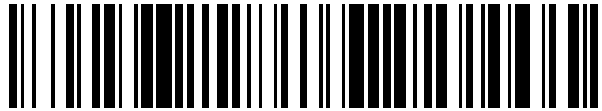


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 405**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/10** (2006.01)

**A61K 31/397** (2006.01)

**A61K 31/407** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.01.2014 PCT/US2014/013619**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014 WO14120783**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.01.2014 E 14703747 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 2951183**

54 Título: **Moduladores de receptores NMDA de espiro-lactama y sus usos**

30 Prioridad:

**29.01.2013 US 201361757903 P**

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

**05.12.2019**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 734 405 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 de receptores NMDA de espiro-lactama y sus usos

## 5 Antecedentes

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

15 El receptor NMDA cumple una función importante 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 vías cognitivas y en la percepción del dolor (Collingridge et al., The NMDA Receptor, Oxford University Press, 1994). Además, algunas propiedades de los receptores NMDA sugieren que pueden estar implicados en el procesamiento de información en el cerebro que subyace a la propia conciencia.

20 El receptor NMDA ha generado especial interés puesto que parece estar implicado en una amplia gama de trastornos del SNC. Por ejemplo, durante la isquemia cerebral causada por un accidente cerebrovascular o una lesión traumática, se liberan cantidades excesivas del aminoácido excitador glutamato de las neuronas dañadas o privadas de oxígeno. Este exceso de glutamato se une a los receptores NMDA, lo que abre sus canales iónicos regulados por ligandos; a su vez, el influjo de calcio produce un alto nivel de calcio intracelular que activa una cascada bioquímica que da como resultado la degradación de proteínas y la muerte celular. También se cree que este fenómeno, conocido como excitotoxicidad, es responsable por el daño neurológico asociado con otros trastornos que van desde la hipoglicemia y el paro cardíaco a la epilepsia. Además, hay informes preliminares que indican una participación similar en la neurodegeneración crónica de las enfermedades de Huntington, Parkinson y Alzheimer. Se ha demostrado que la activación del receptor NMDA es responsable de las convulsiones posteriores al accidente cerebrovascular y, en determinados modelos de epilepsia, se ha demostrado que la activación del receptor NMDA es necesaria para la generación de ataques. También se ha reconocido la participación neuropsiquiátrica del receptor NMDA, dado que el bloqueo del canal de  $Ca^{++}$  del receptor NMDA por la anestesia animal PCP (fenciclidina) produce un estado psicótico en los seres humanos similar a la esquizofrenia (analizado en Johnson, K. y Jones, S., 1990). Asimismo, los receptores NMDA también han sido implicados en determinados tipos de aprendizaje espacial.

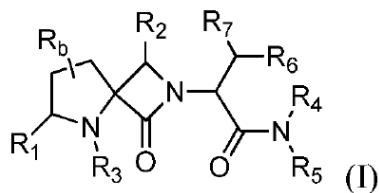
40 Se cree que el receptor NMDA consta de varias cadenas proteicas incrustadas en la membrana postsináptica. Los primeros dos tipos de subunidades descubiertos hasta el momento forman una gran región extracelular, que probablemente contiene la mayoría de los sitios de unión alostéricos, varias regiones transmembrana curvadas y plegadas para formar un poro o canal, que 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 reside en la superficie extracelular. Se cree que la unión de los ligandos afecta un cambio conformacional en la estructura total de la proteína que se ve reflejado en última instancia en la apertura, la apertura parcial, el cierre parcial o el cierre del canal.

50 Los compuestos receptores NMDA pueden tener un efecto dual (agonista/antagonista) sobre el receptor NMDA a través de los sitios alostéricos. Estos compuestos típicamente se denominan "agonistas parciales". En presencia del ligando de sitio principal, un agonista parcial desplazará una parte del ligando y disminuirá así el flujo de  $Ca^{++}$  a través del receptor. En ausencia del ligando de sitio principal o con un nivel disminuido de este, el agonista parcial actúa para aumentar el flujo de  $Ca^{++}$  a través del canal del receptor.

55 Continúa existiendo una necesidad en la técnica de compuestos novedosos y más específicos/potentes que sean capaces de unirse al sitio de unión a glicina de los receptores NMDA y que proporcionen beneficios farmacéuticos. Además, continúa existiendo una necesidad en la técnica médica de formas que puedan ser administradas por vía oral de dichos compuestos.

## 60 Resumen

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



y sus sales, estereoisómeros y N-óxidos farmacéuticamente aceptables, donde

5 R<sub>b</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> (por ejemplo, H)

R<sub>1</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

10 R<sub>2</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y un grupo protector de nitrógeno;

15 en donde el grupo protector de nitrógeno se selecciona del grupo que consiste en 9-fluorenilmetiloxycarbonilo, tert-butoxicarbonilo, carbobenciloxycarbonilo, p-metoxibenciloxycarbonilo, acetilo, trifluoroacetilo, benzoilo, bencilo, p-metoxibencilo, p-metoxifenilo, 3,4-dimetoxibencilo, trifenilmetilo, p-toluenosulfonilo, -C(O)OR<sub>31</sub> y -C(O)R<sub>32</sub>; donde

20 R<sub>31</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, CH<sub>2</sub>-cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, -CH<sub>2</sub>-fenilo y -CH<sub>2</sub>-piridilo, en donde cualquier cicloalquilo mencionado anteriormente está opcionalmente sustituido con 1-3 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> seleccionado independientemente, y en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>;

25 R<sub>32</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, fenilo y piridilo, en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>;

cada uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>,

30 X y -alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X, donde X se selecciona del grupo que consiste en:

(i) cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>;

35 (ii) heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S;

(iii) heterociclilo que incluye de 3 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y

40 (iv) fenilo;

45 donde cada uno del cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> y el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R', donde R' se selecciona independientemente para cada instancia de H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y cada uno del heteroarilo y el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R';

o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> junto con el nitrógeno al que están unidos forman:

50 heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos en el anillo; donde el heterociclilo incluye no más de dos heteroátomos en el anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y el segundo heteroátomo en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'; o

55 heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo; donde el heteroarilo incluye no más de cuatro heteroátomos en el anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y cada heteroátomo adicional en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el

heteroarilo está sustituido opcionalmente con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R';

R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en -OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)fenilo y -N(R')R'; y

R' se selecciona independientemente para cada aparición de H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

R<sub>7</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

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

En el presente documento también se proporciona un compuesto divulgado para uso en un método para tratar 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.

También se divulga en la presente 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 con hiperactividad (TDAH), esquizofrenia, un trastorno psicótico, un síntoma psicótico, aislamiento social, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia, síndrome de estrés postraumático, un trastorno del comportamiento, un trastorno de control de impulsos, un trastorno de abuso de sustancias, un trastorno del sueño, un trastorno de la memoria, un trastorno de aprendizaje, incontinencia urinaria, atrofia multisistémica, parálisis supranuclear progresiva, ataxia de Friedreich, síndrome de Down, síndrome del X frágil, esclerosis tuberosa, atrofia olivopontocerebelosa, parálisis cerebral, neuritis óptica inducida por fármacos, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, glaucoma, demencia, demencia relacionada con el SIDA, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, espasticidad, mioclonos, espasmo muscular, síndrome de Tourette, epilepsia, isquemia cerebral, accidente cerebrovascular, un tumor cerebral, lesión cerebral traumática, paro cardíaco, mielopatía, lesión de la médula espinal, neuropatía periférica, dolor neuropático agudo y neuropático crónico, en un paciente que lo necesita. Estos métodos pueden comprender administrarle al paciente una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto divulgado o sus sales, estereoisómeros, N-óxidos e hidratos farmacéuticamente aceptables.

Un método contemplado incluye el tratamiento de la depresión. Por ejemplo, la 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 causada por una afección médica crónica. Un método contemplado puede tratar la esquizofrenia. Dicha esquizofrenia puede ser, por ejemplo, esquizofrenia de tipo paranoide, esquizofrenia de tipo desorganizado, esquizofrenia de tipo catatónico, esquizofrenia de tipo no diferenciado, esquizofrenia de tipo residual, depresión posterior al episodio esquizofrénico o esquizofrenia simple.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la potenciación de la unión de [<sup>3</sup>H]MK-801 en presencia del compuesto X.

La figura 2 muestra los resultados de una potenciación a largo plazo en cortes de hipocampo usando el compuesto X.

Descripción detallada

Esta divulgación está dirigida generalmente a compuestos que son capaces de modular el NMDA, por ejemplo, antagonistas o agonistas parciales de NMDA, y composiciones y/o métodos de uso de los compuestos divulgados.

Definiciones

“Tratar” incluye cualquier efecto, por ejemplo, la reducción, modulación o eliminación, que resulta en la mejoría de la afección, enfermedad, trastorno y similares.

El término “alqueno”, tal como se usa en la presente, se refiere a un hidrocarburo recto o ramificado insaturado que tiene al menos un enlace doble carbono-carbono, tal como un grupo recto o ramificado de 2-6 o 3-4 átomos de carbono, denominado en la presente, por ejemplo, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alqueno C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>, respectivamente. Los grupos alqueno de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, vinilo, alilo, butenilo, pentenilo, etc.

El término “alcoxi”, tal como se usa en la presente, se refiere a un grupo alquilo recto o ramificado unido a un oxígeno (alquil-O-). Los grupos alcoxi de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, alcoxi de 1-6 o 2-6 átomos de carbono, denominados en la presente alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y alcoxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, respectivamente. Los grupos alcoxi de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, metoxi, etoxi, isopropoxi, etc.

El término “alqueniloxi” usado en la presente se refiere a un grupo alquenilo recto o ramificado unido a un oxígeno (alquenil-O-). Los grupos alquenoxi de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, grupos con un grupo alquenilo de 3-6 átomos de carbono (también denominados, por ejemplo, alqueniloxi C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Los grupos “alquenoxi” de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, aliloxi, buteniloxi, etc.

5 El término “alquiniloxi” utilizado en la presente se refiere a un grupo alquinilo recto o ramificado unido a un oxígeno (alquinil-O-). Los grupos alquiniloxi de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, alquiniloxi C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, por ejemplo, propiniloxi.

10 El término “alquilo”, como se usa en la presente, se refiere a un hidrocarburo recto o ramificado saturado, tal como un grupo recto o ramificado de 1-6, 1-4 o 1-3 átomos de carbono, denominado en la presente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, respectivamente. Los grupos alquilo de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, 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.

15 El término “haloalquilo”, tal como se usa en la presente, se refiere a un grupo alquilo recto o ramificado saturado, en el cual uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplazan con uno o más halógenos seleccionados independientemente. El término “haloalquilo” comprende grupos alquilo en los cuales todos los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplazan independientemente con halógenos seleccionados (a veces denominados grupos “perhalo” alquilo). Los grupos haloalquilo de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, CH<sub>2</sub>F, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl, CF<sub>3</sub>, CHFCH<sub>2</sub>Cl.

20

El término “alquinilo”, tal como se usa en la presente, se refiere a un hidrocarburo recto o ramificado insaturado que tiene al menos un enlace triple carbono-carbono, tal como un grupo recto o ramificado de 2-6 o 3-6 átomos de carbono, denominado en la presente alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alquinilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, respectivamente. Los grupos alquinilo de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, metilpropinilo, etc.

25

El término “cicloalquilo puenteado”, tal como se usa en la presente, se define como un grupo cicloalquilo de 4 a 7 miembros monocíclico en el cual dos átomos no adyacentes están unidos por un grupo CH<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>. Un “cicloalquilo puenteado” puede estar fusionado a uno o más anillos de fenilo, parcialmente insaturados o saturados. Los ejemplos de grupos carbocíclicos puenteados incluyen, de modo no taxativo, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[2.2.2]octeno, etc.

30

El término “carbonilo”, tal como se usa en la presente, se refiere al radical -C(O)-. El término “ciano”, tal como se usa en la presente, se refiere al radical -CN. El término “nitro” se refiere al radical -NO<sub>2</sub>. El término “H” se refiere a hidrógeno.

35

El término “cicloalcoxi”, tal como se usa en la presente, se refiere a un grupo cicloalquilo unido a un oxígeno (cicloalquil-O-).

40

El término “cicloalquilo”, tal como se usa en la presente, se refiere a un grupo hidrocarburo saturado o parcialmente insaturado monocíclico de, por ejemplo, 3-6 o 4-6 carbonos, denominado en la presente, por ejemplo, “cicloalquilo C<sub>3-6</sub>” o “cicloalquilo C<sub>4-6</sub>”, y derivado de un cicloalcano. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, de modo no taxativo, ciclohexano, ciclohexeno, ciclopentano, ciclobutano, ciclopropano o ciclopentano.

45

Los términos “halo” o “halógeno”, tal como se usan en la presente, se refieren a F, Cl, Br o I.

El término “heteroarilo”, tal como se usa en la presente, se refiere a un sistema de anillo de 4-6 miembros aromático monocíclico que contiene uno o más heteroátomos, por ejemplo, uno a tres heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Cuando sea posible, dicho anillo de heteroarilo puede estar unido al radical adyacente a través de carbono o nitrógeno. Los ejemplos de anillos de heteroarilo incluyen, de modo no taxativo, furano, tiofeno, pirrol, tiazol, oxazol, isotiazol, isoxazol, imidazol, pirazol, triazol, piridina y pirimidina.

50

Los términos “heterociclilo” o “grupo heterocíclico” son reconocidos en la técnica y se refieren a estructuras de anillos de 4-7 miembros saturados o parcialmente insaturados, cuyas estructuras de anillos incluyen uno a tres heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Un “heterociclo” puede estar fusionado a uno o más anillos de fenilo, parcialmente insaturados o saturados. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, de modo no taxativo, pirrolidina, piperidina, morfolina, tiomorfolina y piperazina.

55

El término “heterociclilalcoxi”, tal como se usa en la presente, se refiere a un grupo heterociclil-alquil-O-.

60

El término “heterocicliloxialquilo” se refiere a un grupo heterociclil-O-alquilo-.

El término “heterocicloxi” se refiere a un grupo heterociclil-O-. El término “cicloalquiloxi” se refiere a un grupo cicloalquil-O-.

65

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

Los términos “hidroxi” e “hidroxilo”, como se usan en la presente, se refieren al radical -OH.

5 El término “oxo”, tal como se usa en la presente, se refiere al radical =O.

El término “grupo protector de nitrógeno” o “grupo protector de amino” es reconocido en la técnica y, como se usa en la presente, se refiere a una fracción química que está unida de forma covalente a un átomo de nitrógeno de un grupo amino (primario o secundario) y que bloquea temporalmente la reactividad del grupo amino durante una etapa sintética y se elimina de forma selectiva una vez que se completa la etapa sintética. Los grupos protectores de nitrógeno incluyen, por ejemplo, 9-Fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), ter-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 definen en la presente.

Tal como se utiliza en la presente divulgación, el término “agonista del receptor NMDA parcial” generalmente se refiere a un compuesto que es capaz de unirse a un sitio de unión a glicina de un receptor NMDA; a concentraciones bajas, un agonista del receptor NMDA actúa sustancialmente como agonista y a concentraciones altas actúa sustancialmente como un antagonista. Estas concentraciones se determinan de manera experimental para todos y cada uno de los “agonistas parciales”.

“Farmacéuticamente o farmacológicamente aceptable” incluye entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica o inapropiada de otro tipo al administrarse a un animal o un ser humano, según corresponda. Para la administración a un ser humano, las preparaciones deben cumplir con las normas de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza, según los requisitos de la Oficina de Normas Biológicas de la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos, por sus siglas en inglés).

El término “portador farmacéuticamente aceptable” o “excipiente farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en la presente, se refiere a cualquier solvente, medio de dispersión, recubrimiento, agente isotónico y retardante de absorción y similar, que sea compatible con la administración farmacéutica. El uso de dichos medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la técnica. Las composiciones también pueden contener otros compuestos activos que proporcionen funciones terapéuticas complementarias, adicionales o potenciadas.

El término “composición farmacéutica”, tal como se usa en la presente, se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto divulgado en la presente formulado junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

“Individuo”, “paciente” o “sujeto” se utilizan indistintamente e incluyen cualquier animal, incluidos mamíferos, preferentemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado, ovejas, caballos o primates, y con mayor preferencia humanos. Los compuestos de la invención se pueden administrar a un mamífero, tal como un humano, pero también se pueden administrar a otros mamíferos, tal como a 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, cobayos y similares). Es deseable que el mamífero tratado en los métodos de la invención sea un mamífero en el que se desee el tratamiento, por ejemplo, de dolor o depresión. La “modulación” incluye el antagonismo (por ejemplo, la inhibición), el agonismo, el antagonismo parcial y/o el agonismo parcial.

En la presente memoria descriptiva, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” significa la cantidad del compuesto objeto que producirá la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que busca el investigador, veterinario, doctor u otro médico clínico. Los compuestos de la invención se administran en cantidades terapéuticamente eficaces para tratar una enfermedad. De manera alternativa, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto es la cantidad requerida para lograr un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado, tal como una cantidad que da como resultado una disminución en un síntoma de depresión.

El término “sal/es farmacéuticamente aceptable/s”, tal como se usa en la presente, se refiere a sales de grupos ácidos o básicos que pueden estar presentes en los compuestos utilizados en las composiciones de la presente. Los compuestos incluidos en las composiciones de la presente que son de carácter básico son capaces de formar una amplia variedad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que pueden utilizarse para preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos básicos son aquellos que forman sales de adición de ácido no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, incluyendo, de modo no taxativo, sales de malato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (esto es, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Los compuestos incluidos en las composiciones de la presente que son de

carácter ácido son capaces de formar sales de base con diversos cationes farmacológicamente aceptables. Los ejemplos de estas sales incluyen sales de metales alcalinos o metales alcalinotérreos y, en particular, sales de calcio, magnesio, sodio, litio, zinc, potasio y hierro. Los compuestos incluidos en las composiciones de la presente que incluyen una fracción básica o ácida también pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con diversos aminoácidos. Los compuestos de la divulgación pueden contener grupos tanto ácidos como básicos; por ejemplo, un grupo ácido carboxílico y uno amino. En este caso, el compuesto puede existir como una sale de adición de ácido, un zwitterión o una sal de base.

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

Los compuestos de la divulgación pueden contener uno o más centros quirales y/o enlaces dobles y, por lo tanto, existir como isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. Los enantiómeros y diastereómeros pueden designarse con los símbolos "(+)", "(-)", "R" o "S", dependiendo de la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono estereogénico, pero el experto en la técnica reconocerá que una estructura puede denotar un centro quiral de manera implícita. Los isómeros geométricos, que resultan de la disposición de los sustituyentes alrededor de un enlace doble carbono-carbono o la disposición de los sustituyentes alrededor de un anillo heterocíclico o cicloalquilo, también pueden existir en el compuesto de la presente invención. El símbolo  $\text{---}\text{---}\text{---}$  denota un enlace que puede ser un enlace simple, doble o triple, como se describe en la presente. Los sustituyentes alrededor de un enlace doble carbono-carbono se designan como de configuración "Z" o "E", donde los términos "Z" y "E" se utilizan de acuerdo con las normas IUPAC. A menos que se especifique lo contrario, las estructuras que representan enlaces dobles comprenden los isómeros tanto "E" como "Z". Los sustituyentes alrededor de un enlace doble carbono-carbono pueden denominarse alternativamente "cis" o "trans", donde "cis" representa los sustituyentes en el mismo lado que el enlace doble y "trans" representa los sustituyentes en los lados contrarios al enlace doble. La disposición de los sustituyentes alrededor de un anillo carbocíclico también puede designarse "cis" o "trans". El término "cis" representa los sustituyentes en el mismo lado que el plano del anillo y el término "trans" representa los sustituyentes en los lados contrarios al plano del anillo. Las mezclas de compuestos donde los sustituyentes están dispuestos tanto en el mismo lado como en lados contrarios al plano del anillo se designan "cis/trans".

El término "estereoisómeros", cuando se usa en la presente, consta de todos los isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. La presente invención comprende diversos estereoisómeros de estos compuestos y mezclas de estos.

Los enantiómeros y diastereómeros individuales de los compuestos de la presente invención se pueden preparar de forma sintética a partir de materiales de partida comercialmente disponibles que contengan centros asimétricos o estereogénicos, o mediante la preparación de mezclas racémicas seguida de métodos de resolución conocidos por los expertos en la técnica. Estos métodos de resolución se ejemplifican mediante (1) la unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, la separación de la mezcla de diastereómeros resultante mediante recristalización o cromatografía y la liberación del producto ópticamente puro del auxiliar, (2) la formación de sales usando un agente de resolución ópticamente activo, (3) la separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos en columnas cromatográficas líquidas quirales o (4) la resolución cinética usando reactivos químicos o enzimáticos estereoselectivos. Las mezclas racémicas también pueden resolverse para obtener sus enantiómeros componentes mediante métodos conocidos, tales como cromatografía de gases de fase quiral o la cristalización del compuesto en un solvente quiral. Las síntesis estereoselectivas, una reacción química o enzimática en la cual un único reactivo forma una mezcla no equitativa de estereoisómeros durante la creación de un nuevo estero-centro o durante la transformación de uno preexistente, se conocen en la técnica. Las síntesis estereoselectivas comprenden transformaciones tanto enantioselectivas como diastereoselectivas. Para obtener ejemplos, véase Carreira y Kvaerno, *Classics in Stereoselective Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, 2009.

Los compuestos divulgados en la presente pueden existir en formas tanto solvatadas como no solvatadas con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares, y se pretende que la invención comprenda formas tanto solvatadas como no solvatadas. En una realización, el compuesto es amorfo. En una realización, el compuesto es un polimorfo simple. En otra realización, el compuesto es una mezcla de polimorfos. En otra realización, el compuesto está en forma cristalina.

La invención también comprende compuestos de la invención etiquetados isotópicamente que son idénticos a los descritos en la presente, excepto que uno o más átomos se reemplazan con un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o el número de masa que se encuentra normalmente en la

naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  y  $^{36}\text{Cl}$ , respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede tener uno o más átomos de H reemplazados con deuterio.

Algunos compuestos divulgados etiquetados isotópicamente (por ejemplo, los etiquetados con  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ ) son útiles en los ensayos de distribución tisular de compuestos y/o sustratos. Los isótopos tritiados (es decir,  $^3\text{H}$ ) y carbono-14 (es decir,  $^{14}\text{C}$ ) se prefieren en particular por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (es decir,  $^2\text{H}$ ) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, vida media in vivo aumentada o requisitos de dosificación disminuidos) y, por ende, pueden preferirse en algunas circunstancias. Los compuestos de la invención isotópicamente rotulados generalmente pueden prepararse siguiendo procedimientos análogos a los divulgados, por ejemplo, en los Ejemplos de la presente, sustituyendo un reactivo etiquetado no isotópicamente con un reactivo etiquetado isotópicamente.

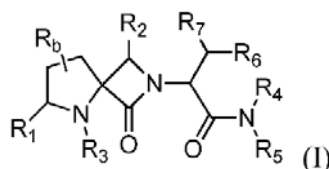
El término "profármaco" se refiere a los compuestos que se transforman in vivo para producir un compuesto divulgado o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto. La transformación puede ocurrir por diversos mecanismos (tal como por esterasa, amidasa, fosfatasa, metabolismo oxidativo y/o reductivo) en diversas ubicaciones (tal como en el lumen intestinal o luego del tránsito por el intestino, la sangre o el hígado). Los profármacos son conocidos en la técnica (por ejemplo, véase Rautio, Kumpulainen, et al., *Nature Reviews Drug Discovery* 2008, 7, 255). Por ejemplo, si un compuesto de la invención o una sal, hidrato o salvato farmacéuticamente aceptable del compuesto contiene un grupo funcional de ácido carboxílico, un profármaco puede comprender un éster formado por el remplazo del átomo de hidrógeno del grupo ácido con un grupo tal como alquilo ( $\text{C}_1\text{-C}_8$ ), alcanoiloximetilo ( $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ ), 1-(alcanoiloxi)etilo con 4 a 9 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcanoiloxi)-etilo con 5 a 10 átomos de carbono, alcóxicarboniloximetilo con 3 a 6 átomos de carbono, 1-(alcóxicarboniloxi)etilo con 4 a 7 átomos de carbono, 1-metil-1-(alcóxicarboniloxi)etilo con 5 a 8 átomos de carbono, N-(alcóxicarbonil)aminometilo con 3 a 9 átomos de carbono, 1-(N-(alcóxicarbonil)amino)etilo con 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  $\beta$ -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 piperidino-, pirrolidino- o morfolinoalquilo ( $\text{C}_2\text{-C}_3$ ).

De modo similar, si un compuesto de la invención contiene un grupo funcional de alcohol, puede formarse un profármaco mediante el remplazo del átomo de hidrógeno del grupo de 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 alcóxicarboniloximetilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ), N-alcóxicarbonilaminometilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ), succinoilo, alcanóilo ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ ),  $\alpha$ -aminoalcanóilo ( $\text{C}_1\text{-C}_4$ ), arilacilo y  $\alpha$ -aminoacilo o  $\alpha$ -aminoacil- $\alpha$ -aminoacilo, donde cada grupo  $\alpha$ -aminoacilo se selecciona independientemente de los L-aminoácidos de origen natural,  $\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ ,  $-\text{P}(\text{O})(\text{O-alquilo}(\text{C}_1\text{-C}_6))_2$  o glicosilo (el radical que resulta de la eliminación de un grupo hidroxilo de la forma de hemiacetal de un carbohidrato).

Si un compuesto de la invención incorpora un grupo funcional de amina, un profármaco puede formarse, por ejemplo, mediante la creación de una amida o carbamato, un derivado de N-acilalquilo, un derivado de (oxidioxolenil)metilo, una base de N-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 obtener ejemplos, véase Simplício, et al., *Molecules* 2008, 13, 519 y las referencias allí contenidas.

#### Compuestos

Los compuestos divulgados incluyen los representados por la fórmula:



y sus sales, estereoisómeros y N-óxidos farmacéuticamente aceptables, donde

$R_b$  se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$  (por ejemplo, H);

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

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



## ES 2 734 405 T3

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y un grupo protector de nitrógeno;

en donde el grupo protector de nitrógeno se selecciona del grupo que consiste en 9-fluorenilmetiloxycarbonilo, tert-butoxicarbonilo, carbobenciloxycarbonilo, p-metoxibenciloxycarbonilo, acetilo, trifluoroacetilo, benzoilo, bencilo, p-metoxibencilo, p-metoxifenilo, 3,4-dimetoxibencilo, trifenilmetilo, p-toluenosulfonilo, -C(O)OR<sub>31</sub> y -C(O)R<sub>32</sub>; donde

R<sub>31</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, CH<sub>2</sub>-cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, -CH<sub>2</sub>-fenilo y -CH<sub>2</sub>-piridilo, en donde cualquier cicloalquilo mencionado anteriormente está opcionalmente sustituido con 1-3 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> seleccionado independientemente, y en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>;

R<sub>32</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, fenilo y piridilo, en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>;

cada uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>,

X y -alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X, donde X se selecciona del grupo que consiste en:

(i) cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>;

(ii) heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S

(iii) heterociclilo que incluye de 3 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y

(iv) fenilo;

donde cada uno del cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> y el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R', donde R' se selecciona independientemente para cada instancia de H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y cada uno del heteroarilo y el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R';

o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> junto con el nitrógeno al que están unidos forman:

heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos en el anillo; donde el heterociclilo incluye no más de dos heteroátomos en el anillo (incluyendo el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y el segundo heteroátomo en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'; o

heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo; donde el heteroarilo no incluye más de cuatro heteroátomos en el anillo (incluido el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y cada heteroátomo adicional en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el heteroarilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R';

R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en -OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)fenilo y -N(R')R'; y

R' se selecciona independientemente para cada aparición entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

R<sub>7</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

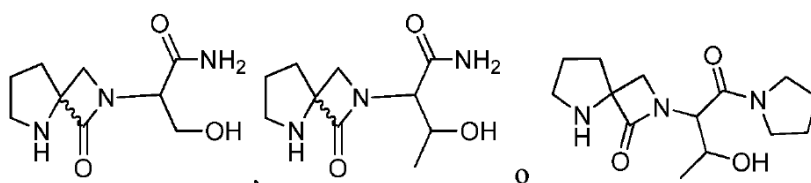
En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H. En otras realizaciones, R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, por ejemplo, CH<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es H. En otras realizaciones, R<sub>2</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, por ejemplo, CH<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, R<sub>3</sub> es H.

En algunas realizaciones, R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno. En algunas realizaciones, R<sub>3</sub> tiene la fórmula -C(O)OR<sub>31</sub>, donde R<sub>31</sub> se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>; alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>; cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, donde el cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> está opcionalmente sustituido con 1-3 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> seleccionados independientemente; -CH<sub>2</sub>-cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> donde el cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> está opcionalmente

- 5 sustituido con 1-3 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> independientemente sustituidos; -CH<sub>2</sub>-fenilo, donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>; y -CH<sub>2</sub>-piridilo. En determinadas realizaciones, R<sub>31</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> (por ejemplo, ter-butilo). En otras realizaciones, R<sub>3</sub> tiene la fórmula -C(O)R<sub>32</sub>, donde R<sub>32</sub> se selecciona del grupo que consiste en: H; alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; fenilo, donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>; haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>; alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>; haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>; nitro; halo; SO<sub>2</sub>Me, ciano; y -OC(O)CH<sub>3</sub>; y piridilo. En determinadas realizaciones, R<sub>32</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> (por ejemplo, -CH<sub>3</sub> o iso-propilo).
- 10 En algunas realizaciones, cada uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, X y -alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X. En determinadas realizaciones, cada uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En otras realizaciones, cada uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H y -alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X. En determinadas realizaciones, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H. En otras realizaciones, uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> es H, y el otro es -alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X. En algunas de estas realizaciones, los compuestos pueden incluir una o ambas (por ejemplo, ambas) de las siguientes características: (i) -alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X es -CH<sub>2</sub>-X; y (ii) X es fenilo o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; cada uno opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'.
- 15 En otras realizaciones, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo heterocíclico o heteroarilo como se definió anteriormente y en cualquier parte de la presente. En determinadas realizaciones, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo heterocíclico, por ejemplo, un anillo seleccionado del grupo que consiste en azetidinio, pirrolidinilo, pirazolidinilo, isooxazolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo e isotiazolidinilo. En una realización particular, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo de pirrolidinilo. En determinadas realizaciones, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo heteroarilo, por ejemplo, un anillo seleccionado del grupo que consiste en imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, piridinilo, diazinilo, oxazinilo y tiazinilo.
- 20 En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H; R<sub>2</sub> es H; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo de pirrolidina. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H; R<sub>2</sub> es H; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo de pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es H; y uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> es H y el otro es -CH<sub>2</sub>-X, donde X es fenilo o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; cada uno opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno (por ejemplo, -C(O)OR<sub>31</sub> o -C(O)R<sub>32</sub>); y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados en conjunto forman un anillo de pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno (por ejemplo, -C(O)OR<sub>31</sub> o -C(O)R<sub>32</sub>); y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno (por ejemplo, -C(O)OR<sub>31</sub> o -C(O)R<sub>32</sub>); y uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> es H y el otro es -CH<sub>2</sub>-X, donde X es fenilo o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; cada uno opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'.
- 25 En algunas realizaciones (incluida cualquiera de las realizaciones anteriores descritas en lo que antecede), R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en -OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -OC(O)fenilo. En determinadas realizaciones (incluida cualquiera de las realizaciones anteriores descritas en lo que antecede), R<sub>6</sub> es -OH. En otras realizaciones (incluida cualquiera de las realizaciones anteriores descritas en lo que antecede), R<sub>6</sub> es -NH<sub>2</sub>. En algunas realizaciones (incluida cualquiera de las realizaciones anteriores descritas en lo que antecede), R<sub>7</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, por ejemplo, CH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones (incluida cualquiera de las realizaciones anteriores descritas en lo que antecede), R<sub>6</sub> es -OH o -NH<sub>2</sub>, y R<sub>7</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, por ejemplo, CH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones (incluida cualquiera de las realizaciones anteriores descritas en lo que antecede), R<sub>b</sub> es H.
- 30 En algunas realizaciones, el compuesto se selecciona de los compuestos descritos en la Tabla 1 y/o los Ejemplos. En determinadas realizaciones, un compuesto divulgado incluye uno que tiene la fórmula:
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55



Los compuestos de la presente divulgación y las formulaciones de estos pueden tener una multiplicidad 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 relación R:S de entre alrededor de 100:0 y alrededor de 50:50, entre alrededor de 100:0 y alrededor de 75:25, entre alrededor de 100:0 y alrededor de 85:15, entre alrededor de 100:0 y alrededor de 90:10, entre alrededor de 100:0 y alrededor de 95:5, entre alrededor de 100:0 y alrededor de 98:2, entre alrededor de 100:0 y alrededor de 99:1, entre alrededor de 0:100 y 50:50, entre alrededor de 0:100 y alrededor de 25:75, entre alrededor de 0:100 y alrededor de 15:85, entre alrededor de 0:100 y alrededor de 10:90, entre alrededor de 0:100 y alrededor de 5:95, entre alrededor de 0:100 y alrededor de 2:98, entre alrededor de 0:100 y alrededor de 1:99, entre alrededor de 75:25 y 25:75, y alrededor de 50:50. Las formulaciones de los compuestos divulgados que comprenden una mayor relación de uno o más isómeros (es decir, R y/o S) pueden tener características terapéuticas potenciadas con relación a las formulaciones racémicas de un compuesto o mezcla de compuestos divulgados. En algunos casos, las fórmulas químicas contienen el descriptor “-(R)-” o “-(S)-” que está unido adicionalmente a una cuña continua o cuña punteada. Este descriptor pretende mostrar un carbono metino (CH) que está unido a tres otros sustituyentes y tiene cualquiera de las configuraciones R o S indicadas (véase, por ejemplo, la Tabla 1).

Los compuestos divulgados pueden proporcionar una apertura eficaz del canal catiónico en el receptor NMDA, por ejemplo, pueden unirse o asociarse con el sitio de glutamato del receptor NMDA para asistir en la apertura del canal catiónico. Los compuestos divulgados pueden usarse para regular (activar o desactivar) el receptor NMDA a través de la acción como un agonista.

