

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 801 874**

51 Int. Cl.:

C07D 471/18 (2006.01) **A61K 31/4545** (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)
A61K 31/551 (2006.01)
A61K 31/546 (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/431 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.09.2017 PCT/IB2017/055973**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.04.2018 WO18060926**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2017 E 17791737 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2020 EP 3519419**

54 Título: **Inhibidores de beta-lactamasas**

30 Prioridad:

28.09.2016 US 201662401022 P

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

14.01.2021

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**CASAREZ, ANTHONY;
FUREGATI, MARKUS;
KOCH, GUIDO;
LIN, XIAODONG;
OSSOLA, FLAVIO;
RECK, FOLKERT;
SIMMONS, ROBERT LOWELL y
ZHU, QINGMING**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 801 874 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

Inhibidores de beta-lactamasas

5 **Referencia cruzada a solicitud relacionada**

La presente solicitud reivindica los derechos de prioridad de la Solicitud Provisional de EE. UU. nº. 62/401.022, presentada el 28 de septiembre de 2016.

10 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos que inhiben las beta-lactamasas, a métodos de elaboración de estos compuestos y a su uso en combinación con antibióticos beta-lactámicos para el tratamiento de infecciones bacterianas.

15 **Antecedentes**

En las últimas décadas, la frecuencia de la resistencia antimicrobiana y su asociación con enfermedades infecciosas graves ha aumentado a tasas alarmantes. La creciente frecuencia de resistencia entre patógenos nosocomiales es particularmente preocupante. De los más de 2 millones de infecciones nosocomiales que se producen cada año en Estados Unidos, del 50 al 60 % están provocadas por cepas de bacterias resistentes a los agentes antimicrobianos. La alta tasa de resistencia a los agentes bacterianos usados comúnmente aumenta la morbilidad, la mortalidad y los costes asociados con las infecciones nosocomiales. En Estados Unidos, se cree que las infecciones nosocomiales contribuyen a o provocan más de 77.000 muertes al año, y cuestan entre aproximadamente 5 y 10 mil millones de dólares al año.

Entre los antibióticos más importantes de los que se dispone en la actualidad se encuentran varias clases de compuestos que contienen un anillo beta-lactámico, incluyendo penicilinas, penemos, carbapenemos, cefalosporinas, monobactamos y sulfactamos. Estos antibióticos beta-lactámicos inhiben la biosíntesis de la pared celular al unirse a proteínas denominadas proteínas de unión a la penicilina (PBP, *Penicillin-Binding Proteins*), que son esenciales para la síntesis de peptidoglicano, El principal componente de la pared celular de las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Si bien los antibióticos beta-lactámicos siguen siendo sumamente importantes a nivel mundial, su amplio uso ha conducido a un gran problema cada vez mayor: las bacterias han desarrollado resistencia a las beta-lactamasas, tal como lo hacen con la mayoría de los otros antibióticos disponibles. De hecho, la Organización Mundial de la Salud (OMS) dice que la resistencia a los antibióticos es una "grave amenaza mundial [...]"

Se han identificado varios mecanismos diferentes de resistencia a los antibióticos beta-lactámicos: algunas cepas resistentes poseen bombas de evacuación para excretar antibióticos, y otras desarrollan PBP mutantes que son menos sensibles al antibiótico. Una forma de resistencia especialmente preocupante es el desarrollo de enzimas bacterianas que reaccionan con estos antibióticos, destruyendo el antibiótico mediante la apertura del anillo beta-lactámico. Estas enzimas que degradan los antibióticos se denominan beta-lactamasas, y son particularmente problemáticas, porque pueden conferir resistencia a muchos antibióticos beta-lactámicos diferentes, y pueden transferirse a través de plásmidos entre diferentes cepas y especies bacterianas. Entre las bacterias Gram-negativas, hay cuatro clases de beta-lactamasas, las serina beta-lactamasas de las clases A, C y D, y las metalo beta-lactamasas (clase B).

Las causas importantes de resistencia a los antibióticos beta-lactámicos incluyen las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE, *Extended-Spectrum Beta-Lactamases*), las serina carbapenemasas de la clase A, (por ejemplo, KPC-2) y de la clase D (por ejemplo, OXA-48) en *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, y *Proteus mirabilis*, así como la resistencia de alto nivel contra las cefalosporinas de tercera generación mediadas por la beta-lactamasa de clase C AmpC entre las especies de *Enterobacter* y *Citrobacter freundii*, y las cepas de resistencia a múltiples fármacos de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, y *Stenotrophomonas*. El problema de la resistencia antibacteriana se agrava por la existencia de cepas bacterianas que contienen múltiples beta-lactamasas. Por ejemplo, *Klebsiella pneumoniae* que alberga la metalo-beta-lactamasa de NDM-1 con frecuencia transporta serina-beta-lactamasas adicionales en el mismo plásmido portador de NDM-1.

Dado que los antibióticos beta-lactámicos se encuentran entre las pocas clases que son eficaces contra las bacterias Gram negativas, se han hecho muchos esfuerzos en reforzar su capacidad de controlar las cepas bacterianas resistentes, para evitar la pérdida de estos agentes antibacterianos enormemente valiosos. Por ejemplo, se han modificado estructuralmente algunas beta-lactamasas para hacerlas menos susceptibles a las beta-lactamasas, aunque este enfoque es complicado por el hecho de que ya hay muchas beta-lactamasas diferentes, y constantemente surgen nuevas. Otro enfoque ha sido inhibir las enzimas beta-lactamasas que degradan estos antibióticos mediante el uso de un inhibidor de beta-lactamasas (BLI, *Beta-Lactamase Inhibitor*) de bajo peso molecular en combinación con un antibiótico beta-lactámico. Estos BLI se pueden usar en combinación con un antibiótico beta-lactámico aprobado para el tratamiento de pacientes infectados con bacterias que son resistentes al antibiótico solo debido a la actividad beta-lactamasa. Los ejemplos de BLI aprobados incluyen ácido clavulánico, sulbactamo, tazobactamo y avibactamo. Según los informes, hay otros en desarrollo (relebactamo, vaborbactamo (RPX7009), zidebactamo y nacubactamo).

En los organismos Gram-positivos, la resistencia a la penicilina mediada por las beta-lactamasas de tipo penicilinasas es un mecanismo importante de resistencia en *Staphylococcus aureus* (MSSA). La resistencia mediada por las beta-lactamasas a las penicilinas también se encuentra en las especies anaerobias, como los bacteroides.

5 Los tres inhibidores de serina beta-lactamasa más comúnmente usados, ácido clavulánico, tazobactamo y sulbactamo, tienen actividad potente solo contra algunas beta-lactamasas de clase A, excluyendo las serina carbapenemasas. El Avibactam es un miembro de la clase de inhibidores de beta-lactamasas de los diazabiciclooctanos (DBO), y tiene una amplia cobertura de los inhibidores de la clase A (incluyendo los KPC), clase C y cierta inhibición de la clase D. Junto con la inhibición de las beta-lactamasas, el avibactam también tiene actividad antibacteriana contra algunas cepas clínicas mediante la inhibición de la proteína de unión a la penicilina 2 (PBP-2) (Asli *et al.*, "Antimicrobial Agents and Chemotherapy", 60, n.º 2, 752, 2016). Los compuestos antibacterianos con este mecanismo de acción, incluyendo los DBO, seleccionan la resistencia a frecuencias muy altas *in vitro* (Doumith *et al.*, *J. Antimicrobial Chemotherapy* 2016, 71, 2810-2814). Debido a esto, en la actualidad, no está claro que haya un posible beneficio clínico de la actividad antibacteriana intrínseca de algunos inhibidores de la beta-lactamasa DBO. La débil actividad antibacteriana de avibactam puede no ser clínicamente relevante, ya que la dosis clínica de avibactam es bastante baja, sin embargo, puede complicar las pruebas de susceptibilidad *in vitro* y/o potenciar la resistencia. Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* de combinaciones de avibactam/beta-lactama contra aislados clínicos normalmente se realizan usando una concentración fija alta de avibactam (4 µg/ml) que probablemente no refleja los niveles alcanzados a nivel clínico. La contribución directa del avibactam a la actividad antibacteriana en estas condiciones artificiales de prueba *in vitro* podría afectar a la exactitud en la predicción de la eficacia clínica de las combinaciones de avibactam/beta-lactamasa. Un inhibidor de la beta-lactamasa DBO desprovisto de actividad antibacteriana significativa no tendría esta actividad de confusión adicional, y los protocolos de prueba *in vitro* medirían solo la reversión de la resistencia mediada por la beta-lactamasa en aislados clínicos, permitiendo una predicción más exacta de la eficacia clínica basada en los resultados de susceptibilidad *in vitro*.

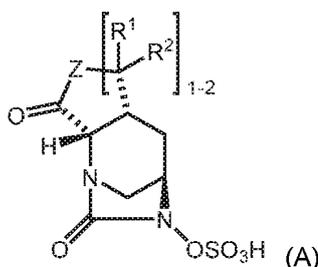
25 Además de los BLI actualmente disponibles para su uso, otros compuestos con actividad BLI se describen en los documentos WO2002/100860, US2003/0199541, US2004/0157826, WO2008/039420 y WO2009/091856, US2010092443, WO2010/126820, WO2013/122888, WO2013/038330, US2013/0225554, WO2013149121, WO2013149136, WO2014141132 y WO2014/033560.

30 Las propiedades farmacocinéticas y físicas de los BLI descritos anteriormente pueden no ser ideales para su uso con cada antibiótico beta-lactámico. Además, según se informa, los BLI van perdiendo eficacia a lo largo del tiempo (K. Bush, *Int. J. Antimicrob. Agents* 46(5), 483-93 (noviembre de 2015)), a medida que se desarrollan cepas bacterianas resistentes y van surgiendo continuamente nuevas enzimas beta-lactamasas. Por consiguiente, sigue existiendo la necesidad de nuevos inhibidores de beta-lactamasas para ampliar la utilidad de los valiosos antibióticos beta-lactámicos; de hecho, los nuevos BLI también pueden combatir la resistencia a los BLI conocidos, así como la resistencia a los antibióticos beta-lactámicos que se conocen y a los que se desarrollarán en el futuro. La presente invención proporciona nuevos inhibidores de beta-lactamasas que potencian la actividad de distintos antibióticos beta-lactámicos, mientras que presentan poca actividad antibiótica intrínseca (directa) propia.

