actividad unificados: dosis (mg/kg) de Porsolt | Datos de actividad unificados: dosis de Porsolt, vía | Datos de actividad unificados: tiempo de postdosis (horas) |
|-------------|---|--|---|---|---|---|---|--|--|
| 6S-FNL-2 | 1,8E-13 | | | | | | | | |
| 6S-FNL-4 | > 1e-05 | | | | | | | | |
| 6S-FNL-3 | 0,00000169 | | | | | | | | |
| 6S-FNL-24 | 7,27E-12 | 110 | 0,1 | S | 86 | 3 | IV | 1 | |
| 6S-FNL-7-F2 | | 150 | 1 | S | 80 | 3 | IV | 1 | |

Ejemplo 13 - Potenciación duradera en cortes de hipocampoMétodos

5 Los ensayos se realizaron como se describe en Zhang *et al.* (Zhang, X. L., Sullivan, J. A., Moskal, J. R., Stanton, P. K.,
 2008. A NMDA receptor glycine site partial agonist, GLYX-13, simultaneously enhances LTP and reduces LTD at
 Schaffer collateral-CA1 synapses in hippocampus. *Neuropharmacology*. 55, 1238-50). Se anestesiaron de forma
 profunda con isoflurano ratas Sprague-Dawley (de 12-18 días; Taconic Farms) y se decapitaron. Los cerebros de las
 10 ratas se retiraron de forma rápida, se sumergieron en líquido cefalorraquídeo artificial enfriado en hielo (LCRA, 2-4 °C)
 que contenía (en mM): NaCl 124, KCl 4, MgSO₄ 2, CaCl₂ 2, NaH₂PO₄ 1,25, NaHCO₃ 26, glucosa 10; a pH 7,4, se
 gasearon de forma continua con O₂ al 95 %/CO₂ al 5 %. Los cerebros de rata se hemiseccionaron, los lóbulos
 15 frontales se cortaron y los hemisferios individuales se adhirieron utilizando adhesivo de cianoacrilato sobre una
 plataforma sumergida en LCRA enfriado en hielo, gaseado de forma continua con O₂ al 95 %/CO₂ al 5 % durante el
 corte. Los cortes coronales (de 400 µM de grosor) se cortaron utilizando un Vibrátomo (Leica VT1200S) y se
 transfirieron a una cámara de sujeción de interfaz para la incubación a temperatura ambiente durante un mínimo de
 una hora antes de la transferencia a una cámara de registro de interfaz de tipo Haas, perfundida de forma continua con
 LCRA oxigenado a 3 ml/min a 32 ± 0,5 °C. Los electrodos de registro de baja resistencia se fabricaron de vidrio
 20 borosilicato de pared fina (1,2 MΩ después del llenado con LCRA) y se insertaron en la región dendrítica apical del
 campo de terminación colateral de Schaffer en el estrato radial de la región de campo CA1, para registrar los
 potenciales excitadores postsinápticos de campo (los fEPSP, sigla del inglés *field excitatory postsynaptic potentials*).
 Se colocó un electrodo de estimulación de acero inoxidable bipolar (FHC Co.) en las fibras comisurales-colaterales de
 Schaffer en el estrato radial CA3, y se ajustó la intensidad del estímulo de corriente constante para evocar
 aproximadamente de la mitad al máximo de los fEPSP una vez cada 30 s (50-100 pA; duración de 100 µs). La
 25 pendiente del fEPSP se midió antes y después de la inducción de la LPT (sigla del inglés *long term potentiation*:
 potenciación duradera) mediante interpolación lineal del 20 al 80 % de la deflexión negativa máxima, y las pendientes
 se confirmaron como estables hasta dentro de ± el 10 % durante al menos 15 minutos antes del comienzo de un
 experimento. La aplicación por baño del compuesto de ensayo (1 µM) se aplicó 30 min antes de la aplicación de las
 series de pulsos de estímulos colaterales de Schaffer para generar la LTP. La LTP se indujo mediante estimulación de
 30 los axones colaterales de Schaffer con cuatro series de estímulos en ráfaga zeta de alta frecuencia de 10 x 100 Hz/5
 ráfagas de pulsos cada uno, aplicados a intervalos de 200 ms entre ráfagas. Cada serie fue de 2 segundos de duración
 y las series se aplicaron con diferencia de 15 segundos. Las señales se registraron utilizando un amplificador
 Multiclamp 700B y se digitalizaron con un Digidata 1322 (Axon Instruments, EE.UU.). Los datos se analizaron
 utilizando el programa informático pClamp (versión 9, Axon Instruments) en un ordenador personal compatible con
 35 IBM.

Resultados

40 Como se muestra en la Figura 5, el Compuesto B ensayado a 0,11 µM aumentó en las ratas la potenciación duradera
 tras la estimulación de alta frecuencia de los e.p.s.c.s de NMDA evocados por la vía colateral de Schaffer, registrados
 en las neuronas piramidales de CA1.

EQUIVALENTES

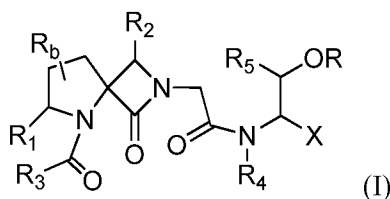
45 Los expertos en la materia reconocerán, o serán capaces de determinar, utilizando no más que la experimentación de
 rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en el presente documento. Se
 pretende que tales equivalentes estén abarcados por las siguientes reivindicaciones.

INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

50 El contenido completo de todas las patentes, solicitudes de patentes publicadas, sitios web y otras referencias citadas
 en el presente documento, se incorporan por la presente de forma expresa en el presente documento en su totalidad
 por referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable, estereoisómero o N-óxido del mismo, en la que

R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C₁-C₆;

R es H, alquilo C₁-C₆ o -C(O)-alquilo C₁-C₆;

R₁ es H o alquilo C₁-C₆;

R₂ es H o alquilo C₁-C₆;

R₃ es alquilo C₁-C₆; alcoxi C₁-C₆; -O-alquilen C₁-C₆-fenilo; alqueno C₂-C₆; alquino C₂-C₆; cicloalquilo C₃-C₆; fenilo; o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; en el que R₃ está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C₁-C₆-cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C₁-C₆);

R^a se selecciona entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), y alcoxi C₁-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos);

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

X se selecciona entre el grupo que consiste en: H; alquilo C₁-C₆; -OH; alcoxi C₁-C₆; -CO₂H; -C(O)NR^cR^d; y heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

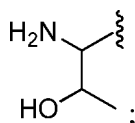
R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o R^c y R^d, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos de anillo; en el que el heterociclilo no incluye más de dos heteroátomos de anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R^c y R^d), y el segundo heteroátomo de anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; y en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R₃ es

a) alquilo C₁-C₆, opcionalmente en el que R₃ es metilo; o

b) alquilo C₁-C₆ sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C₁-C₆-cicloalquilo C₃-C₆ (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C₁-C₆); o

c)



o

d) heteroarilo, que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido

con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C_1-C_6 -cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C_1-C_6); o

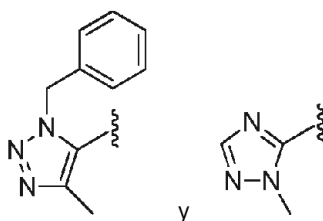
5 e) heteroarilo, que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C_1-C_3), O y S; que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C_1-C_6 y bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente de R^a); o

10 f) heteroarilo, que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C_1-C_3), O y S; que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en $-CH_3$ y bencilo; o

15 g) -O-alquilen C_1-C_6 -fenilo, que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C_1-C_6 -cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C_1-C_6); o

20 h) -O- CH_2 -fenilo, que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en amino, amino protegido, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a), y -alquilen C_1-C_6 -cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno y alquilo C_1-C_6); o

25 i) se selecciona entre el grupo que consiste en benciloxi, $-CH_3$,



30 3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que X es $-C(O)NR^cR^d$.

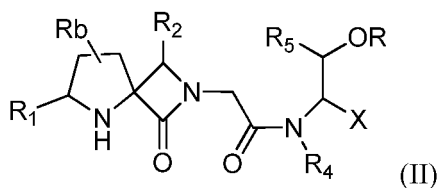
4. El compuesto de la reivindicación 3, en el que R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C_1-C_6 y fenilo.

35 5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que R^c y R^d son ambos H.

6. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que X es heteroarilo incluyendo de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C_1-C_3), O y S, que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo y fenilo.

40 7. El compuesto de la reivindicación 6, en el que X se selecciona entre el grupo que consiste en 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,4-triazolilo (opcionalmente sustituido con 1-2 alquilos C_1-C_6 seleccionados independientemente), piridilo y pirimidinilo.

45 8. Un compuesto representado por la fórmula II:



50 o una sal farmacéuticamente aceptable, estereoisómero o N-óxido del mismo, en la que

R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C_1-C_6 ;
R es H, alquilo C_1-C_6 o $-C(O)$ -alquilo C_1-C_6 ;

R₁ es H o alquilo C₁-C₆;

R₂ es H o alquilo C₁-C₆;

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

5 X se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C₁-C₆; -OH; alcoxi C₁-C₆; -CO₂H; -C(O)NR^cR^d; y heteroarilo, que incluye de 5 a 6 átomos de anillo, en el que 1, 2 o 3 de los átomos del anillo se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y

10 R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o R^c y R^d, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos de anillo; en el que el heterociclilo no incluye más de dos heteroátomos de anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R^c y R^d), y el segundo heteroátomo de anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C₁-C₃), O y S; y en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

9. El compuesto de la reivindicación 8, en el que X es -C(O)NR^cR^d.

20 10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y fenilo.

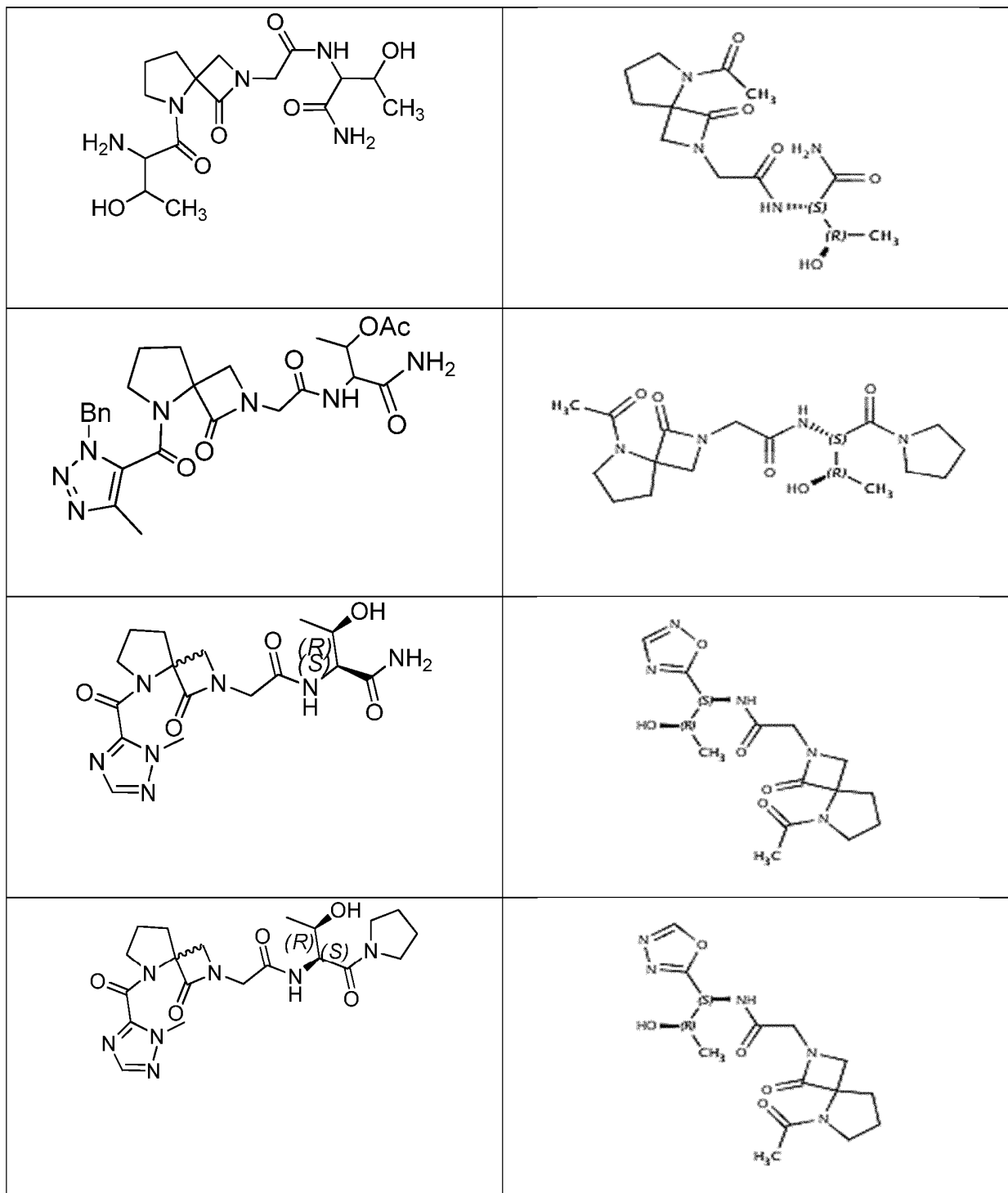
11. El compuesto de la reivindicación 10, en el que R^c y R^d son ambos H.