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

Los compuestos divulgados pueden exhibir un alto índice terapéutico. El índice terapéutico, tal como se usa en la presente, se refiere a la relación de la dosis que produce una toxicidad en el 50 % de la población (esto es,  $TD_{50}$ ) con respecto a la dosis eficaz mínima para el 50 % de la población (esto es,  $ED_{50}$ ). Por lo tanto, el índice terapéutico =  $(TD_{50})/(ED_{50})$ . En algunas realizaciones, un compuesto divulgado puede tener un índice terapéutico de al menos alrededor de 10:1, al menos alrededor de 50:1, al menos alrededor de 100:1, al menos alrededor de 200:1, al menos alrededor de 500:1 o al menos alrededor de 1000:1.

#### Composiciones

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

Las formulaciones contempladas pueden prepararse en cualquiera de una variedad de formas para su uso. A modo de ejemplo no taxativo, los compuestos pueden prepararse en una formulación adecuada para administración oral, inyección subcutánea u otros métodos para administrarle un agente activo a un animal conocidos en la técnica farmacéutica.

Las cantidades de un compuesto divulgado como se describe en la presente en una formulación pueden variar de acuerdo con factores tales como el estado patológico, la edad, el sexo y el peso del individuo. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se puede administrar un único bolo, se pueden administrar varios bolos divididos en el tiempo o la dosis puede disminuirse o aumentarse proporcionalmente según indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en forma de dosis unitarias por su facilidad de administración y uniformidad de las dosis. Forma de dosis unitarias, tal como se usa en la presente, hace referencia a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los sujetos mamíferos a tratar, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido.

Las especificaciones para las formas de dosis unitarias de la invención están dictadas y dependen directamente de (a) las características únicas del compuesto seleccionado y el efecto terapéutico particular a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de la fabricación de comprimidos de un compuesto activo de este tipo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

Las composiciones terapéuticas generalmente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una concentración alta de fármaco. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de estos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retarde la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

Los compuestos pueden administrarse en una formulación de liberación controlada, por ejemplo, en una composición que incluya un polímero de liberación lenta. Los compuestos pueden prepararse con portadores que protegerán el compuesto de la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, lo que incluye implantes y sistemas de liberación microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como etilvinilacetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, ácido poliláctico y copolímeros polilácticos poliglicólicos (PLG). Muchos de los métodos para la preparación de dichas formulaciones son generalmente conocidos por los expertos en la técnica.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto en la cantidad requerida en un solvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son el secado al vacío y la liofilización que proporciona un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución de estos esterilizada por filtración previamente.

De acuerdo con un aspecto alternativo de la invención, un compuesto puede formularse con uno o más compuestos adicionales que potencien la solubilidad del compuesto.

#### Métodos

Se proporcionan métodos para tratar una afección en un paciente que lo necesita mediante la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente. En algunas realizaciones, la afección puede ser una afección mental. Por ejemplo, se puede tratar una enfermedad mental. En otro aspecto, se puede tratar una afección del sistema nervioso. Por ejemplo, se puede tratar una afección que afecte el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico y/o los ojos. En algunas realizaciones, se pueden tratar enfermedades neurodegenerativas.

Los métodos incluyen administrar un compuesto para tratar pacientes que padecen de autismo, ansiedad, depresión, trastorno bipolar, trastorno por déficit de atención, trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), esquizofrenia, un trastorno psicótico, un síntoma psicótico, aislamiento social, trastorno obsesivo-compulsivo (TOC), fobia, síndrome de estrés postraumático, un trastorno del comportamiento, un trastorno de control de impulsos, un trastorno de abuso de sustancias (por ejemplo, un síntoma de abstinencia, adicción a opioides, adicción a la nicotina y adicción al etanol), un trastorno del sueño, un trastorno de la memoria (por ejemplo, un déficit, una pérdida o la capacidad reducida de crear recuerdos nuevos), un trastorno de aprendizaje, incontinencia urinaria, atrofia multisistémica, parálisis supranuclear progresiva, ataxia de Friedreich, síndrome de Down, síndrome del X frágil, esclerosis tuberosa, atrofia olivopontocerebelosa, parálisis cerebral, neuritis óptica inducida por fármacos, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, glaucoma, demencia, demencia relacionada con el SIDA, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, espasticidad, mioclono, espasmo muscular, síndrome de Tourette, epilepsia, isquemia cerebral, accidente cerebrovascular, un tumor cerebral, lesión cerebral traumática, paro cardíaco, mielopatía, lesión de la médula espinal, neuropatía periférica, dolor neuropático agudo y neuropático crónico.

Se describen métodos para tratar un trastorno de la memoria asociado con el envejecimiento, esquizofrenia, trastornos de aprendizaje especiales, ataques, convulsiones posteriores al accidente cerebrovascular, isquemia cerebral, hipoglicemia, paro cardíaco, epilepsia, migraña, demencia relacionada con el SIDA, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer en etapa temprana y enfermedad de Alzheimer.

Se describen métodos para tratar la esquizofrenia. Por ejemplo, pueden tratarse la esquizofrenia de tipo paranoide, la esquizofrenia de tipo desorganizado (es decir, esquizofrenia hebefrénica), la esquizofrenia de tipo catatónico, la esquizofrenia de tipo no diferenciado, la esquizofrenia de tipo residual, la depresión posterior al episodio esquizofrénico y la esquizofrenia simple usando los métodos y las composiciones que se contemplan en la presente. También pueden tratarse trastornos psicóticos tales como trastornos esquizoafectivos, trastornos delusivos, trastornos psicóticos breves, trastornos psicóticos compartidos y trastornos psicóticos con delirios o alucinaciones usando las composiciones contempladas en la presente.

La esquizofrenia paranoide puede estar caracterizada por la presencia de delirios o alucinaciones auditivas, pero la ausencia de trastornos del pensamiento, comportamiento desorganizado o aplanamiento afectivo. Los delirios pueden ser de persecución y/o de grandeza, pero además de estos puede haber otros temas presentes, tales como celos, religiosidad o somatización. La esquizofrenia de tipo desorganizado puede estar caracterizada por la presencia conjunta de trastornos del pensamiento y aplanamiento afectivo. La esquizofrenia de tipo catatónico puede estar caracterizada porque el paciente queda casi inmóvil o muestra movimientos agitados sin razón. Los síntomas pueden incluir estupor catatónico y flexibilidad cérica. La esquizofrenia de tipo no diferenciado puede estar caracterizada por la presencia de síntomas psicóticos, pero sin cumplir con los criterios de los tipos paranoide, desorganizado o catatónico. La esquizofrenia de tipo residual puede estar caracterizada por la presencia de síntomas positivos a una intensidad baja solamente. La depresión posterior al episodio esquizofrénico puede caracterizarse por un episodio depresivo que aparece como resultado de una enfermedad esquizofrénica donde aún pueden estar presentes algunos síntomas esquizofrénicos de bajo nivel. La esquizofrenia simple puede estar caracterizada por un desarrollo insidioso y progresivo de síntomas negativos prominentes sin antecedentes de episodios psicóticos.

Se describen métodos para tratar síntomas psicóticos que pueden estar presentes en otros trastornos mentales, incluyendo, de modo no taxativo, trastorno bipolar, trastorno límite de la personalidad, intoxicación por drogas y psicosis inducida por fármacos. Se describen métodos para tratar delirios (por ejemplo, "no bizarros") que pueden estar presentes, por ejemplo, en el trastorno delirante.

También se describen métodos para tratar el aislamiento social en afecciones que incluyen, de modo no taxativo, trastorno de ansiedad social, trastorno de personalidad por evitación y trastorno de personalidad esquizotípico.

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

Otros métodos descritos incluyen un método para tratar el autismo y/o un trastorno del espectro autista en un paciente que lo necesita, que comprende administrarle una cantidad eficaz de un compuesto al paciente. En una realización, se contempla un método para reducir los síntomas del autismo en un paciente que lo necesita, que comprende administrarle una cantidad eficaz de un compuesto divulgado al paciente. Por ejemplo, tras la administración, el compuesto puede disminuir la incidencia de uno o más síntomas del autismo tales como evitación del contacto visual, incapacidad de socializar, déficit de atención, mal humor, hiperactividad, sensibilidad anormal al sonido, habla inadecuada, sueño alterado y perseverancia. Dicha incidencia disminuida puede medirse con relación a la incidencia en el individuo sin tratar o uno o más individuos sin tratar.

En la presente también se describe un método de modular una expresión génica diana del autismo en una célula que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente. La expresión génica del autismo puede seleccionarse, por ejemplo, de ABAT, APOE, CHRNA4, GABRA5, GFAP, GRIN2A, PDYN y PENK. Se describe un método para modular la plasticidad sináptica en un paciente que padece de un trastorno relacionado con la plasticidad sináptica, que comprende administrarle al paciente una cantidad eficaz de un compuesto.

Se describe un método para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o, por ejemplo, el tratamiento de la pérdida de memoria que, por ejemplo, acompaña la enfermedad de Alzheimer en etapa temprana, en un paciente que lo necesita, que comprende administrar un compuesto. En la presente también se describe un método para modular una proteína amiloide del Alzheimer (por ejemplo, péptido beta amiloide, por ejemplo, la isoforma A $\beta$ <sub>1-42</sub>), in vitro o in vivo (por ejemplo, en una célula) que comprende poner en contacto la proteína con una cantidad eficaz de un compuesto. Por ejemplo, un compuesto puede bloquear la capacidad de dicha proteína amiloide de inhibir la potenciación a largo plazo en cortes de hipocampo, así como la muerte celular neuronal apoptótica. Un compuesto divulgado puede proporcionar propiedades neuroprotectoras a un paciente con Alzheimer que lo necesita, por ejemplo, puede proporcionar un efecto terapéutico en la muerte celular neuronal asociada con el Alzheimer en etapa tardía.

Se describe en la presente un método para tratar la depresión que comprende administrar un compuesto descrito en la presente. El tratamiento puede aliviar la depresión o un síntoma de la depresión sin afectar el comportamiento o la coordinación motora y sin inducir o promover la actividad de ataques. Los ejemplos de afecciones de depresión que se pretende tratar de acuerdo con este aspecto de la invención incluyen, de modo no taxativo, trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión psicótica, depresión posparto, síndrome premenstrual, trastorno disfórico premenstrual, trastorno afectivo estacional (TAE), trastorno bipolar (o trastorno maníaco depresivo), trastorno del estado de ánimo y depresiones causadas por afecciones médicas crónicas tales como cáncer o dolor crónico, quimioterapia, estrés crónico y trastornos de estrés postraumático. Además, los pacientes que padecen de cualquier

forma de depresión a menudo experimentan ansiedad. Diversos síntomas asociados con la ansiedad incluyen miedo, pánico, palpitaciones del corazón, falta de aire, fatiga, náuseas y dolores de cabeza, entre otros. La ansiedad o cualquiera de sus síntomas puede tratarse mediante la administración de un compuesto como se describe en la presente.

5 En la presente también se describen métodos para tratar una afección en pacientes resistentes al tratamiento, por ejemplo, pacientes que padecen una afección mental o del sistema nervioso central que no responde o no ha respondido a cursos adecuados de al menos uno o al menos dos de otros compuestos o agentes terapéuticos. Por ejemplo, en la presente se proporciona un método para tratar la depresión en un paciente resistente al tratamiento, que comprende a) opcionalmente identificar al paciente como resistente al tratamiento y b) administrarle una dosis eficaz de un compuesto a dicho paciente.

10 Un compuesto descrito en la presente puede usarse para el cuidado agudo de un paciente. Por ejemplo, puede administrarse un compuesto a un paciente para tratar un episodio particular (por ejemplo, un episodio grave) de una afección contemplada en la presente.

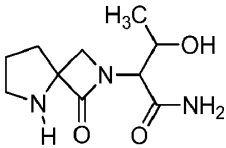
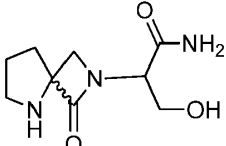
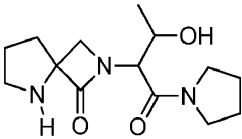
También se contemplan en la presente las terapias de combinación que comprenden un compuesto en combinación con uno o más de otros agentes activos. Por ejemplo, un compuesto puede combinarse con uno o más antidepresivos, tales como antidepresivos tricíclicos, IMAO, ISRS e inhibidores de la recaptación doble y triple y/o fármacos ansiolíticos. Los ejemplos de fármacos que pueden usarse 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, un compuesto puede combinarse con una medicación antipsicótica. Los ejemplos no taxativos de antipsicóticos incluyen butirofenonas, fenotiazinas, tioxantenos, clozapina, olanzapina, risperidona, quetiapina, ziprasidona, amisulprida, asenapina, paliperidona, iloperidona, zotepina, sertindol, lurasidona y aripiprazol. Ha de comprenderse que las combinaciones de un compuesto y uno o más de los agentes terapéuticos mencionados anteriormente pueden usarse para el tratamiento de cualquier afección adecuada y no están limitadas al uso como antidepresivos o antipsicóticos.

### 30 Ejemplos

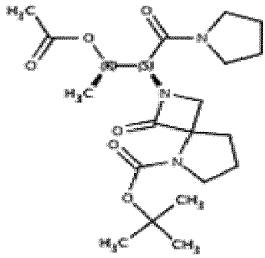
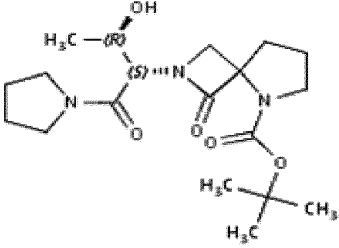
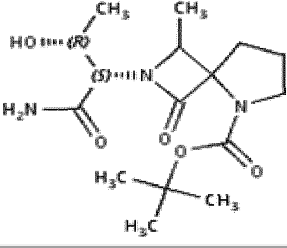
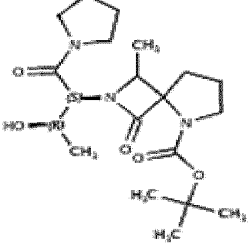
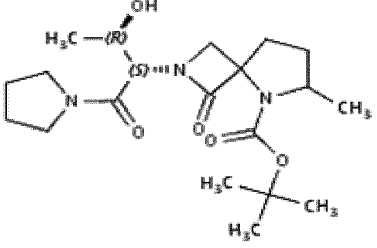
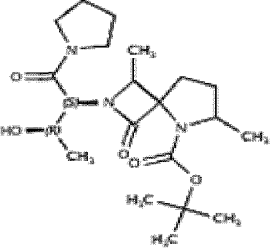
Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines meramente ilustrativos.

35 La Tabla 1 a continuación muestra algunos ejemplos de compuestos de la divulgación y proporciona las características fisicoquímicas de los compuestos. El compuesto 2S-FNL-5 se muestra como un compuesto de referencia.

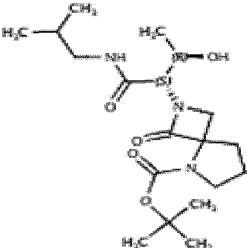
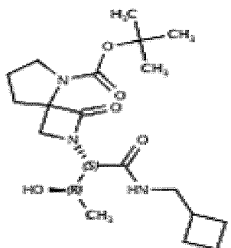
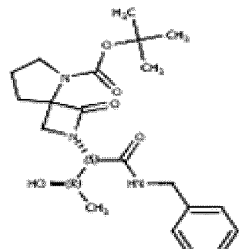
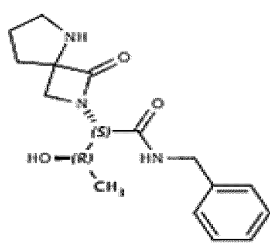
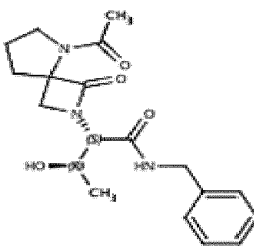
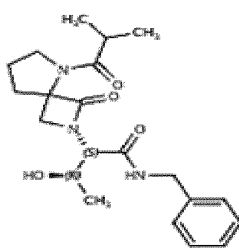
Tabla 1

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
Compuesto X		227	-1,94	96,7
Compuesto Y		213	-2,36	96,7
Compuesto Z		281	-1,09	72,9

ES 2 734 405 T3

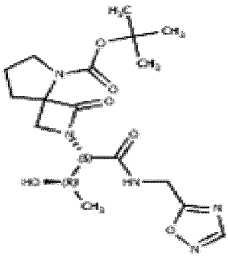
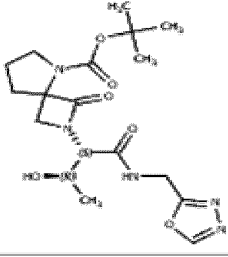
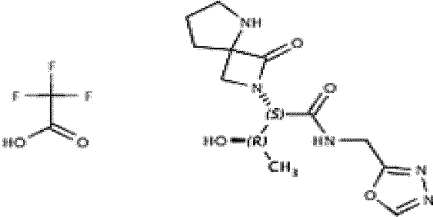
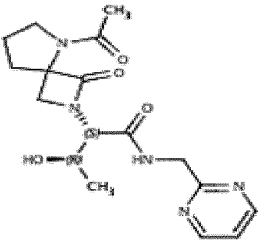
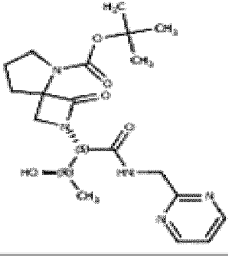
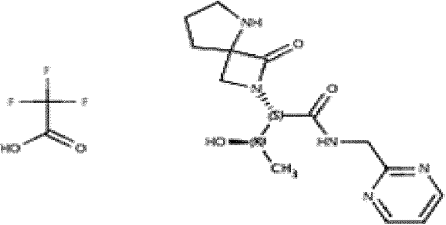
Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-19		423,5032	0,634639	96,46
2S-20		381,4665	0,193514	90,39
2S-21		341,4027	0,243061	113,17
2S-24		395,4931	0,610089	90,39
2S-27		395,4931	0,610089	90,39
2S-30		409,5197	1,02666	90,39

ES 2 734 405 T3

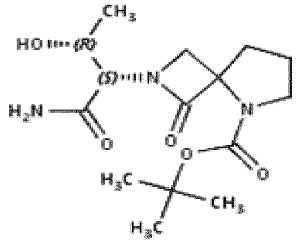
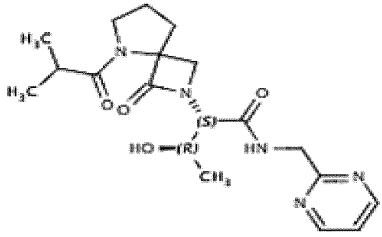
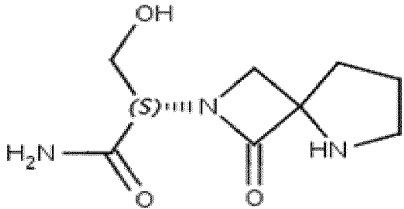
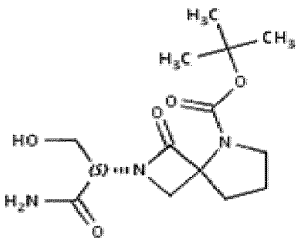
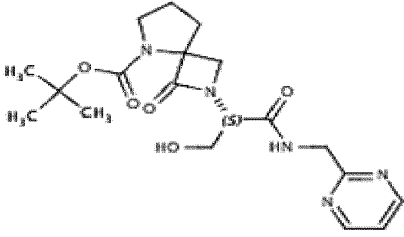
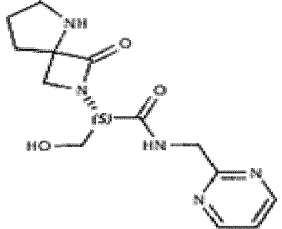
Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-8		383,4824	0,808343	99,18
2S-9		395,4931	0,789186	99,18
2S-FNL-10		417,4986	1,28851	99,18
2S-FNL-11		317,3828	0,005320 27	81,67
2S-FNL-12		359,4195	- 0,384737	89,95
2S-FNL-13		387,4727	0,858785	89,95



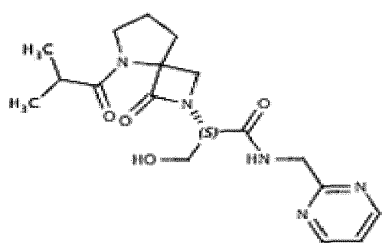
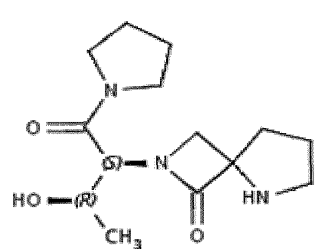
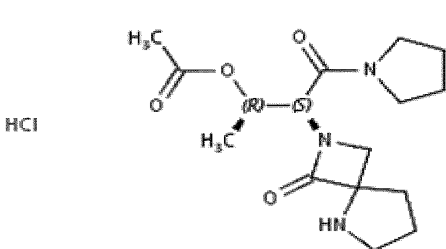
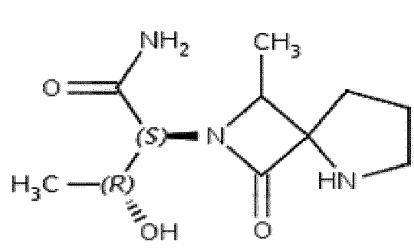
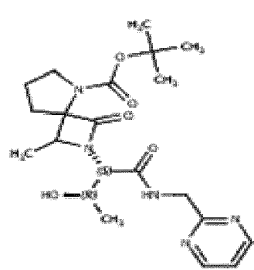
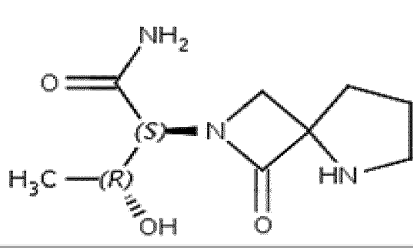
ES 2 734 405 T3

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-FNL-14		409,4369	-0,960294	138,1
2S-FNL-15		409,4369	-1,65688	138,1
2S-FNL-16		423,3444	-2,94007	120,59
2S-FNL-17		361,3956	-1,88186	115,73
2S-FNL-18		419,4748	-0,35934	124,96
2S-FNL-19		433,3823	-1,6029	107,45

ES 2 734 405 T3

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-FNL-2		327,3761	-0,659636	113,17
2S-FNL-20		389,4488	-0,696233	115,73
2S-FNL-21		213,2337	-2,3594	95,66
2S-FNL-22, 2S-16		313,3495	-1,07621	113,17
2S-FNL-23		405,4482	-0,769835	124,96
2S-FNL-24		305,3324	-2,01339	107,45

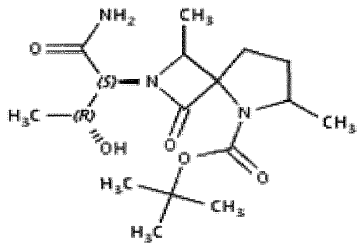
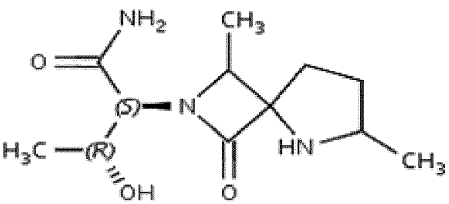
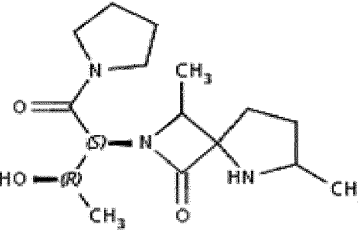
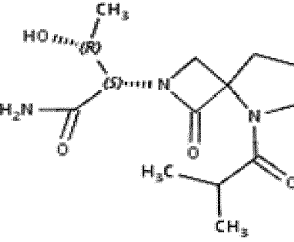
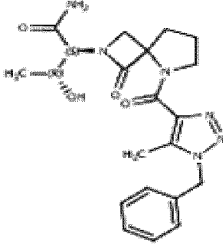
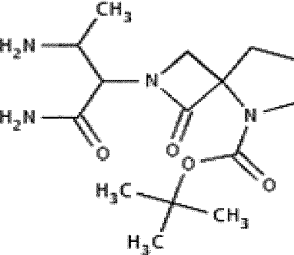
ES 2 734 405 T3

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-FNL-25		375,4222	-1,10673	115,73
2S-FNL-26		281,3507	-1,08968	72,88
2S-FNL-27		359,848	0,648554	78,95
2S-FNL-28		241,2869	-1,52625	95,66
2S-FNL-29		433,5013	0,051154 4	124,96
2S-FNL-3		227,2603	-1,94283	95,66

ES 2 734 405 T3

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-FNL-30		333,3855	-1,1924	107,45
2S-FNL-31		403,4754	0,285738	115,73
2S-FNL-32		295,3773	0,673104	72,88
2S-FNL-33		341,4027	0,243061	113,17
2S-FNL-34		241,2869	-1,52625	95,66
2S-FNL-35		295,3773	0,673104	72,88

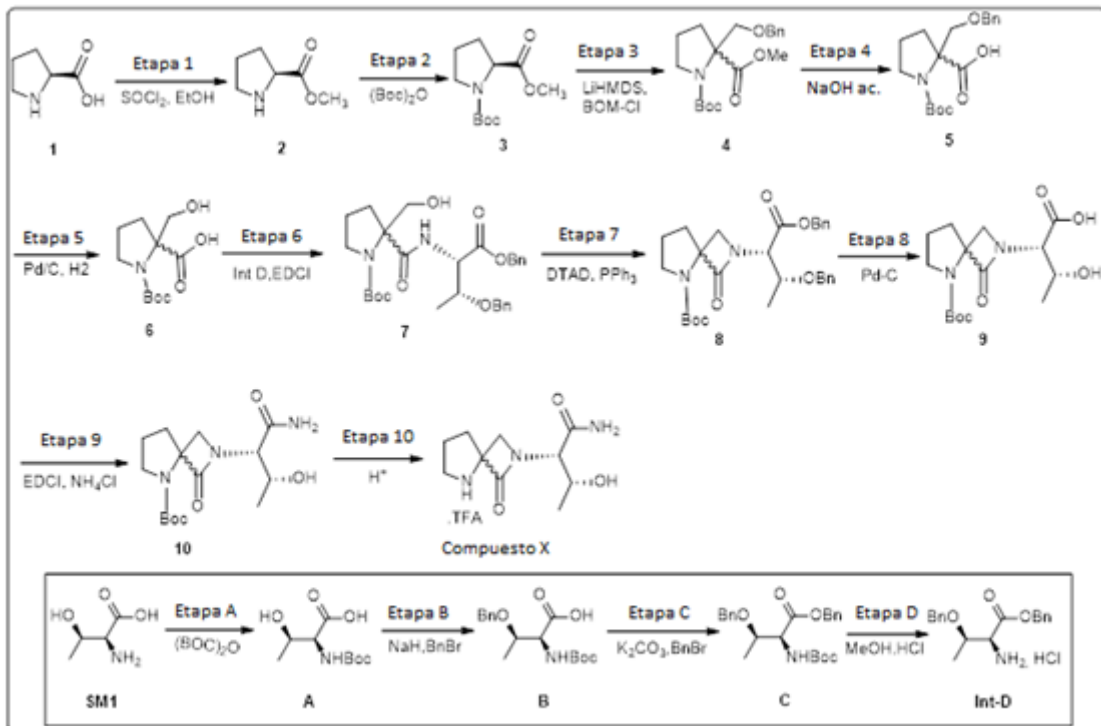
ES 2 734 405 T3

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-FNL-36		355,4293	0,173514	113,17
2S-FNL-37		255,3134	-1,10968	95,66
2S-FNL-38		309,4039	0,256529	72,88
2S-FNL-4		297,3501	-1,08936	103,94
2S-FNL-5		426,4689	0,121843	134,65
2S-FNL-6		326,3913	0,766518	118,96

Compuesto	Estructura	Peso molecular (Da)	cLogP	tPSA
2S-FNL-7	<p>HCl</p>	262,736	-2,04971	101,45
2S-FNL-8		397,3899	-0,47485	81,67
2S-FNL-9		409,4006	0,494007	81,67

Ejemplo 1 – Síntesis del compuesto X

Esquema 1.



Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-((ter-butoxicarbonil) amino)-3-hidroxi-butanoico (A)

A una solución agitada de L-treonina (SM1) (100 g, 0,84 mol) en 1,4-dioxano (500 mL) y agua (800 mL) se agregó  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (178 g, 1,67 mol) y se agitó a TA durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió Boc-anhídrido (219,6 g, 1,007 mol) por goteo y se continuó con la agitación durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y el residuo obtenido se neutralizó usando HCl 1N (pH~4). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). Los extractos orgánicos separados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar A (160 g, 87 %).

$^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  6,30 (d, 1H), 4,07-4,01 (m, 1H), 3,90 (d, 1H), 1,99 (s, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,09 (d, 3H).

LCMS (m/z): 218,1 [ $\text{M}^+-1$ ]

Síntesis de ácido (2S, 3R)-3-(benciloxi)-2-((ter-butoxicarbonil) amino) butanoico (B)

A una solución agitada de A (100 g, 0,45 mol) en DMF (600 mL) se añadió NaH al 60 % (36,5 g, 0,91 mol) en porciones a -20 °C en atmósfera de  $\text{N}_2$  y se agitó durante 2 h. A esto se agregó bromuro de bencilo (66,8 mL, 0,55 mol) por goteo y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua helada y se lavó con éter dietílico (2 x 250 mL). La capa acuosa separada se acidificó usando HCl 1N y se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener B (100 g, 71 %).

Síntesis de 3-(benciloxi)-2-((ter-butoxicarbonil) amino) butanoato de (2S, 3R)-bencilo (C)

A una solución agitada de B (100 g, 0,32 mol) en DMF (400 mL) se añadió  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (111,6 g, 0,81 mol) en atmósfera de  $\text{N}_2$  y se agitó durante 30 min. A esto se añadió bromuro de bencilo (47,4 mL, 0,38 mol) por goteo y se agitó a TA durante 12 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua helada y se extrajo con éter dietílico (2 x 250 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 5 % para obtener C (80 g, 62 %).

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,41-7,25 (m, 10H), 5,09 (s, 2H), 4,55-4,50 (m, 1H), 4,34-4,30 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,15 (d, 3H).

Síntesis de 2-amino-3-(benciloxi) butanoato de (2S, 3R)-bencilo (Int-D)

A una solución agitada de C (80 g, 0,20 mol) en metanol (100 mL) se añadió HCl metanólico (70 mL) en atmósfera de  $\text{N}_2$  y se agitó durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se lavó con n-hexano y se secó a presión reducida para obtener el Int-D (45 g, 75 %) como sal de HCl.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,35-7,30 (m, 10H), 5,25 (q, 2H), 4,58-4,52 (m, 3H), 4,37 (d, 1H), 4,27 (br s, 1H), 4,15-4,10 (m, 1H), 1,30 (d, 3H).

LCMS (m/z): 300,2 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de pirrolidina-2-carboxilato de (S)-metilo (2)

A una solución agitada de L-prolina 1 (100 g, 0,87 mol) en metanol (800 mL) se añadió cloruro de tionilo (76,9 mL, 1,04 mol) lentamente por goteo a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con n-hexano para obtener 2 (143,9 g, sal de HCl).

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3,89 (s, 3H), 3,68-3,62 (m, 2H), 3,59-3,47 (m, 2H), 2,49-2,37 (m, 1H), 2,27-2,05 (m, 3H).

LCMS (m/z): 166 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de pirrolidina-1,2-dicarboxilato de (S)-1-ter-butil 2-metilo (3)

A una solución agitada de 2 (35 g, 0,22 mol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (175 mL) se añadió  $\text{Et}_3\text{N}$  (90 mL, 0,65 mol) seguido de Boc-anhídrido (56,9 mL, 0,26 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x 100 mL). La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 30 % para obtener 3 (41 g, 95 %).

## ES 2 734 405 T3

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,25-4,21 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,57-3,26 (m, 2H), 2,29-2,10 (m, 1H), 1,99-1,75 (m, 3H), 1,45 (s, 9H).

5 LCMS (m/z): 130 [(M<sup>+</sup>+1)-Boc]

Síntesis de 2-((benciloxi) metil) pirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-metilo (4)

10 A una solución agitada de 3 (100 g, 0,43 mol) en THF (800 mL) se añadió LiHMDS (873 mL, 0,87 mol) a -78 °C y se agitó durante 1 h. A esto se añadió BOM-cloruro (93,2 mL, 0,65 mol) por goteo a -78 °C y se agitó durante 2 h a -20 °C. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica separada se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener 4 (180 g, bruto). El material se llevó directamente a la siguiente etapa sin purificación adicional.

15 LCMS (m/z): 250 [(M<sup>+</sup>+1)-Boc]

Síntesis de ácido 2-((benciloxi) metil)-1-(ter-butoxicarbonil) pirrolidina-2-carboxílico (5)

20 A una solución agitada de 4 (100 g, 0,28 mol) en metanol (200 mL) se agregó solución 2N de NaOH (300 mL) a TA. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente de la reacción se evaporó a presión reducida y se diluyó con EtOAc (100 mL). La capa acuosa se acidificó usando solución de ácido cítrico y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 250 mL). La capa orgánica separada se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener 5 (60 g, 63 %).

25 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,37-7,32 (m, 5H), 4,61 (s, 2H), 4,05-3,88 (m, 2H), 3,65-3,42 (m, 2H), 2,54-2,46 (m, 2H), 1,95 (br s, 2H), 1,57 (s, 9H).

LCMS (m/z): 334 [M<sup>+</sup>-1]

30 Síntesis de ácido 1-(ter-butoxicarbonil)-2-(hidroximetil)pirrolidina-2-carboxílico (6)

35 A una solución agitada de 5 (10 g, 29,81 mmol) en metanol (300 mL) se agregó Pd/C al 10 % húmedo al 50 % (5 g) a TA y se agitó durante 24 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener 6 (6 g, 82 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,55 (br m, 1H), 3,99 (d, 1H), 3,88 (d, 1H), 7,65-7,60 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 1H), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,32-2,14 (m, 1H), 1,98-1,69 (m, 3H), 1,39 (s, 9H).