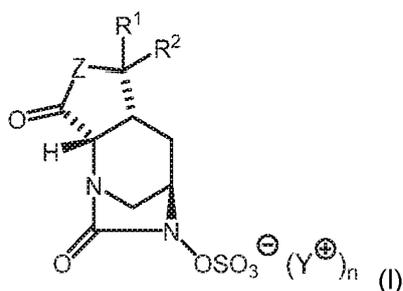
40 Sumario

La invención incluye nuevos compuestos BLI, combinaciones y formulaciones farmacéuticas que incluyen estos compuestos, y usos médicos de dichos compuestos y dichas composiciones para el tratamiento de pacientes con infecciones bacterianas. Los BLI se usan en combinación con un antibiótico beta-lactámico, por ejemplo, derivados de penicilina, penemo, carbapenemo, cefalosporina (cefemo), monobactamo o sulfactamo, y son principalmente útiles para el tratamiento de infecciones bacterianas Gram-negativas, pero también son útiles para el tratamiento de infecciones Gram-positivas y anaerobias, donde la resistencia está mediada por la producción de una beta-lactamasa por la bacteria. La invención incluye compuestos de Fórmula (A) y variantes de los mismos,

50



y las sales de estos compuestos, incluyendo compuestos de Fórmula (I):

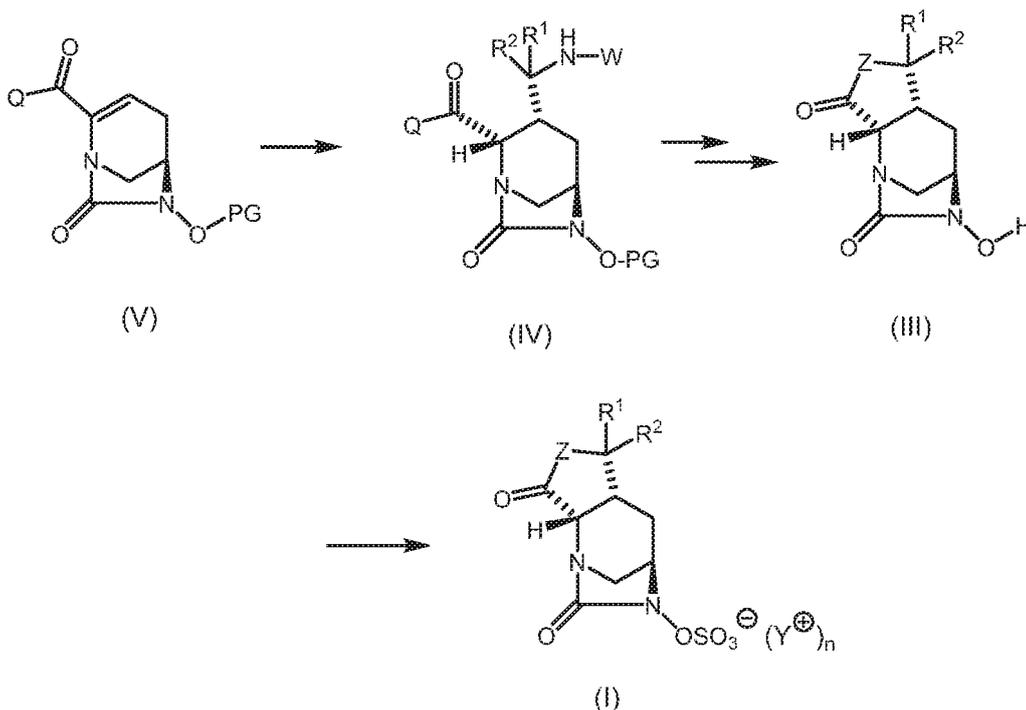


en donde los compuestos de Fórmula (I) pueden estar en forma de sal o de ion híbrido, como se describe además en el presente documento.

5 Los compuestos BLI de la invención se usan en combinación con un antibiótico beta-lactámico, cuyos ejemplos se desvelan en el presente documento, para tratar infecciones bacterianas, en especial, infecciones bacterianas Gram-negativas. El BLI y el antibiótico beta-lactámico se pueden administrar juntos o por separado, y el BLI potencia la eficacia del antibiótico beta-lactámico contra al menos cepas bacterianas que muestran resistencia a los antibióticos beta-lactámicos, donde la resistencia está mediada por una actividad beta-lactamasa. Las combinaciones de 10 antibiótico beta-lactámico y BLI de Fórmula (A) pueden usarse para tratar infecciones causadas por bacterias Gram negativas, que incluyen *Enterobacteriaceae*, tales como *Salmonella*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, y *Citrobacter*, bacterias no fermentadoras, que incluyen *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Moraxella* y *Stenotrophomonas*. Las bacterias Gram-positivas, tales como *Staphylococcus aureus* productora de beta-lactamasas, así como las bacterias anaerobias, tales como *Bacteroides fragilis* o *Bacteroides thetaiotaomicron*.

En un aspecto, la invención proporciona nuevos compuestos de Fórmula (A) y Fórmula (I), incluyendo sus formas de sal o de ion híbrido, que son eficaces como inhibidores de una o más beta-lactamasas bacterianas. Los compuestos 20 son útiles para potenciar la actividad antibacteriana de un antibiótico beta-lactámico. Por lo tanto, se pueden usar en combinación con un antibiótico beta-lactámico. El BLI y el antibiótico beta-lactámico se pueden administrar juntos o por separado; en algunas realizaciones, se combinan un BLI de Fórmula (A) o Fórmula (I) y un antibiótico beta-lactámico en una composición farmacéutica que normalmente también comprende al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la invención proporciona métodos para preparar compuestos de Fórmula (A) o Fórmula (I) y nuevos 25 precursores útiles para preparar compuestos de Fórmula (A) o Fórmula (I) como se describen en el presente documento. En particular, la invención proporciona un proceso para convertir un compuesto de Fórmula (V) en un compuesto de Fórmula (IV); y un método para convertir un compuesto de Fórmula (III) en compuestos de Fórmula (I).



En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (A) y Fórmula (I) mezclado con al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición comprende dos o más de dichos vehículos o excipientes. Opcionalmente, la composición farmacéutica incluye además un antibiótico beta-lactámico, aunque el compuesto BLI puede formularse y administrarse por separado del antibiótico beta-lactámico.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (A) o Fórmula (I), incluyendo formas de sal o de ion híbrido farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana, donde el compuesto se usa en combinación con un antibiótico beta-lactámico. También incluye el uso de un compuesto de Fórmula (A) o Fórmula (I), o una sal o forma de ion híbrido del mismo, en la fabricación de un medicamento. Preferentemente, el medicamento es uno para usar en el tratamiento de una infección bacteriana Gram-negativa, en especial, uno que tenga una actividad beta-lactamasa suficiente para conferir cierto nivel de resistencia al antibiótico beta-lactámico, donde el medicamento está adaptado para usar en combinación con un antibiótico beta-lactámico tal como los descritos en el presente documento. El antibiótico beta-lactámico y el compuesto BLI de Fórmula (A) o Fórmula (I) pueden administrarse simultáneamente o por separado y en cualquier orden, siempre que el BLI esté presente *in vivo* al mismo tiempo que el antibiótico beta-lactámico para potenciar la eficacia del antibiótico beta-lactámico. En ciertas realizaciones, el sujeto es un mamífero y, en algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Las bacterias Gram-negativas pueden ser de un género seleccionado entre *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria*, y *Stenotrophomonas*. En particular, una infección bacteriana causada por una especie de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, o *Acinetobacter* se puede tratar mediante los usos médicos desvelados en el presente documento. Las especies bacterianas particulares para dicho tratamiento incluyen *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, especie *Salmonella*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Acinetobacter baumannii*, así como *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Stenotrophomonas maltophilia*. Las bacterias Gram-positivas pueden ser, por ejemplo, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pneumoniae*.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (A) o Fórmula (I) para usar en la inhibición del crecimiento bacteriano o la modulación de la virulencia de una infección bacteriana, en donde el método comprende administrar a un paciente que necesita dicha inhibición un compuesto de Fórmula (A) o Fórmula (I) y un antibiótico beta-lactámico. En el presente documento, se describen antibióticos beta-lactámicos adecuados para usar en estos usos médicos.

Se proporcionan composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención que incluyen cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición incluye un agente terapéutico adicional tal como un antibiótico beta-lactámico.

En el presente documento, se discuten otros aspectos de la invención.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. MEB del compuesto cristalino de Fórmula (VII).
 Figura 2. XRPD del compuesto cristalino de Fórmula (VII).
 Figura 3. Análisis termogravimétrico y análisis de calorimetría diferencial de barrido del compuesto cristalino de Fórmula (VII).

Descripción detallada

Con el fin de interpretar la presente memoria descriptiva, se aplican las siguientes definiciones a menos que se especifique lo contrario o estén claramente contradichas por el contexto. Cuando sea apropiado, los términos usados en singular también incluirán el plural y viceversa.

Definiciones

Los términos usados en la presente memoria tienen los siguientes significados:

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. En determinados aspectos, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere a, por ejemplo, primates (por ejemplo, seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Como se usa en el presente documento, el término "inhibición" o "inhibir" se refiere a la reducción o supresión de una afección, síntoma, o trastorno, o enfermedad, o una disminución significativa en la actividad inicial de una actividad o

proceso biológico, o una disminución en la viabilidad, el número o la velocidad de crecimiento de una población bacteriana.

5 Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere, en una realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de sus síntomas clínicos). En otra realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico que incluye aquellos que pueden no ser discernibles por el paciente. En otra realización más, "tratando" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización más, "tratando" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar el inicio o desarrollo o avance de la enfermedad o trastorno.

15 Como se usa en el presente documento, El término "un", "una", "el/la" y los términos similares usados en el contexto de la presente invención (en especial, en el contexto de las reivindicaciones) se ha de interpretar que cubren tanto el singular como el plural a menos que se indique otra cosa en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto.

20 Todos los métodos descritos en el presente documento se pueden realizar en cualquier orden adecuado a menos que se indique otra cosa en el presente documento o se contradiga claramente de otro modo por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos o de las expresiones ilustrativas (por ejemplo, "tal como") proporcionados en el presente documento tiene la intención de iluminar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención reivindicada de otra manera.

25 La expresión "agente antibacteriano" se refiere a los agentes sintetizados o modificados en el laboratorio que tienen actividad bien bactericida o bacteriostática. Un agente "activo" en este contexto inhibirá el crecimiento de *P. aeruginosa* y/u otras bacterias Gram-negativas. La expresión "inhibición del crecimiento" indica que se reduce la velocidad de aumento del número de una población de una determinada bacteria. Por lo tanto, la expresión incluye situaciones en las que la población bacteriana aumenta pero a una velocidad reducida, así como situaciones donde se detiene el crecimiento de la población, así como situaciones donde se reduce el número de bacterias de la población o incluso se elimina la población.

35 La expresión "antibiótico beta-lactámico" se refiere a un agente antibacteriano que contiene un anillo lactámico de 4 miembros, también conocido como beta-lactama, que posee actividad antibacteriana. Las clases de antibióticos beta-lactámicos incluyen penicilinas, cefalosporinas, monobactams, carbapenems, oxapenems, cefems, carbacefems, oxacefems, penems, penams, sulbactams y clavams. En el presente documento, se describen antibióticos beta-lactámicos particulares adecuados para usar en los métodos y en las composiciones de la invención, e incluyen aztreonam, piperacilina, ceftazidima, meropenem y beta-lactama 5.

40 El término "beta-lactamasa", como se usa en el presente documento, se refiere a una actividad enzimática poseída o presentada por una bacteria, que cataliza la degradación o inactivación de un antibiótico beta-lactámico. Por lo general, cataliza la hidrólisis del anillo beta-lactámico de un antibiótico beta-lactámico monocíclico o bicíclico, y se expresa en una bacteria Gram-negativa o Gram-positiva que puede causar infección en mamíferos, especialmente, seres humanos. Las beta-lactamasas de interés incluyen las beta-lactamasas de Clase A (incluyendo las beta-lactamasas de espectro prolongado y las serina carbapenemasas), así como las beta-lactamasas de clase C y D.