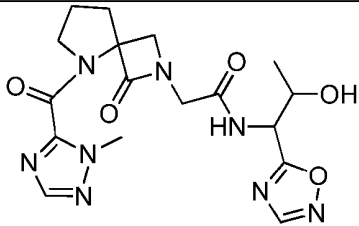
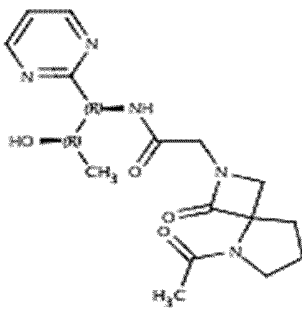
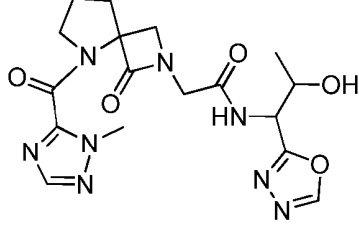
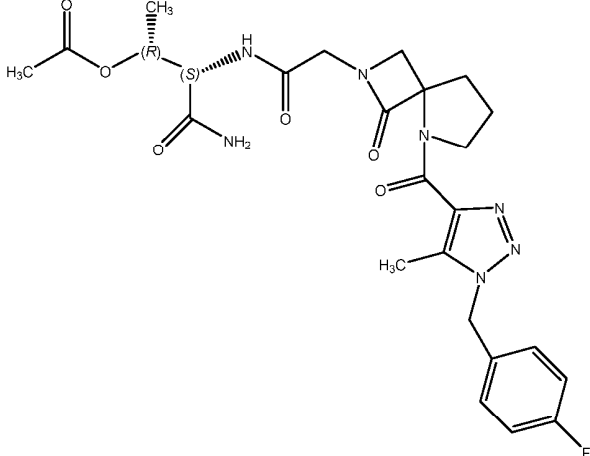
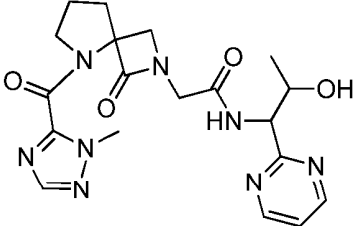
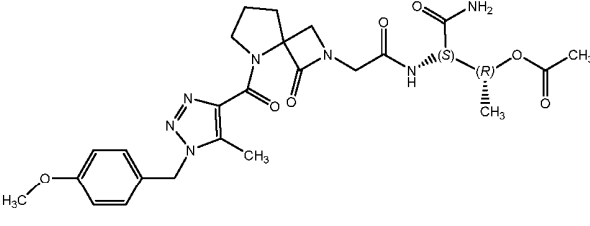
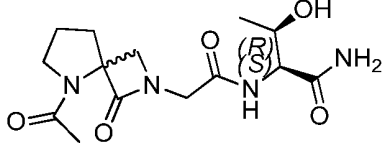
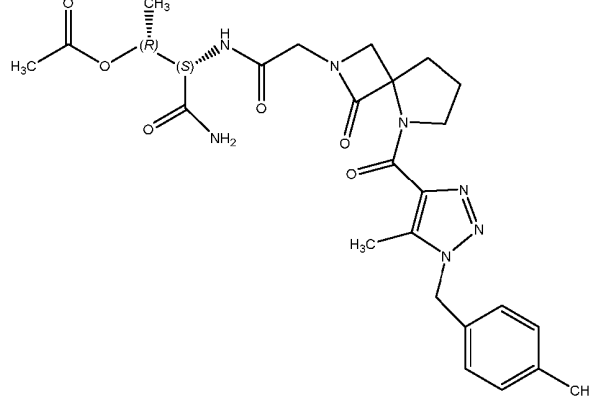
25 12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que R es H; o en el que R es -C(O)-alquilo C₁-C₆, opcionalmente en el que R es -C(O)-CH₃.