40 Síntesis de 2-(((2S, 3R)-1, 3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il) carbamoil)-2-(hidroximetil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (7)

45 A una solución agitada de 6 (3 g, 12,2 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) se añadió Int-D (5,8 g, 14,6 mmol), EDCI.HCl (2,8 g, 14,6 mmol) seguido de HOBT (1,99 g, 14,6 mmol) y DIPEA (4,8 g, 36,7 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener 7 (1,6 g, 25 %).

50 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,25-8,12 (m, 1H), 7,31-7,27 (m, 10H), 5,85 (t, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,54-4,49 (m, 2H), 4,31 (dd, 1H), 4,15-4,07 (m, 1H), 3,91-3,50 (m, 1H), 3,52-3,37 (m, 1H), 3,31-3,27 (m, 2H), 2,35-2,07 (m, 1H), 1,95-1,90 (m, 1H), 1,73-1,52 (m, 2H), 1,39-1,27 (m, 9H), 1,19-1,12 (m, 3H).

Masa (ESI): m/z 527,4 [M<sup>+</sup>+1]

55 Síntesis de 2-(((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (8)

60 A una solución agitada de 7 (1,4 g, 2,65 mmol) en THF (20 mL) se añadió trifenilfosfina (1,1 g, 3,98 mmol) y DTAD (1,2 g, 3,98 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener 8-F1 (0,6 g) y 8-F2 (0,55 g).

Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxibutanoico (9)

65



A una solución agitada de 8-F1 y 8-F2 (0,6 g) en metanol (50 mL) se agregó Pd/C al 10 % (120 mg) a TA y se agitó durante 6 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar material bruto y la trituración usando éter dietílico proporcionó 9 (0,3 g, 82 %) como un sólido blancuzco.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,95 (br s, 1H), 4,97 (br s, 1H), 4,24-4,20 (m, 1H), 4,14-4,07 (m, 1H), 3,84 (d, 1H), 3,53 (t, 1H), 3,41-3,35 (m, 1H), 3,27-3,22 (m, 1H), 2,14-2,08 (m, 2H), 1,84-1,80 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,24 (d, 3H).

LCMS (m/z): 329,6 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-((2S, 3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de tertulilo (10)

A una solución agitada de 9 (5 g, 15,2 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) se añadió cloruro de amonio (2 g, 38,1 mmol), EDCI.HCl (3,5 g, 18,2 mmol) seguido de HOBT (5,9 g, 45,7 mmol) y DIPEA (5,9 g, 45,7 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto se trituró con Et<sub>2</sub>O (50 mL) y n-pentano (50 mL) para obtener 10 (2,5 g, 51 %) como un sólido blancuzco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,51 (br s, 1H), 7,19 (br s, 1H), 4,64 (d, 1H), 4,07-3,95 (m, 2H), 3,78 (m, 1H), 3,62-3,35 (m, 2H), 3,27-3,25 (m, 1H), 2,18-2,05 (m, 2H), 1,86-1,74 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,12 (d, 3H).

LCMS (m/z): 328,2 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)butanamida (Compuesto X)

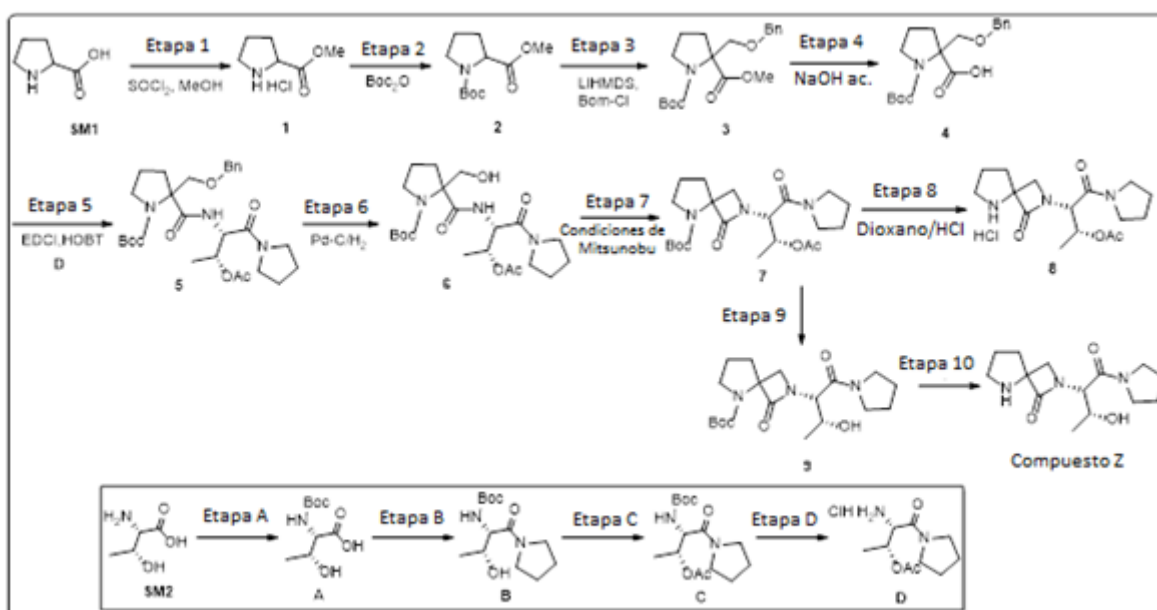
A una solución agitada de 10 (2,2 g, 6,70 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 mL) se añadió TFA (7,6 g, 67 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar el Compuesto X (2 g, 87 %) como sal de TFA.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,33-4,29 (m, 2H), 4,09 (d, 1H), 3,95 (d, 1H), 3,57-3,48 (m, 2H), 2,51-2,46 (m, 2H), 2,25-2,19 (m, 2H), 1,31 (d, 3H).

LCMS (m/z): 455 [2M<sup>+</sup>+1]

Ejemplo 2 – Síntesis del compuesto Z

Esquema 3.



## Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-((ter-butoxicarbonil) amino)-3-hidroxi-butanoico (A)

A una solución agitada de ácido (2S, 3R)-2-amino-3-hidroxi-butanoico (SM2) (30 g, 0,25 mol) en THF (150 mL) y agua (150 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (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 de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 150 mL). La capa acuosa se acidificó con HCl 2N y después se extrajo con MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 10 %. Los extractos orgánicos separados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar A (30 g, 63 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,92-5,70 (m, 2H), 5,55 (d, 1H), 4,42 (br s, 1H), 4,29 (d, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,25 (d, 3H)

LCMS (m/z): 218 [M<sup>+</sup>-1]

## Síntesis de ((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) carbamato de ter-butilo (B)

A una solución agitada de A (13 g, 59,36 mmol) en DMF (65 mL) se añadió EDCI.HCl (12,5 g, 65,2 mmol) seguido de HOBt (8,8 g, 65,2 mmol) a 0 °C. Después de la agitación durante 5 min, se añadió DIPEA (30,6 mL, 0,17 mol) seguido de pirrolidina (4,6 g, 65,2 mmol) a la mezcla de reacción y la agitación se continuó durante otras 16 h a TA. La mezcla de reacción se lavó con agua y se extrajo con EtOAc (2x 100 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener B (5 g, 31 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,51 (br s, 1H), 4,32 (d, 1H), 4,15-4,10 (m, 1H), 3,77-3,74 (m, 1H), 3,55-3,46 (m, 3H), 1,99-1,94 (m, 2H), 1,91-1,85 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,26 (t, 1H), 1,29 (d, 3H).

## Síntesis de acetato de (2R, 3S)-3-((ter-butoxicarbonil) amino)-4-oxo-4-(pirrolidin-1-il) butan-2-ilo (D)

A una solución agitada de B (4 g, 14,7 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL) se añadió Et<sub>3</sub>N (5,1 mL, 36,7 mmol) seguido de anhídrido acético (1,7 g, 17,6 mmol) y cantidad catalítica de DMAP a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se separó la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar C. A esto se añadió 1,4-dioxano/HCl (20 mL) y se agitó a TA durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se lavó con Et<sub>2</sub>O (2 x 15 mL) para obtener D (3,5 g, 97 %) como sal de HCl.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) (Rotámetros): δ 8,49 (br s, 3H), 8,15 (br s, 1H), 5,14-5,10 (m, 1H), 4,26-4,22 (m, 1H), 3,97-3,95 (m, 1H), 3,59 (s, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,98 (s, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,26 (d, 3H).

LCMS (m/z): 215,1 [M<sup>+</sup>+1]

## Síntesis de pirrolidina-2-carboxilato de metilo (1)

A una solución agitada de ácido pirrolidina-2-carboxílico (SM1) (100 g, 0,87 mol) en metanol (800 mL) se añadió cloruro de tionilo (76,9 mL, 1,04 mol) lentamente por goteo a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró al vacío. El residuo se lavó con n-Hexano y el solvente se separó por destilación para proporcionar 1 (143,9 g, sal de HCl).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Rotámetros): δ 3,89 (s, 3H), 3,68-3,62 (m, 2H), 3,59-3,47 (m, 2H), 2,49-2,37 (m, 1H), 2,27-2,05 (m, 3H).

LCMS (m/z): 166 [M<sup>+</sup>+1]

## Síntesis de pirrolidina-1,2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-metilo (2)

A una solución agitada de 1 (35 g, 0,22 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (175 mL) se añadió Et<sub>3</sub>N (90 mL, 0,65 mol) seguido de Boc-anhídrido (56,9 mL, 0,26 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x 100 mL). La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/Hexano al 30 % para obtener 2 (41 g, 95 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Rotámetros): δ 4,25-4,21 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,57-3,26 (m, 2H), 2,29-2,10 (m, 1H), 1,99-1,75 (m, 3H), 1,45 (s, 9H).

LCMS (m/z): 130 [(M<sup>+</sup>+1)-Boc]

Síntesis de 2-((benciloxi) metil) pirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butilo 2-metilo (3)

5 A una solución agitada de 2 (100 g, 0,43 mol) en THF (800 mL) se añadió LiHMDS (873 mL, 0,87 mol) a -78 °C y se agitó durante 1 h. A esto se añadió BOM-cloruro (93,2 mL, 0,65 mol) por goteo a -78 °C y se agitó durante 2 h a -20 °C. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con NH<sub>4</sub>Cl a 0 °C. La capa orgánica separada se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener 3 (180 g, bruto). El material se llevó directamente a la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 LCMS (m/z): 250 [(M<sup>+</sup>+1)-Boc]

Síntesis de ácido 2-((benciloxi) metil)-1-(ter-butoxicarbonil) pirrolidina-2-carboxílico (4)

15 A una solución agitada de 3 (100 g, 0,28 mol) en metanol (200 mL) se añadió solución 2N de NaOH (300 mL) a TA. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente de la reacción se evaporó al vacío y se diluyó con EtOAc (100 mL). La capa acuosa se acidificó usando solución de ácido cítrico y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 250 mL). La capa orgánica separada se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener 4 (60 g, 63 %).

20 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Rotámetros): δ 7,37-7,32 (m, 5H), 4,61 (s, 2H), 4,05-3,88 (m, 2H), 3,65-3,42 (m, 2H), 2,54-2,46 (m, 2H), 1,95 (br s, 2H), 1,57 (s, 9H).

LCMS (m/z): 334 [M<sup>+</sup>-1]

25 Síntesis de 2-(((2S, 3R)-3-acetoxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) carbamoil)-2-((benciloxi) metil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (5)

30 A una solución agitada de D (1 g, 2,90 mmol) en DMF (8 mL) se añadió EDCI.HCl (0,63 g, 3,28 mmol) seguido de HOBT (0,44 g, 3,28 mmol) a 0°C. Después de agitar durante 5 min, se añadió DIPEA (1,3 mL, 7,46 mmol) seguido por el compuesto 4 (0,74 g, 3,58 mmol) a la mezcla de reacción y se continuó con la agitación durante otras 16 h a TA. La mezcla de reacción se lavó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 500 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 5 (0,6 g, 38 %).

35 LCMS (m/z): 532 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-(((2S, 3R)-3-acetoxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)carbamoil)-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (6)

40 A una solución agitada de 5 (4,5 g, 8,40 mmol) en MeOH (40 mL) se añadió Pd/C al 10 % húmedo (1,5 g) en atmósfera inerte y se agitó durante 4 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se concentró a presión reducida para obtener 6 (3,0 g, 81 %).

45 LCMS (m/z): 442,5 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-(((2S, 3R)-3-acetoxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (7)

50 A una solución agitada de 6 (3 g, 6,70 mmol) en THF (25 mL) se añadió trifenilfosfina (2 g, 7,40 mmol) seguida de DTAD (2,5 g, 10,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 10 % para obtener 7 (1,2 g con TPPO, 43 %).

55 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 5,25-5,19 (m, 1H), 4,65 (d, 1H), 3,61-3,57 (m, 3H), 3,47-3,42 (m, 2H), 3,41-3,25 (m, 4H), 2,05 (s, 4H), 1,95-1,71 (m, 7H), 1,42 (s, 10H).

LCMS (m/z): 424,4 [M<sup>+</sup>+1]

60 Síntesis de acetato de (2R, 3S)-4-oxo-3-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-4-(pirrolidin-1-il) butan-2-ilo (8)

Una solución agitada de 7 (0,4 g, 0,94 mmol) en 1,4-dioxano/HCl (5 mL) se enfrió hasta 0 °C y se agitó a TA durante 1 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se lavó con n-pentano seguido de EtOAc para obtener 8 (0,22 g, 65 %).

65

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,62 (d, 1H), 4,41-4,29 (m, 2H), 4,24 (d, 1H), 3,89-3,77 (m, 3H), 3,54-3,49 (m, 3H), 2,57-2,52 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,42-2,00 (m, 8H), 1,30 (d, 3H).

LCMS (m/z): 324,3 [M<sup>+</sup>+1]

5

Pureza por UPLC: 99,37 %

Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (9)

10

Una solución de 7 (0,15 g, 0,41 mmol) en NH<sub>3</sub> acuoso (2 mL) se agitó a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), se diluyó la reacción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (75 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar 9 (0,1 g, 76 %).

15

LCMS (m/z): 382 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-1-ona (Compuesto Z)

20

A una solución agitada de 9 (0,2 g, 0,63 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) se añadió TFA (0,3 mL) a 0 °C y se agitó a TA durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se diluyó con agua y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 25 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener el Compuesto Z (0,2 g, 80 %) como sal de TFA.

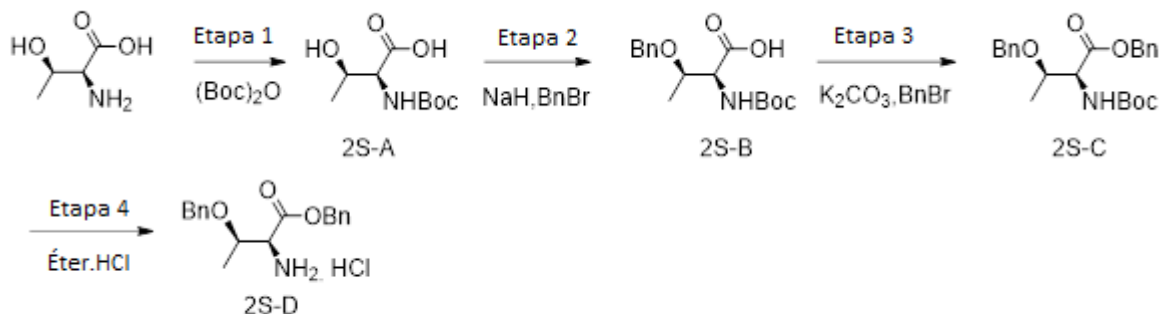
25

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,64 (t, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 4,09 (d, 1H), 3,99-3,87 (m, 1H), 3,70 (t, 2H), 3,55-3,47 (m, 5H), 2,52-2,34 (m, 2H), 2,25-2,22 (m, 2H), 2,08-1,98 (m, 5H), 1,25 (t, 3H).

LCMS (m/z): 282,4 [M<sup>+</sup>+1]

Esquema 2S-I-1

30



Síntesis de ácido (2S,3R)-2-((ter-butoxicarbonil) amino)-3-hidroxi-butanoico (2S-A):

35

A una solución en agitación de L-treonina (50 g, 420 mol) en THF/agua (500 mL/500 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (111 g, 1,05 mol) y se agitó a TA durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se añadió Boc-anhídrido (137 mL, 630 mmol) por goteo y la agitación se continuó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se diluyó con agua (100 mL) y se acidificó usando HCl 1N (pH~3). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (1 x 200 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-A (80 g, 87 %) como jarabe espeso.

40

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,5 (br s, 1H), 6,30 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,50 (br s, 1H), 4,05-4,02 (m, 1H), 3,88-3,86 (m, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,08 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

45

LCMS m/z: 218,1 [M<sup>+</sup>-1]

Síntesis de ácido (2S, 3R)-3-(benciloxi)-2-((ter-butoxicarbonil) amino) butanoico (2S-B):

50

A una solución en agitación de 2S-A (40 g, 182 mmol) en DMF (400 mL) se añadió NaH al 60 % (18,2 g, 758 mmol) en porciones a -20 °C en atmósfera de N<sub>2</sub> y se agitó durante 2 h. A esto se añadió bromuro de bencilo (66,8 mL, 0,55 mol) por goteo y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 h. Después de que se consumió el material de

partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua helada y se lavó con éter dietílico (2 x 250 mL). La capa acuosa separada se acidificó usando solución de ácido cítrico (100 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto 2S-B (45 g, 80 %) como jarabe espeso.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,64 (br s, 1H), 7,34-7,25 (m, 5H), 6,46 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 4,39 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,00-3,98 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,15 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

Síntesis de 3-(benciloxi)-2-((ter-butoxicarbonil) amino) butanoato de (2S, 3R)-bencilo (2S-C):

A una solución en agitación del compuesto 2S-B (45 g, 146 mmol) en DMF (400 mL) se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (40 g, 292 mmol) en atmósfera de N<sub>2</sub> y se agitó durante 30 min. A esto se añadió bromuro de bencilo (21 mL, 175 mmol) por goteo a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua helada y se extrajo con éter dietílico (2 x 250 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-C (48 g, 82 %) como jarabe espeso.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,37-7,18 (m, 10H), 6,81 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,49 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,32 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,25-4,22 (m, 1H), 4,01-3,98 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,15 (d, J = 6,0 Hz, 3H)

Masa (ESI): m/z 399,4 [M<sup>+</sup>+1];

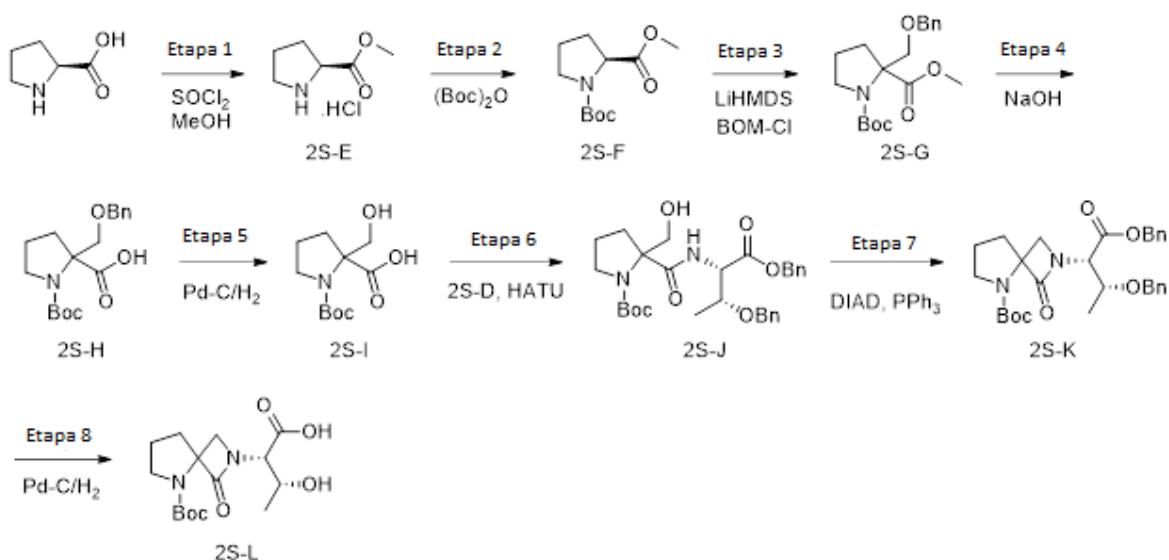
Síntesis de 2-amino-3-(benciloxi) butanoato de (2S, 3R)-bencilo (2S-D):

A una solución en agitación del compuesto 2S-C (48 g, 120 mmol) en éter dietílico (50 mL) se añadió éter dietílico saturado con HCl (350 mL) a 0 °C y se agitó a TA durante 10 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se trituró con éter dietílico/n-pentano (50 mL/50 mL) y se secó a presión reducida para obtener el compuesto 2S-D (28 g, 77 %) como semisólido (sal de HCl).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,59 (s, 2H), 7,50-7,25 (m, 10H), 5,23 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 5,16 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 4,54 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,36 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,12-4,09 (m, 1H), 4,09-3,99 (m, 1H), 1,29 (d, J = 6,5 Hz, 3H)

Masa (ESI): m/z 299,4 [M<sup>+</sup>+1];

Esquema 2S-I-2



Síntesis de pirrolidina-2-carboxilato de metilo (2S-E):

A una solución en agitación de L-prolina (50 g, 434 mmol) en metanol se añadió cloruro de tionilo (37,5 ml, 521 mmol) a 0 °C y se calentó hasta 70 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se llevó hasta TA y se concentró al vacío para obtener el compuesto 2S-E (70 g, 99 %) como jarabe espeso (sal de clorhidrato).

## ES 2 734 405 T3

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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);

LCMS m/z: 129 [M<sup>+</sup>+1]

5

Síntesis de pirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-metilo (2S-F):

A una solución en agitación del compuesto 2S-E (70 g, 422 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (700 mL) se añadió Et<sub>3</sub>N (183 mL, 1,26 mol) a 0 °C y se agitó durante 10 min. Después de añadió Boc-anhídrido (184 mL, 845 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se diluyó con agua (200 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/n-hexano al 50 % para obtener el compuesto 2S-F (80 g, 83 %) como jarabe espeso.

15

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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);

LCMS m/z: 229 [(M<sup>+</sup>+1)-Boc].

20

Síntesis de 2-((benciloxi) metil) pirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-metilo (2S-G):

A una solución en agitación del compuesto 2S-F (25 g, 109 mmol) en THF (250 mL) se añadió LiHMDS (240 mL, 240 mmol) a -20 °C y se agitó durante 2 h. A esto se añadió BOM-cloruro (23 mL, 163 mmol) por goteo a -30 °C y se agitó durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl (100 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (2 x 150 mL) seguida de solución de salmuera (2 x 100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/n-hexano al 10 % para obtener el compuesto 2S-G (30 g, 79 %) como jarabe espeso.

25

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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);

30

LCMS m/z: 349,4 [(M<sup>+</sup>+1)-Boc]

35

Síntesis de ácido 2-((benciloxi) metil)-1-(ter-butoxicarbonil) pirrolidina-2-carboxílico (2S-H):

A una solución en agitación del compuesto 2S-G (30 g, 86 mmol) en metanol (70 mL) se agregó solución de NaOH (6,88 g en 70 mL de H<sub>2</sub>O) a TA. La mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente de la reacción se evaporó a presión reducida y se diluyó con EtOAc (2 x 200 mL). La capa acuosa separada se acidificó usando solución de ácido cítrico (pH~3) y se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener el material bruto que se trituró con n-hexano para obtener el compuesto 2S-H (25 g, 86,8 %) como un sólido blancuzco.

40

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,35 (br s, 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);

45

LCMS m/z: 335,3 [M<sup>+</sup>+1]

50

Síntesis de ácido 1-(ter-butoxicarbonil)-2-(hidroximetil) pirrolidina-2-carboxílico (2S-I):

A una solución en agitación del compuesto 2S-H (25 g, 74 mmol) en metanol (150 mL) se añadió Pd/C al 10 % húmedo al 50 % (7 g) a TA y se agitó durante 10 h en atmósfera de H<sub>2</sub>. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol (100 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-I (15 g, 82,8 %) como un sólido blanco.

55

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,66 (br s, 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).

60

Masa (ESI): m/z 245 [M<sup>+</sup>+1]

65

Síntesis de 2-(((2S, 3R)-1, 3-bis (benciloxi)-1-oxobutan-2-il) carbamoil)-2-(hidroximetil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-J):

A una solución en agitación del compuesto 2S-I (18 g, 73,4 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (180 mL) se añadió DIPEA (40 mL, 220 mmol), 2S-D (21,9 g, 73,4 mmol), HATU (41,8 g, 110 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 30 % para obtener el compuesto 2S-J (20 g, 52 %) como jarabe espeso de color amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,25-8,12 (m, 1H), 7,31-7,27 (m, 10H), 5,85 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,54-4,49 (m, 2H), 4,31-4,20 (m, 1H), 4,15-4,07 (m, 1H), 3,91-3,50 (m, 1H), 3,52-3,37 (m, 1H), 3,31-3,27 (m, 2H), 2,35-2,07 (m, 1H), 1,95-1,90 (m, 1H), 1,73-1,52 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,19 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 527,4 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-((2S, 3R)-1, 3-bis (benciloxi)-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de tert-butilo (2S-K):

A una solución en agitación de trifenilfosfina (24,7 g, 94 mmol) en THF (100 mL) se añadió DIAD (15,3 g, 75 mmol) a TA y se agitó durante 30 min. A eso se añadió compuesto 2S-J (20 g, 37,9 mmol) en (10 mL) THF lentamente y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo EtOAc/n-hexano al 25 % para obtener el compuesto 2S-K (17 g, 88 %) como jarabe espeso de color amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,33-7,26 (m, 5H), 7,23-7,18 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 4,80-4,73 (m, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,31 (s, 2H), 4,05-4,00 (m, 2H), 1,80-1,68 (m, 4H), 1,39 (s, 9H), 1,18 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 509,4 [M<sup>+</sup>+1]

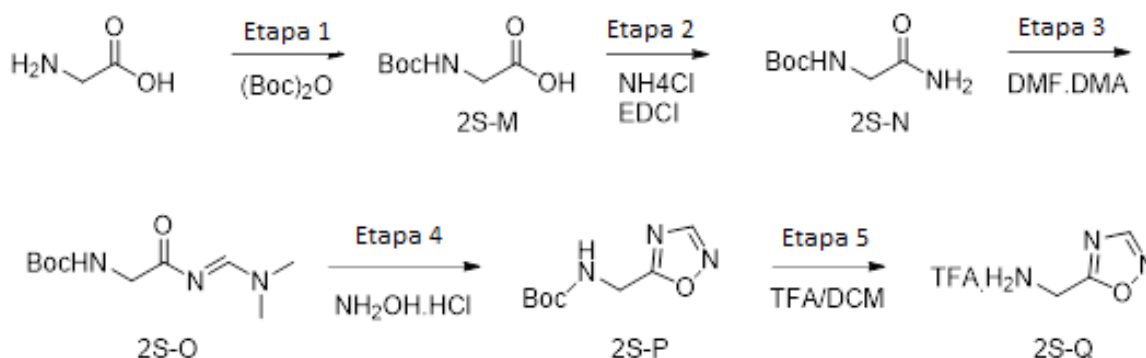
Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) -3-hidroxitbutanoico (2S-L):

A una solución en agitación del compuesto 2S-K (7 g, 13,7 mmol) en metanol (100 mL) se añadió Pd/C al 10 % (4 g) a TA y se agitó durante 6 h en atmósfera de H<sub>2</sub>. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol (50 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el material bruto, que se trituró con n-pentano (50 mL) para proporcionar el compuesto 2S-L (4 g, 88 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,80 (br s, 1H), 4,78-4,73 (m, 1H), 4,21-4,19 (m, 1H), 4,09 (s, 2H), 3,55-3,46 (m, 2H), 2,09-2,05 (m, 2H), 1,80 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,35-1,28 (m, 2H), 1,17 (d, J = 6,5 Hz, 3H)

LCMS m/z: 329,6 [M<sup>+</sup>+1]

Esquema 2S-I-3



Síntesis de ácido 2-((ter-butoxicarbonil) amino)acético (2S-M):

A una solución en agitación de glicina (15 g, 200 mmol) en 1,4-dioxano/agua (150 mL/75 mL) se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (53 g, 500 mmol). Después se agregó Boc-anhídrido (109 mL, 500 mmol) lentamente a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo bruto se acidificó (pH~4) usando solución de ácido cítrico y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 150 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera (2 x 100 mL). La

## ES 2 734 405 T3

capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto 2S-M (30 g, 85,7 %) como un sólido blanco. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

5 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,41 (br s, 1H), 7,04 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,57 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 1,37 (s, 9H);

Síntesis de (2-amino-2-oxoetil) carbamato de ter-butilo (2S-N):

10 A una solución en agitación de 2S-M (10 g, 57,14 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) se añadió HOBt (15,43 g, 114 mmol), EDCI.HCl (21,8 g, 114 mmol) seguido de NH<sub>4</sub>Cl (4,54 g, 85,71 mmol) y DIPEA (30,7 mL, 171 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se lavó con agua (2 x 100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para dar el material crudo, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice con MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 2 %. Después, el compuesto se trituró con éter (25 mL) y el sólido precipitado se filtró para obtener 2S-N (2 g, 20 %) como un sólido blanco.

15

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,52 (br s, 1H), 7,17 (br s, 1H), 3,46 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 1,38 (s, 9H);

Síntesis de (2-(((dimetilamino) metileno) amino)-2-oxoetil) carbamato de (E)-ter-butilo (2S-O):

20 A una solución en agitación de 2S-N (7 g, 40,22 mmol) en THF (70 mL) se añadió DMF.DMA (10,7 mL, 80,44 mmol) a TA y se calentó hasta 80 °C durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener 2S-O (9 g, bruto) como jarabe color marrón. Este material bruto se llevó directamente a la siguiente etapa sin purificación adicional.

25

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 6,72 (br s, 1H), 4,35 (s, 1H), 3,64 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 3,09 (s, 1H), 1,42 (s, 9H);

Masa (ESI): m/z 230,2 [M<sup>+</sup>+1];

30 Síntesis de ((1, 2, 4-oxadiazol-5-il) metil) carbamato de ter-butilo (2S-P):

35 A una solución en agitación de 2S-O (9 g (bruto), 39,30 mmol) en etanol (80 mL) se añadió clorhidrato de hidroxilamina (5,45 g, 78,60 mmol) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se calentó hasta 90 °C y se agitó durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC) se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo bruto se diluyó con agua (75 mL). La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera (1 x 100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el solvente se concentró a presión reducida para proporcionar el material bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 25 % para proporcionar 2S-P (4 g, 51 %).

40 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,90 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 4,44 (s, 2H), 1,39 (s, 9H);

LCMS m/z: 198,4 [M<sup>-</sup>-1]

Síntesis de (1, 2, 4-oxadiazol-5-il) metanamina (2S-Q):

45 A una solución en agitación de 2S-P (1,1 g, 5,52 mmol) en DCM (30 mL) se añadió ácido trifluoroacético (2,1 mL, 27,63 mmol) a 0 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo crudo se trituró con éter (20 mL) para obtener 2S-Q (850 mg, 72,6 %) como un sólido blanco.

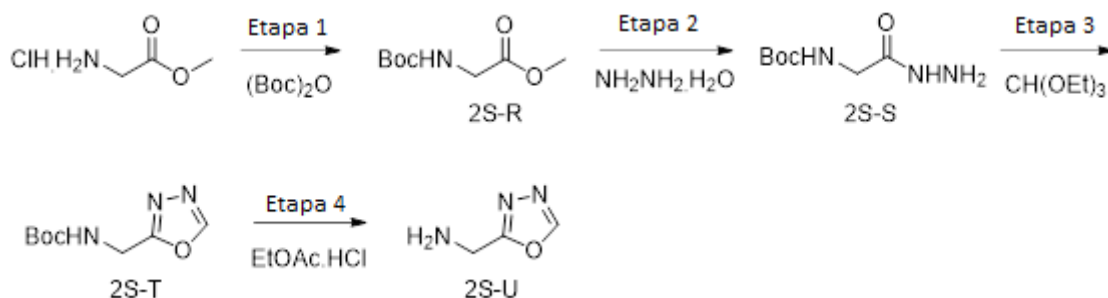
50

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9,13 (s, 1H), 8,90 (br s, 2H), 4,56 (s, 2H);

LCMS (ESI): 100,4 [M<sup>+</sup>+1]

55 Esquema 2S-I-4





Síntesis de (ter-butoxicarbonil) glicinato de metilo (2S-R):

- 5 A una solución en agitación de glicina clorhidrato de éster metílico (50 g, 400 mmol) en 1,4 dioxano/agua (300 mL/200 mL) se añadió  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (84,8 g, 800 mmol) y se agitó a TA durante 10 min. La mezcla de reacción se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$  y se agregó Boc-anhídrido (104 mL, 480 mmol) por goteo y la agitación se continuó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (1 x 200 mL) y la capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener 2S-R (64 g, 84 %) como jarabe espeso.

$^1\text{H}$ -RMN: (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7,19 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,67 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,62 (s, 3H), 1,38 (s, 9H);

15 LCMS m/z: 190,2 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de (2-hidrazinil-2-oxoetil) carbamato de ter-butilo (2S-S):

- 20 A una solución de 2S-R (20 g, 105 mmol) en EtOH (100 mL) se añadió hidrato de hidrazina (15,8 g, 315 mmol) a TA y después se agitó a  $100^\circ\text{C}$  durante 6 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), se evaporó el etanol a presión reducida. El material bruto obtenido se trituró con n-pentano/éter dietílico (20 mL/20 mL) para obtener 2S-S como un sólido blanco.