45 La expresión "inhibidor de beta-lactamasa" o "BLI", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que inhibe al menos una beta-lactamasa bacteriana. Esto significa que inhibe al menos un miembro de las clases de serina beta-lactamasas, por ejemplo, una beta-lactamasa de clase A, C o D. Al reducir la actividad beta-lactamasa, estos compuestos potencian la actividad de un antibiótico beta-lactámico usado en combinación con el BLI; este efecto se denomina en el presente documento potenciación, dado que el BLI no tiene actividad antibacteriana significativa por sí mismo, pero aumenta o potencia la actividad antibacteriana del antibiótico en las bacterias que poseen actividad beta-lactamasa. La potenciación se debe al hecho de que el BLI permite que el antibiótico beta-lactámico perdure más tiempo *in vivo* dentro del compartimento periplasmático bacteriano o en la proximidad de los patógenos bacterianos, haciendo que el antibiótico sea más eficaz o haciéndolo eficaz a una dosis menor de la que se requeriría en ausencia del BLI de Fórmula (A). Preferentemente, un BLI es eficaz a una concentración inhibitoria del 50 % por debajo de aproximadamente 100 µg/ml (microgramos/ml) o por debajo de aproximadamente 50 µg/ml o por debajo de aproximadamente 25 µg/ml.

60 Los antibióticos beta-lactámicos adecuados para usar en combinación con los BLI de la invención incluyen, por ejemplo, aztreonam, imipenem, ertapenem, meropenem, doripenem, biapenem, piperacilina, ceftriaxona, cefoperazona, cefotaxima, ceftazidima, ceftolozana, cefepima, panipenem, ticarcilina, ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, azlocilina, mezlocilina, ticarcilina, cefoperazona, beta-lactama 5 (mostrada en el presente documento) y similares.

65 "Opcionalmente sustituido" significa que el grupo al que se hace referencia puede estar sustituido en una o más posiciones con uno cualquiera o una combinación de radicales listados más adelante en el presente documento. Dicha

sustitución implica el reemplazo de un átomo de hidrógeno del grupo no sustituido por otro resto; por tanto, el número de sustituyentes que pueden añadirse al grupo no sustituido es igual al número de átomos de hidrógeno en el grupo no sustituido. Si no se especifica lo contrario, "opcionalmente sustituido" significa que pueden estar presentes hasta tres grupos sustituyentes distintos de hidrógeno.

5

"Halo" o "halógeno", como se usa en el presente documento, puede ser flúor, cloro, bromo o yodo.

"Alquilo C₁-C₆" o "alquilo C₁₋₆", como se usa en el presente documento, representa alquilo de cadena lineal o ramificado que tiene 1-6 átomos de carbono. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₈ o C₃, entonces la definición debe interpretarse en consecuencia, tal como que "alquilo C₁-C₄" incluirá metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo.

10

"Alcoxi C₁-C₆" o "alcoxi C₁₋₆", como se usa en el presente documento, representa alcoxi de cadena lineal o ramificado que tiene 1-6 átomos de carbono. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₈ o C₃, entonces la definición debe interpretarse en consecuencia, por ejemplo, "alcoxi C₁-C₄" representará metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi y *terc*-butoxi.

15

"Haloalquilo C₁-C₄" o "haloalquilo C_{1,4}", como se usa en el presente documento, representa alquilo de cadena lineal o ramificado que tiene 1-4 átomos de carbono, en el que al menos un hidrógeno se ha reemplazado por un halógeno. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₆ o C₃, entonces la definición debe interpretarse en consecuencia, por tanto "haloalquilo C₁-C₄" representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo que tienen al menos un hidrógeno sustituido con halógeno, tal como cuando el halógeno es flúor: CF₃CF₂, (CF₃)₂CH-, CH₃-CF₂-, CF₃CF₂-, CF₃, CF₂H-, CF₃CF₂CHCF₃ o CF₃CF₂CF₂CF₂-.

20

"Cicloalquilo C₃-C₈" o "cicloalquilo C_{3,8}", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo hidrocarburo saturado monocíclico de 3 a 8 átomos de carbono. Los ejemplos de tales grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₃-C₆, entonces la definición debe interpretarse en consecuencia.

25

"Heterociclilo de 4 a 8 miembros", "heterociclilo de 5 a 6 miembros", "heterociclilo de 3 a 10 miembros", "heterociclilo de 3 a 14 miembros", "heterociclilo de 4 a 14 miembros" y "heterociclilo de 5 a 14 miembros", se refieren, respectivamente, a anillos heterocíclicos de 4 a 8 miembros, de 5 a 6 miembros, de 3 a 10 miembros, de 3 a 14 miembros, de 4 a 14 miembros y de 5 a 14 miembros que contienen de 1 a 7, de 1 a 5 o de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre, que pueden ser saturados o parcialmente insaturados. "Heterocíclico" puede usarse indistintamente con "heterociclilo". El grupo heterocíclico puede estar unido a un heteroátomo o a un átomo de carbono. El término "heterociclilo" incluye grupos de un solo anillo, grupos de anillos condensados y grupos puenteados. Los ejemplos de dicho heterociclilo incluyen, pirrolidina, piperidina, piperazina, oxazolidina, pirrolidinona, morfolina, tetrahydrofurano, tetrahydrotiofeno, tetrahydropirano, tetrahidropirano, 1,4-dioxano, 1,4-oxatiano, 8-aza-biciclo[3.2.1]octano, 3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano, 3-oxa-8-aza-biciclo[3.2.1]octano, 8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]octano, 2-oxa-5-aza-biciclo[2.2.1]heptano, 2,5-diaza-biciclo[2.2.1]heptano, azetidina, etilenodioxo, oxetano y tiazolidina. Preferentemente, un grupo heterocíclico o heterociclilo es un grupo monocíclico saturado o parcialmente saturado a menos que se indique otra cosa, y contiene 5-7 átomos en el anillo con hasta dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo. En algunas realizaciones, un grupo heterocíclico incluye además sistemas de anillo bicíclicos que contienen 1 o 2 heteroátomos, tales como N, O o S como miembros de anillo y que comprenden dos anillos condensados de 3, 4, 5 o 6 miembros, tales como 3-azabicyclo[3.1.0]hexano, 8-aza-biciclo[3.2.1]octano, 3,8-diazabicyclo[3.2.1]octano, 3-oxa-8-aza-biciclo[3.2.1]octano, 8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]octano, 2-oxa-5-aza-biciclo[2.2.1]heptano, 2,5-diaza-biciclo[2.2.1]heptano.

30

35

40

45

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

50

55

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

60

Un "zwitterión" es una molécula que tiene grupos cargados tanto positivamente como negativamente pero que no tiene carga general, es decir, las cargas + y - están equilibradas dentro de la molécula. Para convertir una molécula aniónica en una molécula neutra, los aniones se reemplazarían típicamente por grupos neutros, pero para convertir una molécula aniónica en un zwitterión, entonces un grupo neutro se reemplaza por un grupo catiónico.

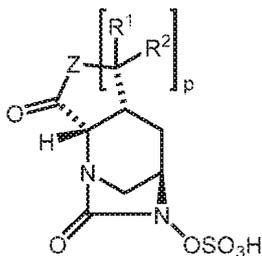
65

Los compuestos de fórmula (A) existen en forma libre, como una sal o como un zwitterión. En la presente memoria descriptiva, a menos que se indique de otra manera, debe entenderse que un lenguaje, tal como "compuestos de fórmula (A)" abarca los compuestos en cualquier forma, por ejemplo forma de base libre o adición de ácidos o sal de intercambio. Las sales que pueden ser inadecuadas para usos farmacéuticos, pero que pueden emplearse, por ejemplo, para el aislamiento o purificación de compuestos libres de fórmula (A), tales como picratos o percloratos, se incluyen también. Para uso terapéutico, solo se emplean sales, zwitteriones o compuestos libres farmacéuticamente aceptables (cuando sea aplicable, en forma de preparaciones farmacéuticas), y por tanto son preferidos. Las sales son preferiblemente sales fisiológicamente aceptables, formadas, cuando sea aplicable, mediante la adición de un ácido o base o mediante intercambio iónico.

Los compuestos de fórmula (A) pueden existir en forma de diversos zwitteriones. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (A) pueden mostrar grupos amino protonados y grupos sulfato desprotonados. En la presente memoria descriptiva, el dibujo del compuesto en forma libre incluye también otros zwitteriones posibles. Los zwitteriones de los compuestos de fórmula (A) también están abarcados por la invención.

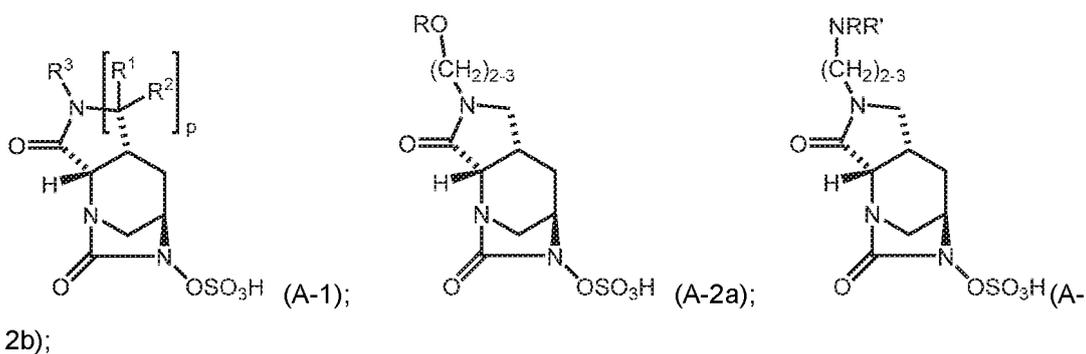
Los compuestos de fórmula (A) pueden existir en forma ópticamente activa o en forma de mezclas de isómeros ópticos, por ejemplo, en forma de mezclas racémicas o mezclas diastereoméricas. En particular, uno o más átomos de carbono asimétricos pueden estar presentes en los compuestos de fórmula (A) y sus sales. Todos los isómeros ópticos y sus mezclas, incluyendo las mezclas racémicas, se incluyen por la invención. En el presente documento se describen diversas realizaciones de la invención. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización pueden combinarse con otras características especificadas para proporcionar realizaciones adicionales. Las siguientes realizaciones numeradas son representativas de aspectos adicionales de la invención.

En una realización, la invención proporciona compuestos de Fórmula (A):



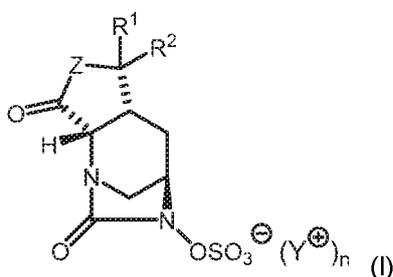
en la que p es 1 o 2;
 R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre halo, CN, -OR, oxo y -NRR';
 Z es NR³ o N-OR³;
 R³ se selecciona, independientemente en cada caso, entre H, Cy y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre Cy, halo, CN, -OR y -NRR';
 Cy es un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo, y Cy está opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre oxo, halo, alquilo C₁-C₂, CN, -OR y -NRR'; y
 R y R' se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂, o R y R' tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos pueden formar un anillo seleccionado entre piperidina, morfolina, pirrolidina y azetidina, en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂;
 o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

Las realizaciones particulares de estos compuestos incluyen compuestos de las siguientes fórmulas:



o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

5 Una realización de interés especial es un compuesto de Fórmula (I):



en la que:

- 10 R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre halo, CN, -OR, oxo y -NRR';
 Z es NR³ o N-OR³;
 15 R³ se selecciona, independientemente en cada caso, entre H, Cy y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre Cy, halo, CN, -OR y -NRR';
 Cy es un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo, y Cy está opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre oxo, halo, alquilo C₁-C₂, CN, -OR y -NRR'; y
 20 R y R' se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂, o R y R' tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos pueden formar un anillo seleccionado entre piperidina, morfolina, pirrolidina y azetidina, en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂;
 25 Y es un grupo catiónico;
 n es 0 o 1; y
 cuando n es 0, el compuesto de Fórmula I es una forma zwitteriónica.