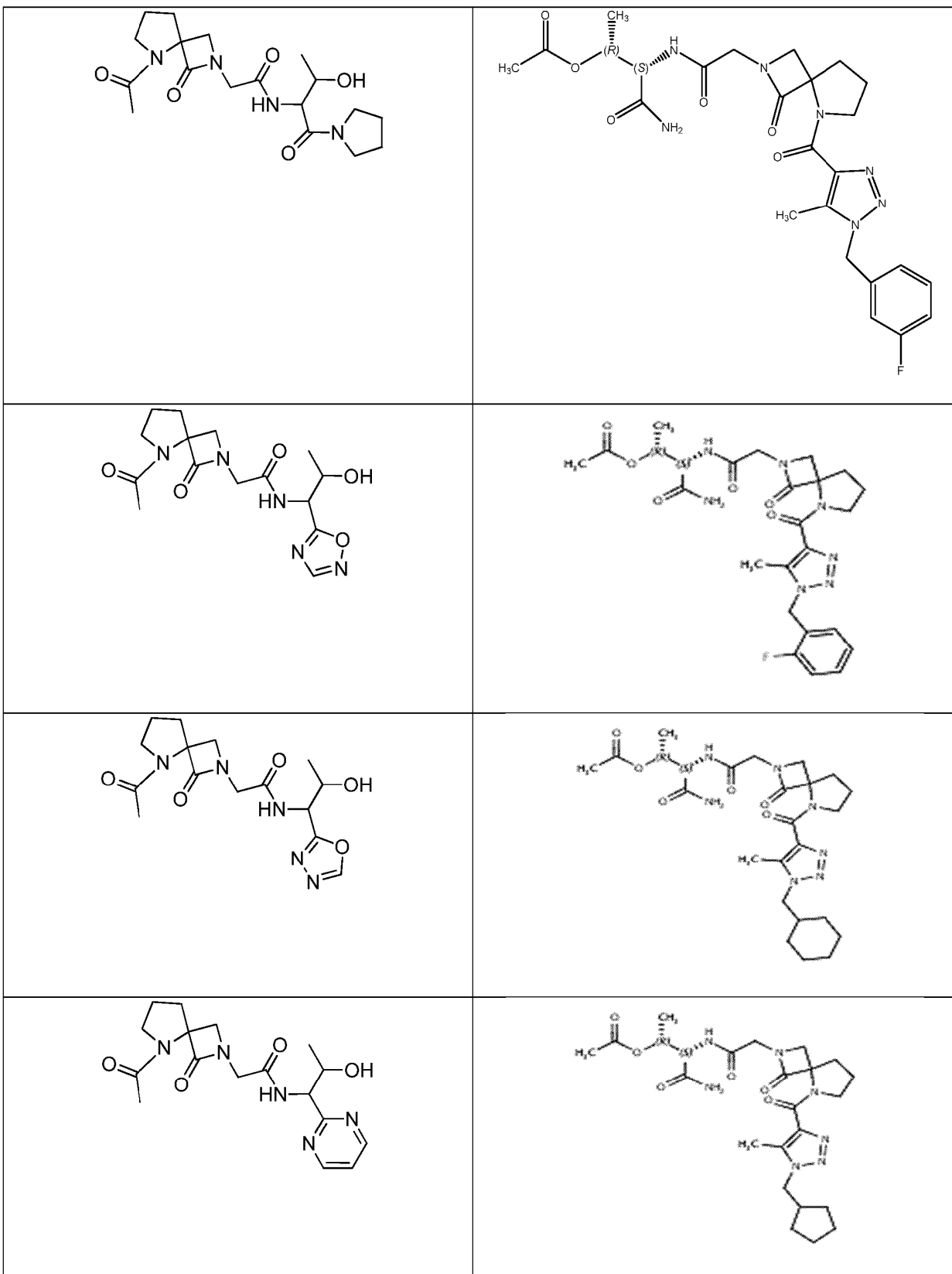
30 13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que R₅ es alquilo C₁-C₆, opcionalmente en el que R₅ es -CH₃.