25  $^1\text{H}$ -RMN: (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8,91 (s, 1H), 6,88 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 4,16 (s, 2H), 3,47 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 1,37 (s, 9H);

LCMS m/z: 190,2 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de ((1, 3, 4-oxadiazol-2-il) metil) carbamato de ter-butilo (2S-T):

- 30 A una solución de 2S-S (14 g, 74 mmol) en ortoformiato de trietilo (140 mL) se añadió p-TSA (catalítico, 140 mg) a TA y después se agitó a  $80^\circ\text{C}$  durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), se evaporó el ortoformiato de trietilo a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/hexano al 20 % para obtener 2S-T (6,1 g, 41,5 %) como un sólido blancuzco.

35  $^1\text{H}$ -RMN: (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  10,74 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 4,03 (s, 2H), 1,47 (s, 9H); LCMS m/z: 200,2 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de (1, 3, 4-oxadiazol-2-il) metanamina (2S-U):

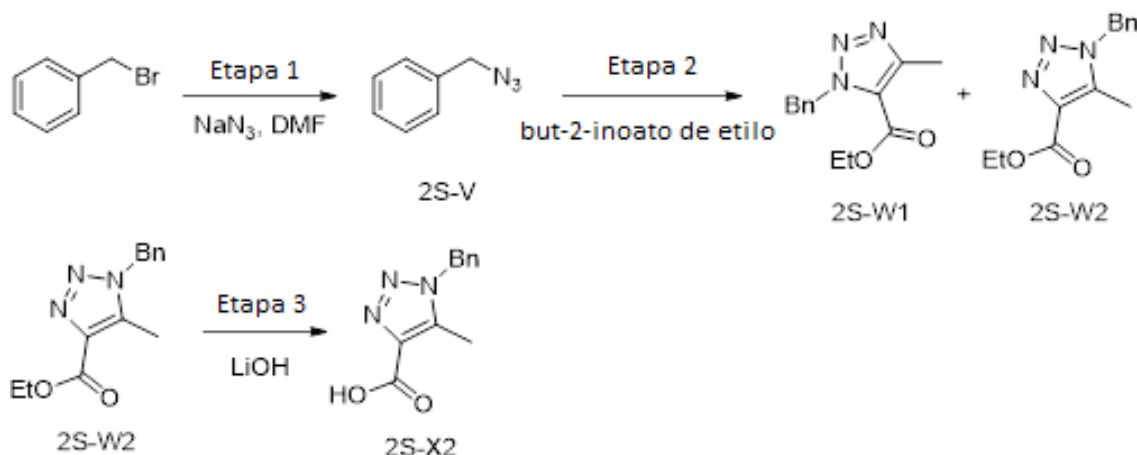
- 40 A una solución en agitación de 2S-T (5 g, 25 mmol) en EtOAc (10 mL) se añadió EtOAc saturado con HCl (60 mL) a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se trituró con éter dietílico/n-pentano (25 mL/25 mL) y se secó a presión reducida para obtener 2S-U (3 g, 88,7 %) como un sólido blancuzco (sal de HCl).

45  $^1\text{H}$ -RMN: (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  9,55 (br s, 2H), 7,99 (s, 1H), 3,90 (s, 2H);

LCMS m/z: 100 [ $\text{M}^++1$ ]

Esquema 2S-I-5

50



Síntesis de (azidometil) benceno (2S-V):

- 5 A una solución en agitación de bromuro de bencilo (30 g, 175 mmol) en dimetilformamida (300 mL) se añadió azida de sodio (45,6 g, 701 mmol) a TA en atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C durante 16 h. Después de monitorear la compleción de la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se dejó a TA; los extractos volátiles se diluyeron con agua (300 mL) y éter (200 mL). La capa orgánica separada se lavó (3 x 200 mL) con agua helada. La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-V (18 g, bruto) como un sólido blancuzco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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 (2S-W2)

- 15 A una solución en agitación de but-2-inoato de etilo (8,0 g, 71,3 mmol) en tolueno (80 mL) se añadió 2S-V (12,0 g, 107 mmol) a TA en atmósfera inerte. La mezcla de reacción resultante se calentó hasta 100 °C y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se dejó a TA; los extractos volátiles se evaporaron a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo EtOAc/hexano al 40 % para obtener 2S-W1 y 2S-W2 (8,2 g, 47,1 %) (separable por cromatografía en columna)

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,36-7,31 (m, 3H), 7,16 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 5,53 (s, 2H), 4,43 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 1,41 (t, J = 7,2 Hz, 3H);

25 Masa m/z: 246,3 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de ácido 1-bencil-5-metil-1H-1, 2, 3-triazol-4-carboxílico (2S-X2)

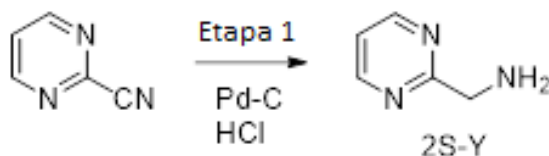
- 30 A una solución en agitación del compuesto 2S-W2 (8,2 g, 33,4 mmol) en THF/H<sub>2</sub>O (82 mL/82 mL, 1:1) se añadió LiOH.H<sub>2</sub>O (4,2 g, 0,4 mmol) a TA y se agitó durante 16 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), los extractos volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl acuoso 2N y el sólido precipitado se filtró y se lavó con agua (25 mL), se secó a presión reducida para obtener el compuesto 2S-X2 (7,0 g, 96,6 %) como un sólido blancuzco.

35 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13,01 (br s, 1H), 7,40-7,32 (m, 5H), 5,63 (s, 2H), 2,45 (s, 3H);

Masa m/z: 218,3 [M<sup>+</sup>+1];

Esquema 2S-I-6

40



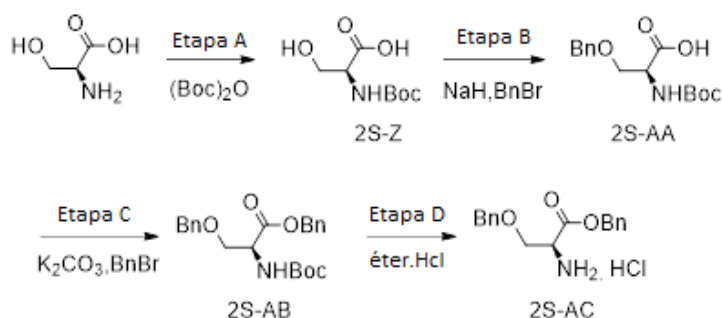
Síntesis de pirimidin-2-ilmetanamina (2S-Y):

A una solución en agitación de 2-cianopirimidina (2,0 g, 19,0 mmol) en metanol (50 mL) se añadió Pd/C al 10 % (300 mg), HCl 12 N (1,5 mL) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo) a TA durante 3 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto bruto, que se trituró con éter dietílico para obtener el compuesto 2S-Y (1,2 g, 44 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,87 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 8,69 (br s, 2H), 7,52 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,24 (s, 2H);

Masa (ESI): 110,3 [M<sup>+</sup>+1]

Esquema 2S-I-7



15

Síntesis de ácido (S)-2-((ter-butoxicarbonil) amino)-3-hidroxiopropanoico (2S-Z)

A una solución en agitación de L-serina (76 g, 723 mmol) en 1,4 dioxano/H<sub>2</sub>O (350 mL/300 mL) se añadió NaOH (61 g, 1,51 mol), Boc-anhídrido (190 mL, 868 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl 2N (pH~4) y se extrajo con EtOAc (5x500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener 2S-Z (100 g, 67,5 %) como jarabe amarillo.

25

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6,54 (br s, 1H), 5,77 (br s, 1H), 4,35-4,04 (m, 1H), 3,87-3,84 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

Síntesis de ácido (S)-3-(benciloxi)-2-((ter-butoxicarbonil) amino) propanoico (2S-AA)

A una solución en agitación de 2S-Z (50 g, 245 mmol) en DMF (650 mL) se añadió NaH (60 %) (23 g, 563 mmol) a -15 °C y se agitó durante 2 h. Se agregó lentamente bromuro de bencilo (32,8 mL, 269 mmol). La temperatura de la mezcla de reacción se calentó hasta TA y se agitó durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua helada (200 mL) y se extrajo con éter dietílico (2 x 250 mL). La capa acuosa se acidificó con ácido cítrico (pH~4) y se extrajo con EtOAc (2 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 250 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener 2S-AA (54 g, 75 %) como jarabe color marrón.

35

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,32-7,26 (m, 5H), 5,43 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,70-4,46 (m, 1H), 4,45 (s, 2H), 4,13-3,91 (m, 1H), 3,73-3,70 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

Síntesis de 3-(benciloxi)-2-((ter-butoxicarbonil) amino) propanoato de (S)-bencilo (2S-AB)

40

A una solución en agitación de 2S-AA (36 g, 122 mmol) en DMF (250 mL) se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20 g, 183 mmol) a 0 °C y se agregó lentamente bromuro de bencilo (18 mL, 146 mmol). La temperatura de la mezcla de reacción se calentó hasta TA y se agitó durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua helada (200 mL) y se extrajo con éter dietílico (2 x 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 250 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener 2S-AB (42 g, 91 %) como jarabe color marrón que se usó directamente para la siguiente etapa sin ninguna purificación.

45

Síntesis de clorhidrato de 2-amino-3-(benciloxi) propanoato de (S)-bencilo (2S-AC):

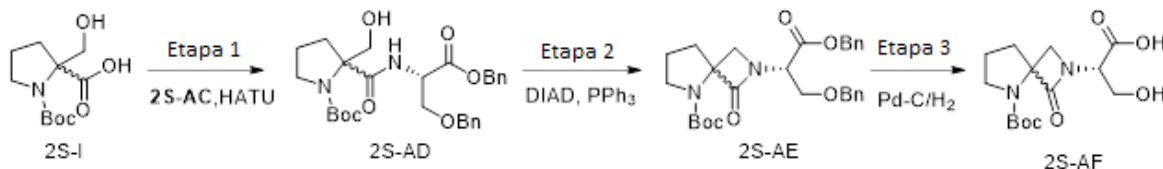
50

A una solución en agitación de 2S-AB (10 g, 25,9 mmol) en éter saturado con HCl (50 mL) se añadió a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. El precipitado obtenido se filtró y se trituró con éter dietílico (2 x 100 mL). El compuesto filtrado se secó al vacío para obtener 2S-AC (5 g, 60 %) como un sólido blanco.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  8,66 (s, 2H), 7,38-7,27 (m, 10H), 5,29-5,22 (m, 2H), 4,57-4,44 (m, 3H), 3,91-3,81 (m, 2H)

Esquema 2S-I-8

5



Síntesis de 2-(((S)-1, 3-bis (benciloxi)-1-oxopropan-2-il) carbamoil)-2-(hidroximetil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-AD):

10

A una solución en agitación del compuesto 2S-I (5 g, 20,4 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) se añadió DIPEA (10,7 mL, 61,2 mmol), 2S-AC (5,8 g, 20,4 mmol), HATU (11,6 g, 30,6 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con ácido cítrico (1 x 100 mL) seguido de solución de salmuera (1 x 100 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 50 % para obtener el compuesto 2S-AD (8 g, 76,5 %) como jarabe espeso color amarillo.

15

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,33-7,24 (m, 10H), 5,23-5,11 (m, 2H), 4,72-4,66 (m, 2H), 4,50-4,44 (m, 1H), 4,18-3,91 (m, 2H), 3,75-3,70 (m, 2H), 3,65-3,40 (m, 2H), 2,34-2,03 (m, 2H), 1,81-1,78 (m, 2H), 1,41 (s, 9H);

20

Masa (ESI): m/z 512,6 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Síntesis de 2-((S)-1, 3-bis (benciloxi)-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-AE):

25

A una solución en agitación de trifetilfosfina (640 mg, 2,44 mmol) en THF (5 mL) se añadió DIAD (392 mg, 1,94 mmol) a TA y se agitó durante 15 min, después se agregó lentamente el compuesto 2S-AD (500 mg, 0,97 mmol) en (5 mL) THF y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto 2S-AE (450 mg, 93 %) como líquido amarillo.

30

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,34-7,27 (m, 10H), 5,25-5,14 (m, 2H), 4,78-4,73 (m, 1H), 4,70-4,42 (m, 2H), 4,04-3,98 (m, 1H), 3,93-3,78 (m, 1H), 3,89-3,78 (m, 1H), 3,76-3,68 (m, 1H), 3,45-3,35 (m, 2H), 2,20-2,09 (m, 2H), 1,90-1,78 (m, 2H), 1,46 (s, 9H)

35

LCMS (ESI): m/z 495,5 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Síntesis de ácido 1-(ter-butoxicarbonil)-2-(hidroximetil) pirrolidina-2-carboxílico (2S-AF):

40

A una solución en agitación del compuesto 2S-AE (500 mg, 1,01 mmol) en metanol (25 mL) se añadió Pd/C al 10 % húmedo al 50 % (250 mg) a TA y se agitó durante 24 h en atmósfera de  $\text{H}_2$ . Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol (20 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-AF (400 mg, bruto) como un sólido blanco.

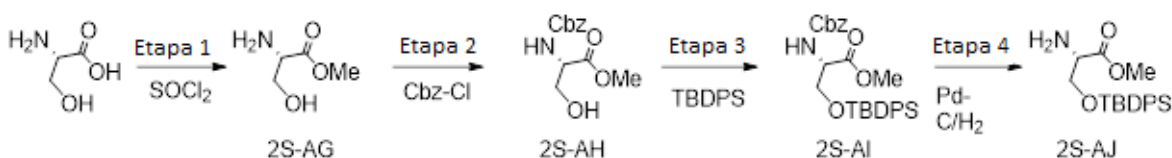
45

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  4,92-4,87 (m, 1H), 4,28-4,07 (m, 3H), 3,63-3,60 (m, 1H), 3,55-3,40 (m, 2H), 2,30-2,25 (m, 2H), 1,95-1,87 (m, 2H), 1,47 (s, 9H);

50

LCMS: 315,3 [ $\text{M} + 1$ ]

Esquema 2S-I-9



## Síntesis de 2-amino-3-hidroxiopropanoato de (S)-metilo (2S-AG):

5 A una solución en agitación de L-serina (40 g, 0,38 mol) en metanol (300 mL) se añadió  $\text{SOCl}_2$  (33,6 mL, 0,45 mol) por goteo a 0 °C y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo durante 24 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se calentó hasta TA, se concentró al vacío y se decantó con n-hexano (2 x 200 mL) para obtener el compuesto 2S-AG (59,18 g, bruto).

10  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  8,62 (s, 3H), 4,08 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 3,83 (d, J = 3,6 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H);  
LCMS, m/z: 120,2 [ $\text{M}^+-1$ ]

## Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-hidroxiopropanoato de (S)-metilo (2S-AH):

15 A una solución en agitación del compuesto 2S-AG (40 g, 0,33 mol) en 1, 4-dioxano (300 mL) y agua (100 mL) se añadió  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (71,18 g, 0,67 mol) y se agitó a TA durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se agregó cloroformiato de bencilo (68,5 g, 0,40 mol) por goteo y la agitación se continuó a TA durante 8 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (200 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos separados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-AH (53 g, 62 %).

20  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,49 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,37-7,29 (m, 5H), 5,04 (s, 2 H), 4,93 (t, J = 6 Hz, 1H), 4,18-4,13 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,67-3,56 (m, 2H)

## Síntesis de 2-(((benciloxi)carbonil)amino)-3-((ter-butildifenilsilil)oxi) propanoato de (S)-metilo (2S-AI):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-AH (20 g, 79,20 mmol) en DCM (700 mL) se añadió imidazol (16 g, 237,6 mmol) a 0 °C seguido de TBDPS (25,9 g, 95,04 mmol) en atmósfera de  $\text{N}_2$  y se agitó a TA durante 8 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 200 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-AI (25 g, 64 %).

35  $^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,23-7,68 (m, 1H), 7,58 (d, J = 7 Hz, 3H), 7,44-7,37 (m, 9H), 7,34 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 5,65 (d, J = 9 Hz, 1H), 5,12 (d, J = 2, 2H), 4,45 (d, J = 9 Hz, 1H), 4,10-4,07 (m, 1H), 3,91-3,88 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 1,04 (s, 9H);

40 LCMS (m/z): 492,1 [ $\text{M}^+-1$ ]

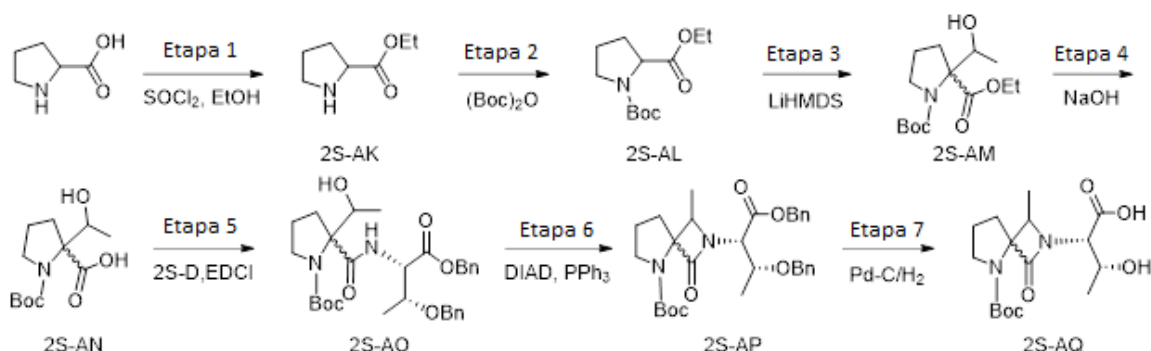
## Síntesis de 2-amino-3-((ter-butildifenilsilil)oxi)propanoato de (S)-metilo (2S-AJ):

45 A una solución en agitación del compuesto 2S-AI (25 g, 51,12 mmol) en etanol (250 mL) se añadió Pd/C al 10 % húmedo al 50 % (15 g) a TA y se agitó durante 8 h en atmósfera de  $\text{H}_2$  (presión de globo). Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con etanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-AJ (18 g, 97 %) como líquido amarillo.

50  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,66-7,61 (m, 4H), 7,43-7,36 (m, 6H), 4,00-3,97 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,64 (t, J = 4 Hz, 1H), 2,65 (s, 2H), 1,04 (s, 9H);

LCMS m/z: 358 [ $\text{M}^+-1$ ]

55 Esquema 2S-I-10



Síntesis de clorhidrato de pirrolidina-2-carboxilato de etilo (2S-AK):

5 A una solución en agitación de L-prolina (110 g, 956,5 mmol) en etanol se añadió cloruro de tionilo (141 ml, 1911,3 mmol) y se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se llevó hasta TA y se concentró al vacío para obtener el compuesto 2S-AK como la sal de clorhidrato (170 g, 99 %).

10  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4,15-4,10 (m, 2H), 3,68-3,62 (m, 2H), 3,59-3,47 (m, 2H), 2,49-2,37 (m, 1H), 2,27-2,05 (m, 3H), 1,18 (t,  $J = 3,6$  Hz, 3H);

LCMS, m/z: 143 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de pirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-etilo (2S-AL):

15 A una solución en agitación del compuesto 2S-AK (70 g, 0,391 mol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (700 mL) se añadió  $\text{Et}_3\text{N}$  (170,7 mL, 1,22 mol) seguido de Boc-anhídrido (133 g, 0,61 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió 1 material de partida (por TLC), la reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x 200 mL). La capa orgánica se lavó con agua (1 x 150 mL), salmuera (1 x 200 mL), se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-AL (90 g, 90 %) como jarabe espeso.

20  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  4,15-4,10 (m, 2H), 4,09-4,02 (m, 1H), 3,36-3,29 (m, 2H), 2,25-2,13 (m, 1H), 1,87-1,76 (m, 3H), 1,40 (s, 9H), 1,18 (t,  $J = 3,6$  Hz, 3H);

25 LCMS, m/z: 144 [( $\text{M}^++1$ )-Boc];

HPLC: 96,11 %

Síntesis de 2-(1-hidroxietil) pirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-etilo (2S-AM):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-AL (5 g, 20,5 mmol) en THF (50 mL) se añadió LiHMDS (20,3 mL, 20,5 mmol) a -20 °C y se agitó durante 1 h. A esto se añadió acetaldehído (1,2 mL, 20,5 mmol) por goteo a -20 °C y se agitó durante 1 h a -20 °C. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución acuosa de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se extrajo con EtOAc (1 x 50 mL). La capa orgánica separada se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/hexano al 10 % para proporcionar el compuesto 2S-AM (1,8 g, 30 %) como jarabe amarillo pálido.

40  $^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  5,10 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 4,54-4,36 (m, 2H), 4,05-3,99 (m, 2H), 3,60-3,49 (m, 1H), 1,97-1,74 (m, 4H), 1,40 (s, 9H), 1,18, 1,15 (dd,  $J = 7,5$  Hz, 6,5 Hz, 3H), 0,96 (d,  $J = 9,5$  Hz, 3H);

LCMS, m/z: 188 [( $\text{M}^++1$ )-Boc]

Síntesis de ácido 1-(ter-butoxicarbonil)-2-(1-hidroxietil) pirrolidina-2-carboxílico (2S-AN):

45 A una solución en agitación del compuesto 2S-AM (10 g, 34,8 mmol) en metanol (30 mL) se añadió NaOH (2,7 g, 69,6 mmol),  $\text{H}_2\text{O/THF}$  (30 mL/30 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta 80 °C durante 5 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente se evaporó a presión reducida. La capa acuosa se acidificó usando solución de ácido cítrico y se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). La capa orgánica separada se lavó con agua (1 x 50 mL), se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró para obtener el compuesto 2S-AN (4,8 g, 53,3 %) como un sólido pegajoso color marrón.

## ES 2 734 405 T3

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,60-4,54 (m, 1H), 3,98 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,90-3,77 (m, 2H), 3,44-3,34 (m, 1H), 2,01-1,68 (m, 4H), 1,40 (s, 9H), 1,26 (d, J = 10,0 Hz, 3H);

LCMS, m/z: 258 [M<sup>+</sup>-1];

HPLC (pureza): 91,7 %

Síntesis de 2-(((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)carbamoil)-2-(1-hidroxietil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-AO):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AN (2,0 g, 7,72 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) se añadió DIPEA (4,2 mL, 22,4 mmol), EDCI.HCl (2,2 g, 11,5 mmol) seguido de HOBt (1,5 g, 11,5 mmol), compuesto D (2,8 g, 8,35 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 50 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (2 x 50 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 25 % para obtener el compuesto 2S-AO (1,5 g, 36 %) como un líquido incoloro.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,47 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 7,31-7,19 (m, 10H), 5,73-5,58 (m, 1H), 5,18 (s, 2H), 4,64 (s, 2H), 4,60-4,49 (m, 1H), 4,29 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 4,15-4,12 (m, 1H), 3,59-3,59 (m, 1H), 3,24-3,13 (m, 1H), 1,71-1,60 (m, 2H), 1,43-1,38 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 1,18 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 1,04 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 540 [M<sup>-</sup>-1]

Síntesis de 2-((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)-1-metil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-AP):

A una solución en agitación de trifetilfosfina (1,45 g, 5,53 mmol) en THF (30 mL) se añadió DIAD (1,12 g, 5,53 mmol) a TA y se agitó durante 30 min. A esto se agregó el compuesto 2S-AO (1,5 g, 2,77 mmol) en THF (10 mL) lentamente y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-AP (800 mg, 57 %) como jarabe amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,33-7,18 (m, 10H), 5,07 (s, 2H), 4,61 (s, 2H), 4,38-4,31 (m, 1H), 3,77-3,75 (m, 1H), 3,28-3,24 (m, 1H), 2,67-2,66 (m, 1H), 2,22-2,12 (m, 1H), 1,98-1,92 (m, 3H), 1,72-1,60 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,18 (d, J = 5,6 Hz, 3H), 1,13 (d, J = 6,4 Hz, 3H)

Masa (ESI): m/z 523 [M<sup>+</sup>+1]

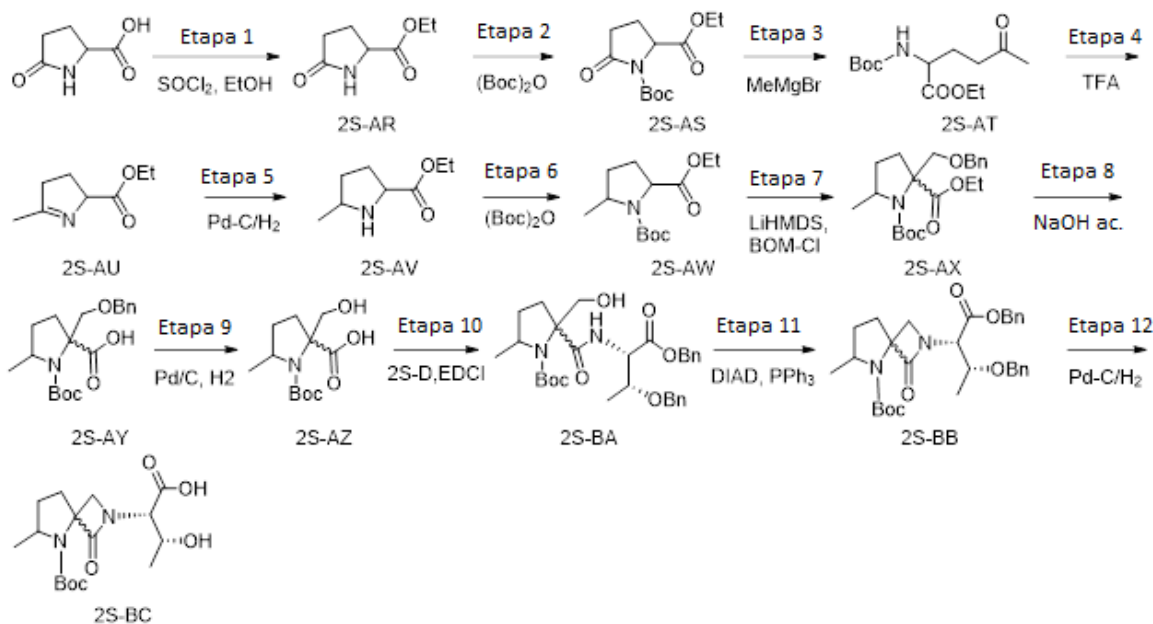
Síntesis de ácido (2S,3R)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-1-metil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-2-il)-3-hidroxi-butanoico (2S-AQ):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AP (900 mg) en metanol (30 mL) se añadió Pd/C al 10 % (300 mg) a TA y se agitó durante 16 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con metanol (10 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-AQ (480 mg, 82 %) como jarabe espeso amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,80 (br s, 1H), 5,11-4,96 (m, 1H), 4,83-4,04 (m, 3H), 3,40-3,35 (m, 1H), 2,11 (s, 3H), 2,10-2,03 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,43-1,39 (m, 6H).

LCMS: 342 [M<sup>-</sup>-1]

Esquema 2S-I-11



#### Síntesis de 5-oxopirrolidina-2-carboxilato de etilo (2S-AR):

- 5 A una solución en agitación de ácido 5-oxopirrolidina-2-carboxílico (10 g, 77,4 mmol) en etanol (100 mL) se añadió cloruro de tionilo (6,7 mL, 92,9 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), los solventes de la mezcla de reacción se eliminaron al vacío. El residuo se diluyó con EtOAc (50 mL) y se agitó en K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener el compuesto 2S-AR (9 g, 74 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,98 (br s, 1H), 4,16 (t, 3H), 2,37-2,30 (m, 1H), 2,15 (q, 2H), 2,03-1,97 (m, 1H), 1,22 (t, 3H);

- 15 LCMS, m/z: 157,9 [M<sup>+</sup>+1]

#### Síntesis de 5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-etilo (2S-AS):

- 20 A una solución en agitación del compuesto 2S-AR (9 g, 57,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (90 mL) se añadió DMAP (7,0 g, 57,3 mmol) seguido de Et<sub>3</sub>N (15,9 mL, 114,6 mmol) y Boc-anhídrido (36,7 mL, 171,9 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) y se lavó con solución acuosa 1N de HCl seguida de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/hexano al 50 % para obtener el compuesto 2S-AS (12 g, 82 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,61 (dd, 1H), 4,19 (q, 2H), 2,46-2,40 (m, 2H), 2,37-2,25 (m, 1H), 1,91-1,85 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,22 (t, 3H).

#### Síntesis de 2-((ter-butoxicarbonil) amino)-5-oxohexanoato de etilo (2S-AT):

- 30 A una solución en agitación del compuesto 2S-AS (12 g, 46,6 mmol) en THF (120 mL) en atmósfera inerte se añadió MeMgBr (3M en éter) (20,2 mL, 60,6 mmol) a 0 °C y se agitó durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/Hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-AT (10 g, 79 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,14 (br s, 1H), 4,23 (q, 2H), 2,62-2,47 (m, 2H), 2,17 (s, 4H), 1,91-1,82 (m, 1H), 1,45 (s, 10H), 1,26 (t, 3H).

- 40 Síntesis de 5-metilpirrolidina-2-carboxilato de etilo (2S-AU & 2S-AV):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AT (10 g, 36,7 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) se añadió TFA (14,89 mL, 194,6 mmol) a 0 °C. Después de agitarse durante 2 h a TA, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida



## ES 2 734 405 T3

para obtener el compuesto 2S-AU. El material obtenido se disolvió en etanol (100 mL) y Pd/C al 10 % (húmedo al 50 %, 3 g) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo) durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-AV (15 g, bruto). El material se llevó directamente a la siguiente etapa sin purificación adicional.