30 Cada uno de los compuestos de los Ejemplos en el presente documento es una realización específica de la invención.

El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, en el que Z es NR³,

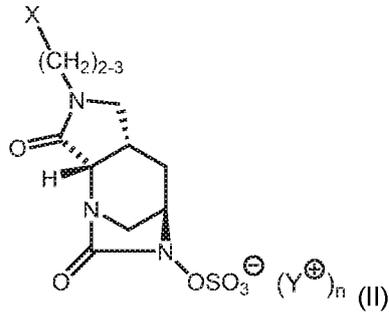
y R³ es H o alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con -OR o -NRR', o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

35 El compuesto de la realización 4, en el que R³ es alquilo C₁-C₂ opcionalmente sustituido con -OR o -NRR', o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

El compuesto de la realización 4, en el que R³ es H, o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

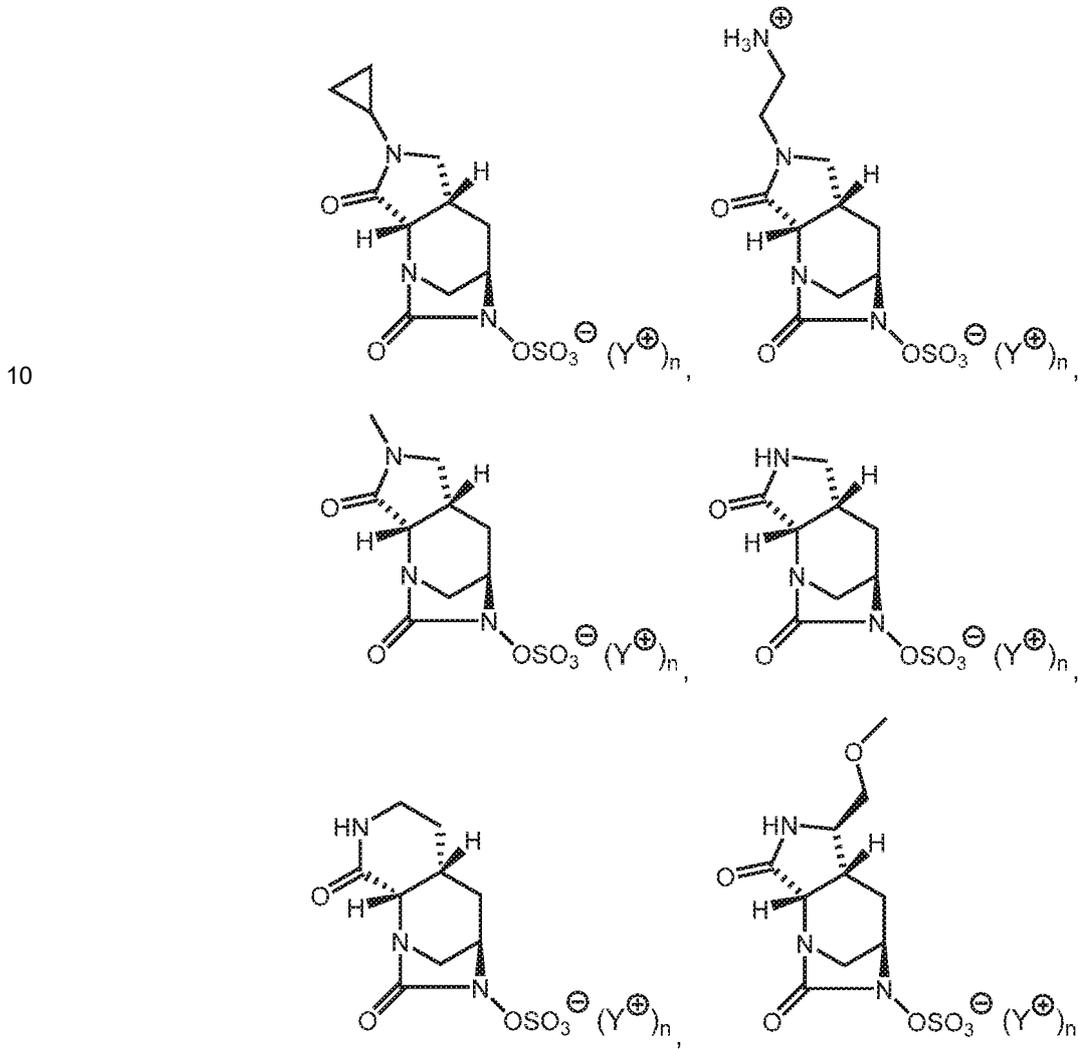
40 El compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1-6, en el que R¹ y R² son ambos H, o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

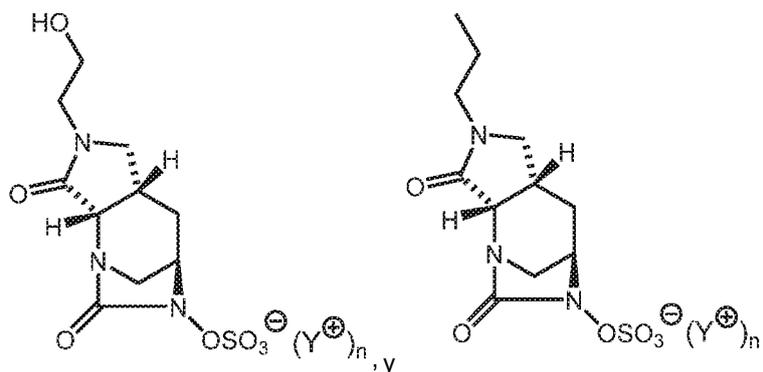
El compuesto de la realización 1, que tiene esta estructura:



- 5 en la que X es -OR o -NRR';
 Y es un grupo catiónico;
 n es 0 o 1; y
 cuando n es 0, el compuesto de Fórmula II está en forma zwitteriónica.

El compuesto de la realización 1, que se selecciona de entre:





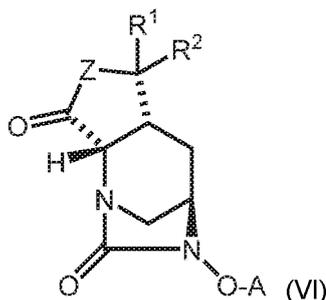
como una sal o forma zwitteriónica del mismo.

- 5 El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, en el que n es 1 e Y se selecciona entre sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, cinc y cobre.

El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, en el que Y es sodio.

- 10 El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es una sal farmacéuticamente aceptable o zwitterión.

Una realización de interés especial es un compuesto de Fórmula (VI):



- 15 en la que:

R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre halo, CN, -OR, oxo y -NRR';

- 20 Z es NR³ o N-OR³;

R³ se selecciona, independientemente en cada caso, entre H, Cy y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre Cy, halo, CN, -OR y -NRR';

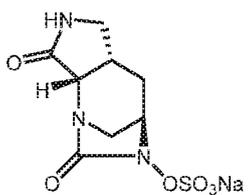
- 25 Cy es un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo, y Cy está opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre oxo, halo, alquilo C₁-C₂, CN, -OR y -NRR'; y

- 30 R y R' se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂, o R y R' tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos pueden formar un anillo seleccionado entre piperidina, morfolina, pirrolidina y azetidina, en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂;

A es H o -CH₂-Ph, donde Ph representa fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄;

- 35 o una sal o zwitterión del mismo.

Una realización de interés especial es un compuesto de la fórmula (VII):



El compuesto de la realización 12 en forma cristalina.

- 5 El compuesto de la realización 13, que muestra una endotermia en calorimetría diferencial de barrido entre 283 °C y 350 °C.

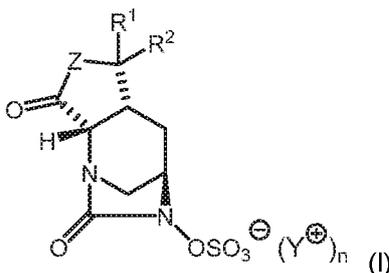
El compuesto de la realización 13, caracterizado por picos de XRPD en ángulos de difracción (2Theta) de 8,3 y 16,6 grados.

- 10 El compuesto de la realización 15, caracterizado además por uno o más picos de XRPD adicionales en ángulos de difracción (2Theta) de 25,1 o 31,3 grados.

- 15 El compuesto de la realización 16, caracterizado además por uno o más picos de XRPD adicionales en ángulos de difracción (2Theta) de 27,4 o 28,7 grados.

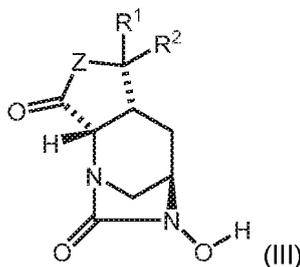
El compuesto de la realización 17, caracterizado además por picos de XRPD adicionales en ángulos de difracción (2Theta) de 19,5 grados o 21,7 grados.

- 20 Un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (I),



de acuerdo con la realización 3, como una sal o forma zwitteriónica del mismo;

- 25 en el que el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (III)

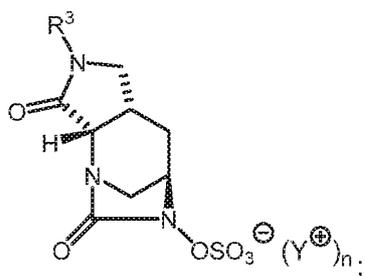


- 30 en la que Z, R¹ y R² y R³ son como se definen en la realización 3, con un agente de sulfonilación en presencia de una base.