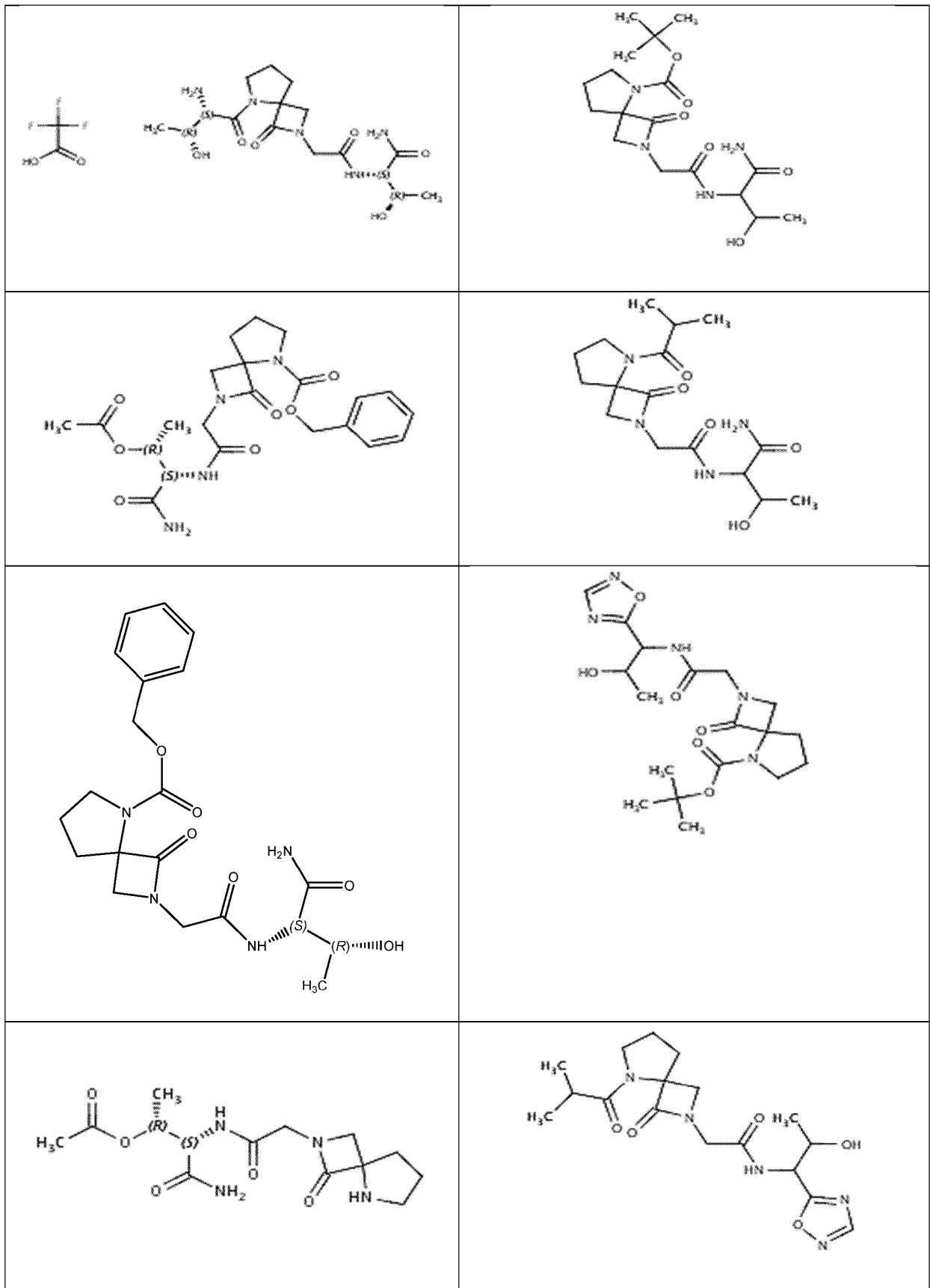
14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde R₄ es H y/o en el que R_b es H.

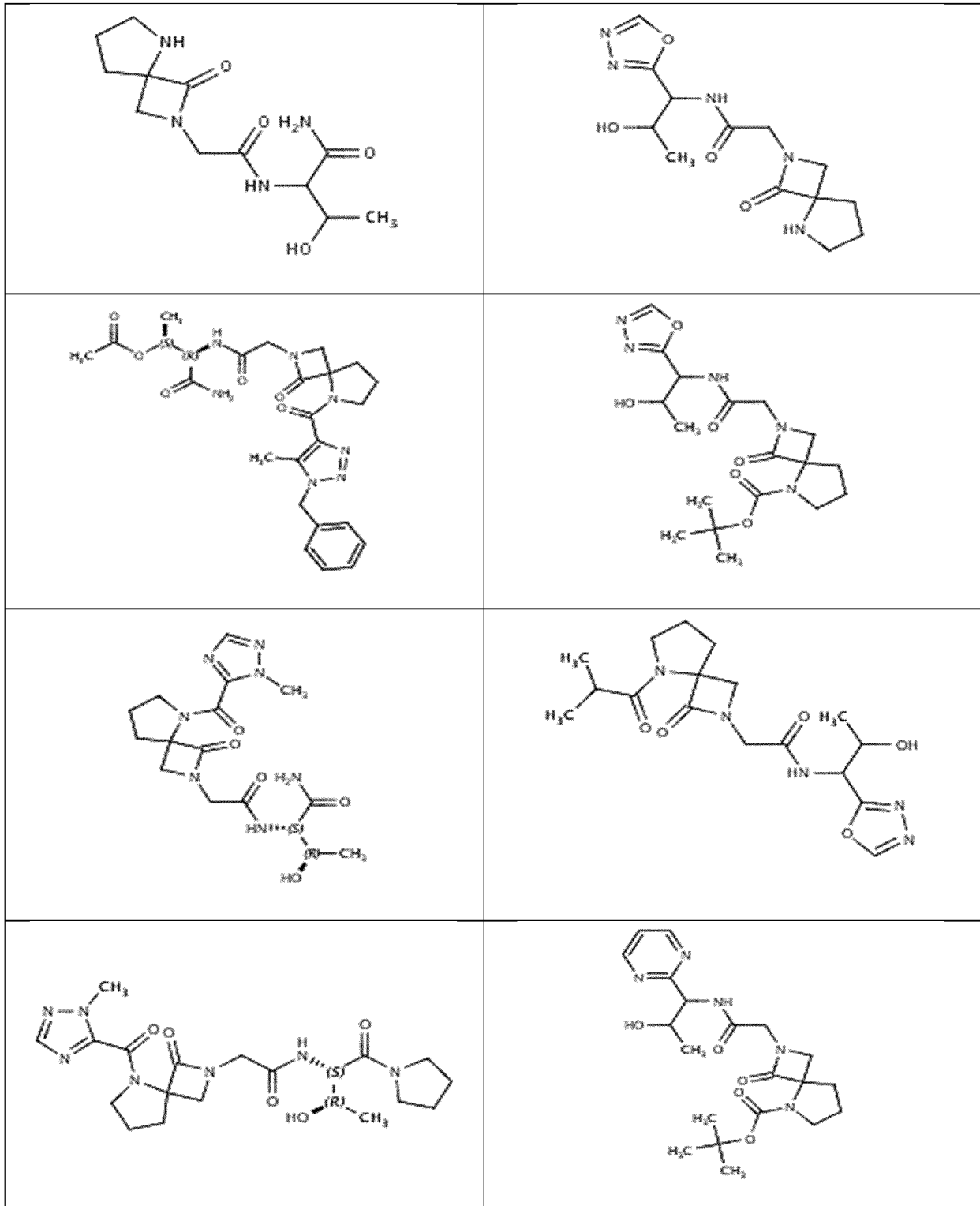
15. El compuesto de la reivindicación 1 u 8, en el que el compuesto se selecciona entre