LCMS, m/z: 158,1 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 5-metilpirrolidina-1,2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-etilo (2S-AW):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AV (30 g, 191 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150 mL) se añadió DMAP (23,3 g, 191 mmol) seguido de Et<sub>3</sub>N (79,8 mL, 573 mmol) y Boc-anhídrido (104 mL, 477 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) y se lavó con agua (2 x 150 mL) seguida de salmuera. La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/hexano al 6 % para obtener el compuesto 2S-AW (30 g, 61,22 %) como un líquido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,13-3,86 (m, 4H), 2,15 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 1,99-1,82 (m, 2H), 1,52 (t, J = 4,5 Hz, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,24 (t, J = 5,5 Hz, 3H), 1,16 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

LCMS, m/z: 258 [(M<sup>+</sup>+1)]

Síntesis de 2-((benciloxi) metil)-5-metilpirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-etilo (2S-AX):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AW (8,0 g, 31,12 mmol) en THF (70 mL) se añadió LiHMDS (59 mL, 41,72 mmol) a -78 °C y se agitó durante 2 h. A esto se añadió BOM-cloruro (6,56 mL, 41,72 mmol) por goteo y se agitó durante 2 h a -30 °C. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con DCM (30 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/hexano al 10 % para proporcionar el compuesto 2S-AX (11 g, 94,2 %) como líquido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,33-7,25 (m, 5H), 4,38 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 4,08-3,98 (m, 1H), 3,88 (d, J = 9,5 Hz, 2H), 2,20-2,08 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,37-1,29 (m, 4H), 1,19 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,14-1,10 (m, 3H);

LCMS, m/z: 378 (M<sup>+</sup>+1)

Síntesis de ácido 2-((benciloxi) metil)-1-(ter-butoxicarbonil)-5-metilpirrolidina-2-carboxílico (2S-AY):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AX (11 g, 29,17 mmol) en CH<sub>3</sub>OH/THF (22 mL/20 mL) se agregó solución 2N de NaOH (33 mL) a TA. La mezcla de reacción se calentó hasta 65 °C durante 8 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente de la reacción se evaporó a presión reducida y se diluyó con EtOAc (50 mL). La capa acuosa se acidificó usando solución de ácido cítrico y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). La capa orgánica separada se lavó con agua (1 x 50 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener el compuesto 2S-AY (8 g, 80 %).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,58 (s, 1H), 7,34-7,28 (m, 5H), 4,54-4,47 (m, 2H), 4,05-3,87 (m, 2H), 3,70-3,62 (m, 1H), 2,28-2,08 (m, 3H), 1,46-1,37 (m, 1H), 1,28 (s, 9H);

LCMS, m/z: 350 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de ácido 1-(ter-butoxicarbonil)-2-(hidroximetil)-5-metilpirrolidina-2-carboxílico (2S-AZ):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AY (8 g, 1,45 mmol) en metanol (40 mL) se añadió Pd/C al 10 % (4 g) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo) a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano para obtener el compuesto 2S-AZ (4,5 g, 75,2 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,37 (br s, 1H), 4,61 (br s, 1H), 3,95-3,85 (m, 3H), 2,18-2,06 (m, 3H), 1,44-1,41 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,09 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

LCMS (ESI): m/z 260 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-(((2S, 3R)-1, 3-bis (benciloxi)-1-oxobutan-2-il) carbamoil)-2-(hidroximetil)-5-metilpirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-BA):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AZ (3 g, 11,58 mmol) en DCM (30 mL) se añadió N, N-diisopropiletilamina (6 mL, 34,7 mmol), Int D (5 g, 13,8 mmol), seguido de EDCI (2,7 g, 13,8 mmol), HOBT (1,9 g, 13,8 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1 x 50 mL), solución 2N de HCl (30 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 40 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto 2S-BA (2 g, 32,5 %) como un líquido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,30-7,17 (m, 10H), 5,16-5,10 (m, 2H), 4,50 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 4,28 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 4,13-4,07 (m, 1H), 3,95 (s, 2H), 2,10-1,85 (m, 4H), 1,40-1,35 (m, 1H), 1,30 (s, 9H), 1,18, 1,16 (dd, J = 6,4 Hz, 6H);

LCMS (ESI): m/z 440,3 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-((2S, 3R)-1, 3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)-6-metil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-BB):

A una solución en agitación del compuesto 2S-BA (1,0 g, 1,85 mmol) en THF (10 mL) se añadió trifenilfosfina (0,935 g, 4,62 mmol) y DIAD (0,75 g, 3,70 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 8 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-BB (0,8 g, 51 %) como un líquido amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,30-7,17 (m, 10H), 5,17 (s, 2H), 4,79, 4,76 (dd, J = 6,0 Hz, 2H), 4,73 (s, 2H), 4,31-4,18 (m, 2H), 3,84 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,12 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 1,98-1,91 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,32, 1,25 (dd, J = 6,0 Hz, 6,4 Hz, 3H), 1,18, 1,09 (dd, J = 6,0 Hz, 6,4 Hz, 3H);

LCMS (ESI): m/z 523,3 [M<sup>+</sup>+1]

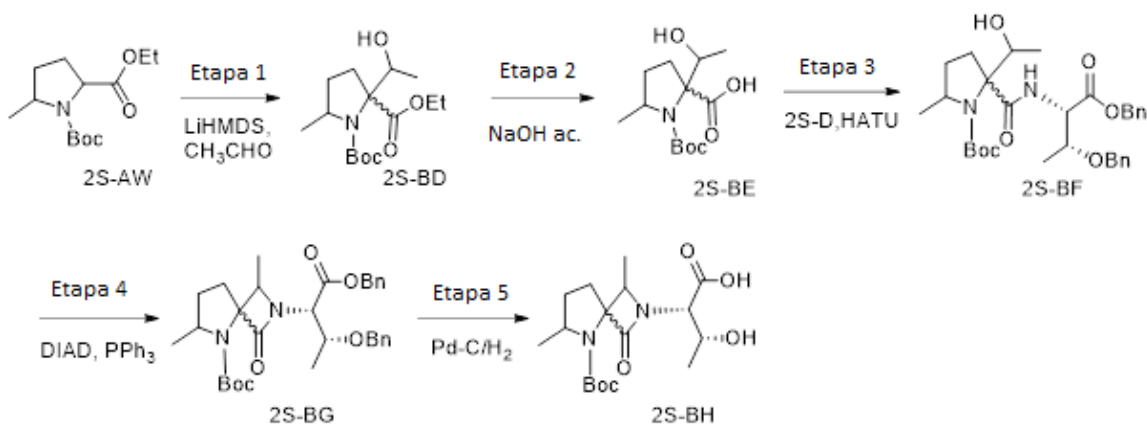
Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-6-metil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxibutanoico (2S-BC):

A una solución en agitación del compuesto 2S-BB (1 g, 1,91 mmol) en metanol (20 mL) se añadió Pd/C al 10 % (400 mg) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo) a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-BC (0,80 g, bruto) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,75 (br s, 1H), 4,80-4,73 (m, 3H), 4,20-4,05 (m, 2H), 3,40, 3,36 (dd, J = 6,8 Hz, 1H), 2,21-2,13 (m, 1H), 2,06-1,99 (m, 2H), 1,53 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,11, 1,10 (dd, J = 4,8 Hz, 5,2 Hz, 6H);

LCMS (ESI): m/z 343,3 [M<sup>+</sup>+1]

Esquema 2S-I-12



## ES 2 734 405 T3

Síntesis de 2-(1-hidroxietil)-5-metilpirrolidina-1, 2-dicarboxilato de 1-ter-butil 2-etilo (2S-BD):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AW (20 g, 77,8 mmol) en THF (200 mL) se añadió LiHMDS (84 mL, 155 mmol) por goteo a -20 °C y se agitó durante 30 min. A esto se añadió acetaldehído (8,77 mL, 155 mmol) por goteo y se agitó a TA durante 3 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl (100 mL) y se extrajo con DCM (2 x 150 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera (1 x 150 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener el material bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/Hexano al 30 % para obtener el compuesto 2S-BD (16 g, 23,1 %) como un jarabe incoloro.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,33-7,25 (m, 5H), 4,38 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 4,08-3,98 (m, 1H), 3,88 (d, J = 9,5 Hz, 2H), 2,20-2,08 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,37-1,29 (m, 4H), 1,19 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,14-1,10 (m, 3H);

LCMS m/z: 378 (M<sup>+</sup>+1)

Síntesis de ácido 1-(ter-butoxicarbonil)-2-(1-hidroxietil)-5-metilpirrolidina-2-carboxílico (2S-BE):

A una solución en agitación del compuesto 2S-BD (15 g, 49 mmol) en EtOH/THF (10 mL/20 mL) se agregó NaOH (3,98 g, 99 mmol) en agua (10 mL) a TA. La mezcla de reacción se calentó hasta 90 °C durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente de la reacción se evaporó a presión reducida y se acidificó usando ácido cítrico (pH~4). La capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 200 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera (1 x 150 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/n-hexano al 40 % para proporcionar el compuesto 2S-BE (8,2 g, 60,7 %) como un jarabe color marrón.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,15 (br s, 2H), 4,54-4,50 (m, 1H), 4,03-4,02 (m, 1H), 2,17-1,77 (m, 3H), 1,41 (s, 9H), 1,39-1,09 (m, 3H), 0,99-0,94 (m, 3H);

LCMS m/z: 272,4 [M-1]

Síntesis de 2-(((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)carbamoil)-2-(1-hidroxietil)-5-metilpirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-BF):

A una solución en agitación del compuesto 2S-BE (8 g, 29,3 mmol) en DCM (100 mL) se añadió N, N-diisopropiletilamina (15,12 mL, 87 mmol), 2S-D (12,13 g, 40,6 mmol) seguido de HATU (16,5 g, 43,5 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (1 x 75 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/n-hexano al 40 % para obtener el compuesto 2S-BF (11 g, 68,4 %) como un líquido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,31-7,19 (m, 10H), 5,14-5,06 (m, 2H), 4,59-4,48 (m, 3H), 4,31-4,26 (m, 1H), 4,05-4,00 (m, 2H), 1,98-1,89 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,39-1,35 (m, 3H), 1,28-1,17 (m, 6H), 1,16-1,00 (m, 3H);

LCMS (ESI): 555,6 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-BG):

A una solución en agitación de trifenilfosfina (3,5 g, 13,5 mmol) en THF (10 mL) se añadió DIAD (2,72 g, 13,5 mmol) en porciones y se agitó durante 20 min a TA. A esto se añadió el compuesto 2S-BF (3 g, 5,4 mmol) en THF (10 mL) lentamente a TA y se agitó durante 3 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-BG (2,5 g, 86,5 %) como un líquido amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,39-7,18 (m, 10H), 5,19-5,10(m, 2H), 4,78-4,49 (m, 3H), 4,34-4,25 (m, 2H), 3,85-3,76 (m, 1H), 2,10-1,69 (m, 4H), 1,40 (s, 9H), 1,35-1,26 (m, 3H), 1,18-1,12 (m, 6H);

Síntesis de ácido (2S,3R)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxi-butanoico (2S-BH):

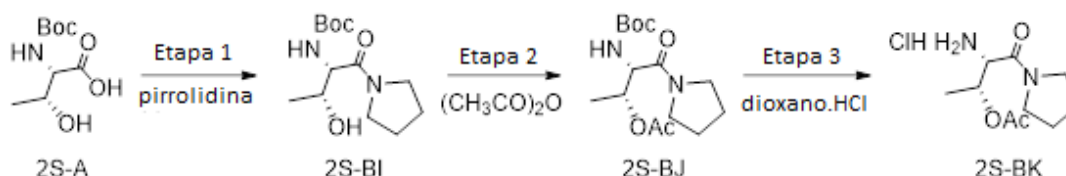
A una solución en agitación del compuesto 2S-BG (2 g, 3,72 mmol) en metanol (20 mL) se añadió Pd/C al 10 % seco (200 mg) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite

y la almohadilla se lavó con metanol (10 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-BH (1,8 g, 60,4 %) como un sólido amarillo.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12,72 (br s, 1H), 5,11-4,97 (m, 1H), 4,30-4,15(m,2H), 3,91-3,76 (m, 2H), 2,18-1,90 (m,3H), 1,40 (s, 9H), 1,37-1,29 (m, 1H), 1,26-1,22(m, 3H), 1,21-1,10 (m, 6H);

LCMS (ESI): 357,5 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Esquema 2S-I-13



Síntesis de ((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) carbamato de ter-butilo (2S-BI)

A una solución en agitación del compuesto 2S-A (13 g, 59,36 mmol) en DMF (65 mL) se añadió EDCI.HCl (12,5 g, 65,2 mmol) seguido de HOBT (8,8 g, 65,2 mmol) a 0 °C. Después de agitar durante 5 min, se añadió DIPEA (30,6 mL, 0,17 mol) seguido de pirrolidina (4,6 g, 65,2 mmol) a la mezcla de reacción y se continuó con la agitación durante otras 16 h a TA. La mezcla de reacción se lavó con agua y se extrajo con EtOAc (2x 100 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto 2S-BI (5 g, 31 %).

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  5,51 (br s, 1H), 4,32 (d, 1H), 4,15-4,10 (m, 1H), 3,77-3,74 (m, 1H), 3,55-3,46 (m, 3H), 1,99-1,94 (m, 2H), 1,91-1,85 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,26 (t, 1H), 1,29 (d, 3H).

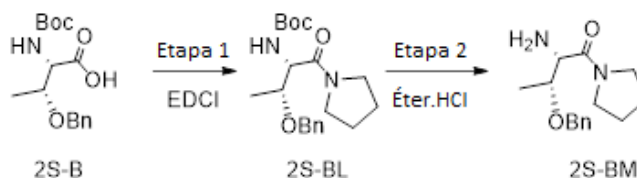
Síntesis de (2R, 3S)-3-((ter-butoxicarbonil) amino)-4-oxo-4-(pirrolidin-1-il) butan-2-il acetato (2S-BJ y 2S-BK):

A una solución en agitación del compuesto 2S-BI (4 g, 14,7 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL) se añadió Et<sub>3</sub>N (5,1 mL, 36,7 mmol) seguido de anhídrido acético (1,7 g, 17,6 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se separó la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto 2S-BJ. A esto se añadió 1, 4-dioxano/HCl (20 mL) y se agitó a TA durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el material obtenido se lavó con Et<sub>2</sub>O (2 x 15 mL) para obtener el compuesto 2S-BK (3,5 g, 97 %) como sal de HCl.

$^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) (Rotámetros):  $\delta$  8,49 (br s, 3H), 8,15 (br s, 1H), 5,14-5,10 (m, 1H), 4,26-4,22 (m, 1H), 3,97-3,95 (m, 1H), 3,59 (s, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,98 (s, 2H), 1,87-1,80 (m, 2H), 1,26 (d, 3H).

LCMS (ESI): 215,1 [ $\text{M}^+ + 1$ ].

Esquema 2S-I-14



Síntesis de ((2S, 3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) carbamato de ter-butilo (2S-BL):

A una solución en agitación del compuesto 2S-B (8 g, 25,8 mmol) en DCM (80 mL) se añadió N, N-diisopropiletamina (11 mL, 87,4 mmol), pirrolidina (2,5 mL, 35,4 mmol), seguida de EDCI (7,39 g, 38,7 mmol), HOBT (5,2 g, 38,7 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1 x 25 mL), seguida de solución de salmuera (1 x 30 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 1 % para obtener el compuesto 2S-BL (8 g, 86 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,34-7,24 (m, 5H), 6,57 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 4,53, 4,44 (dd, J = 12,0 Hz, 12,0 Hz, 2H), 4,32-4,28 (m, 1H), 3,74 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,58-3,53 (m, 1H), 3,42-3,38 (m, 1H), 3,28-3,24 (m, 2H), 1,82-1,70 (m, 4H), 1,37 (s, 9H), 1,11 (d, J = 6,4 Hz, 3H)

5

Masa (ESI): m/z 363,4 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de (2S, 3R)-2-amino-3-(benciloxi)-1-(pirrolidina-1-il) butan-1-ona (2S-BM):

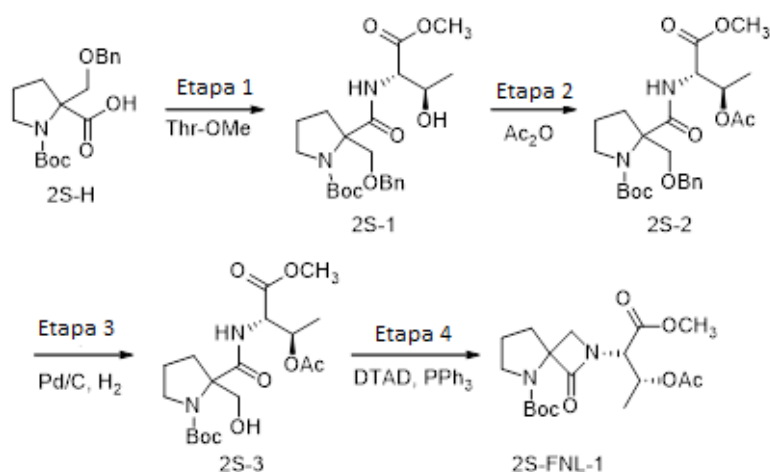
10 A una solución en agitación del compuesto 2S-BL (6 g, 16,52 mmol) en éter saturado con HCl (30 mL) se añadió a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con pentano (15 mL) para obtener el compuesto 2S-BM (4 g, 93 %) como un sólido blanco.

15 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,25 (s, 2H), 7,36-7,29 (m, 5H), 4,58, 4,48 (dd, J = 12,0, 11,5 Hz, 2H), 4,12 (t, J = 4,5 Hz, 1H), 3,87 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,60-3,57 (m, 1H), 3,37-3,33 (m, 3H), 1,78-1,70 (m, 4H), 1,22 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

20

Masa (ESI): 263,3[M<sup>+</sup>+1].

Esquema 2S-1



25 Síntesis de 2-((benciloxi)metil)-2-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-1):

30 A una solución agitada del compuesto 2S-H (2,0 g, 5,97 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se añadió DIPEA (2,6 mL, 14,92 mmol) seguido de HATU (2,26 g, 5,94 mmol) a 0 °C y se agitó durante 10 minutos. Una solución de clorhidrato de 2-amino-3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (1 g, 5,97 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se añadió a la mezcla de reacción a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se dejó calentar hasta TA y la agitación se continuó durante otras 3 h. Los extractos volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con agua (25 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 75 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/Hexano al 40 % para obtener el compuesto 2S-1 (1,8 g, 67 %) como un líquido.

40 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,38-7,31 (m, 5H), 5,16 (br s, 1H), 4,54 (s, 2H), 4,28-4,26 (m, 1H), 4,17-4,12 (m, 1H), 3,84-3,82 (m, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,54-3,51 (m, 1H), 2,32-2,27 (m, 4H), 1,84-1,78 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,06 (d, 3H);

LCMS m/z: 451,6 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-(((2S,3R)-3-acetoxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil)-2-((benciloxi)metil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-Butilo (2S-2):

45 A una solución agitada del compuesto 2S-1 (1,0 g, 2,22 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) se añadió Et<sub>3</sub>N (0,34 mL, 2,44 mmol) por goteo a 0 °C en atmósfera inerte. A esto se añadió Ac<sub>2</sub>O (0,27 mL, 2,64 mmol) seguido de DMAP (50 mg, 0,40 mmol) a 0 °C y se dejó agitar a TA durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y la capa acuosa se

extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 25 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto 2S-2 (0,8 g, 73 %) como un líquido.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,41-7,34 (m, 5H), 5,26-5,24 (m, 1H), 4,54 (s, 2H), 4,06-3,97 (m, 1H), 3,78-3,72 (m, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,52-3,49 (m, 1H), 2,68 (s, 6H), 2,34-2,31 (m, 1H), 1,87 (s, 3H), 1,78-1,74 (m, 2H), 1,42 (s, 6H), 1,14 (d, 3H).

Masa  $m/z$ : 493,8 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

10 Síntesis de 2-(((2S, 3R)-3-acetoxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil)-2-(hidroximetil) pirrolidina- 1-carboxilato de ter-Butilo (2S-3):

15 A una solución agitada del compuesto 2S-2 (0,8 g, 1,62 mmol) en EtOAc (15 mL) se añadió Pd-C al 10 % (0,15 g) y se agitó a TA durante 24 h en atmósfera de  $\text{H}_2$  (presión de globo). La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 40 % para obtener el compuesto 2S-3 (0,5 g, 77 %) como un líquido.

20  $^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  8,16 (br s, 1H), 5,78-5,74 (m, 1H), 5,23 (d,  $J = 9,5$  Hz, 1H), 4,64-4,58 (m, 1H), 4,03-3,98 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,52 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 3,43 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H), 2,29-2,27 (m, 1H), 1,96-1,94 (m, 4H), 1,74-1,68 (m, 2H), 1,38-1,30 (m, 9H), 1,14 (d,  $J = 6,5$  Hz, 3H);

LCMS  $m/z$ : 403,6 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

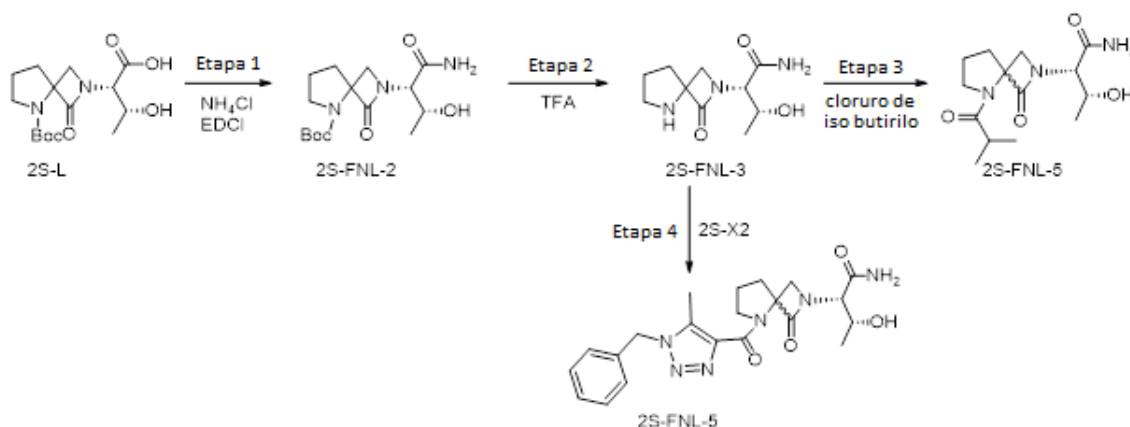
25 Síntesis de 2-((2S,3R)-3-acetoxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2,5-diaza espiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-Butilo (2S-FNL-1):

30 A una solución agitada del compuesto 2S-3 (0,35 g, 0,87 mmol) en THF (15 mL) se añadió  $\text{PPh}_3$  (274 mg, 1,04 mmol) a TA y se agitó durante 30 minutos en atmósfera inerte. Después, la mezcla de reacción se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$ , se añadió DTAD (0,22 g, 0,95 mmol) a la mezcla de reacción, se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se continuó con la agitación durante otras 20 h. Se inactivó con ácido cítrico saturado y se lavó con solución saturada de NaCl y se extrajo con EtOAc (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/Hexano al 40 % para obtener NRX-1076 (2S-FNL-1) (160 mg, 48 %) como un líquido.

35  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  5,21-5,18 (m, 1H), 4,57 (d, 1H), 3,82 (d, 1H), 3,64 (d, 3H), 3,42 (d, 2H), 3,24-3,21 (m, 1H), 2,14-2,11 (m, 2H), 1,97 (s, 3H), 1,84-1,78 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,18 (d, 3H);

40 Masa  $m/z$ : 383,1 [ $\text{M} - 1$ ]

Esquema 2S-2:



45 Síntesis de 2-((2S, 3 R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butulo (2S-FNL-2):

50 A una solución en agitación del compuesto 2S-L (500 mg, 1,52 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) se añadió DIPEA (0,8 mL, 4,57 mmol), EDCI.HCl (350 mg, 1,82 mmol) seguido de HOBt (280 mg, 1,82 mmol),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (161 mg, 3,04 mmol) a 0

## ES 2 734 405 T3

5 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de ácido cítrico (2 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto (2S-FNL-2) (200 mg, 40 %) como un líquido incoloro.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,53 (s, 2H), 4,59 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,77-3,70 (m, 2H), 3,62-3,53 (m, 2H), 3,46-3,33 (m, 1H), 2,17-2,03 (m, 2H), 1,88-1,71 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,18 (d, J = 6,5 Hz, 3H);

10 Masa (ESI): 328,3 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-3):

15 A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-2) (200 mg, 0,61 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadió TFA (0,5 mL, 6,1 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto que se trituró con n-pentano/éter dietílico (5 mL/5 mL) para obtener el compuesto (2S-FNL-3) (100 mg) como un sólido blanco (sal de TFA).

20 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,33-4,29 (m, 2H), 4,09 (d, 1H), 3,95 (d, 1H), 3,57-3,48 (m, 2H), 2,51-2,46 (m, 2H), 2,25-2,19 (m, 2H), 1,31 (d, 3H);

LCMS, m/z: 455 [2M<sup>+</sup>+1]

25 Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(5-isobutiril-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-4):

30 A una solución en agitación de (2S-FNL-3) (500 mg (bruto), 2,20 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se añadió TEA (1 mL, 7,70 mmol) seguido de SM3 (256 mg, 2,42 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de ácido cítrico (2 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener (2S-FNL-4) (100 mg, 15,2 %) como un sólido blanco.

35 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,54-4,52 (m, 1H), 4,41-4,37 (m, 1H), 4,27 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,04 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 3,85-3,72 (m, 1H), 3,71-3,66 (m, 1H), 2,92-2,87 (m, 1H), 2,38-2,27 (m, 2H), 2,12-2,05 (m, 2H), 1,30 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 1,14 (d, J = 6,5 Hz, 6H);

Masa (ESI): 298,3 [M<sup>+</sup>+1]

40 Síntesis de (2S, 3R)-2-(5-(1-bencil-5-metil-1H-1, 2, 3-triazol-4-carbonil)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) -3-hidroxi-2-butanimida (2S-FNL-5):

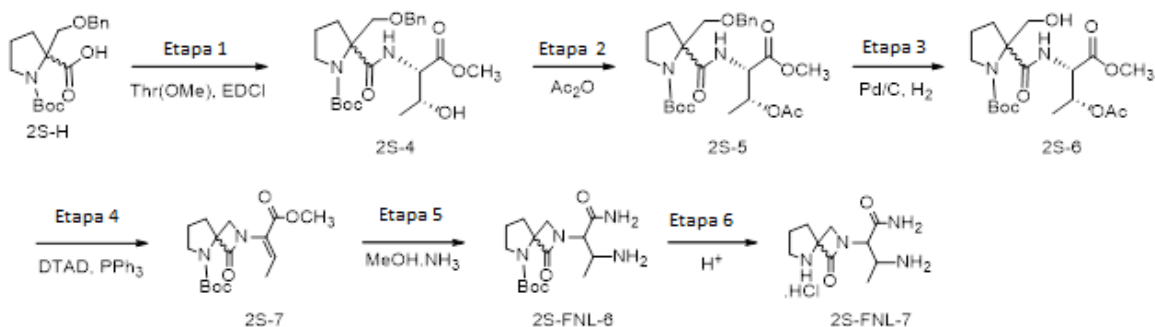
45 A una solución en agitación de 2S-X2 (200 mg, 0,92 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL), DMF (0,1 mL) se añadió cloruro de oxalilo (0,16 mL, 1,84 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta TA y se agitó durante 2 h. Los extractos volátiles se evaporaron en presencia de atmósfera de N<sub>2</sub> para obtener cloruro ácido (300 mg, bruto). A una solución agitada de cloruro ácido (300 mg, bruto) en DCM (5 mL) se añadió (2S-FNL-3) (220 mg, 0,92 mmol), N, N-diisopropiletilamina (0,53 mL, 2,76 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a TA durante 1 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución de salmuera (2 x 10 mL) y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se concentraron a presión reducida para obtener el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 3 % para obtener el compuesto (2S-FNL-5) (200 mg, 48,6 %) como un sólido color marrón pálido.

55 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,77 (s, 2H), 7,38-7,31 (m, 3H), 7,18 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 5,65 (s, 2H), 4,89 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 4,76 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 4,07-3,91 (m, 4H), 3,62-3,48 (m, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,26-2,12 (m, 2H), 1,98-1,91 (m, 2H), 1,13 (d, J = 6,5 Hz, 3H);

LCMS m/z: 427,6 [M<sup>+</sup>+1];

60 HPLC: 95,5 % (ambos enantiómeros)

Esquema 2S-2:



Síntesis de 2-((benciloxi)metil)-2-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-4):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-H (50 g, 0,15 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 mL) se añadió 2-amino-3-hidroxi-1-oxobutanoato de metilo (23,8 g, 0,18 mol), EDCI.HCl (34,2 g, 0,18 mol) seguido de HOBt (24,1 g, 0,18 mol) y DIPEA (57,8 g, 0,45 mol) a TA y se agitó durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (250 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 250 mL). Las capas orgánicas separadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 50 % para obtener el compuesto 2S-4 (53 g, 78,9 %) como un líquido verde claro.

15 Síntesis de 2-(((2S,3R)-3-acetoxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil)-2-((benciloxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-5):

20 A una solución en agitación del compuesto 2S-4 (15 g, 33,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150 mL) se añadió DIPEA (6,4 g, 49,9 mmol) seguido de anhídrido acético (4 g, 39,9 mmol) y DMAP (408 mg, 3,33 mmol) a TA y se agitó durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-5 (16 g, crudo) como un líquido color marrón claro.

25 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,35 (d, 5H), 5,47-5,44 (m, 1H), 4,80 (dd, 1H), 4,64-4,61 (m, 2H), 4,15-4,11 (m, 1H), 3,86-3,83 (m, 1H), 3,75 (s, 4H), 3,54-3,50 (m, 2H), 2,42-3,38 (m, 1H), 1,91-1,85 (m, 5H), 1,45-1,41 (m, 10H), 1,27 (d, 2H);

LCMS (ESI): 492 [M<sup>+</sup>]

30 Síntesis de 2-(((2S,3R)-3-acetoxi-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)carbamoil)-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-6):

35 A una solución en agitación del compuesto 2S-5 (16 g, 32,5 mmol) en metanol (100 mL) y EtOAc (100 mL) se añadió Pd sobre carbón al 10 % (3 g) a TA y se agitó durante 4 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-6 (10 g, bruto) como jarabe espeso color marrón. Este material se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

40 Síntesis de 2-(1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de (Z)-ter-butilo (2S-7):

45 A una solución en agitación del compuesto 2S-6 (10 g, 24,8 mmol) en THF (50 mL) se añadió trifetilfosfina (13 g, 49,7 mmol) y DTAD (11,15 g, 37,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 40 % para obtener el compuesto 2S-7 (2 g, 24,8 %).

50 Síntesis de 2-(1, 3-diamino-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-6):

Una solución del compuesto 2S-7 (2 g, 6,16 mmol) en metanol.NH<sub>3</sub> (50 mL) se agitó a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se lavó con Et<sub>2</sub>O (25 mL) y n-pentano (25 mL) para obtener (2S-FNL-6) (2,5 g, 16,6 %) como un sólido blanco.

55



$^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,70 (br s, 1H), 7,07 (s, 1H), 3,85 (d, 1H), 3,73 (d, 1H), 3,42-3,38 (m, 2H), 3,29-3,25 (m, 1H), 3,12-3,07 (m, 1H), 2,09 (t, 2H), 1,95 (br s, 1H), 1,84-1,81 (m, 2H), 1,93 (s, 9H), 1,12 (d, 1H), 0,99 (d, 2H);

5 LCMS (ESI) m/z: 327,3 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Síntesis de 3-amino-2-(1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-2-il)butanamida (2S-FNL-7):

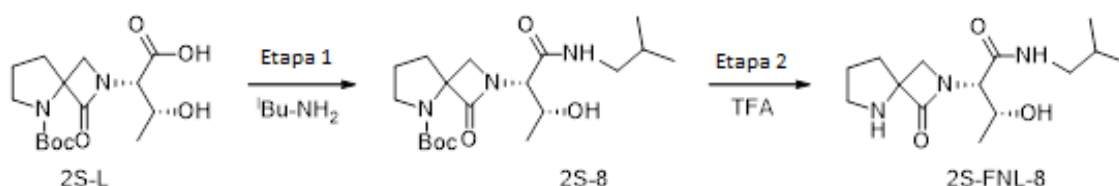
10 A una solución en agitación de (2S-FNL-6) (0,25 g, 0,76 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió éter.HCl (5 mL) a TA y se agitó durante 4 h. A esto se añadió 1, 4-dioxano-HCl (5 mL) y se continuó con la agitación durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), el solvente de la reacción se eliminó a presión reducida y el material bruto obtenido se lavó con ACN (25 mL) y  $\text{Et}_2\text{O}$  (25 mL) para obtener (2S-FNL-7) (0,11 g, 63,5 %) como un sólido blancuzco.

15  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4,69-4,55 (m, 1H), 4,12-3,86 (m, 3H), 3,62-3,51 (m, 2H), 2,56-2,23 (m, 2H), 2,25-2,21 (m, 2H), 1,52-1,43 (m, 3H).

LCMS (ESI) m/z: 227,2 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

20 UPLC (Pureza): 97,96 %

Esquema 2S-3:



25 Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-(isobutilamino)-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-8):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-L (300 mg, 0,91 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (354 mg, 2,74 mmol), EDCI.HCl (210 mg, 1,09 mmol) seguido de HOBt (165 mg, 1,09 mmol), isobutilamina (80 mg, 1,09 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (2 x 30 mL), se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto 2S-8 (250 mg, 71,5 %) como un sólido blanco.

35  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  8,02 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,37 (s, 2H), 4,04 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 4,00 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 3,77-3,72 (m, 1H), 3,61 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,44-3,38 (m, 1H), 2,98-2,84 (m, 3H), 2,19-2,08 (m, 3H), 1,84-1,79 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,39 (d, J = 5,5 Hz, 3H), 0,84 (d, J = 6,4 Hz, 6H);

40 Masa (ESI): m/z 384,4 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

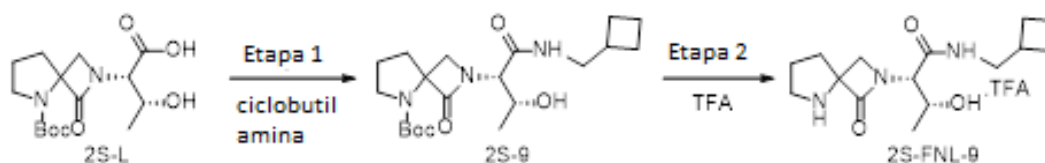
Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-N-isobutil-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-8):

45 A una solución en agitación del compuesto 2S-8 (250 mg, 0,65 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) se añadió TFA (0,6 mL, 6,52 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano/éter dietílico (3 x 5 mL) para obtener (2S-FNL-8) (125 mg, 67,9 %) como un sólido blanco (sal de TFA).

50  $^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4,26 (s, 2H), 4,09 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 3,95 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,56-3,51 (m, 2H), 3,14-3,06 (m, 2H), 2,50-2,43 (m, 2H), 2,25-2,21 (m, 2H), 1,85-1,82 (m, 1H), 1,30 (d, J = 5,5 Hz, 3H), 0,96 (d, J = 7,0 Hz, 6H);

55 Masa (ESI): m/z 284,3 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Esquema 2S-4:



Síntesis de 2-((2S, 3R)-1-((ciclobutilmetil) amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-9):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-L (500 mg, 1,52 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se añadió DIPEA (0,8 mL, 4,57 mmol), EDCI.HCl (350 mg, 1,82 mmol) seguido de HOBt (280 mg, 1,82 mmol), ciclobutilamina (155 mg, 1,82 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y la capa orgánica separada se lavó con ácido cítrico (2 x 20 mL), salmuera (2 x 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 80 % para obtener el compuesto 2S-9 (250 mg, 41,5 %) como un jarabe incoloro.

15 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,20 (t, J = 11,5 Hz, 1H), 4,53 (s, 2H), 4,03 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,88 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 3,41-3,33 (m, 2H), 3,32-3,24 (m, 2H), 2,41-2,33 (m, 3H), 2,32-2,27 (m, 2H), 2,24-2,17 (m, 2H), 2,10-1,90 (m, 2H), 1,68 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,18 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 396,4 [M<sup>+</sup>+1]

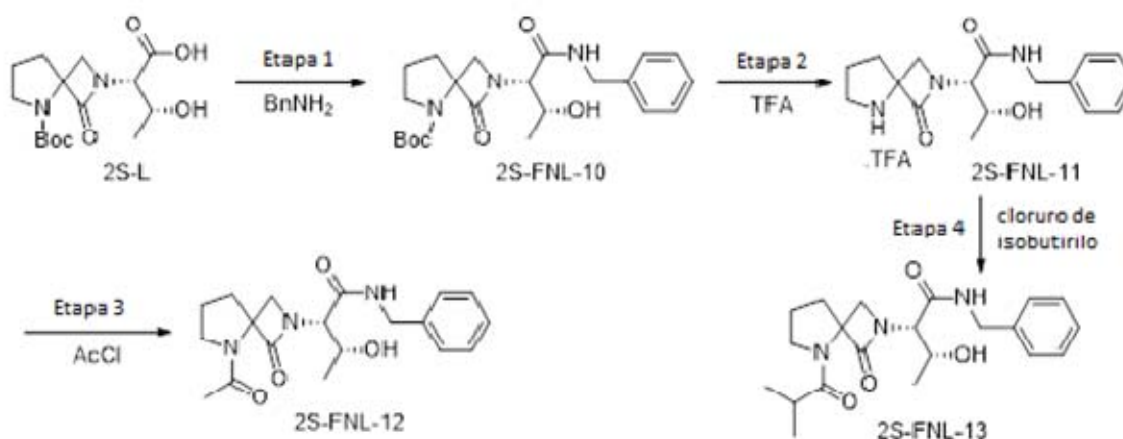
20 Síntesis de (2S, 3R)-N-(ciclobutilmetil)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-9):

A una solución en agitación del compuesto 2S-9 (250 mg, 0,63 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadió TFA (0,5 mL, 5,06 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con éter dietílico (5 mL) para obtener (2S-FNL-9) (90 mg, 48,3 %) como un sólido blanco higroscópico (sal de TFA).