El proceso de la realización 19, en el que Z es NR³, y R³ es H o alquilo C₁-C₂ opcionalmente sustituido con -OR o -NRR',

- 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El proceso de la realización 19 o 20, en el que el compuesto de Fórmula (I) es de la fórmula

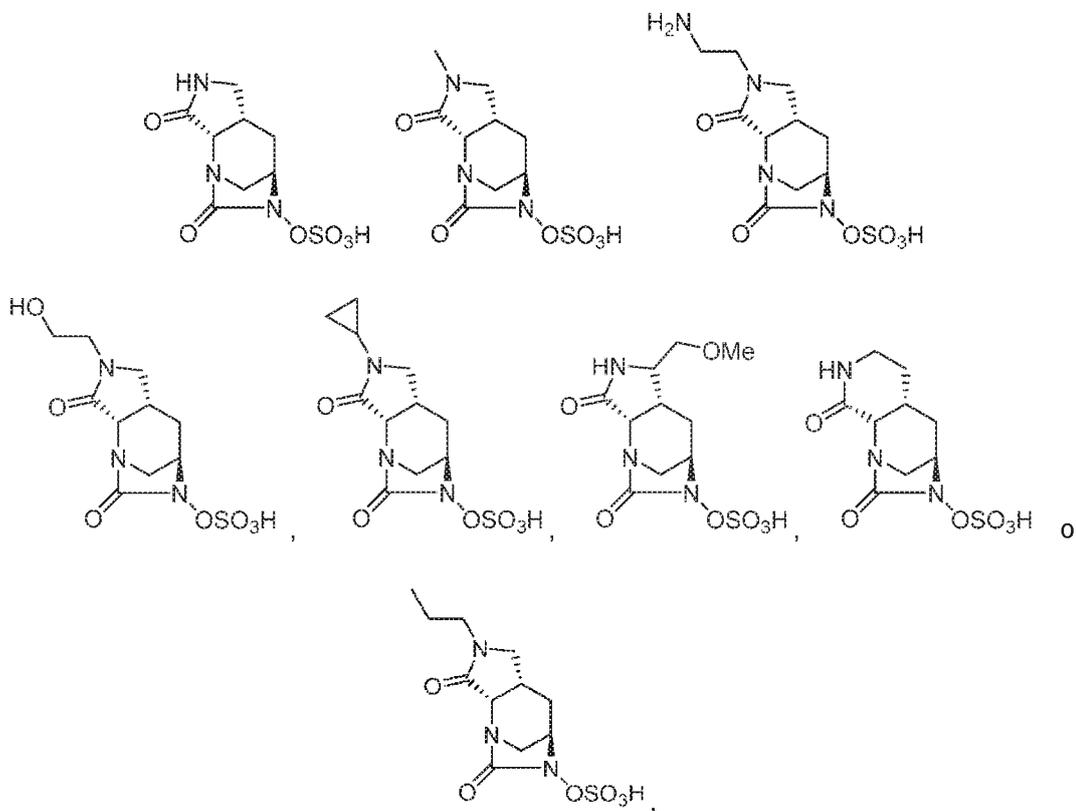


o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

5 El proceso de una cualquiera de las realizaciones 19 a 21, en el que R^3 es H.

Los compuestos de Fórmula (III) son útiles para sintetizar compuestos de Fórmula (I) como se describe en la Realización 3 y otras realizaciones anteriores.

10 Los compuestos específicos de Fórmula (A) y Fórmula (I) incluyen:



15

o una sal o zwitterión del mismo.

20 En un aspecto adicional, la invención proporciona:

Una combinación farmacéutica que comprende (a) un primer agente terapéutico que es un compuesto de la invención, por ejemplo, un compuesto de fórmula (A) o cualquier subfórmula de la misma descrita en el presente documento y (b) un segundo agente terapéutico como se ha descrito anteriormente. El segundo agente terapéutico normalmente es un antibiótico beta-lactámico.

25

Un método como se ha definido anteriormente que comprende la administración conjunta, por ejemplo, concomitantemente o por orden, de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, por ejemplo, un compuesto de fórmula (A) o cualquier subfórmula de la misma que se describe en el presente documento y un segundo agente terapéutico como se ha descrito anteriormente.

30

Los términos "administración conjunta" o "administración combinada" o similares, como se utilizan en el presente documento, pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y

pretenden incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no se administran necesariamente por la misma vía de administración o al mismo tiempo. Las combinaciones fijas también están dentro del alcance de la presente invención. La administración de una combinación farmacéutica de la invención da lugar a un efecto beneficioso, por ejemplo, un efecto terapéutico sinérgico, en comparación con una monoterapia que aplica solo uno de sus principios farmacéuticamente activos.

Cada componente de una combinación de acuerdo con la presente invención puede administrarse por separado, juntos o en cualquier combinación de los mismos.

El compuesto de la invención y cualquier agente adicional se pueden formular en formas farmacéuticas separadas. Como alternativa, para disminuir el número de formas farmacéuticas administradas a un paciente, el compuesto de la invención y cualquier agente adicional se pueden formular juntos en cualquier combinación. Por ejemplo, el compuesto del inhibidor de la invención puede formularse en una forma farmacéutica y el agente adicional puede formularse junto en otra forma farmacéutica. Cualquier forma farmacéutica separada puede administrarse al mismo tiempo o en momentos diferentes.

Como alternativa, una composición de la presente invención comprende un agente adicional como se describe en el presente documento. Cada componente puede estar presente en composiciones individuales, composiciones combinadas o en una sola composición.

Los compuestos de la invención pueden sintetizarse por las vías de síntesis generales que se presentan a continuación, cuyos ejemplos específicos se describen con más detalle en los Ejemplos.

Los compuestos de la presente invención y los intermedios también pueden convertirse entre sí de acuerdo con métodos conocidos generalmente por los expertos en la materia.

Dentro del ámbito de este texto, solamente un grupo fácilmente eliminable que no es un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención se designa como "grupo protector", a menos que el contexto indique lo contrario. La protección de grupos funcionales mediante tales grupos protectores, los grupos protectores en sí mismo y sus reacciones de escisión se describen, por ejemplo, en trabajos de referencia convencionales, tales como J. F. W. McOmie, *"Protective Groups in Organic Chemistry"*, Plenum Press, Londres y Nueva York 1973, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *"Protective Groups in Organic Synthesis"*, Tercera edición, Wiley, Nueva York 1999, en *"The Peptides"*; Volumen 3 (editores: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en *"Methoden der organischen Chemie" (Métodos de Síntesis Orgánica)*, Houben Weilo, 4.^a edición, Volumen 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jeschkeit, *"Aminosäuren, Peptide, Proteine"* (Aminoácidos, Péptidos, Proteínas), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basel 1982, y en Jochen Lehmann, *"Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate"* (Química de Carbohidratos: Monosacáridos y Derivados), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que pueden retirarse fácilmente (es decir sin la aparición de reacciones secundarias indeseadas) por ejemplo mediante solvolisis, reducción, fotólisis o alternativamente en condiciones fisiológicas (por ejemplo mediante escisión enzimática).

Las sales de compuestos de la presente invención que tienen al menos un grupo formador de sales pueden prepararse de forma conocida por los expertos en la materia. Por ejemplo, las sales de compuestos de la presente invención que tienen grupos ácidos pueden formarse, por ejemplo, tratando los compuestos, o una sal de los compuestos como la sal tetrabutilamonio, con compuestos metálicos, tales como sales de metales alcalinos de ácidos carboxílicos orgánicos adecuados, por ejemplo la sal sódica de ácido 2-etilhexanoico en un disolvente adecuado apropiado, tal como una mezcla de isobutanol/agua, que puede facilitar que precipite el par iónico indeseado (por ejemplo, el 2-etilhexanoato de tetrabutilamonio si se usa la sal de tetrabutilamonio). Preferentemente, una sal de un compuesto de la invención, tal como la sal de amonio, puede someterse a una resina de intercambio iónico en su forma de metal alcalino o alcalinotérreo para promover un intercambio de contraiones. Las sales de adición de ácidos o de intercambio de compuestos de la presente invención se obtienen de la manera habitual, por ejemplo tratando los compuestos con un ácido o un reactivo de intercambio aniónico adecuado. Los zwitteriones o sales internas de compuestos de la presente invención que contienen grupos formadores de sales ácidas y básicas, por ejemplo un grupo de sulfato libre y un grupo de amino libre, pueden formarse, por ejemplo, por neutralización de las sales, tales como sales de adición de ácidos, al punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o por tratamiento con intercambiadores iónicos.

Las sales pueden convertirse en los compuestos libres de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia. Las sales clorhidrato pueden convertirse, por ejemplo, por tratamiento con un agente básico adecuado. Las mezclas de isómeros obtenibles de acuerdo con la invención pueden separarse en isómeros individuales generalmente de forma conocida por los expertos en la materia; los diastereoisómeros pueden separarse, por ejemplo, repartiendo entre mezclas de disolventes polifásicos, recristalización y/o separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de presión media sobre columna en fase inversa, y los racematos pueden separarse, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos formadores de sal ópticamente puros y la separación de la mezcla de diastereoisómeros así obtenibles, por ejemplo por medio de cristalización fraccionada, o por cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activos.

Los productos intermedios y finales pueden elaborarse y/o purificarse de acuerdo con métodos estándar, por ejemplo usando métodos cromatográficos, métodos de distribución, (re) cristalización, y similares.

5 Lo siguiente se aplica en general a todos los procesos mencionados anteriormente en el presente documento y en lo sucesivo en el presente documento.

10 Todas las etapas de proceso para preparar de la invención pueden realizarse en condiciones de reacción que son conocidas para los expertos en la técnica, incluyendo las mencionadas específicamente, en ausencia o, habitualmente, en presencia de disolventes o diluyentes, incluyendo, por ejemplo, disolventes o diluyentes que son inertes frente a los reactivos utilizados y los disuelven, en ausencia o presencia de catalizadores, agentes de condensación o neutralizantes, por ejemplo, intercambiadores de iones, tales como intercambiadores de cationes, por ejemplo en forma de H⁺, dependiendo de la naturaleza de la reacción y/o de los reactivos a temperatura reducida, normal o elevada, por ejemplo en un intervalo de temperaturas de aproximadamente -100 °C a aproximadamente 190 °C, incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 150 °C, por ejemplo a entre -80 y -60 °C, a 15 temperatura ambiente, a entre -20 y 40 °C o a la temperatura de reflujo, a presión atmosférica o en un recipiente cerrado, cuando sea apropiado a presión, y/o en una atmósfera inerte, por ejemplo, en una atmósfera de argón o nitrógeno.

20 En todas las fases de las reacciones, las mezclas de isómeros que se forman pueden separarse en isómeros individuales, por ejemplo, diastereoisómeros o enantiómeros, o en cualquier mezcla deseada de isómeros, por ejemplo, racematos o mezclas de diastereoisómeros.

25 Los disolventes a partir de los cuales pueden seleccionarse aquellos disolventes que son adecuados para cualquier reacción particular incluyen los mencionados específicamente o, por ejemplo, agua, ésteres, tales como alcanosatos inferiores de alquilo inferior, por ejemplo, acetato de etilo, éteres, tales como éteres alifáticos, por ejemplo, éter dietílico, o éteres cíclicos, por ejemplo, tetrahidrofurano o dioxano, hidrocarburos aromáticos líquidos, tales como benceno o tolueno, alcoholes, tales como metanol, etanol o 1- o 2-propanol, nitrilos, tal como acetonitrilo, hidrocarburos halogenados, tales como cloruro de metileno o cloroformo, amidas de ácido, tales como dimetilformamida o dimetilacetamida, bases, tales como bases nitrogenadas heterocíclicas, por ejemplo piridina o N-metilpirrolidin-2-ona, 30 anhídridos de ácido carboxílico, tales como anhídridos de ácido alcanico inferior, por ejemplo, anhídrido acético, cíclicos, lineales o ramificados, tales como ciclohexano, hexano o isopentano, metilciclohexano o mezclas de esos disolventes, por ejemplo, soluciones acuosas, a menos que se indique otra cosa en la descripción de los procesos. Dichas mezclas de disolventes también pueden usarse en el tratamiento, por ejemplo, mediante cromatografía o reparto.

35 Los compuestos de la presente invención, incluidas sus sales, también pueden obtenerse en forma de hidratos, o sus cristales pueden incluir, por ejemplo, el disolvente utilizado para la cristalización. Pueden estar presentes diferentes formas cristalinas.