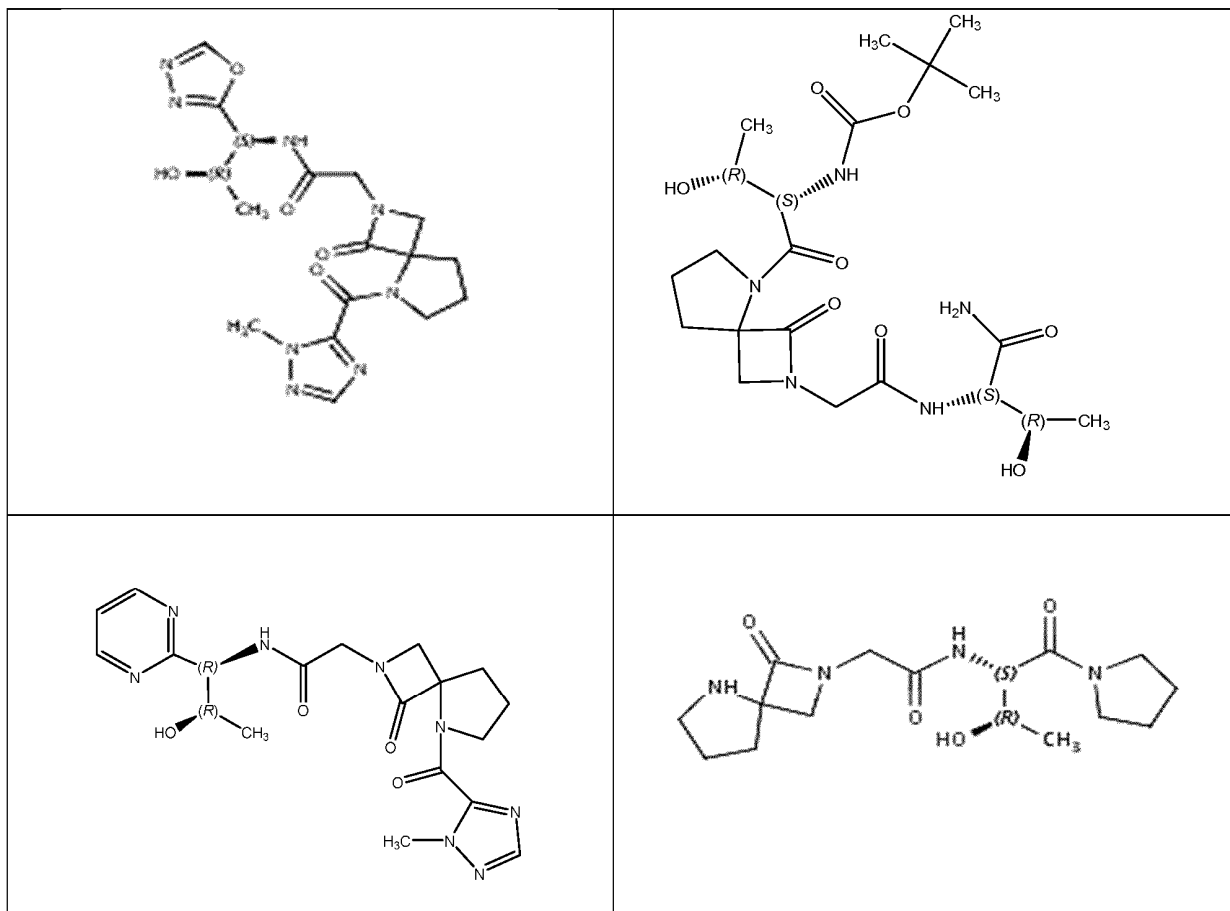


| | |
|---|--|
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

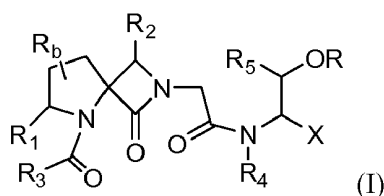








16. Un compuesto representado por la fórmula I:



5

y sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros y N-óxidos de los mismos, en la que

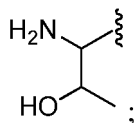
- 10 R_b se selecciona entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C_1-C_6 ;
 R es H, alquilo C_1-C_6 o $-C(O)$ -alquilo C_1-C_6 ;
 R^1 es H o alquilo C_1-C_6 ;
 R^2 es H o alquilo C_1-C_6 ;
 R^3 es alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_6 , fenilo, o un heteroarilo de 4-6 miembros con uno, dos o tres heteroátomos cada uno seleccionado entre O, S o N, en el que R^3 puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a) o bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a);
 R^a se selecciona entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), cicloalquilo C_3-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos), o alcoxi C_1-C_6 (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres halógenos);
 R^t es H o alquilo C_1-C_6 ;
 R_5 es H o alquilo C_1-C_6 ;
 X se selecciona entre el grupo que consiste en: H, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, alcoxi C_1-C_6 , $-CO_2H$, $-C(O)NR^cR^d$, y un anillo heteroarilo de 4 a 6 miembros con uno, dos o tres heteroátomos cada uno seleccionado entre O, S o N, en el que el anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado
- 15
20
25

entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo y fenilo; y R^c y R^d se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o fenilo, o junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros, que puede tener un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, o N; en el que el anillo heterocíclico de 4-6 miembros puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo y alquilo C₁-C₆.