25 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,23 (s, 2H), 4,08 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 3,94 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 3,56-3,51 (m, 2H), 3,32-3,24 (m, 2H), 2,56-2,53 (m, 3H), 2,48-2,43 (m, 2H), 2,25-2,21 (m, 2H), 2,07-1,88 (m, 2H), 1,71 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 1,28 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

30 Masa (ESI): m/z 296,3 [M<sup>+</sup>+1];

Esquema 2S-5:



35 Síntesis de 2-((2S, 3R)-1-(bencilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-10):

40 A una solución en agitación del compuesto 2S-L (1 g, 3,04 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) se añadió DIPEA (1,6 mL, 9,14 mmol), EDCI.HCl (700 mg, 3,66 mmol) seguido de HOBt (560 mg, 3,66 mmol), bencilamina (325 mg, 3,04 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de ácido cítrico (2 x 30 mL) y la capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a

## ES 2 734 405 T3

presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener (2S-FNL-10) (800 mg, 63,5 %) como un sólido blanco.

5  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,38-7,20 (m, 5H), 4,62-4,60 (m, 1H), 4,49-4,43 (m, 2H), 4,33-4,25 (m, 1H), 4,04 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 3,96-3,92 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 1H), 3,43-3,31 (m, 1H), 2,31-2,21 (m, 2H), 1,98-1,86 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,24-1,22 (m, 3H);

Masa (ESI):  $m/z$  418,4 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

10 HPLC: 91,8 % (ambos isómeros)

Síntesis de (2S, 3R)-N-bencil-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-11):

15 A una solución en agitación de (2S-FNL-10) (700 mg, 1,67 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió TFA (1,9 mL, 16,7 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 4 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano/éter dietílico (5 mL/5 mL) para obtener (2S-FNL-11) (400 mg, 75,6 %) como un sólido blanco (sal de TFA).

20  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7,45-7,34 (m, 5H), 4,45 (s, 2H), 4,29-4,21 (m, 2H), 4,06-3,85 (m, 2H), 3,52-3,47 (m, 2H), 2,45-2,35 (m, 2H), 2,22-2,16 (m, 2H), 1,24-1,20 (m, 3H);

Masa (ESI):  $m/z$  318,4 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

25 HPLC: 89,1 % (ambos isómeros).

Síntesis de (2S, 3R)-2-(5-acetil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-bencil-3-hidroxi-2-butanamida (2S-FNL-12):

30 A una solución en agitación de (2S-FNL-11) (240 mg, 0,75 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió TEA (0,31 mL, 2,25 mmol) a TA. Después se agregó cloruro de acetilo (0,1 mL, 0,9 mmol) lentamente a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (5 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de ácido cítrico (1 x 20 mL), salmuera (1 x 20 mL). La capa orgánica separada se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener (2S-FNL-12) (90 mg, 33,4 %) como un sólido blancuzco.

35  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,32-7,20 (m, 5H), 4,58-4,55 (m, 1H), 4,52-4,42 (m, 2H), 4,36-4,22 (m, 1H), 4,08-3,93 (m, 1H), 3,70-3,65 (m, 2H), 3,64-3,53 (m, 2H), 2,32-2,22 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,04-1,95 (m, 2H), 1,22-1,20 (m, 3H);

40 Masa (ESI):  $m/z$  360,3 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

HPLC: 97,5 % (ambos isómeros)

45 Síntesis de (2S, 3R)-N-bencil-3-hidroxi-2-(5-isobutil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (NRX-2563) (2S-FNL-13):

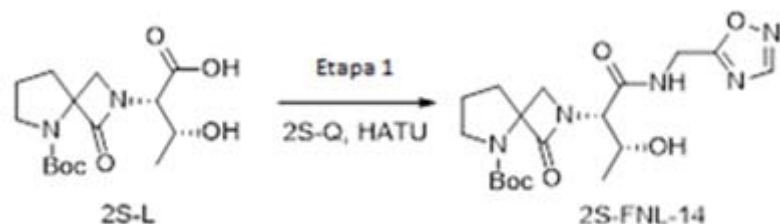
50 A una solución en agitación de (2S-FNL-11) (244 mg, 0,76 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió TEA (0,37 mL, 2,66 mmol) a 0 °C. Después se añadió Int-F (89 mg, 0,84 mmol) y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de ácido cítrico (2 x 30 mL) y la capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 60 % para obtener (2S-FNL-13) (150 mg, 51 %) como un sólido blancuzco.

55  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,35-7,20 (m, 5H), 4,82-4,49 (m, 1H), 4,46-4,31 (m, 1H), 4,29-4,03 (m, 1H), 3,90-3,70 (m, 2H), 3,69-3,57 (m, 2H), 3,46-3,31 (m, 1H), 2,77-2,73 (m, 1H), 2,28-2,21 (m, 2H), 2,06-1,97 (m, 2H), 1,22 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 1,08-0,98 (m, 6H);

Masa (ESI):  $m/z$  388,4 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

60 HPLC: 95,2 % (ambos isómeros)

Esquema 2S-6:



Síntesis de 2-((2S, 3R)-1-(((1, 2, 4-oxadiazol-5-il) metil) amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-14):

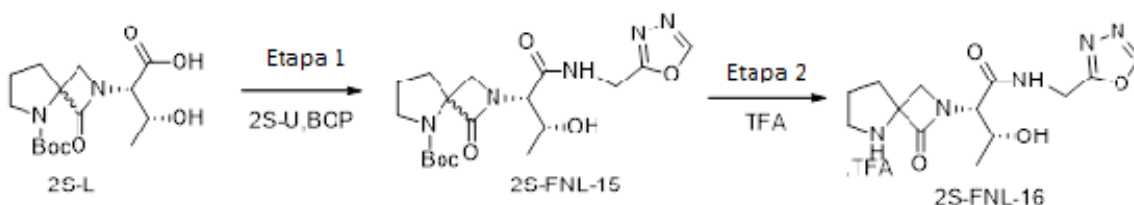
5 A una solución en agitación del compuesto 2S-L (600 mg, 1,82 mmol) en DMF (10 mL) se añadió DIPEA (708 mg, 5,48 mmol), 2S-Q (290 mg, 1,82 mmol) HATU (761 mg, 2,00 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 mL) y EtOAc (100 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 50 mL) seguida de solución de salmuera (2 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 %. El sólido obtenido se trituró con éter/n-pentano (5 mL/5 mL) para obtener (2S-FNL-14) (100 mg, 13,5 %) como un sólido blanco.

15 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,61 (s, 1H), 4,85 (s, 2H), 4,78-4,63 (m, 1H), 4,59-4,55 (m, 1H), 4,30-4,25 (m, 1H), 3,52-3,46 (m, 2H), 3,43-3,29 (m, 1H), 2,31-2,23 (m, 2H), 1,96-1,88 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,26-1,20 (m, 3H);

Masa (ESI): m/z 410,4 [M<sup>+</sup>+1];

HPLC: 98,14 % (ambos isómeros)

20 Esquema 2S-7:



25 Síntesis de 2-((2S, 3R)-1-(((1, 3, 4-oxadiazol-2-il) metil) amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-15):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-L (1 g, 3,04 mmol) en DMF (10 mL) se añadió DIPEA (1,58 mL, 9,12 mmol), reactivo BOP (2,01 g, 4,56 mmol) seguido de 2S-U (496 mg, 3,64 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera (2 x 50 mL) y la capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/n-hexano al 80 % seguida de purificación por HPLC preparativa para obtener (2S-FNL-15) (67 mg, 5,4 %) como un sólido blancuzco.

35 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10,92 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 4,97-4,88 (m, 2H), 4,07 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 3,83-3,65 (m, 2H), 3,57-3,40 (m, 1H), 3,38-3,25 (m, 2H), 2,15-2,01 (m, 2H), 1,83-1,80 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,22 (d, J = 6,4 Hz, 3H)

40 Masa (ESI): m/z 410,4 [M<sup>+</sup>+1];

HPLC: 90,6 %

45 Síntesis de (2S, 3R)-N-(((1, 3, 4-oxadiazol-2-il) metil)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-16):

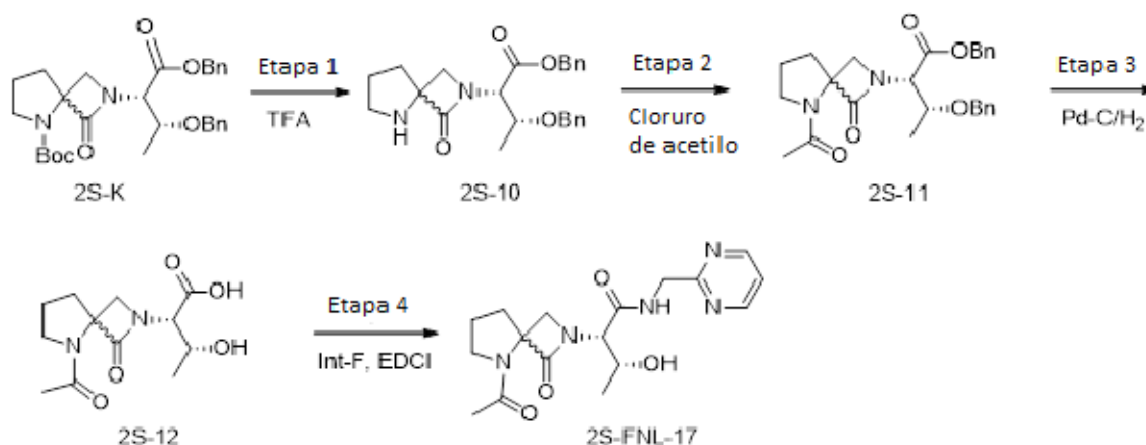
A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-15) (70 mg, 0,71 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadió TFA (195 mg, 1,71 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 1 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano/éter dietílico (5 mL/5 mL) para obtener el compuesto (2S-FNL-16) (60 mg, 84,5 %) como un sólido blancuzco (sal de TFA).

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 7,83 (s, 1H), 5,20-5,10 (m, 1H), 4,80 (s, 1H), 4,39-4,30 (m, 2H), 4,13-4,04 (m, 2H), 3,53-3,48 (m, 2H), 2,44-2,41 (m, 2H), 2,21-2,16 (m, 2H), 1,31 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 310,1 [M<sup>+</sup>+1];

HPLC: 90,99 %

Esquema 2S-8:



Síntesis de (2S, 3R)-3-(benciloxi)-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanoato de bencilo (8):

A una solución en agitación del compuesto 2S-K (800 mg, 1,57 mmol) en DCM (10 mL) se agregó TFA (1,2 mL) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-10 (500 mg, 78 %) como un sólido blancuzco (sal de HCl) que se utilizó directamente para la siguiente etapa.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 7,48 (m, 5H), 7,24-7,21 (m, 5H), 5,29 (s, 2H), 4,96 (s, 2H), 4,80-4,62 (m, 1H), 4,29-4,18 (m, 2H), 4,01-3,89 (m, 1H), 3,52-3,46 (m, 2H), 2,43-2,38 (m, 2H), 2,24-2,14 (m, 2H), 1,35-1,28 (m, 3H);

LCMS: 408 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de (2S, 3R)-2-(5-acetil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-(benciloxi) butanoato de bencilo (2S-11):

A una solución en agitación del compuesto 2S-10 (500 mg, 1,22 mmol) en DCM (5 mL) se añadió TEA (0,46 mL, 3,36 mmol) seguido de cloruro de acetilo (0,1 mL, 1,47 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto 2S-11 (300 mg, 54,5 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 7,36-7,29 (m, 5H), 7,26-7,16 (m, 5H), 5,13 (s, 2H), 4,59 (s, 2H), 4,32-4,29 (m, 2H), 4,16-4,13 (m, 1H), 3,65-3,61 (m, 1H), 3,60-3,46 (m, 2H), 2,21-2,09 (m, 2H), 2,02 (s, 3H), 2,01-1,91 (m, 2H), 1,21 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

LCMS: 451,3 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-(5-acetil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxibutanoico (2S-12):

A una solución en agitación del compuesto 2S-11 (1 g, 2,22 mmol) en metanol (30 mL) se añadió Pd/C al 10 % (500 mg) a TA y se agitó durante 24 h en atmósfera de H<sub>2</sub>. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol (20 mL). El

filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-12 (500 mg, 83,3 %) como un sólido blancuzco.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  4,35-4,30 (m, 1H), 4,29-4,17 (m, 1H), 4,09-4,04 (m, 1H), 3,76-3,67 (m, 1H), 3,59-3,48 (m, 1H), 3,34-3,31 (m, 1H), 2,29-2,24 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,04-1,96 (m, 2H), 1,28 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H);

LCMS  $m/z$ : 270,4 [ $\text{M}^++1$ ]

Síntesis de (2S, 3R)-2-(5-acetil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxi-N-(pirimidin-2-ilmetil) butanamida (2S-FNL-17):

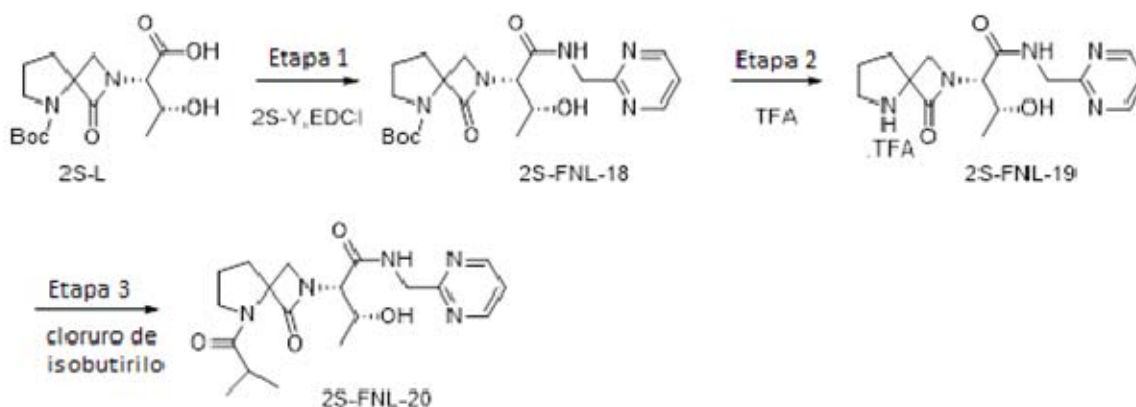
A una solución en agitación del compuesto 2S-12 (700 mg, 2,59 mmol) en DCM (15 mL) se añadió DIPEA (1,35 mL, 7,77 mmol), 2S-Y (410 mg, 2,84 mmol), EDCI (593 mg, 3,1 mmol) seguido de HOBT (474 mg, 3,1 mmol) a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (40 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 3 % para obtener (2S-FNL-17) (100 mg, 10,7 %) como un sólido blanco.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  8,78 (d,  $J = 5,2$  Hz, 2H), 7,49 (t,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 4,79 (s, 2H), 4,55-4,47 (m, 1H), 4,40-4,37 (m, 2H), 3,79-3,56 (m, 3H), 2,37-2,26 (m, 2H), 2,14-2,03 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,28 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H);

Masa (ESI):  $m/z$  362,4 [ $\text{M}^++1$ ];

HPLC: 92,3 % (ambos isómeros)

Esquema 2S-9:



Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-((pirimidin-2-ilmetil) amino) butan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-18):

A una solución en agitación del compuesto 2S-L (1 g, 3,04 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 mL) se añadió DIPEA (1,63 mL, 9,14 mmol), EDCI.HCl (696 mg, 3,64 mmol) seguido de HOBT (558 mg, 3,64 mmol), 2S-Y (241 mg, 3,34 mmol) a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 mL). La capa orgánica se lavó con solución de ácido cítrico (2 x 30 mL) seguida de solución de salmuera (2 x 25 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener (2S-FNL-18) (800 mg, 63 %) como un sólido blanco.

$^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8,72 (t,  $J = 4,8$  Hz, 2H), 7,36 (t,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 4,81-4,76 (m, 1H), 4,62-4,49 (m, 1H), 4,34-4,29 (m, 1H), 4,18-4,03 (m, 2H), 3,56 (d,  $J = 5,6$  Hz, 2H), 3,52-3,46 (m, 1H), 2,30-2,25 (m, 2H), 1,97-1,88 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,31-1,28 (m, 3H); Masa (ESI):  $m/z$  420,4 [ $\text{M}^++1$ ];

HPLC: 99,6 % (ambos isómeros)

Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-(pirimidin-2-ilmetil) butanamida (2S-FNL-19):

A una solución en agitación de (2S-FNL-18) (280 mg, 0,66 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) se añadió TFA (0,3 mL, 4,0 mmol) a  $0^\circ\text{C}$  y se agitó a TA durante 4 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción

se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano/éter dietílico (5 mL/5 mL) para obtener (2S-FNL-19) (95 mg, 44,6 %) como un sólido blanco (sal de TFA).

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8,81 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 7,53 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,80-4,65 (m, 2H), 4,46 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 4,36-4,31 (m, 2H), 4,10 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 3,95 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 3,58-3,49 (m, 1H), 2,51-2,40 (m, 2H), 2,26-2,17 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 320,3 [M<sup>+</sup>+1]

10 Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(5-isobutiril-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-(pirimidin-2-ilmetil) butanamida (2S-FNL-20):

15 A una solución en agitación de (2S-FNL-19) (300 mg, 0,94 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadió TEA (0,4 mL, 2,82 mmol) seguido de SM-4 (120 mg, 1,12 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener (2S-FNL-20) (100 mg, 27,3 %) como un sólido blanco.

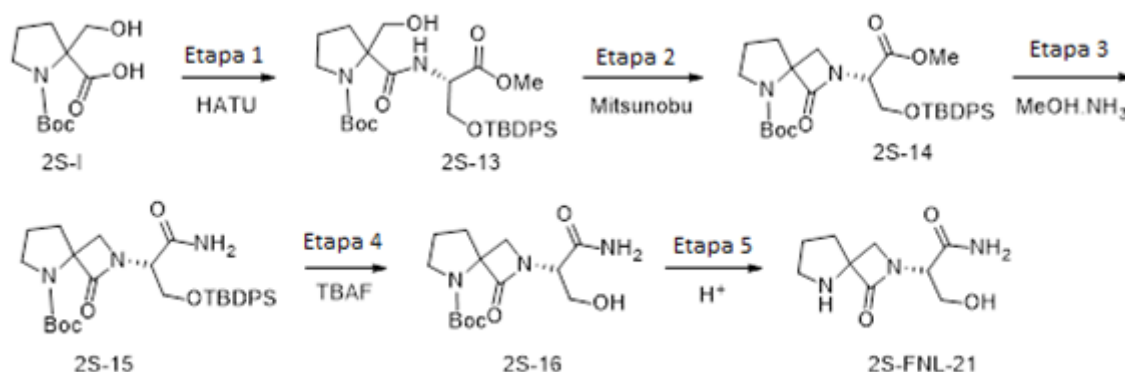
20 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,73 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 7,36 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,83-4,55 (m, 1H), 4,51-4,29 (m, 3H), 4,21-4,02 (m, 1H), 3,75-3,69 (m, 1H), 3,64-3,60 (m, 1H), 3,31-3,30 (m, 1H), 2,79-2,72 (m, 1H), 2,28-2,25 (m, 2H), 2,08-1,97 (m, 2H), 1,31 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,07-1,02 (m, 6H),

Masa (ESI): m/z 390,4 [M<sup>+</sup>+1],

25

HPLC: 97,75 %

Esquema 2S-10:



30

2-(((S)-3-((ter-butildifenilsilil)oxi)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il)carbamoil)-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-Butilo (2S-13):

35 A una solución en agitación del compuesto 2S-I (11 g, 44,89 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (110 mL) se añadió compuesto 2S-AJ (16,07 g, 44,89 mmol), HATU (20,4 g, 53,68 mmol) seguido de DIPEA (17,37 g, 0,13 mol) a TA y se agitó durante 10 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener el compuesto 2S-13 (16 g, 61 %) como un líquido amarillo.

40

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,58-7,37 (m, 10H), 4,67 (s, 1H), 4,12-4,08 (m, 2H), 3,93(s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,72-3,64 (m, 2H), 2,8 (s, 1H), 2,35 (s, 1H), 2,04 (s, 1H), 1,98-1,82 (m, 3H), 1,25 (s, 9H), 1,03 (s, 9H);

45 Masa (ESI): m/z 583,5 [M<sup>+</sup>-1].

Síntesis de 2-((S)-3-((ter-butildifenilsilil)oxi)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-14):

A una solución en agitación del compuesto 2S-13 (1,6 g, 2,73 mmol) en THF (20 mL) se añadió trifetilfosfina (0,994 g, 4,10 mmol) y DTAD (0,788 g, 3,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 8 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 30 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener el compuesto 2S-14 (0,8 g, 51 %) como un compuesto amarillo pegajoso.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,63-7,58 (m, 4H), 7,45-7,30 (m, 6H), 4,1 (s, 3H), 3,80-3,67 (m, 4H), 3,56-3,44 (m, 3H), 2,04-1,95 (m, 4H), 1,59 (s, 9H), 1,04 (s, 9H).

Masa (ESI): m/z 567,4 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de 2-((S)-1-amino-3-((ter-butildifenilsilil)oxi)-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-15):

A una solución en agitación del compuesto 2S-14 (6 g) en metanol (50 mL) se agregó amoníaco metanólico (50 mL) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se purificó el residuo bruto mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc:hexano al 40 % para obtener el compuesto 2S-15 (1 g, 17 %) como un sólido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,27 (s, 1H), 7,67-7,63 (m, 4H), 7,45-7,36 (m, 7H), 5,37 (s, 1H), 4,56-4,54 (m, 1H), 3,82 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 3,44 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 3,35 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 3,21 (s, 1H), 2,09-2,06 (m, 2H), 2,03 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,08 (s, 9H). LCMS (M/Z) m/z: 214 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de 2-((S)-1-amino-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro [3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-16):

A una solución en agitación del compuesto 2S-15 (1g, 1,81 mmol) en THF (10 mL) se añadió TBAF (0,943 g, 3,62 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta TA y se agitó durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (5 mL) y se extrajo con EtOAc (2 x 15 mL). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH:DCM al 3 % para obtener 2S-16 (0,13 g, 23 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,53 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 4,03 (d, J = 4,8, 1H), 3,96-3,91 (m, 2H), 3,85 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 3,82 (s, 2H), 2,30 (t, J = 4Hz, 2H), 2,15-1,82 (m, 2H), 1,49 (s, 9H).

LCMS (M/Z) m/z: 314,2 [M<sup>+</sup>+1]

Síntesis de (2S)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro[3.4]octan-2-il)propanamida (2S-FNL-21):

A una solución en agitación de 2S-16 (0,13 g, 0,415 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) se agregó TFA (1 mL) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener (2S-FNL-21) (100 mg, bruto) como sal de TFA.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,58 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,09-4,03 (m, 3H), 3,92 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 3,57-3,52 (m, 2H), 2,55-2,41 (m, 2H), 2,28-2,19 (m, 2H);

LCMS (M/Z) m/z: 214 [M<sup>+</sup>+1].

Esquema 2S-11:



Síntesis de 2-((S)-1-amino-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-22):



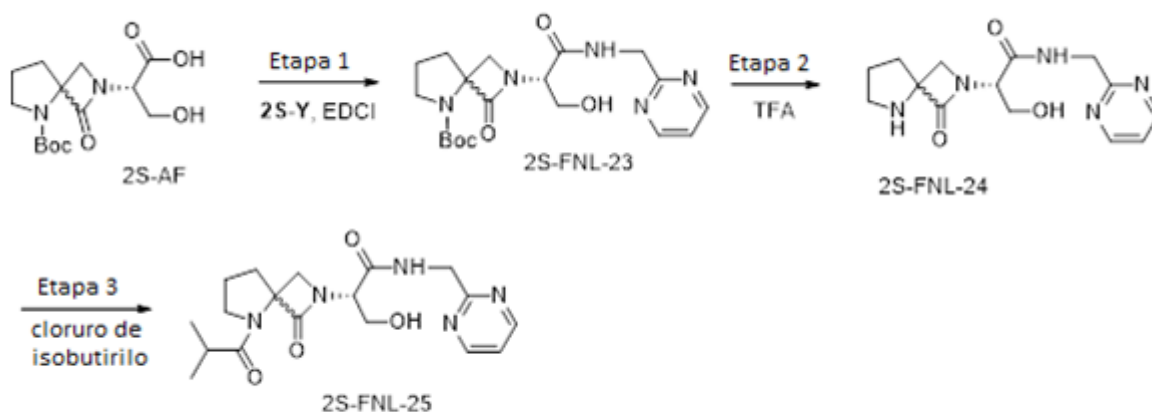
A una solución en agitación del compuesto 2S-AF (250 mg, 0,79 mmol) en DCM (10 mL) se añadió DIPEA (0,5 mL, 2,38 mmol), EDCI (181 mg, 0,94 mmol), HOBT (127 mg, 0,94 mmol) seguido de NH<sub>4</sub>Cl (84,5 mg, 1,58 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se lavó con ácido cítrico (1 x 30 mL) seguido de solución de salmuera (1 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener (2S-FNL-22) (150 mg, 60,7 %) como un jarabe amarillo espeso.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 4,13-4,07 (m, 2H), 3,96-3,88 (m, 1H), 3,87-3,77 (m, 1H), 3,63-3,47 (m, 2H), 3,44-3,30 (m, 1H), 2,31-2,26 (m, 2H), 1,97-1,88 (m, 2H), 1,47 (s, 9H);

LCMS (ESI): m/z 314,3 [M<sup>+</sup>+1];

HPLC: 98,38 %

Esquema 2S-12:



Síntesis de 2-((S)-3-hidroxi-1-oxo-1-((pirimidin-2-ilmetil) amino) propan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-23):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AF (1,3 g, 4,14 mmol) en DCM (25 mL) se añadió DIPEA (2,15 mL, 12,42 mmol), HOBT (760 mg, 4,96 mmol), EDCI (1 g, 4,96 mmol) seguido de 2S-Y (715 mg, 4,96 mmol) a 0 °C y se agitó durante 16 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 mL). La capa orgánica se lavó con ácido cítrico (1 x 30 mL) seguido de solución de bicarbonato (1 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener (2S-FNL-23) (800 mg, 50 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,75-8,71 (m, 2H), 7,37-7,34 (m, 1H), 4,66-4,49 (m, 2H), 4,27-4,24 (m, 1H), 4,19-4,14 (m, 1H), 4,03-3,99 (m, 1H), 3,97-3,92 (m, 1H), 3,66-3,54 (m, 1H), 3,49-3,45 (m, 1H), 3,40-3,36 (m, 1H), 2,32-2,27 (m, 2H), 1,97-1,88 (m, 2H), 1,47 (s, 9H); Masa (ESI): m/z 406,4 [M<sup>+</sup>+1].

HPLC: 97,1 %

Síntesis de (2S)-3-hidroxi-2-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-(pirimidin-2-ilmetil) propanamida (2S-FNL-24):

A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-23) (350 mg, 0,86 mmol) en DCM (5 mL) se añadió TFA (985 mg, 0,86 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 3 h. La mezcla de reacción se llevó hasta TA y se concentró al vacío para obtener (2S-FNL-24) (250 mg, 95,4 %) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8,84 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 7,55 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,90-4,67 (m, 3H), 4,10-4,06 (m, 3H), 3,94-3,92 (m, 1H), 3,57-3,51 (m, 2H), 2,54-2,43 (m, 2H), 2,28-2,19 (m, 2H);

LCMS: m/z 306,4 [M<sup>+</sup>+1];

HPLC: 90,07 %.

Síntesis de (2S)-3-hidroxi-2-(5-isobutiril-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-(pirimidin-2-ilmetil) propanamida (2S-FNL-25):

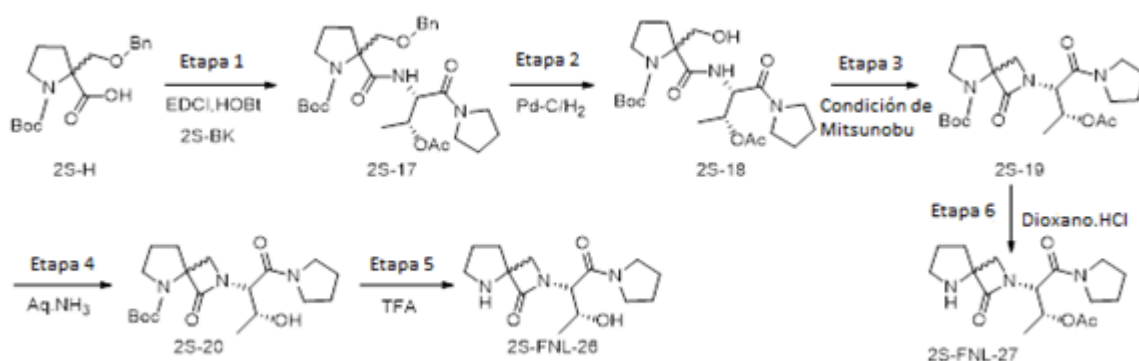
5 A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-24) (500 mg, 1,63 mmol) en DCM (5 mL) se añadió TEA (0,7 mL, 4,91 mmol) a 0 °C. Después se añadió Int-F (207 mg, 1,95 mmol) lentamente y se agitó a TA durante 3 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica se lavó con ácido cítrico (1 x 30 mL) seguido de solución de salmuera (1 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener (2S-FNL-25) (100 mg, 16,3 %) como un sólido blanco.

15 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,73 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 7,37 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,56-4,51 (m, 2H), 4,32-4,29 (m, 1H), 4,17-4,12 (m, 1H), 4,05-3,98 (m, 2H), 3,74-3,68 (m, 1H), 3,63-3,58 (m, 1H), 3,57-3,51 (m, 1H), 2,77-2,69 (m, 1H), 2,31-2,26 (m, 2H), 2,08-1,95 (m, 2H), 1,05-0,98 (m, 6H);

LCMS: m/z 376,4 [M<sup>+</sup>+1];

20 HPLC: 89,6 % (ambos isómeros)

Esquema 2S-13:



25 Síntesis de 2-(((2S,3R)-3-acetoxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)carbamoil)-2-((benciloxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-17):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-BK (1 g, 2,90 mmol) en DMF (8 mL) se añadió EDCI.HCl (0,63 g, 3,28 mmol) seguido de HOBT (0,44 g, 3,28 mmol) a 0 °C. Después de agitar durante 5 min, se añadió DIPEA (1,3 mL, 7,46 mmol) seguido de compuesto 2S-H (0,74 g, 3,58 mmol) a la mezcla de reacción y se continuó con la agitación durante otras 16 h a TA. La mezcla de reacción se lavó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 500 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto 2S-17 (0,6 g, 38 %).

35 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Rotámetros): δ 7,34 (s, 5H), 5,37-5,34 (m, 1H), 4,84-4,80 (m, 1H), 4,72-4,65 (m, 2H), 4,09-4,02 (m, 1H), 3,91-3,87 (m, 1H), 3,65-3,61 (m, 3H), 3,52-3,46 (m, 3H), 2,41 (br s, 1H), 2,22-2,15 (m, 1H), 1,98 (d, 5H), 1,87-1,84 (m, 4H), 1,50-1,42 (m, 9H). LCMS m/z: 532 [M<sup>+</sup>+1].

40 Síntesis de 2-(((2S,3R)-3-acetoxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)carbamoil)-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-18):

45 A una solución en agitación del compuesto 2S-17 (4,5 g, 8,40 mmol) en MeOH (40 mL) se añadió Pd/C al 10 % húmedo (1,5 g) en atmósfera inerte y se agitó durante 4 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-18 (3,0 g, 81 %).

LCMS m/z: 442,5 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de 2-((2S,3R)-3-acetoxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-19):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-18 (3 g, 6,70 mmol) en THF (25 mL) se añadió trifenilfosfina (2 g, 7,40 mmol) seguida de DTAD (2,5 g, 10,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 10 % para obtener el compuesto 2S-19 (1,2 g con TPPO, 43 %).

10 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 5,25-5,19 (m, 1H), 4,65 (d, 1H), 3,61-3,57 (m, 3H), 3,47-3,42 (m, 2H), 3,41-3,25 (m, 4H), 2,05 (s, 4H), 1,95-1,71 (m, 7H), 1,42 (s, 10H).

LCMS m/z: 424,4 [M<sup>+</sup>+1].

15 Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-20):

20 Una solución del compuesto 2S-19 (0,15 g, 0,41 mmol) en NH<sub>3</sub> acuoso (2 mL) se agitó a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), se diluyó la reacción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (75 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto 2S-20 (0,1 g, 76 %).

LCMS m/z: 382 [M<sup>+</sup>+1].

25 Síntesis de 2-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-2,5 diazaespiro[3.4] octan-1-ona. (2S-FNL-26):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-20 (0,2 g, 0,63 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) se agregó TFA (0,3 mL) a 0 °C y se agitó a TA durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se diluyó con agua y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 25 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para obtener (2S-FNL-26) (0,2 g, 80 %) como sal de TFA.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,64 (t, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 4,09 (d, 1H), 3,99-3,87 (m, 1H), 3,70 (t, 2H), 3,55-3,47 (m, 5H), 2,52-2,34 (m, 2H), 2,25-2,22 (m, 2H), 2,08-1,98 (m, 5H), 1,25 (t, 3H).

35 LCMS (ESI) m/z: 282,4 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de acetato de (2R, 3S)-4-oxo-3-(1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-4-(pirrolidin-1-il) butan-2-ilo (2S-FNL-27):

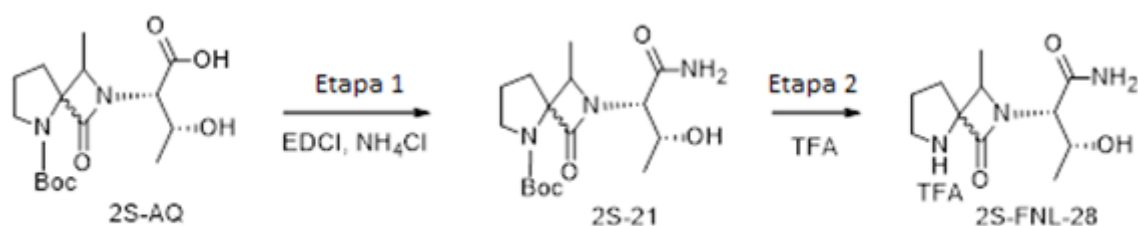
40 Una solución en agitación del compuesto 2S-19 (0,4 g, 0,94 mmol) en 1,4-dioxano/HCl (5 mL) se enfrió hasta 0 °C y se agitó a TA durante 1 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se lavó con n-pentano seguido de EtOAc para obtener (2S-FNL-27) (0,22 g, 65 %).