40 Todos los materiales de partida, componentes básicos, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, disolventes y catalizadores utilizados para sintetizar los compuestos de la presente invención están disponibles en el mercado o pueden producirse por métodos de síntesis orgánicas conocidos para alguien con una habilidad habitual en la técnica.

45 La expresión "isómero óptico" o "estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención e incluye isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente puede estar unido a un centro quiral de un átomo de carbono. El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponerse sobre su compañero de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles con su compañera de imagen 50 especular. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros o racematos del compuesto. "Enantiómeros" son un par de estereoisómeros que no son imágenes especulares superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se usa para designar una mezcla racémica cuando sea apropiado. "Diaestereoisómeros" son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema Cahn-Ingold-Prelog R-S. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral puede especificarse por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta es desconocida pueden designarse (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro- o levógira) que giran el plano de luz polarizada a la longitud de onda de la línea D de sodio. Algunos compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros o ejes 55 asimétricos y por lo tanto pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-.

60 Dependiendo de la elección de los materiales de partida y los procedimientos, los nuevos compuestos pueden estar presentes en forma de uno de los isómeros posibles o como mezclas de los mismos, por ejemplo como isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tal como racematos y mezclas de diastereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. La presente invención pretende incluir todos estos estereoisómeros 65 posibles, incluyendo mezclas racémicas, mezclas diastereoméricas y formas ópticamente puras. Pueden prepararse (R) y (S)-isómeros ópticamente activos usando sintones quirales o reactivos quirales, o se resuelven usando técnicas

convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede tener una configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente del cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. Se pretende que todas las formas tautoméricas estén incluidas.

5 Cualquier mezcla de isómeros resultante puede separarse basándose en las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, diastereómeros, racematos, por ejemplo, por cromatografía y/o cristalización fraccionada.

10 Cualquier racemato resultante de productos finales o intermedios puede resolverse en los antípodos ópticos por métodos conocidos, por ejemplo, por separación de las sales diastereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activo, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, un resto básico puede emplearse de ese modo para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodos ópticos, por ejemplo, por cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoil tartárico, ácido diacetil tartárico, ácido di-*O*,*O'*-*p*-toluolil tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido alcanfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también pueden resolverse por cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) usando un adsorbente quiral.

20 Además, los compuestos de la presente invención, incluidas sus sales, también pueden obtenerse en forma de sus hidratos, o incluir otros disolventes usados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden formar inherentemente o por diseño solvatos con disolventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por lo tanto, se pretende que la invención abarque tanto formas solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (incluyendo formas de sal o zwitteriónicas del mismo) con una o más moléculas de disolvente. Dichas moléculas de disolvente son las comúnmente usadas en la técnica farmacéutica, que se sabe que son inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula disolvente es agua.

Los compuestos de la presente invención, incluyendo sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden formar polimorfos de forma inherente o por diseño.

30 Como se usa en el presente documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácidos o adición de bases de un compuesto de la presente invención. Las "sales" incluyen en particular "sales farmacéuticamente aceptables". La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y, que típicamente no son biológicamente ni de otro modo indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácidos y/o bases en virtud de la presencia de grupos amino y/o sulfato o grupos similares a los mismos.

40 Las sales de adición o intercambio de ácidos farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, alcanforsulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y sales trifluoroacetato.

45 Los ácidos inorgánicos o "grupos aniónicos" que pueden introducirse o a partir de los cuales pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

50 Los ácidos orgánicos o "grupos aniónicos" que pueden introducirse o a partir de los cuales pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico, y similares. Las sales de adición o intercambio de bases farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases inorgánicas y orgánicas.

55 Las bases inorgánicas o "grupos catiónicos" que pueden introducirse o a partir de las cuales pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan de grupos catiónicos sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, cinc y cobre; las sales particularmente adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

60 Las bases orgánicas o "grupos catiónicos" que pueden introducirse o a partir de las cuales pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas, y similares. Determinadas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

65 Las sales de la presente invención pueden sintetizarse a partir de un resto básico o ácido, por métodos químicos convencionales. En general, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base adecuada (tal como, hidróxido, carbonato, bicarbonato de

Na, Ca, Mg o K, o similares), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido adecuado. Preferentemente, una sal de un compuesto de la invención, tal como una sal de amonio, puede someterse a una resina de intercambio iónico en su forma de metal alcalino o alcalinotérreo para promover un intercambio de contraiones. Las sales de adición de ácidos o de intercambio de compuestos de la presente invención se obtienen de la manera habitual, por ejemplo tratando los compuestos con un ácido o un reactivo de intercambio aniónico adecuado. Los zwitteriones o sales internas de compuestos de la presente invención que contienen grupos formadores de sales ácidas y básicas, por ejemplo un grupo de sulfato libre y un grupo de amino libre, pueden formarse, por ejemplo, por neutralización de las sales, tales como sales de adición de ácidos, al punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o por tratamiento con intercambiadores iónicos. Dichas reacciones se realizan normalmente en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En general, es deseable el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo, cuando sea posible. Pueden encontrarse sales adecuadas adicionales, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20.^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Cualquier fórmula dada en el presente documento también pretende representar formas no marcadas, así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos de la presente invención. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en el presente documento, excepto por que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico seleccionado. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸F, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ¹²⁵I, respectivamente. La invención incluye diversos compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los que están presentes isótopos radiactivos, tales como ³H y ¹⁴C, o aquellos en los que están presentes isótopos no radiactivos, tales como ²H y ¹³C. Dichos compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ¹⁴C), estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo ²H o ³H), técnicas de detección o formación de imágenes, tales como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía de emisión monofotónica (SPECT), incluyendo ensayos de distribución en tejidos de sustrato o de fármaco, o en el tratamiento radioactivo de pacientes. En particular, un compuesto marcado con ¹⁸F de la presente invención puede ser particularmente deseable para estudios de PET o SPECT. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención pueden prepararse generalmente por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o por procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntas usando un reactivo marcado isotópicamente adecuado en lugar del reactivo no marcado empleado previamente.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (es decir, ²H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una semivida *in vivo* aumentada o unos requisitos de dosis reducidos o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que en este contexto el deuterio se considera un sustituyente de un compuesto de presente invención. La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede definirse por el factor de enriquecimiento isotópico. La expresión "factor de enriquecimiento isotópico", como se usa en el presente documento, se refiere a la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de la presente invención se denomina deuterio, dicho compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5 % de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60 % de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67,5 % de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75 % de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82,5 % de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90 % de incorporación de deuterio), al menos 6333,3 (95 % de incorporación de deuterio), al menos 6466,7 (97 % de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99 % de incorporación de deuterio) o al menos 6633,3 (99,5 % de incorporación de deuterio).

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en los que el disolvente de cristalización puede estar sustituido isotópicamente, por ejemplo D₂O, d₆-acetona, d₆-DMSO.

Los compuestos de la presente invención que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores para enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar co-cristales con formadores de co-cristal adecuados. Estos co-cristales pueden prepararse a partir de compuestos de la presente invención por procedimientos de formación de co-cristales conocidos. Dichos procedimientos incluyen trituración, calentamiento, co-sublimación, co-fusión, o poniendo en contacto en solución compuestos de la presente invención con el formador de co-cristal en condiciones de cristalización y aislando los co-cristales formados de este modo. Los formadores de cocristal adecuados incluyen los descritos en el documento WO 2004/078163. Por tanto, la invención también proporciona co-cristales que comprenden un compuesto de la presente invención.

Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique otra cosa en el presente documento o se contradiga claramente de otro modo por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o un lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado en el presente documento está destinado meramente a ilustrar mejor la invención y no tienen ninguna limitación sobre el ámbito de la invención de otro modo reivindicada.

La presente invención proporciona nuevos compuestos, formulaciones farmacéuticas que incluyen los compuestos y usos médicos del tratamiento de infecciones bacterianas Gram-negativas. En particular, los compuestos son adecuados para usar en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Neisseria*, o *Stenotrophomonas*, incluyendo las especies nombradas en el presente documento.

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Por ejemplo, la sustitución de deuterio en enlaces de hidrocarburo no intercambiables (por ejemplo, C-H) puede retrasar la epimerización y/u oxidación metabólica *in vivo*.

Los compuestos marcados con isótopos de la invención, es decir compuestos de fórmula (A), pueden prepararse generalmente por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o por procesos análogos a los descritos en las secciones adjuntas de Ejemplos y Preparaciones usando un reactivo marcado isotópicamente adecuado en lugar del reactivo no marcado empleado previamente.

En otro aspecto más, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (A) o Fórmula (I) para usar en el tratamiento de un sujeto con una infección bacteriana, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz contra la bacteria de un compuesto de la invención, por ejemplo, un compuesto de Fórmula (A) o una sal del mismo con un vehículo farmacéuticamente aceptable, en combinación con un antibiótico beta-lactámico. Los antibióticos beta-lactámicos adecuados para usar en estos métodos incluyen, pero sin limitación, penicilinas tales como penicilina G, penicilina V, meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, mezlocilina, piperacilina, azlocilina, temocilina, cefalosporinas tales como cephalotina, cefapirina, cefradina, cefaloridina, cefazolina, cefamandol, cefuroxima, cefalexina, cefprozilo, cefaclor, loracarbef, ceftixima, cefnetazol, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefoperazona, ceftazidima, cefixima, cefpodoxima, ceftibuteno, cefdinir, cefpiroma, cefepima, ceftolozano; carbapenemos tales como doripenemo, imipenemo, meropenemo, panipenemo, biapenemo; y monobactams como aztreonam y beta-lactama 5, que se desvela en el presente documento.

Una "cantidad eficaz" de un compuesto de la invención es una cantidad que potencia sustancialmente la actividad de un antibiótico beta-lactámico usado en combinación con el compuesto de la invención, tal como una cantidad que hace que el antibiótico sea al menos cuatro veces más activo contra una bacteria diana, es decir, una cantidad que reduce la concentración inhibitoria mínima (o "CIM") para la bacteria diana en al menos 4 veces y, preferentemente, en al menos 8 veces.

Una "cantidad eficaz" de una combinación de un BLI más antibiótico beta-lactámico como se usa en el presente documento se refiere a una cantidad eficaz para tratar una infección bacteriana en un sujeto, normalmente, un sujeto humano. La cantidad eficaz depende de la sensibilidad de la bacteria infecciosa hacia el antibiótico seleccionado y del grado de potenciación proporcionado por el BLI usado en la combinación. El experto puede determinar una cantidad eficaz de dichas combinaciones en función de los parámetros del sujeto que se vaya a tratar, la bacteria infecciosa y la combinación que se usará, que puede incluir determinar la CIM para la combinación particular en la bacteria diana. Por lo general, la bacteria que se va a tratar es una que sea resistente a al menos algunos antibióticos beta-lactámicos, porque la bacteria expresa una actividad beta-lactamasa.