17. El compuesto de la reivindicación 16, en el que R₃ es

- a) alquilo C₁-C₆, opcionalmente en el que R₃ es metilo; o
 b) alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado entre el grupo que consiste en amino, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, hidroxilo, fenilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a) y bencilo (opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre R^a); o

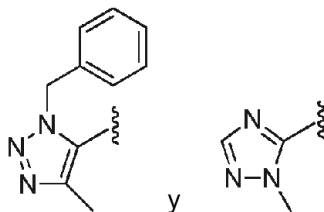
c)



o

d) heteroarilo; o

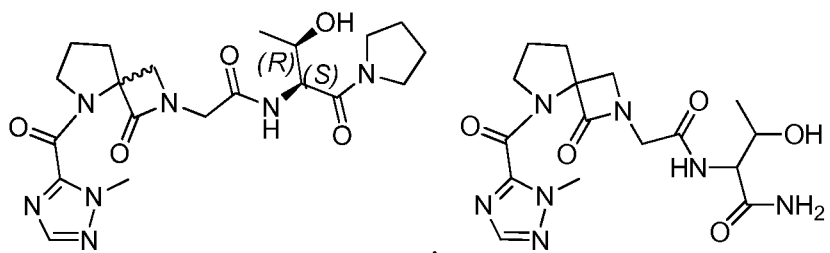
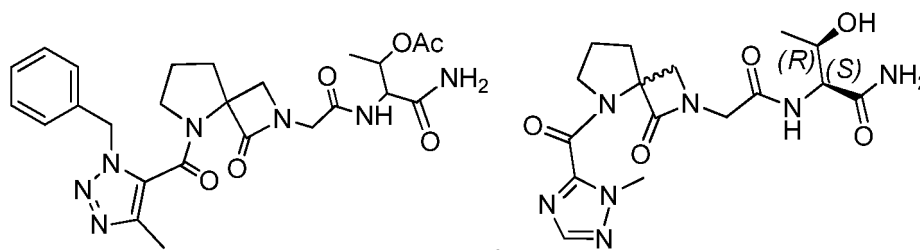
e) seleccionado entre el grupo que consiste en -CH₃,

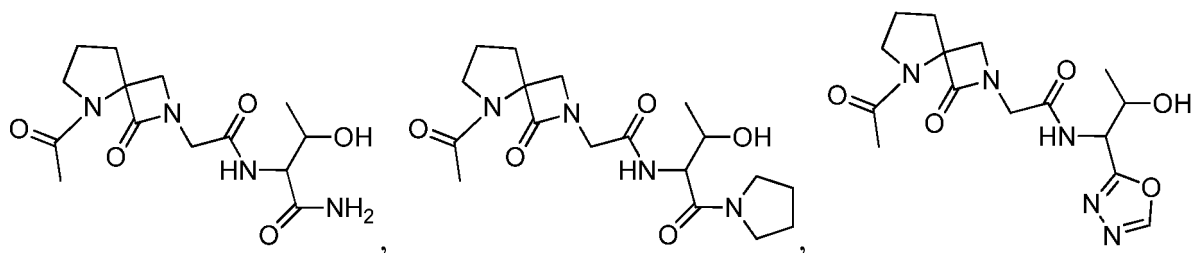
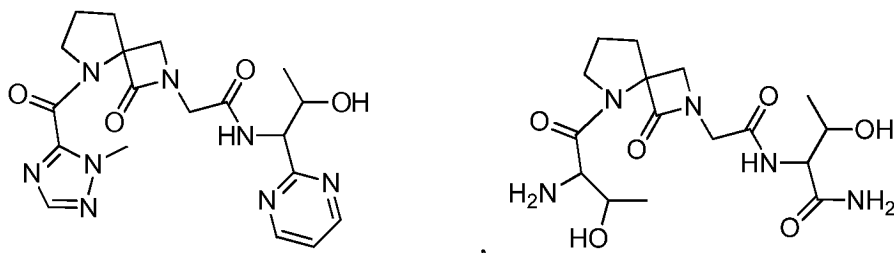
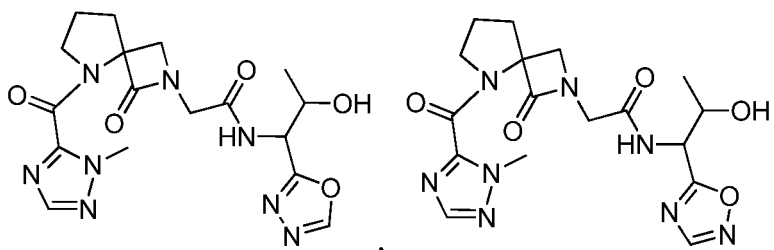


18. El compuesto de la reivindicación 16 o 17, en el que X es -C(O)NR^cR^d, o en el que X es un anillo heteroarilo de 4 a 6 miembros.

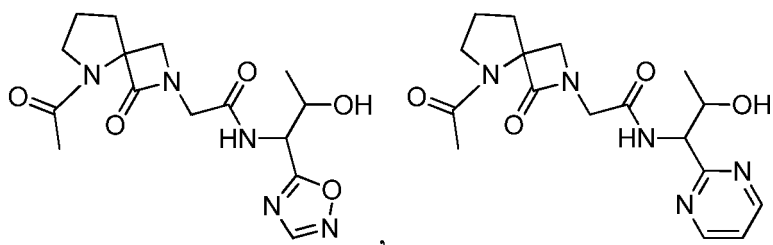
19. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en el que R₁ es H, y/o en el que R₂ es H.

20. El compuesto de la reivindicación 16, en el que el compuesto se selecciona entre

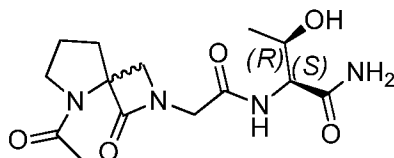




5



o



10

21. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15

22. La composición farmacéutica de la reivindicación 21, adecuada para administración oral o adecuada para administración intravenosa.

20

23. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 para su uso en un método para el tratamiento de la depresión, la enfermedad de Alzheimer, el trastorno por déficit de atención, la esquizofrenia o la ansiedad, en un paciente que lo necesite.