45 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,62 (d, 1H), 4,41-4,29 (m, 2H), 4,24 (d, 1H), 3,89-3,77 (m, 3H), 3,54-3,49 (m, 3H), 2,57-2,52 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,42-2,00 (m, 8H), 1,30 (d, 3H).

LCMS m/z: 324,3 [M<sup>+</sup>+1].

50 Pureza por HPLC: 99,37 %.

Esquema 2S-14:



Síntesis de 2-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-6-metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-21):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-AQ (480 mg, 1,40 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) se añadió DIPEA (543 mg, 4,20 mmol), EDCI.HCl (382 mg, 2,0 mmol) seguido de HOBt (280 mg, 2,0 mmol), NH<sub>4</sub>Cl (111 mg, 2,0 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (2 x 50 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto 2S-21 (150 mg, 31 %) como un jarabe incoloro espeso.

<sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 5,00-4,88 (m, 1H), 4,05-3,94 (m, 4H), 3,37 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 2,10-1,93 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,39-1,27 (m, 1H), 1,24-1,16 (m, 6H);

15 Masa (ESI): m/z 364,3 [M<sup>+</sup>+Na]

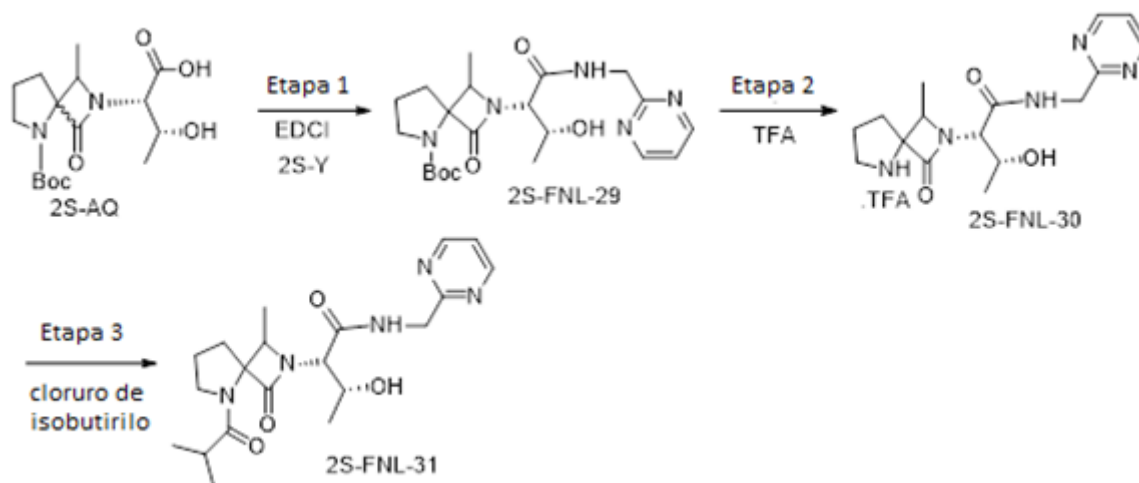
Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(1-metil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-28):

20 A una solución en agitación del compuesto 2S-21 (150 mg, 0,43 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se añadió TFA (0,4 mL, 4,39 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con éter dietílico/n-pentano (5 mL/5 mL) para obtener (2S-FNL-28) (100 mg, 65,7 %) como un sólido pegajoso (sal de TFA). HPLC (pureza): 99,7 %

25 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,50-4,46 (m, 3H), 3,63-3,49 (m, 2H), 2,56-2,49 (m, 2H), 2,35-2,29 (m, 2H), 1,57 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,36 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 483,1 [2M<sup>+</sup>+1]

30 Esquema 2S-15:



35 Síntesis de 2-((2R, 3S)-3-hidroxi-1-oxo-1-((pirimidin-2-ilmetil) amino) butan-2-il)-1-metil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-29):

40 A una solución en agitación del compuesto 2S-AQ (500 mg, 1,46 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) se añadió DIPEA (0,76 mL, 4,38 mmol), EDCI.HCl (334 mg, 1,75 mmol) seguido de 2S-Y (252 mg, 1,75 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con solución de ácido cítrico (20 mL), NaHCO<sub>3</sub> (1 x 30 mL) seguido de salmuera (1 x 50 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener (2S-FNL-29) (200 mg, 31,6 %) como un sólido blanco.

45 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,74-8,70 (m, 2H), 7,37-7,32 (m, 1H), 4,72-4,43 (m, 3H), 4,24-4,14 (m, 1H), 4,10-3,88 (m, 2H), 3,52-3,36 (m, 2H), 2,22-2,19 (m, 2H), 2,01-1,94 (m, 1H), 1,88-1,79 (m, 1H), 1,45-1,41 (m, 3H), 1,40 (s, 9H), 1,29-1,26 (m, 3H),

Masa (ESI): 434,5 [ $M^+ + 1$ ], HPLC: 92,8 %

Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(1-metil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-(pirimidin-2-ilmetil) butanamida (2S-FNL-30):

A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-29) (250 mg, 0,57 mmol) en DCM (10 mL) se agregó TFA (0,44 mL) en atmósfera de  $N_2$  y se agitó durante 2 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se trituró con éter dietílico/n-pentano (5 mL/5 mL) y se secó a presión reducida para obtener (2S-FNL-30) (180 mg, 94,7 %) como un semisólido (sal de TFA).

$^1H$ -RMN: (400 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  8,82 (d, J = 2,0 Hz, 2H), 7,53 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,67-4,62 (m, 2H), 4,44-4,40 (m, 1H), 4,34-4,32 (m, 2H), 3,61-3,56 (m, 2H), 2,51-2,20 (m, 4H), 1,55-1,46 (m, 3H), 1,32-1,29 (m, 3H)

LCMS (ESI): m/z 333,3

HPLC: 90,7 %

Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(5-isobutiril-1-metil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-N-(pirimidin-2-ilmetil) butanamida (2S-FNL-31):

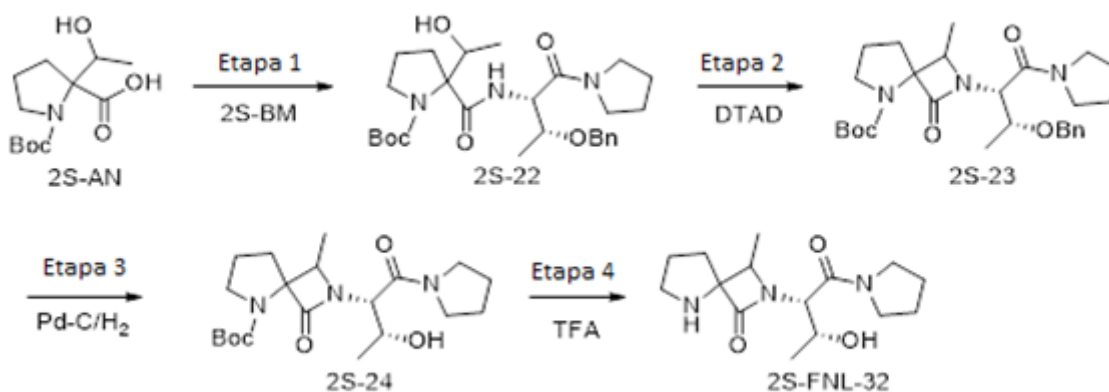
A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-30) (150 mg, 0,45 mmol) en DCM (5 mL) se agregó TEA (0,18 mL, 1,35 mmol) seguido de cloruro de isobutirilo (57 mg, 0,54 mmol) a 0 °C en atmósfera de  $N_2$  y se agitó durante 2 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (5 mL) y se extrajo con  $CH_2Cl_2$  (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener (2S-FNL-31) (85 mg, 47 %) como un semisólido.

$^1H$ -RMN: (400 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  8,73 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 7,36 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,83-4,54 (m, 3H), 4,35-4,32 (m, 1H), 4,22-4,11 (m, 1H), 3,93-3,88 (m, 1H), 3,76-3,71 (m, 1H), 3,67-3,60 (m, 2H), 2,81-2,76 (m, 1H), 2,21-2,07 (m, 3H), 1,96-1,91 (m, 1H), 1,29-1,26 (m, 6H), 1,05-1,02 (m, 6H)

LCMS (ESI): m/z 404,4

HPLC: 93,57 %

Esquema 2S-16:



Síntesis de 2-(((2S, 3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) carbamoil)-2-(1-hidroxi-etil) pirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-22):

A una solución en agitación del compuesto 2S-AN (2,5 g, 9,65 mmol) en  $CH_2Cl_2$  (50 mL) se añadió compuesto 2S-BM (2,7 g, 10,6 mmol), EDCI.HCl (2,7 g, 14,4 mmol) seguido de HOBt (1,9 g, 14,4 mmol) y DIPEA (5,3 mL, 28,9 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 mL) y se extrajo con  $CH_2Cl_2$  (2 x 50 mL). La capa orgánica separada se lavó con

## ES 2 734 405 T3

salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto 2S-22 (3,5 g, 73 %) como un líquido incoloro.

5 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,11 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,33-7,26 (m, 5H), 6,56 (s, 1H), 4,68-4,63 (m, 1H), 4,56 (s, 2H), 3,80-3,74 (m, 1H), 3,55-3,33 (m, 5H), 1,76-1,66 (m, 7H), 1,40 (s, 9H), 1,37-1,24 (m, 2H), 1,08-0,97 (m, 6H).

Masa (ESI): m/z 504 [M<sup>+</sup>+1].

10 Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-1-metil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-23):

15 A una solución en agitación del compuesto 2S-22 (3,5 g, 6,95 mmol) en THF (50 mL) se añadió trifetilfosfina (3,6 g, 13,9 mmol) y DTAD (3,2 g, 13,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 30 % para obtener el compuesto 2S-23 (1,0 g, 30 %) como un líquido amarillo pálido.

20 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,63-7,54 (m, 1H), 7,41-7,24 (m, 4H), 4,60-4,37 (m, 3H), 3,98 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,91 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 3,77 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 3,44-3,34 (m, 4H), 2,01-1,91 (m, 2H), 1,85-1,68 (m, 6H), 1,40 (s, 9H), 1,20-1,11 (m, 6H).

Masa (ESI): m/z 486,6 [M<sup>+</sup>+1].

25 Síntesis de ácido (2S, 3R)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxi-butanoico (2S-24):

30 A una solución en agitación del compuesto 2S-23 (1 g) en metanol (30 mL) se añadió Pd/C al 10 % (400 mg) a TA y se agitó durante 12 h en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo). Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 2S-24 (230 mg, 28 %) como un sólido blanco.

35 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,79 (br s, 1H), 4,34 (br s, 1H), 4,27 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,03-3,95 (m, 1H), 3,78 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 3,67-3,63 (m, 1H), 3,53-3,49 (m, 2H), 3,39 (t, J = 9,0 Hz, 2H), 2,04-1,67 (m, 8H), 1,36 (s, 9H), 1,26 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 1,08, 1,06 (dd, J = 6,5 Hz, 3H).

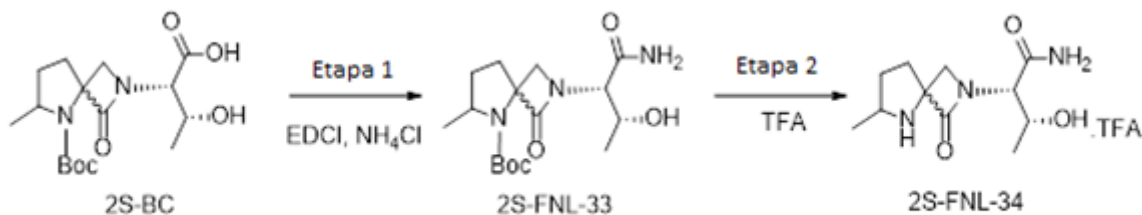
LCMS: 396,4 [M<sup>+</sup>+1].

40 Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-3-metil-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-1-ona (2S-FNL-32):

45 A una solución en agitación del compuesto 2S-24 (230 mg, 0,58 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) se añadió TFA (0,44 mL, 5,82 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se completó la reacción (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener (2S-FNL-32), que se trituró con pentano y éter dietílico (5 mL/5 mL) (210 mg, 92 %) como un sólido pegajoso (sal de TFA).

50 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,27 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,07-4,03 (m, 1H), 4,01-3,97 (m, 1H), 3,52-3,48 (m, 1H), 3,39-3,35 (m, 2H), 3,32-3,20 (m, 3H), 2,16 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,06-1,96 (m, 2H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,78-1,74 (m, 2H), 1,43 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,06 (d, J = 6,0 Hz, 3H);

Esquema 2S-17:



Síntesis de 2-((2S, 3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-6-metil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-33):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-BC (1,5 g, 4,38 mmol) en DCM (25 mL) se añadió N, N-diisopropiletilamina (2,35 mL, 13,14 mmol),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (310 mg, 8,76 mmol), seguido de EDCI (1 g, 5,25 mmol), HOBT (793 mg, 5,25 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (1 x 30 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 30 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener el compuesto (2S-FNL-33) (600 mg, 41 %) como un sólido blanco.

15  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  4,24-4,17 (m, 1H), 4,03-3,99 (m, 3H), 3,67-3,46 (m, 1H), 2,40-1,99 (m, 3H), 1,68-1,62 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,24-1,18 (m, 6H);

LCMS (ESI): m/z 342,5 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

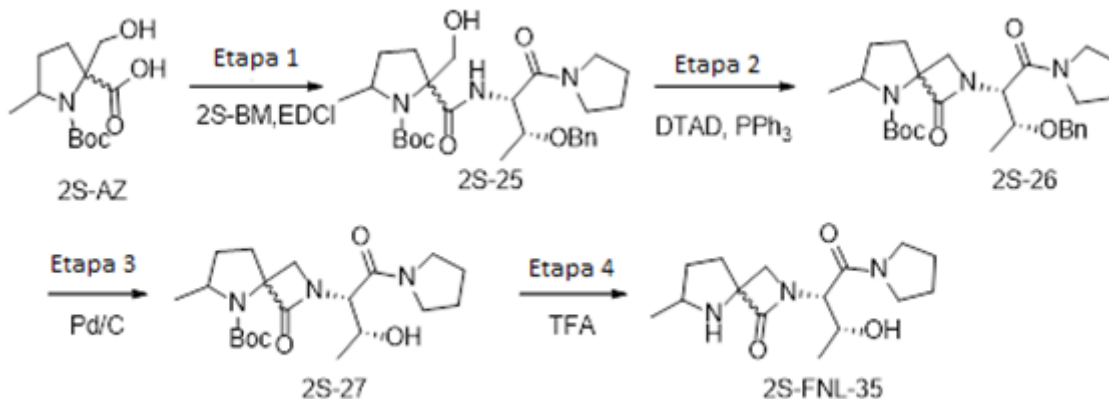
20 Síntesis de (2S, 3R)-3-hidroxi-2-(6-metil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il) butanamida (2S-FNL-34):

A una solución en agitación del compuesto (2S-FNL-33) (200 mg, 0,58 mmol) en DCM (10 mL) se agregó ácido trifluoroacético (0,5 mL) a 0 °C en atmósfera de  $\text{N}_2$ . La mezcla de reacción se agitó a TA durante la 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el material bruto, que se trituroó con n-pentano (10 mL) para obtener (2S-FNL-34) (100 mg, 71 %) como un sólido blanco.

25  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4,35-4,27 (m, 2H), 4,08-3,93 (m, 3H), 2,58-2,52 (m, 1H), 2,48-2,44 (m, 2H), 1,92-1,86 (m, 1H), 1,51, 1,48 (dd, J = 6,8 Hz, 6,4 Hz, 3H), 1,31, 1,28 (dd, J = 6,0 Hz, 6,4 Hz, 3H);

30 LCMS (ESI): 241,3 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Esquema 2S-18:



35 Síntesis de 2-(((2S, 3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il) carbamoil)-2-(hidroximetil)-5-metilpirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-25):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-AZ (1,1 g, 4,28 mmol) en DCM (20 mL) se añadió N, N-diisopropiletilamina (2,2 mL, 12,8 mmol), 2S-BM (1,2 g, 4,78 mmol), seguido de EDCI (2,45 g, 12,8 mmol), HOBT (1,7 g, 12,8 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 12 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1x25 mL), seguida de solución de salmuera (1 x 30 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener el compuesto 2S-25 (1,2 g, 57 %) como un jarabe blanco espeso.

10 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,93 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,71-7,26 (m, 5H), 5,30 (br s, 1H), 4,65-4,61 (m, 1H), 4,57 (s, 2H), 3,93-3,85 (m, 2H), 3,57-3,34 (m, 2H), 3,17-3,09 (m, 2H), 2,07-1,94 (m, 2H), 1,77-1,73 (m, 4H), 1,36-1,28 (m, 10H), 1,20 (s, 9H);

15 LCMS: m/z 504,7 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-6-metil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-26):

20 A una solución en agitación del compuesto 2S-25 (0,6 g, 1,19 mmol) en THF (10 mL) se añadió trifenilfosfina (0,46 g, 1,78 mmol) y DTAD (0,4 g, 1,78 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera (1 x 30 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 2 % para obtener el compuesto 2S-26 (0,2 g, 35 %) como un sólido blanco.

25 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,63-7,26 (m, 5H), 4,52 (s, 2H), 3,91-3,77 (m, 3H), 3,56-3,36 (m, 4H), 2,35-2,11 (m, 4H), 1,94-1,68 (m, 6H), 1,39 (s, 9H), 1,13, 1,09 (dd, J = 6,0 Hz, 5,5 Hz, 3H), 1,04 (d, J = 6,5 Hz, 3H);

30 LCMS: m/z 486,6 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-6-metil-1-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-27):

35 A una solución en agitación del compuesto 2S-26 (1,5 g, 3,09 mmol) en metanol (20 mL) se añadió Pd/C al 10 % (200 mg) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> (presión de globo) a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto 2S-27 (0,9 g, 90,9 %) como un sólido blanco.

40 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,11 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 3,96-3,90 (m, 1H), 3,73 (s, 2H), 3,49 (d, J = 13,0 Hz, 2H), 3,40-3,34 (m, 2H), 2,50-2,28 (m, 4H), 2,17-1,82 (m, 6H), 1,53 (s, 9H), 1,52-1,41 (m, 3H), 1,36-1,18 (m, 3H);

45 LCMS: 396,5 [M<sup>+</sup>+1].

Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il) butan-2-il)-6-metil-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-1-ona (2S-FNL-35):

50 A una solución en agitación del compuesto 2S-27 (0,18 g, 0,45 mmol) en metanol (10 mL) se añadió TFA (3 mL) en atmósfera de N<sub>2</sub> a 0 °C. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano (10 mL) para obtener (2S-FNL-35) (0,1 g, 74,6 %) como un sólido blanco.

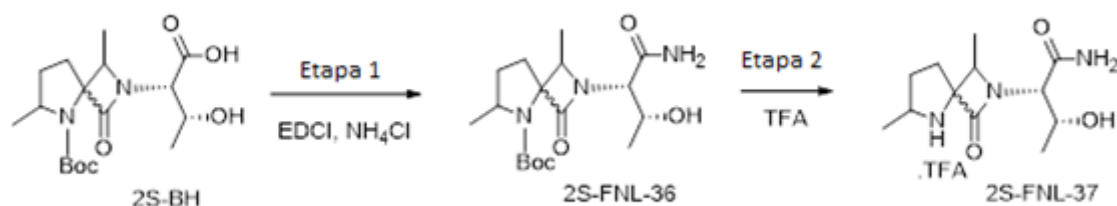
55 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9,99 (br s, 1H), 9,57 (br s, 1H), 4,32 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 3,93 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,81-3,75 (m, 3H), 3,51-3,46 (m, 2H), 3,30 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,29-2,20 (m, 3H), 1,93-1,75 (m, 4H), 1,68-1,63 (m, 1H), 1,34 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,13 (d, J = 6,4 Hz, 3H);

Masa (ESI): m/z 296,3 [M<sup>+</sup>+1]

60

Esquema 2S-19:





Síntesis de 2-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-36):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-BH (1,8 g, 5,05 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) se añadió DIPEA (2,62 mL, 15,15 mmol), EDCI (1,92 g, 10,1 mmol), HOBt (1,36 g, 10,1 mmol) seguido de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (803 mg, 15,15 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (1 x 50 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 50 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 4 % para obtener (2S-FNL-36) (468 mg, 26 %) como un sólido blanco.

15  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,25 (s, 2H), 4,92-4,48 (m, 1H), 4,34-4,01(m, 1H), 3,97-3,72 (m, 3H), 2,32-1,88 (m,3H), 1,58-1,51 (m, 1H), 1,41(s, 9H), 1,36-1,20 (m, 6H), 1,16-1,07 (m, 3H);

LCMS (ESI): 356,4 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

HPLC: 99,19 %

20 Síntesis de (2S,3R)-2-(1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-2-il)-3-hidroxi butanamida (2S-FNL-37):

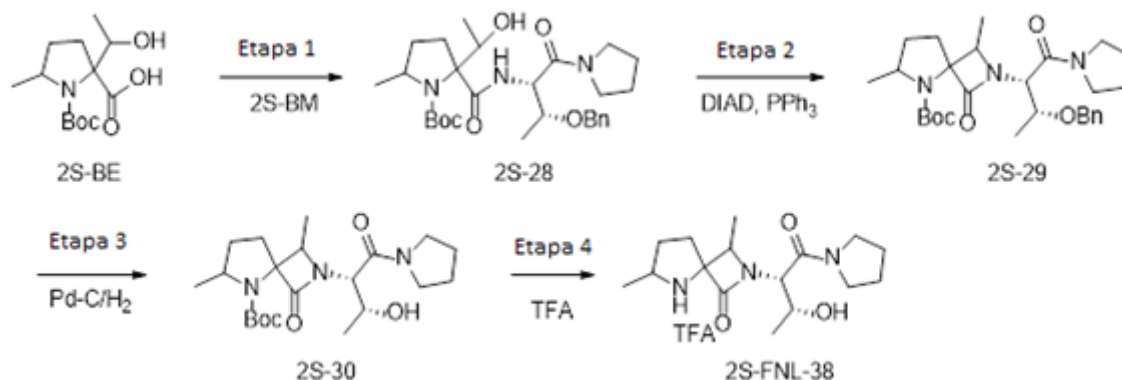
25 A una solución en agitación de (2S-FNL-36) (200 mg, 0,56 mmol) en DCM (5 mL) se añadió TFA (0,45 mL, 5,63 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 2 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se trituró con éter dietílico/n-pentano (50 mL/50 mL) y se secó a presión reducida para obtener (2S-FNL-37) (140 mg, 98 %) como un sólido blanco higroscópico (sal de TFA).

30  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4,42-4,36 (m, 1H), 4,34-4,28 (m, 1H), 4,27-4,15 (m, 1H), 4,07-4,01 (m, 1H), 2,57-2,49 (m, 1H), 2,46-2,36 (m, 2H), 2,01-1,90 (m, 1H), 1,56-1,50 (m, 6H), 1,32-1,29 (m, 3H);

LCMS (ESI): 256,4 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

HPLC (ELSD): 93,86 %.

35 Esquema 2S-20:



## ES 2 734 405 T3

Síntesis de 2-(((2S,3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)arbamoil)-2-(1-hidroxietil)-5-metilpirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-28):

5 A una solución en agitación del compuesto 2S-BE (2 g, 7,32 mmol) en DMF (20 mL) se añadió N, N-diisopropiletilamina (6,7 mL, 36,5 mmol), 2S-BM (2,6 g, 8,7 mmol), seguido de HATU (3,3 g, 8,7 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 mL) y EtOAc (200 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de bicarbonato de sodio (2 x 75 mL), solución de ácido cítrico (2 x 50 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 50 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto  
10 bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/n-hexano al 40 % para obtener el compuesto 2S-28 (1 g, 27 %) como un líquido amarillo pálido.

LCMS (ESI): 518 [M<sup>+</sup>+1]

15 Síntesis de 2-((2S,3R)-3-(benciloxi)-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-29):

20 A una solución en agitación de trifenilfosfina (1,5 g, 5,7 mmol) en THF (10 mL) se agregó DIAD (976 mg, 4,8 mmol) en porciones y se agitó durante 20 min a TA. A esto se añadió el compuesto 2S-28 (1 g, 1,93 mmol) en THF (10 mL) lentamente a TA y se agitó durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano al 30 % para obtener el compuesto 2S-29 (500 mg, 63 %) como un líquido amarillo.

25 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,69-7,66 (m, 1H), 7,48-7,43 (m, 1H), 7,32-7,29 (m, 3H), 4,68 (s, 2H), 4,46-4,40 (m, 1H), 4,26-4,05 (m, 2H), 3,97-3,91 (m, 0,5H), 3,87-3,81 (m, 0,5H), 3,58-3,53 (m, 1H), 3,40-3,32 (m, 2H), 2,16-2,11 (m, 1H), 2,04-1,90 (m, 2H), 1,80-1,71 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,32-1,21 (m, 10H), 1,17-1,15 (m, 3H).

LCMS (ESI): 500 [M<sup>+</sup>+1].

30 Síntesis de 2-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-30):

35 A una solución en agitación del compuesto 2S-29 (200 mg, 0,40 mmol) en metanol (5 mL) se añadió Pd/C al 10 % (50 mg) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol (10 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 1 % para obtener  
40 el compuesto 2S-30 (100 g, 61 %) como un jarabe amarillo.

45 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,93 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 4,26 (d, J = 9,2 Hz, 0,5 H), 4,17 (d, J = 7,2 Hz, 0,5 H), 4,02-3,99 (m, 1H), 3,91-3,66 (m, 3H), 3,33-3,30 (m, 1H), 3,55-3,50 (m, 1H), 3,19-3,16 (m, 1H), 2,69 (s, 1H), 2,13-2,03 (m, 1H), 1,99-1,87 (m, 3H), 1,81-1,75 (m, 2H), 1,56-1,50 (m, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,19 (d, J = 5,6 Hz, 3H), 1,13 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

LCMS: 410,5 [M<sup>+</sup>+1].

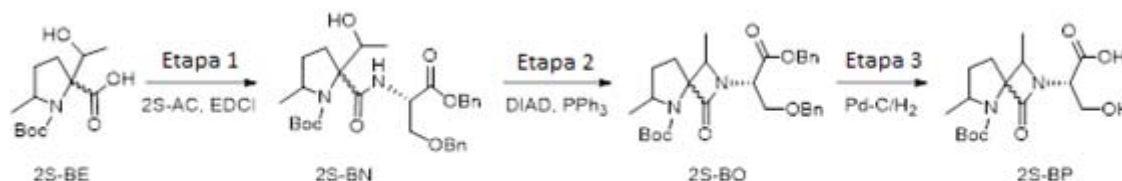
50 Síntesis de 2-((2S,3R)-3-hidroxi-1-oxo-1-(pirrolidin-1-il)butan-2-il)-3,6-dimetil-2,5-diazaespiro[3.4]octan-1-ona (2S-FNL-38):

55 A una solución en agitación del compuesto 2S-30 (300 mg, 0,73 mmol) en DCM (20 mL) se añadió TFA (418 mg, 3,66 mmol) a 0 °C en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida para obtener el material bruto, que se purificó mediante el método de HPLC preparativa para obtener (2S-FNL-38) (140 mg, 46 %) como jarabe espeso.

<sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 4,53-4,46 (m, 1H), 4,34-4,22 (m, 2H), 4,03 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 3,68 (s, 2H), 3,52-3,41 (m, 2H), 2,44-2,37 (m, 3H), 2,03-1,94 (m, 5H), 1,56 (d, J = 6,4 Hz, 6H), 1,27 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

60 LCMS (ESI): 310 [M<sup>+</sup>+1].

Esquema 2S-I-15



Síntesis de 2-(((S)-1, 3-bis (benciloxi)-1-oxopropan-2-il) carbamoil)-2-(1-hidroxietil)-5-metilpirrolidina-1-carboxilato de ter-butilo (2S-BN):

5 A una solución en agitación de 2S-BE (3 g, 10,98 mmol) en DCM (30 mL) se agregó N, N-diisopropiletilamina (5,73 mL, 32,96 mmol), 2S-AC (3,75 g, 13,17 mmol) seguido de HATU (5 g, 13,17 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera (30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/n-hexano al 20 % para obtener el compuesto 2S-BN (2,9 g, 49 %) como jarabe espeso color marrón.

10 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,50 (m, 1H), 7,33-7,27 (m, 10H), 5,68-5,60 (m, 1H), 5,22-5,09 (m, 2H), 4,72-4,43 (m, 3H), 3,89-3,63 (m, 3H), 2,28-1,78 (m, 3H), 1,45-1,42 (m, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,26-1,04 (m, 6H);

15 LCMS (ESI): m/z 541,6 [M<sup>+</sup>+1]

20 Síntesis de 2-((S)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxopropan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-BO):

25 A una solución en agitación de trifenilfosfina (3,51 g, 13,42 mmol) en THF seco (30 mL) se añadió DIAD (2,21 g, 10,74 mmol) en porciones y se agitó durante 15 min a TA. A esta solución precipitada se añadió 2S-BN (2,9 g, 5,37 mmol) en THF seco (15 mL) lentamente a TA y se agitó durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material bruto se trituró con éter dietílico/n-pentano al 30 %. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc/hexano al 30 % para obtener 2S-BO (2,5 g, 89,2 %) como un jarabe espeso color marrón.

30 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,38-7,25 (m, 10H), 5,22-5,15 (m, 2H), 4,80-4,73 (m, 2H), 4,56-4,43 (m, 2H), 3,92-3,60 (m, 3H), 1,89-1,83 (m, 3H), 1,50-1,44 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,22-1,18 (s, 3H), 1,16-1,13 (m, 3H);

LCMS (ESI): m/z 523,6 [M<sup>+</sup>+1]

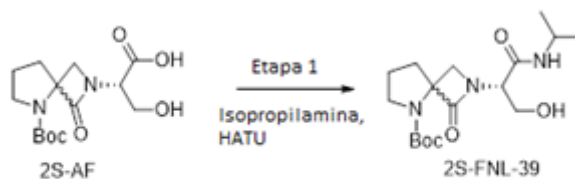
35 Síntesis de ácido (2S)-2-(5-(ter-butoxicarbonil)-1, 6-dimetil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octan-2-il)-3-hidroxipropanoico (2S-BP):

40 A una solución en agitación de 2S-BO (2,5 g, 4,78 mmol) en metanol (50 mL) se añadió Pd/C al 10 % (800 mg) en atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de H<sub>2</sub> a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con metanol (30 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto bruto, que se trituró con n-pentano (30 mL) para obtener 2S-BP (900 mg, 56,2 %) como un sólido pegajoso.

45 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,78-4,75 (m, 1H), 4,24-4,18 (m, 1H), 3,86-3,81 (m, 1H), 3,80-3,72 (m, 2H), 3,64-3,59 (m, 1H), 2,15-1,93 (m, 3H), 1,55-1,50 (m, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,24-1,10 (m, 6H);

LCMS (ESI): m/z 343,3 [M<sup>+</sup>+1]

50 Esquema 2S-21:



Síntesis de 2-((S)-3-hidroxi-1-(isopropilamino)-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-39):

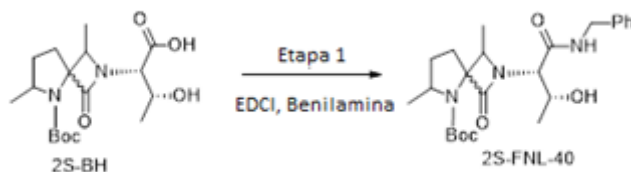
5 A una solución en agitación de 2S-AF (200 mg, 0,63 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (0,32 mL, 1,90 mmol), isopropilamina (0,08 mL, 0,94 mmol), HATU (287 mg, 0,75 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 5 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se lavó con ácido cítrico (1 x 20 mL) seguido de solución de salmuera (1 x 20 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto obtenido se purificó mediante purificación por HPLC para obtener (2S-FNL-39) (150 mg, 67,2 %) como un sólido blanco.

15  $^1\text{H}$ -RMN: (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,76 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,01-4,91 (m, 1H), 4,70 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,14-4,07 (m, 1H), 3,99-3,80 (m, 2H), 3,78-3,61 (m, 2H), 3,58-3,35 (m, 2H), 2,20-2,05 (m, 2H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,10-1,00 (m, 6H)

Masa (ESI): m/z 356,6 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

HPLC: 99,27 %

20 Esquema 2S-22:



25 Síntesis de 2-((2S,3R)-1-(bencilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-40):

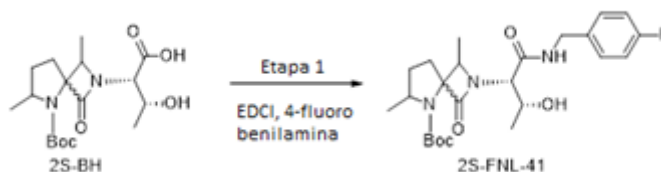
30 A una solución en agitación de 2S-BH (250 mg, 0,70 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (0,36 mL, 2,11 mmol), EDCI (161 mg, 0,84 mmol), HOBT (129 mg, 0,84 mmol) seguido de bencilamina (82 mg, 0,77 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener (2S-FNL-40) (55 mg, 16 %) como un sólido blancuzco.

35  $^1\text{H}$ -RMN: (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,31-7,20 (m, 5H), 4,92-4,87 (m, 1H), 4,64-4,55 (m, 1H), 4,46-4,37 (m, 2H), 4,22-4,10 (m, 1H), 4,02-3,90 (m, 2H), 2,39-1,95 (m, 3H), 1,70-1,60 (m, 1H), 1,37 (s, 9H), 1,30-1,22 (m, 9H);

LCMS (ESI): m/z 446,56 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

40 HPLC: 89,54 %

Esquema 2S-23:



Síntesis de 2-((2S,3R)-1-((4-fluorobencil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-41):

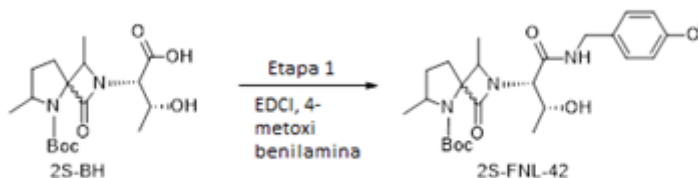
5 A una solución en agitación de 2S-BH (500 mg, 1,40 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (0,73 mL, 4,21 mmol), EDCI (321 mg, 1,68 mmol), HOBt (257 mg, 1,68 mmol) seguido de 4-fluoro benzilamina (175 mg, 1,40 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (15 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (1 x 25 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 25 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 5 % seguida de HPLC preparativa para obtener (2S-FNL-41) (150 mg, 23,07 %) como un sólido blanco.