Los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento de pacientes que padecen o que son susceptibles a infecciones cutáneas, neumonía, sepsis, fibrosis quística, herida, pie diabético con complicaciones, infecciones intra-abdominales con complicaciones o infecciones del tracto urinario con complicaciones y enfermedades de transmisión sexual causadas por patógenos Gram-negativos o Gram-positivos. Los compuestos de la invención también son útiles en las afecciones causadas por una especie de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria*, o *Stenotrophomonas*. En particular, una infección bacteriana causada por una especie de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, o *Acinetobacter* se puede tratar mediante los métodos de la presente invención. Las especies bacterianas particulares para dicho tratamiento incluyen *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterobacter faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* sp., *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Acinetobacter baumannii*, así como *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

Por el término "combinación", se entiende bien una combinación fija en una forma farmacéutica unitaria, o un kit o instrucciones para la administración combinada en la que un compuesto de la presente invención y un antibiótico beta-lactámico combinado pueden administrarse independiente o conjuntamente, al mismo tiempo o por separado, en intervalos de tiempo que permiten, en especial, que los miembros de la combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo, sinérgico, o cualquier combinación de los mismos.

Una realización de la presente invención proporciona compuestos de la presente invención en una combinación

farmacéutica con un antibiótico beta-lactámico y un tercer agente terapéutico. En algunas realizaciones, el tercer agente terapéutico es un agente antibacteriano adicional o un inhibidor adicional de la beta-lactamasa. En algunas realizaciones, la combinación incluye al menos otro agente antibacteriano, que puede ser otro antibiótico beta-lactámico u otro agente antibacteriano seleccionado de las clases que se describen a continuación. Los ejemplos no limitantes de agentes antibacterianos adicionales para usar en combinaciones farmacéuticas de la invención pueden seleccionarse de los siguientes grupos:

- (1) macrólidos o cetólidos tales como eritromicina, azitromicina, claritromicina y telitromicina;
- (2) antibióticos beta-lactámicos, incluyendo penicilina, tal como penicilina G, penicilina V, meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, mezlocilina, piperacilina, azlocilina, temocilina, cefalosporina tal como cepalotina, cefapirina, cefradina, cefaloridina, cefazolina, cefamandol, cefuroxima, cefalexina, cefprozilo, cefaclor, loracarbef, ceftixima, cefinetazol, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefoperazona, ceftazidima, cefixima, cefpodoxima, ceftibuteno, cefdinir, cefpiroma, cefepima, ceftolozano y carbapenemos tales como doripenemo, imipenemo, meropenemo, panipenemo y monobactamos tales como aztreonam y beta-lactama 5 en el presente documento;
- (3) glicopéptidos tales como vancomicina y teicoplanina;
- (4) quinolonas tales como ácido nalidíxico, ácido oxolínico, norfloxacin, pefloxacin, enoxacin, ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacino, temafloxacino, lomefloxacino, fleroxacin, grepafloxacino, esparfloxacino, trovafloxacino, clinafloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino, sitafloxacino, ganefloxacino, gemifloxacino, delafloxacino y pazufloxacino;
- (5) sulfonamidas antibacterianas y sulfanilamidas antibacterianas, incluyendo ácido *para*-aminobenzoico, sulfadiazina, sulfisoxazol, sulfametoxazol y sulfatimidina;
- (6) aminoglicósidos tales como la estreptomina, neomicina, kanamicina, paromicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina, espectinomicina, sisomicina, dibecalina, plazomicina e isepamicina;
- (7) tetraciclinas tales como la tetraciclina, clortetraciclina, desmeclociclina, minociclina, oxitetraciclina, metaciclina, doxiciclina, tigeciclina y eravaciclina;
- (8) rifamicinas tales como rifampicina (también denominada rifampicina), rifapentina, rifabutina, bezoxazinorifamicina y rifaximina;
- (9) lincosamidas tales como lincomicina y clindamicina;
- (10) estreptograminas tales como quinupristina y daflopristina;
- (11) oxazolidinonas tales como linezolid o tedizolid;
- (12) polimixina, colistina y colimicina;
- (13) trimetoprima y bacitracina; y
- (14) inhibidores de la bomba de evacuación;
- (15) inhibidores de la beta-lactamasa, tales como los inhibidores de la metalo beta-lactamasa.

La beta-lactama o el segundo agente antibacteriano se pueden administrar en combinación con los compuestos de la presente invención en donde la beta-lactama o el segundo agente antibacteriano se administran antes de, simultáneamente o después del compuesto o compuestos de la presente invención. Cuando se desea la administración simultánea de un compuesto de la invención con un segundo o tercer agente y la vía de administración es la misma, entonces, un compuesto de la invención puede formularse con un segundo o tercer agente en la misma forma farmacéutica. Un ejemplo de una forma farmacéutica que contiene un compuesto de la invención y un segundo o tercer agente es una administración intravenosa. Un ejemplo alternativo es una administración intramuscular de una solución que comprende un compuesto de la invención y un segundo o tercer agente.

Los compuestos y las composiciones descritos en el presente documento pueden usarse o administrarse en combinación con una beta-lactama y uno o más agentes terapéuticos que actúan como inmunomoduladores, por ejemplo, un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula inmuno-inhibidora, o una vacuna. La proteína de la muerte programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia ampliada de reguladores de linfocitos T CD28/CTLA4 (Okazaki *et al.* (2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82; Bennett *et al.* (2003) *J. Immunol.* 170:711-8). PD-1 se expresa en linfocitos B activados, linfocitos T y monocitos. PD-1 es una proteína inmuno-inhibidora que regula negativamente las señales de TCR (Ishida, Y. *et al.* (1992) *EMBO J.* 11: 3887-3895; Blank, C. *et al.* (Epub 2006 Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56 (5): 739-745), y está regulada positivamente en las infecciones crónicas. La interacción entre PD-1 y PD-L1 puede actuar como un punto de control inmunitario, que puede conducir a, por ejemplo, una disminución de los linfocitos infiltrantes, una disminución en la proliferación mediada por el receptor de linfocitos T y/o la evasión inmunitaria por células cancerosas o infectadas (Dong *et al.* (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank *et al.* (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi *et al.* (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). La supresión inmunitaria puede revertirse inhibiendo la interacción local de PD-1 con PD-L1 o PD-L2; el efecto es aditivo cuando también se bloquea la interacción de PD-1 con PD-L2 (Iwai *et al.* (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. EE.UU.* 99:12293-7; Brown *et al.* (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66). La inmunomodulación puede lograrse uniéndose a la proteína inhibidora inmunitaria (por ejemplo, PD-1) o a proteínas de unión que modulan la proteína inhibidora (por ejemplo, PD-L1, PD-L2).

En una realización, las terapias combinadas de la invención incluyen un inmunomodulador que es un inhibidor o antagonista de una molécula inhibidora de una molécula de punto de control inmunitario. En otra realización, el inmunomodulador se une a una proteína que inhibe de manera natural la molécula de punto de control inmuno-

inhibidora. Cuando se usan en combinación con compuestos antibacterianos, estos inmunomoduladores pueden mejorar la respuesta antimicrobiana y, por lo tanto, mejorar la eficacia en relación con el tratamiento con el compuesto antibacteriano solo.

5 La expresión "puntos de control inmunitarios" se refiere a un grupo de moléculas en la superficie celular de los linfocitos T CD4 y CD8. Estas moléculas pueden servir efectivamente como "frenos" para modular negativamente o inhibir una respuesta inmunitaria adaptativa. Las moléculas de puntos de control inmunitarios incluyen, pero sin limitación, células de muerte programada 1 (PD-1), antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40
10 y LAG3, que inhiben directamente las células inmunitarias. Los agentes inmunoterapéuticos que pueden actuar como inhibidores del punto de control inmunitario útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, inhibidores de PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta. La inhibición de una molécula inhibidora puede realizarse mediante la inhibición a nivel de ADN, ARN o proteína. En algunas realizaciones, un ácido nucleico inhibidor (por ejemplo, un ARNbc, ARNip o ARNhc), puede usarse para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras realizaciones, el inhibidor de una señal inhibidora es un polipéptido,
15 por ejemplo, un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibidora.

La expresión "en combinación con" no pretende implicar que la terapia o los agentes terapéuticos deben administrarse al mismo tiempo y/o formularse para la administración conjunta, aunque estos métodos de administración están dentro del alcance descrito en el presente documento. El inmunomodulador se puede administrar simultáneamente con, antes que o después de, uno o más compuestos de la invención y la pareja beta-lactámica y, opcionalmente, una o más terapias o agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos de la combinación se pueden administrar en cualquier orden. En general, cada agente se administrará a una dosis y/o en un cronograma determinado para ese agente. Se apreciará además que los agentes terapéuticos utilizados en esta combinación pueden administrarse juntos en una composición única o administrarse por separado en diferentes composiciones. En general, se espera que cada uno de los agentes terapéuticos utilizados en combinación se utilicen a niveles que no superen los niveles a los que se utilizan individualmente. En algunas realizaciones, los niveles utilizados en combinación serán menores que los utilizados individualmente.

30 En ciertas realizaciones, el inhibidor beta descrito en el presente documento se administra en combinación con una beta-lactama y uno o más inmunomoduladores que son inhibidores de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2. Cada uno de dichos inhibidores puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión al antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión o un oligopéptido. Los ejemplos de dichos inmunomoduladores son conocidos en la técnica.

35 En algunas realizaciones, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 seleccionado entre MDX-1106, Merck 3475 o CT-011.

En algunas realizaciones, el inmunomodulador es una inmunoadhesina (por ejemplo, una inmunoadhesina que comprende una porción extracelular o de unión a PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante (por ejemplo, una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina).

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

En algunas realizaciones, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-L1 tal como el anticuerpo anti-PD-L1.

45 En algunas realizaciones, el inmunomodulador es un antagonista de unión anti-PD-L1 seleccionado entre YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C o MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en el documento WO2007/005874. El anticuerpo YW243.55.S70 es un anti-PD-L1 descrito en el documento WO 2010/077634.

50 En algunas realizaciones, el inmunomodulador es nivolumab (número de registro CAS: 946414-94-4). Los nombres alternativos para el nivolumab incluyen MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538 o BMS-936558. El nivolumab es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano que bloquea específicamente a PD-1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se desvelan en los documentos US 8.008.449, EP2161336 y WO2006/121168.

En algunas realizaciones, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 Pembrolizumab. El pembrolizumab (también conocido como Lambrolizumab, MK-3475, MK03475, SCH-900475 o KEYTRUDA®; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD-1. El pembrolizumab y otros anticuerpos anti-PD-1 humanizados se desvelan en Hamid, O. *et al.*, (2013) *New England Journal of Medicine* 369 (2): 134-44, documentos US 8.354.509, WO2009/114335 y WO2013/079174.

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

65

Otros anticuerpos anti-PD1 útiles como inmunomoduladores para usar en los métodos desvelados en el presente documento incluyen AMP 514 (Amplimmune) y anticuerpos anti-PD1 desvelados en el documento US 8.609.089, US 2010028330 y/o US 20120114649. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es MSB0010718C. MSB0010718C (también denominado A09-246-2; Merck Serono) es un anticuerpo monoclonal que se une a PD-L1.

5 En algunas realizaciones, el inmunomodulador es MDPL3280A (Genentech/Roche), un anticuerpo monoclonal IgG1 optimizado para Fc humano que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos contra PD-L1 se desvelan en la patente de EE.UU. n.º 7.943.743 y la publicación de EE.UU. n.º 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 útiles como inmunomoduladores para los métodos de la invención incluyen YW243.55.S70 (véase
10 WO2010/077634), MDX-1105 (también denominado BMS-936559) y agentes de unión anti-PD-L1 desvelados en el documento WO2007/005874.