Figura 1

Compuesto B

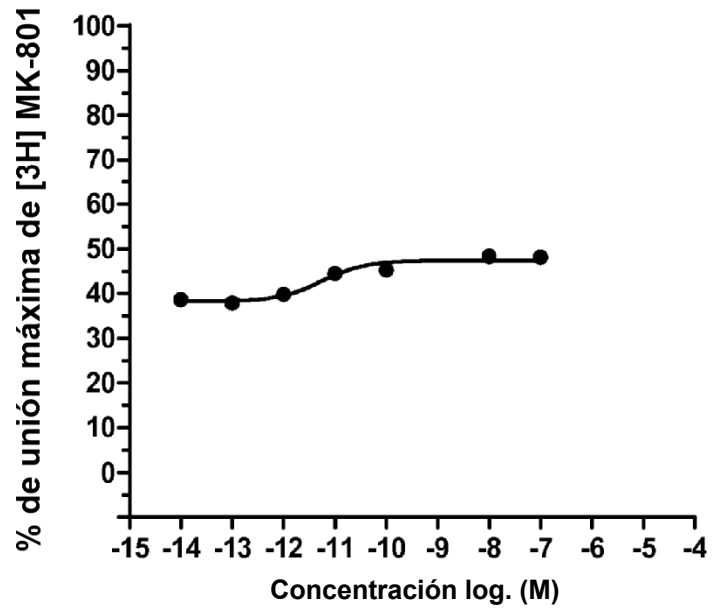


Figura 2

Compuesto C

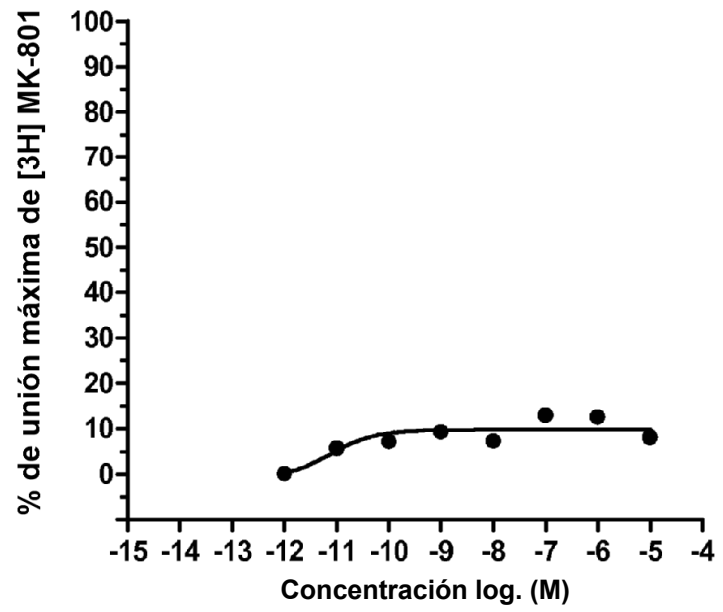


Figura 3
Compuesto D

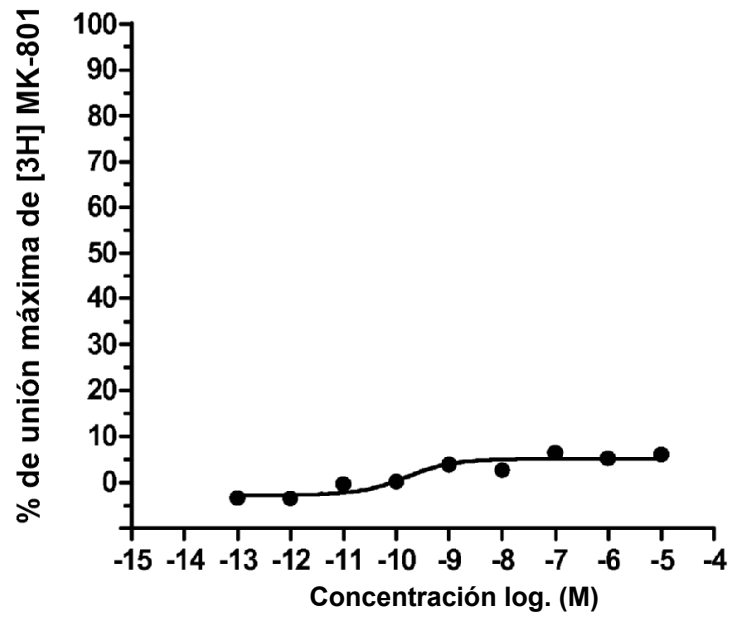


Figura 4

Compuesto H

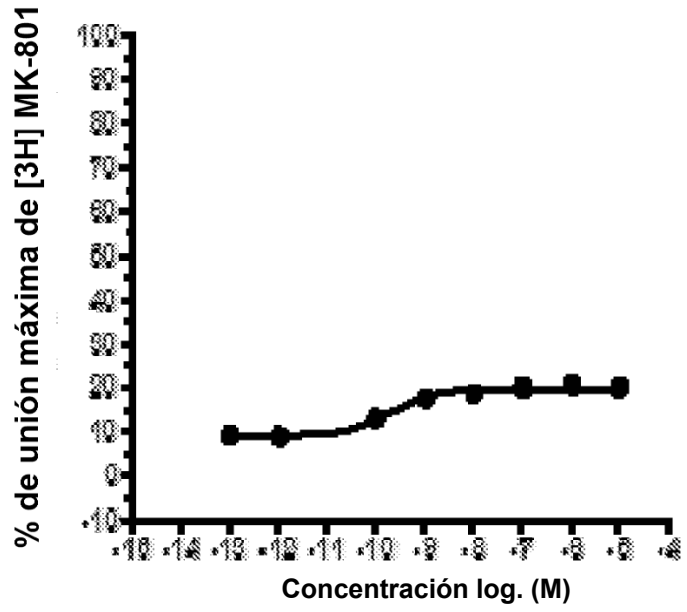


Figura 5