15  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,34-7,30 (m, 2H), 7,02-6,98 (m, 2H), 4,65-4,59 (m, 1H), 4,55-4,36 (m, 2H), 4,34-4,20 (m, 1H), 4,12-3,99 (m, 2H), 2,39-2,31 (m, 1H), 2,19-2,01 (m, 2H), 1,71-1,62 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,29-1,13 (m, 9H);

LCMS (ESI): m/z 464,5 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

20 HPLC: 96,32 %

Esquema 2S-24:



25 Síntesis de 2-((2S, 3R)-3-hidroxi-1-((4-metoxibencil)amino)-1-oxobutan-2-il)-1, 6-dimetil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-42):

30 A una solución en agitación de 2S-BH (250 mg, 0,70 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (0,36 mL, 2,11 mmol), EDCI (161 mg, 0,84 mmol), HOBt (129 mg, 0,84 mmol) seguido de 4-metoxi benzilamina (106 mg, 0,77 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (1 x 20 mL) seguida de solución de salmuera (1 x 25 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 5 % para obtener (2S-FNL-42) (60 mg, 17,9 %) como un sólido blancuzco.

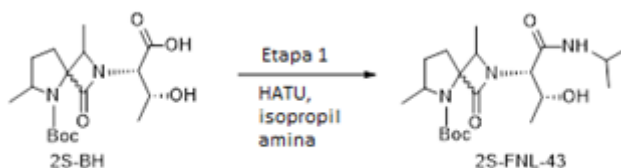
35  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,24 (d, J = 1,6 Hz, 2H), 6,85 (d, J = 1,6 Hz, 2H), 4,64-4,58 (m, 1H), 4,39-4,28 (m, 1H), 4,21-4,08 (m, 2H), 4,06-3,99 (m, 1H), 3,98-3,88 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 2,39-2,28 (m, 1H), 2,22-2,13 (m, 1H), 2,09-1,97 (m, 1H), 1,71-1,61 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,31-1,22 (m, 9H);

40 LCMS (ESI): m/z 476,6 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

HPLC: 90,29 %

45 Esquema 2S-25:

## ES 2 734 405 T3



Síntesis de 2-((2S,3R)-3-hidroxi-1-(isopropilamino)-1-oxobutan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-43):

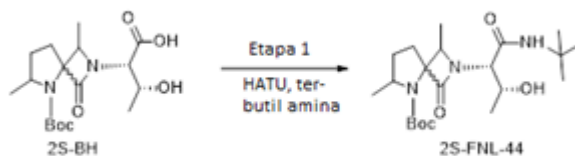
5 A una solución en agitación de 2S-BH (500 mg, 1,40 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (0,73 mL, 4,21 mmol), isopropil amina (100 mg, 1,68 mmol), HATU (798 mg, 2,1 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (15 mL) seguida de solución de salmuera (15 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 2 % seguida de HPLC preparativa para obtener (2S-FNL-43) (100 mg, 18 %) como un sólido blanco.

15  $^1\text{H-RMN}$ : (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4,42-3,89 (m, 5H), 2,38-2,04 (m, 3H), 1,77-1,72 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,36-1,17 (m, 15H)

LCMS (ESI): m/z 398,5 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

HPLC: 93,36 %

20 Esquema 2S-26:



25 Síntesis de 2-((2S,3R)-1-(tert-butilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1,6-dimetil-3-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-44):

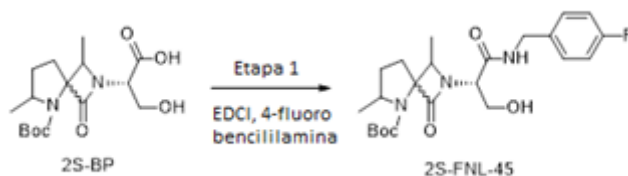
30 A una solución en agitación de 2S-BH (500 mg, 1,40 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió DIPEA (0,62 mL, 3,51 mmol), ter-butil amina (125 mg, 1,68 mmol), HATU (798 mg, 2,1 mmol) a 0 °C y se agitó durante 12 h a TA. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (10 mL). La capa orgánica separada se lavó con solución de ácido cítrico (15 mL) seguida de solución de salmuera (15 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 2 % seguida de HPLC preparativa para obtener (2S-FNL-44) (100 mg, 17,3 %) como un sólido blanco.

35  $^1\text{H-RMN}$ : (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  4,53-4,50 (m, 1H), 4,08-3,99 (m, 2H), 3,82-3,79 (m, 1H), 2,38-2,34 (m, 1H), 2,20-2,17 (m, 2H), 2,09-2,01 (m, 1H), 1,71-1,67 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,38 (s, 9H), 1,33-1,21 (m, 9H);

LCMS (ESI): m/z 412,5 [ $\text{M}^+ + 1$ ];

40 HPLC: 93,91 %

Esquema 2S-27:



Síntesis de 2-((S)-1-((4-fluorobencil) amino)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-1, 6-dimetil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-45):

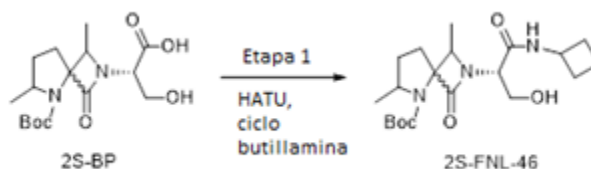
5 A una solución en agitación de 2S-BP (200 mg, 0,58 mmol) en DCM (10 mL) se agregó N, N-diisopropiletilamina (0,3 mL, 1,75 mmol), EDCI (133 mg, 0,69 mmol), HOBT (93 mg, 0,69 mmol) seguido de 4-fluoro bencilamina (79,7 mg, 0,63 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica separada se lavó con ácido cítrico (20 mL) seguido de solución de salmuera (30 mL). La capa orgánica separada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 3 % para obtener (2S-FNL-45) (46 mg, 17,7 %) como un jarabe espeso.

15 <sup>1</sup>H-RMN: (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,63-8,59 (m, 1H), 7,30-7,26 (m, 2H), 7,15-7,07 (m, 2H), 5,07-5,00 (m, 1H), 4,31-4,21 (m, 3H), 3,89-3,62 (m, 4H), 2,13-1,84 (m, 3H), 1,58-1,52 (m, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,32-1,20 (m, 3H), 1,18-1,13 (m, 3H);

LCMS (ESI): m/z 450,5 [M<sup>+</sup>+1]

20 HPLC: 93 %

Esquema 2S-28:



25 Síntesis de 2-((S)-1-((4-fluorobencil) amino)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-1, 6-dimetil-3-oxo-2, 5-diazaespiro [3.4] octano-5-carboxilato de ter-butilo (2S-FNL-46):

30 A una solución en agitación de 2S-BP (500 mg, 1,46 mmol) en DCM (15 mL) se añadió N, N-diisopropiletilamina (0,76 mL, 4,38 mmol), ciclobutilamina (124 mg, 1,75 mmol), seguida de HATU (665 mg, 1,75 mmol) a 0 °C y se agitó a TA durante 16 h. Después de que se consumió el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 mL). La capa orgánica separada se lavó con ácido cítrico (20 mL) seguido de solución de salmuera (30 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con MeOH/DCM al 3 % para obtener (2S-FNL-46) (110 mg, 19 %) como un sólido blancuzco.

35 <sup>1</sup>H-RMN: (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,23 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,98-4,83 (m, 1H), 4,30-4,13 (m, 2H), 3,95-3,76 (m, 2H), 3,72-3,66 (m, 2H), 2,49-1,89 (m, 3H), 1,64-1,54 (m, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,19-1,12 (m, 10H);

40 LCMS (ESI): m/z 396,5 [M<sup>+</sup>+1]

HPLC: 96,6 %

Ejemplo 3 - Ensayo de unión de [<sup>3</sup>H] MK-801

45 Métodos

Los ensayos se llevaron a cabo 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). La potenciación

50

5 de la unión de [<sup>3</sup>H]MK-801 (5 nM; 22,5 Ci / mmol) a membranas corticales de rata bien lavadas (200 µg) se midió en condiciones de no equilibrio (15 min a 25 °C) en presencia de concentraciones en aumento de los compuestos de ensayo y glutamato 50 µM. Los niveles cero se determinaron en ausencia de todo ligando de glicina y en presencia de 5,7 DCKA 30 µM. La estimulación máxima se midió en presencia de glicina 1 mM, y en todas las muestras estuvo presente el glutamato 50 µM. La facilitación de la unión de [<sup>3</sup>H]MK-801 por los compuestos de ensayo se calculó usando una ecuación de 3 parámetros log agonista frente a respuesta (Graph pad Prism, EUA) y la potencia (EC<sub>50</sub>, expresada en pM) y la actividad máxima (% de estimulación máxima) se calcularon para el compuesto de ensayo.

#### Resultados

10 Como se muestra en la Tabla 2 y la Figura 1, la pEC<sub>50</sub> y la actividad máxima para el Compuesto X son de -7,4 y 38 %.

Tabla 2.

Compuesto	pEC <sub>50</sub>	Actividad (%)
X	-7,4	38



Tabla 3. Datos biológicos adicionales

Compuesto	Ensayo de unión de [3H] MK-801: EC50 (M)	Datos de actividad unificados: Aumento de LTP (porcentaje)	Datos de actividad unificados: Concentración de LTP (uM)	Datos de actividad unificados: o no significativo (NS)	Datos de actividad unificados: Inhibición del tiempo de flotación de Porsolt (porcentaje)	Datos de actividad unificados: Dosis de Porsolt (mg/kg)	Datos de actividad unificados: Dosis de Porsolt, vía	Datos de actividad unificados: Tiempo posterior a la dosis de Porsolt (horas)
25-FNL-3	5,43E-08	130	1	S	80	3	IV	1
25-FNL-21		80	0,1	NS				
25-FNL-7	1,1E-08							
25-FNL-27	3,49E-12							
25-FNL-34		100	0,1	S	73	1	PO	1

## Ejemplo 4 - Potenciación a largo plazo en cortes de hipocampo

## Métodos

5 Los ensayos se llevaron a cabo 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 ratas Sprague-Dawley (12–18 días de edad; Taconic Farms) profundamente con isoflurano y se decapitaron. Los cerebros de las ratas se removieron rápidamente, se sumergieron en líquido cefalorraquídeo artificial helado (ACSF, 2–4 °C), que contenía (en mM): 124 NaCl, 4 KCl, 2 MgSO<sub>4</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 1,25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 10 glucosa; a pH 7,4, gasificado de forma continua con O<sub>2</sub> al 95 %/CO<sub>2</sub> al 5 %). Los cerebros de las ratas se hemiseccionaron, se cortaron los lóbulos frontales y se pegaron los hemisferios individuales usando adhesivo de cianoacrilato en una platina inmersa en ACSF helado gasificado de forma continua con O<sub>2</sub> al 95 %/CO<sub>2</sub> al 5 % durante el corte. Los cortes coronales (de 400 µm de espesor) se cortaron usando un Vibratome (Leica VT1200S) y se trasladaron a una cámara de retención de interfase para su incubación a temperatura ambiente durante un tiempo mínimo de una hora antes de transferirse a una cámara de registro de interfase de estilo Haas perfundida de forma continua a 3 ml/min con ACSF oxigenado a 32 ± 0,5 °C. Se hicieron electrodos de registro de baja resistencia a partir de vidrio borosilicato de pared delgada (1–2 MΩ después de llenar con ACSF) y se insertaron en la región dendrítica apical del campo de terminación de las colaterales de Schaffer en el estrato radial de la región del campo CA1 para registrar los potenciales postsinápticos excitadores (fEPSP). Se colocó un electrodo estimulador de acero inoxidable bipolar (FHC Co.) en las fibras comisurales y colaterales de Schaffer en el estrato radial de CA3 y se ajustó la intensidad del estímulo de corriente constante para evocar aproximadamente la media máxima de fEPSP una vez cada 30 s (50–100 pA; 100 µs de duración). La pendiente de fEPSP se midió antes y después de la inducción de LTP mediante interpolación lineal de 20 a 80 % de la deflexión negativa máxima, y se confirmó que las pendientes fueran estables dentro de ± 10 % durante al menos 15 min antes de comenzar un experimento. Se utilizó aplicación de baño del compuesto de ensayo (1 µM) 30 minutos antes de la aplicación de los trenes de estímulos a las colaterales de Schaffer para generar LTP. La LTP se indujo mediante la estimulación de los axones de las colaterales de Schaffer con cuatro trenes de estímulos de brotes theta de alta frecuencia de 10 × 100 Hz/5 brotes de pulsos cada uno, aplicados en un intervalo entre brotes de 200 ms. Cada tren tenía una duración de 2 segundos y los trenes se aplicaron con 15 segundos de diferencia. Las señales se registraron usando un amplificador Multiclamp 700B y se digitalizaron con un Digidata 1322 (Axon Instruments, EUA). Los datos se analizaron usando el software pClamp software (versión 9, Axon Instruments) en una computadora personal IBM compatible.

## Resultados

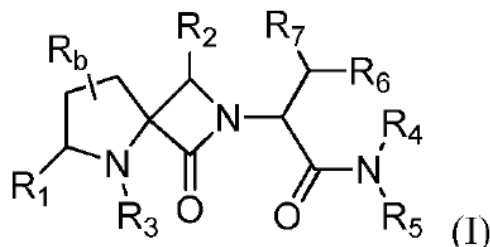
35 Como se muestra en la Figura 2, el Compuesto X sometido a ensayo a 1 µM aumentó la potenciación a largo plazo después de la estimulación a alta frecuencia de e.p.s.c.s de NMDA evocados en colaterales de Schaffer de rata registrados en neuronas piramidales de CA1.

40 Tabla 4. Datos biológicos adicionales

Compuesto	Ensayo de unión al sitio de glicina de MK-801: EC50 de córtex de rata (M)	LTP: Aumento de LTP (%)	LTP: Concentración de LTP (uM)	LTP: Significancia de LTP, S o NS
25-FNL-38	3,313E-09			
25-FNL-2	2,002E-08			
25-FNL-10	1,188E-12	90	1	NS
25-FNL-14	6,133E-11	120	1	NS
25-FNL-33	1,89E-08	140	1	S

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula I:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde

10

R<sub>b</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>1</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>2</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

15

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y un grupo protector de nitrógeno;

en donde el grupo protector de nitrógeno se selecciona del grupo que consiste en 9-fluorenilmetiloxycarbonilo, tert-butoxicarbonilo, carbobenciloxycarbonilo, p-metoxibenciloxycarbonilo, acetilo, trifluoroacetilo, benzoilo, bencilo, p-metoxibencilo, p-metoxifenilo, 3,4-dimetoxibencilo, trifenilmetilo, p-toluenosulfonilo, -C(O)OR<sub>31</sub> y -C(O)R<sub>32</sub>; donde

20

R<sub>31</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, CH<sub>2</sub>-cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>, -CH<sub>2</sub>-fenilo y -CH<sub>2</sub>-piridilo, en donde cualquier cicloalquilo mencionado anteriormente está opcionalmente sustituido con 1-3 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> seleccionado independientemente, y en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>;

25

R<sub>32</sub> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, fenilo y piridilo, en donde el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, nitro, halo, SO<sub>2</sub>Me, ciano y -OC(O)CH<sub>3</sub>;

30

cada uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, X y -alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-X, donde X se selecciona del grupo que consiste en:

35

(i) cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>;

(ii) heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S;

40

(iii) heterociclilo que incluye de 3 a 6 átomos en el anillo donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y

(iv) fenilo;

45

donde cada uno del cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> y el heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R', donde R' se selecciona independientemente para cada instancia de H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y cada uno del heteroarilo y el fenilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'; y heteroarilo y fenilo están cada uno opcionalmente sustituidos con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R';

50

o R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> junto con el nitrógeno al que están unidos forman:

55

heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos en el anillo; donde el heterociclilo incluye no más de dos heteroátomos en el anillo (incluido el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y el segundo heteroátomo en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el

heterociclilo se sustituye opcionalmente con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'; o

heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo; donde el heteroarilo incluye no más de cuatro heteroátomos en el anillo (incluido el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y cada heteroátomo adicional en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el heteroarilo se sustituye opcionalmente con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'; R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en -OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)fenilo y -N(R')R';

R' se selecciona independientemente para cada aparición de H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

R<sub>7</sub> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R<sub>1</sub> es H, y/o R<sub>2</sub> es H.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, donde R<sub>3</sub> es H; or R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno.

4. El compuesto de cualquiera de la reivindicación 3, donde R<sub>3</sub> tiene la fórmula:

a) -C(O)OR<sub>31</sub>; o

b) -C(O)R<sub>32</sub>.

5. El compuesto de la reivindicación 4, donde

a) R<sub>31</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, opcionalmente en donde R<sub>31</sub> es tert-butilo; o

b) R<sub>32</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, opcionalmente en donde R<sub>32</sub> es -CH<sub>3</sub> or iso-propilo.

6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son cada uno H.

7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> es H, y el otro es alquileo C-1C-X.

8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y 7, en donde -alquileo-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> -X es -CH<sub>2</sub>-X.

9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y 7-8, en donde X es fenilo o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo en donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; cada uno opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'.

10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> junto con el nitrógeno al que están unidos forman:

heterociclilo que incluye de 4 a 6 átomos en el anillo; donde el heterociclilo incluye no más de dos heteroátomos en el anillo (incluido el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y el segundo heteroátomo en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el heterociclilo se sustituye opcionalmente con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, oxo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'; o

heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo; donde el heteroarilo incluye no más de cuatro heteroátomos en el anillo (incluido el átomo de nitrógeno unido a R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>), y cada heteroátomo adicional en el anillo, cuando está presente, se selecciona independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; y donde el heteroarilo se sustituye opcionalmente con 1-3 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'.

11. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:

a) R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados juntos forman un anillo pirrolidinilo;

b) R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H;

c) R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es H; y uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> es H, y el otro es -CH<sub>2</sub>-X, en donde X es fenilo o heteroarilo, que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo en donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan

independientemente del grupo que consiste en N, NH, N (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; en donde cada fenilo o heteroarilo está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R';

5 d) R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados juntos forman un anillo pirrolidinilo;

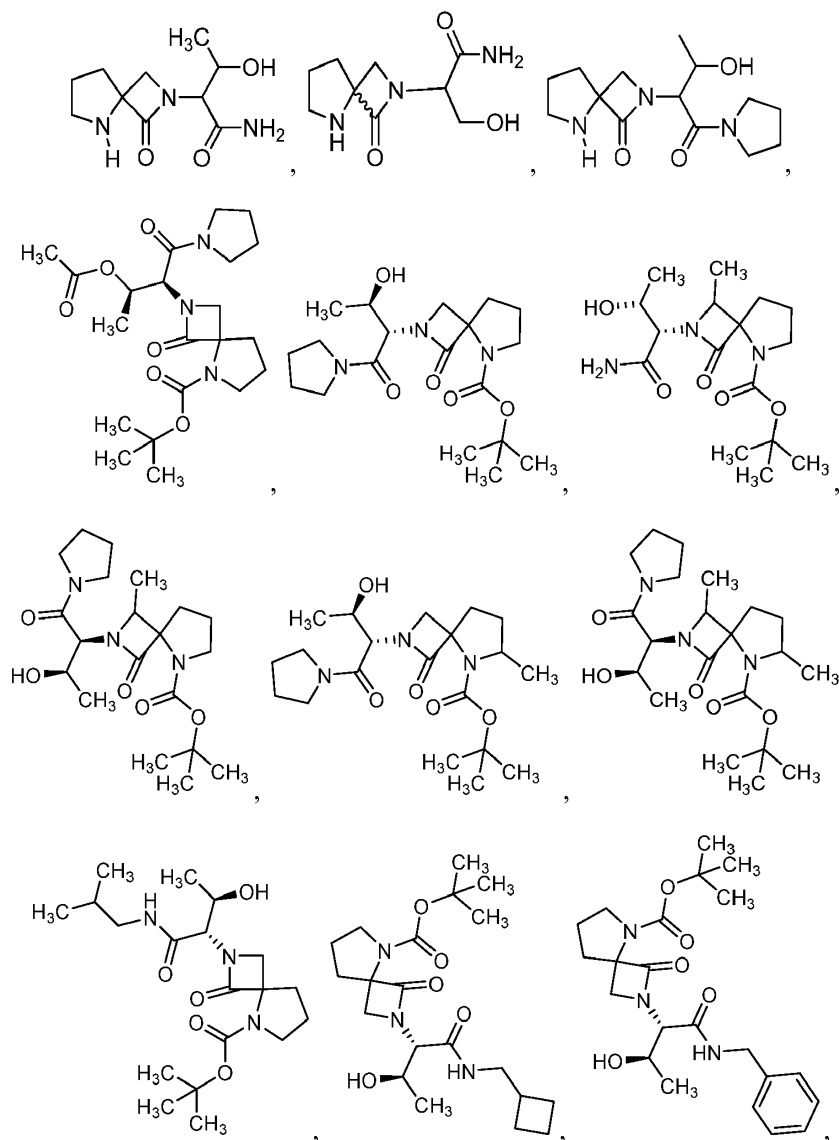
e) R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H; o

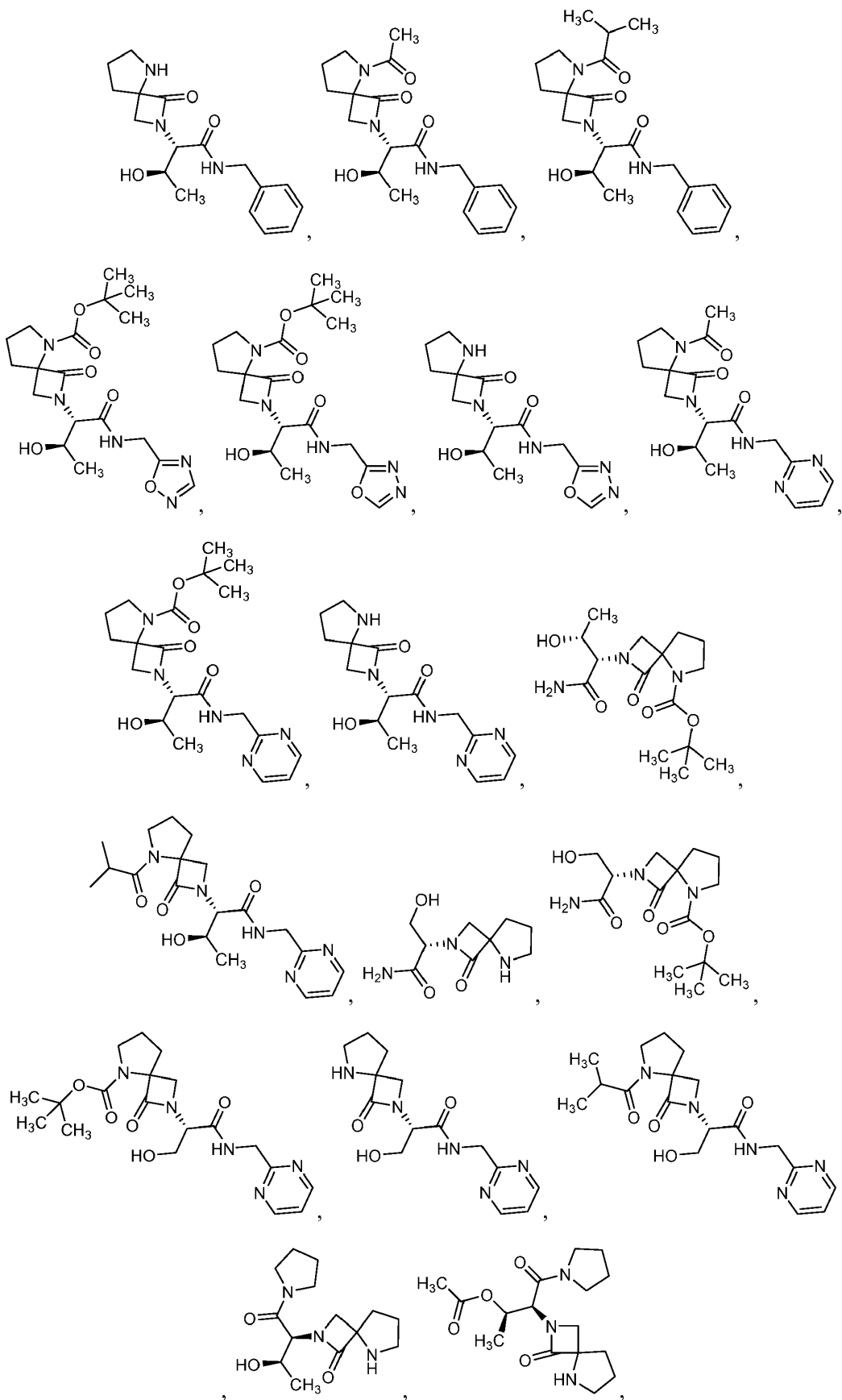
10 f) R<sub>1</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es H o CH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un grupo protector de nitrógeno; y uno de R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> es H, y el otro es -CH<sub>2</sub>-X, en donde X es fenilo o heteroarilo que incluye de 5 a 6 átomos en el anillo en donde 1, 2 o 3 de los átomos en el anillo se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N, NH, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), O y S; cada uno opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -N(R')R'.

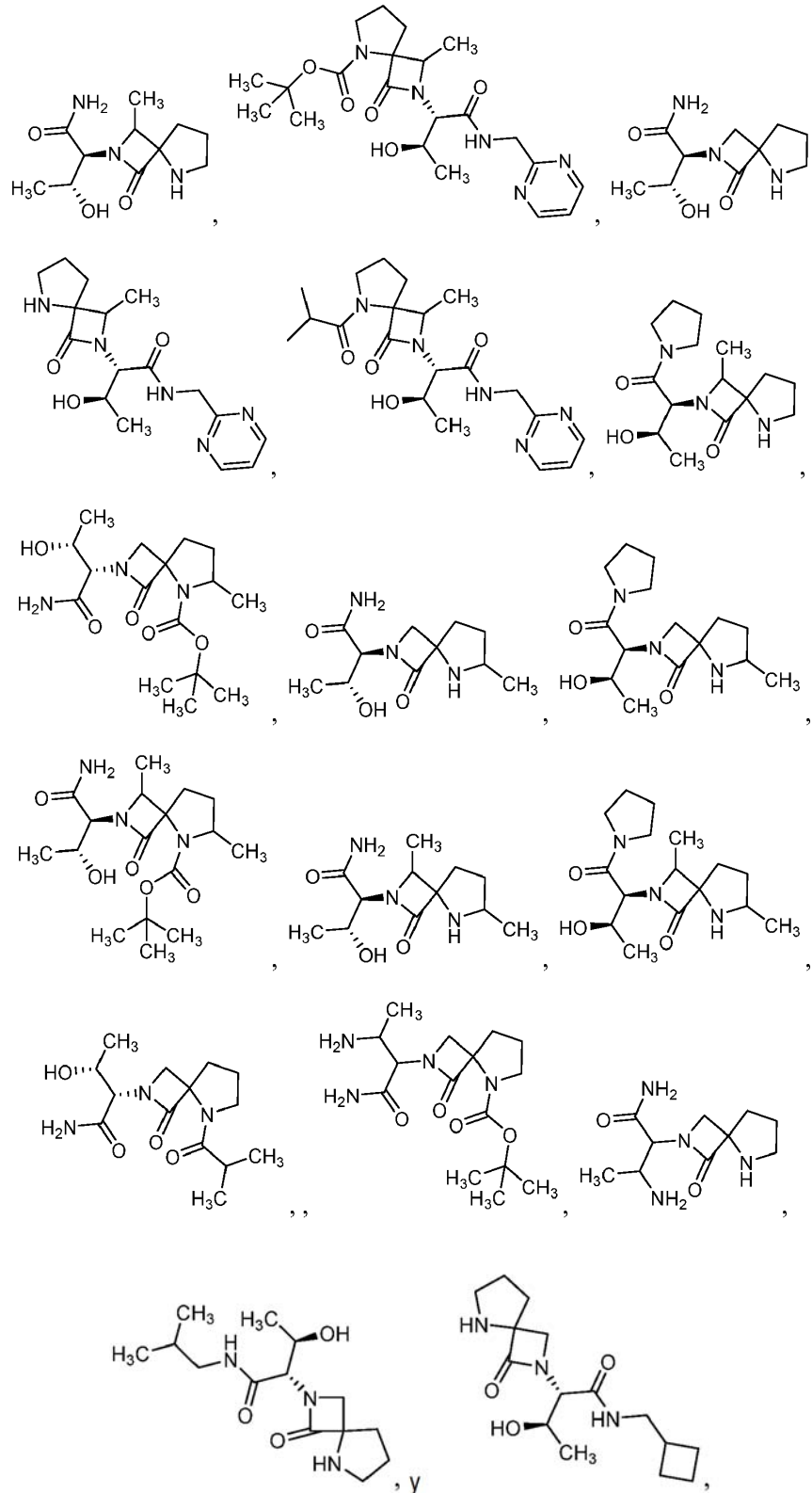
15 12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en -OH, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -OC(O)-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y -OC(O)fenilo, opcionalmente en donde R<sub>6</sub> es -OH; y/o

en donde R<sub>7</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, opcionalmente en donde R<sub>7</sub> es -CH<sub>3</sub>.

20 13. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en







o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero y/o un N-óxido del mismo.

14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde  $R_4$  y  $R_5$

a) son H; o

b) tomados juntos forman un anillo heterocíclico de 4 o 5 miembros seleccionado del grupo que consiste en azetidina, pirrolidina, pirazolidina, isooxazolidina, imidazolidina, oxazolidina, tiazolidina e isotiazolidina; o

5 c) tomados juntos forman un anillo heteroaromático seleccionado del grupo que consiste en imidazol, pirazol, oxazol, isoxazol, tiazol, piridina, diazina, oxazina y tiazina.

15. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados juntos forman un anillo de pirrolidina.

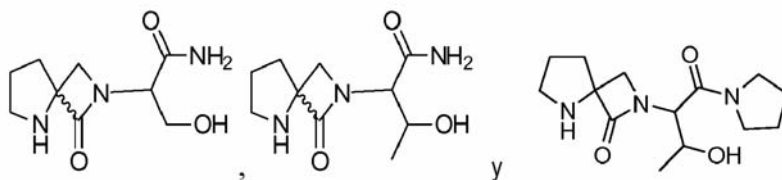
10 16. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:

a) R<sub>1</sub> es H; R<sub>2</sub> es H; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tomados juntos forman un anillo de pirrolidina; o

b) R<sub>1</sub> es H; R<sub>2</sub> es H; R<sub>3</sub> es H; y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son H.

15

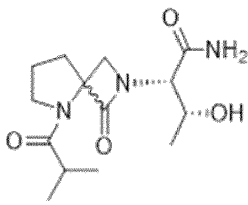
17. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:



20

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero y/o un N-óxido del mismo.

18. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:

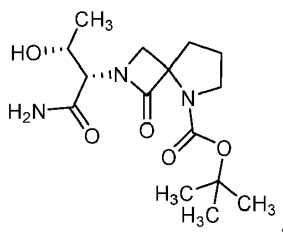


25

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero y/o un N-óxido del mismo.

19. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:

30



o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero y/o un N-óxido del mismo.

35

20. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-19, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

21. La composición farmacéutica de la reivindicación 20, adecuada para administración oral o adecuada para administración intravenosa.

40

22. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-19 para uso en un método para tratar 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

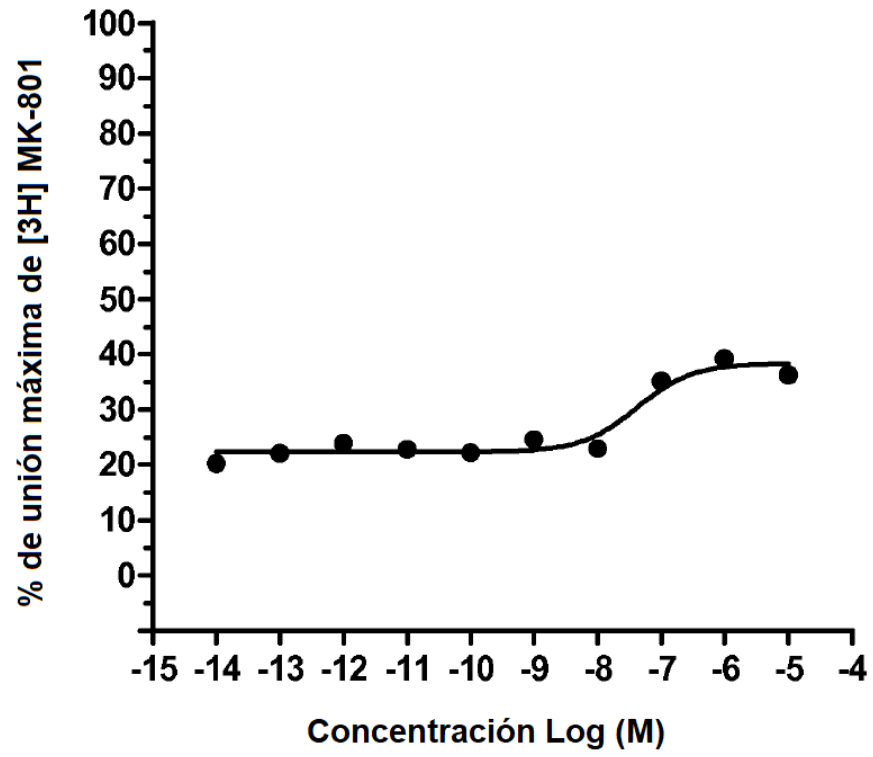


Figura 2