15 En algunas realizaciones, el inmunomodulador es AMP-224 (B7-DCIg; El amplimmune; por ejemplo, desvelado en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor de fusión de PD-L2 Fc soluble que bloquea la interacción entre PD1 y B7-H1.

20 En algunas realizaciones, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-LAG-3 tal como BMS-986016. El BMS-986016 (también denominado BMS986016) es un anticuerpo monoclonal que se une a LAG-3. El BMS-986016 y otros anticuerpos anti-LAG-3 humanizados se desvelan en los documentos US 2011/ 0150892, WO2010/019570 y WO2014/008218.

En ciertas realizaciones, las terapias combinadas desveladas en el presente documento incluyen un modulador de una molécula coestimuladora o una molécula inhibidora, por ejemplo, un ligando o receptor coinhibidor.

25 En una realización, el modulador coestimulador, por ejemplo, agonista, de una molécula coestimuladora se selecciona entre un agonista (por ejemplo, un anticuerpo agonista o fragmento de unión al antígeno del mismo, o fusión soluble) de ligando OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o CD83.

30 En otra realización, las terapias combinadas desveladas en el presente documento incluyen un inmunomodulador que es una molécula coestimuladora, por ejemplo, un agonista asociado con una señal positiva que incluye un dominio coestimulador de CD28, CD27, ICOS y/o GITR.

35 Los agonistas ilustrativos de GITR incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión de GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos bivalentes anti-GITR), tales como, una proteína de fusión de GITR descrita en la patente de Estados Unidos n.º: 6.111.090, la patente Europea n.º: 090505B1, la patente de Estados Unidos n.º: 8.586.023, Las publicaciones PCT n.º: WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos n.º: 7.025.962, la patente Europea n.º: 1947183B1, la patente de Estados Unidos n.º: 7.812.135, la patente de Estados Unidos n.º: 8.388.967, la patente de Estados Unidos n.º: 8.591.886, la patente Europea n.º: EP 1866339, la publicación PCT n.º: WO 2011/028683, Publicación PCT n.º: WO 2013/039954, la publicación PCT n.º: WO2005/007190, la publicación PCT n.º: WO 2007/133822, la publicación PCT n.º: WO2005/055808, la publicación PCT n.º: WO 99/40196, la publicación PCT n.º: WO 2001/03720, la publicación PCT n.º: WO99/20758, la publicación PCT n.º: WO2006/083289, la publicación PCT n.º: WO 2005/115451, la patente de Estados Unidos n.º: 7.618.632 y Publicación PCT n.º: WO 2011/051726.

45 En una realización, el inmunomodulador usado es un ligando soluble (por ejemplo, un CTLA-4-Ig), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a PD-L1, PD-L2 o CTLA4. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 se puede administrar en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab, por ejemplo. Los ejemplos de anticuerpos anti-CTLA4 incluyen tremelimumab (anticuerpo monoclonal IgG2 disponible de Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206); e ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS n.º 477202-00-9).

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

55 En otra realización, una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 o un fragmento de unión al antígeno del mismo. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o fragmento de unión al antígeno del mismo. En otras realizaciones más, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-TIM-3, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos. La combinación de anticuerpos citados en el presente documento puede administrarse por separado, por ejemplo, como anticuerpos separados, o unidos, por ejemplo, como una molécula de anticuerpo biespecífico o trispecífico. En una realización, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 y un anticuerpo anti-TIM-3 o anti-LAG-3, o un fragmento de unión al antígeno de los mismos. En ciertas realizaciones, la combinación
60 de anticuerpos que se menciona en el presente documento se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un tumor sólido). La eficacia de las combinaciones mencionadas
65

puede probarse en modelos animales conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describen los modelos animales para probar el efecto sinérgico de anti-PD-1 y anti-LAG-3, por ejemplo, en Woo *et al.* (2012) *Cancer Res.* 72(4):917-27).

5 Los inmunomoduladores ilustrativos que se pueden usar en las terapias combinadas incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, afutuzumab (disponible en Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimid (CC4047); y citocinas, por ejemplo, IL-21 o IRX-2 (mezcla de citocinas humanas, incluida la interleucina 1, interleucina 2 e interferón γ , CAS 951209-71-5, disponible en IRX Therapeutics).

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

15 Los ejemplos de realizaciones del uso de los compuestos de la invención en combinación con un antibiótico beta-lactámico y un inmunomodulador incluyen

i. tratar una infección bacteriana en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto de Fórmula (A) como se describe en el presente documento y un inmunomodulador.

20 ii. realización i, en donde el inmunomodulador es un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario.

iii. cualquiera de las realizaciones i e ii, en donde el activador de la molécula coestimuladora es un agonista de uno o más de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 y ligando CD83.

25 iv. cualquiera de las realizaciones i-iii anteriores, en donde el inhibidor de la molécula de punto de control inmunitario se selecciona de PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y TGFR beta.

v. cualquiera de cualquiera de las realizaciones i-iii, en donde el inhibidor de la molécula de punto de control inmunitario se selecciona entre un inhibidor de PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3 o CTLA4, o cualquier combinación de los mismos.

30 vi. cualquiera de las realizaciones i-v, en donde el inhibidor de la molécula de punto de control inmunitario es un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a la molécula de punto de control inmunitario.

vii. cualquiera de las realizaciones i-vi, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es de una IgG1 o IgG4 (por ejemplo, IgG1 o IgG4 humana).

35 viii. cualquiera de las realizaciones i-vii, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se modifica, por ejemplo, se muta, para aumentar o disminuir uno o más de entre: unión al receptor de Fc, glicosilación de anticuerpos, el número de restos de cisteína, la función de la célula efectora o la función del complemento.

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

40 x. cualquiera de las realizaciones i-ix, en donde el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 seleccionado entre Nivolumab, Pembrolizumab o Pidilizumab.

xi. cualquiera de las realizaciones i-x, en donde el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-L1 seleccionado entre YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C o MDX-1105.

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

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

40 xiv. cualquiera de las realizaciones i-x, en donde el inmunomodulador es una molécula de anticuerpo anti-PD-1 administrada mediante inyección (por ejemplo, por vía subcutánea o intravenosa) a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 5 a 25 mg/kg, de aproximadamente 10 a 20 mg/kg, de aproximadamente 1 a 5 mg/kg o de aproximadamente 3 mg/kg, por ejemplo, de una vez a la semana a una vez cada 2, 3 o 4 semanas.

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

55 xvi. realización xv, en donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, nivolumab, se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg a 3 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 1 mg/kg, 2 mg/kg o 3 mg/kg, cada dos semanas.

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

60 La expresión "cantidad eficaz" del compuesto es la cantidad necesaria o suficiente para potenciar la eficacia de un antibiótico beta-lactámico usado para tratar o prevenir una infección bacteriana y/o una enfermedad o afección descrita en el presente documento. En un ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto es una cantidad suficiente para tratar la infección bacteriana en un sujeto, cuando se dosifica junto con una beta-lactama. En otro ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto es una cantidad suficiente para tratar una infección bacteriana, cuando se dosifica en combinación con un antibiótico beta-lactámico, causada por, pero sin limitación, especies de *Enterobacteriaceae* y similares en un sujeto. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como el tamaño y el peso del sujeto, el tipo de

enfermedad, las características del patógeno bacteriano causante de la enfermedad (por ejemplo, el tipo y nivel de producción de beta-lactamasa) o el compuesto particular de la invención, así como el antibiótico beta-lactámico que se usará junto con el compuesto de la invención. Por ejemplo, la elección del compuesto de la invención puede afectar a lo que constituye una "cantidad eficaz". Un experto en la materia sería capaz de estudiar los factores contenidos en el presente documento y hacer la determinación respecto a la cantidad eficaz de los compuestos de la invención sin experimentación excesiva.

El régimen de administración puede afectar a lo que constituye una cantidad eficaz. El compuesto de la invención puede administrarse al sujeto antes o después de la aparición de una infección bacteriana. Por lo general, el compuesto se administra a un sujeto diagnosticado de una infección bacteriana y, por lo tanto, que necesita tratamiento. Además, pueden administrarse varias dosificaciones divididas, así como dosificaciones graduales, cada 6 horas, cada 8 horas, cada 12 horas o diariamente, o de forma secuencial, o la dosis puede infundirse de manera continua, o puede ser una inyección embolada. Además, las dosificaciones del compuesto o compuestos de la invención pueden aumentarse o disminuirse proporcionalmente según indiquen las exigencias de las situaciones terapéutica o profiláctica. Por lo general, el compuesto de la invención se administraría en el transcurso de al menos 5 días, más comúnmente al menos 7 días o al menos 10 días o al menos 14 días, a través de 3 o 4 infusiones por día (cada 6 u 8 horas).

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

La expresión "composición farmacéutica" incluye preparaciones adecuadas para la administración a mamíferos, por ejemplo, seres humanos. Cuando los compuestos de la presente invención se administran como agentes farmacéuticos a los mamíferos, por ejemplo, seres humanos, estos se pueden dar *per se* o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, del 0,1 al 99,5 % (más preferentemente, del 0,5 al 90 %) de principio activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" está reconocida en la técnica e incluye un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, adecuado para la administración de compuestos de la presente invención a mamíferos. Los vehículos incluyen cargas líquidas o sólidas, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación, implicados en portar o transportar el agente objeto de un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano o parte del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones de tampón de fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En algunas realizaciones, un vehículo farmacéuticamente aceptable se esteriliza antes de la combinación con el compuesto de la invención.

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

Los agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

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

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para la administración oral, nasal, por inhalación, tópica, transdérmica, bucal, sublingual, rectal, vaginal y/o parenteral. Por lo general, los compuestos de la invención se administrarían por vía intravenosa, en forma de una solución que suele ser isotónica, tal como una solución salina o de glucosa. Las formulaciones pueden estar presentes convenientemente en forma de dosis unitaria y se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. La cantidad de principio

activo que puede combinarse con un material de vehículo para producir una forma de monodosis, en general, será aquella cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. En general, de un cien por ciento, esta cantidad variará de aproximadamente el 1 por ciento a aproximadamente el noventa y nueve por ciento de principio activo, preferentemente de aproximadamente el 5 por ciento a aproximadamente el 70 por ciento, más preferentemente, de aproximadamente el 10 por ciento a aproximadamente el 30 por ciento.

Los métodos de preparación de estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de asociar un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con vehículos líquidos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para la administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones acuosas o no acuosas isotónicas estériles, dispersiones, suspensiones o emulsiones farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones o dispersiones inyectables solo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario final o agentes de suspensión o espesantes.

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

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como agentes conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede asegurarse por la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol de ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma inyectable del fármaco se puede llevar a cabo mediante la inclusión de agentes que retrasen la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas de los compuestos en cuestión en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejido corporal.

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

Las expresiones "administración parenteral" y "administrado/a por vía parenteral", tal como se usan en el presente documento, se refieren a modos de administración distintos de la administración entérica y tópica, normalmente, mediante inyección, e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal e infusión.

Las expresiones "administración sistémica", "administrado/a por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado/a por vía periférica", tal como se usa en el presente documento, significan la administración de un compuesto, fármaco u otro material distinto de directamente en el sistema nervioso central, de manera que entra en el sistema del paciente y, por lo tanto, se somete al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Estos compuestos pueden administrarse a seres humanos y otros animales para el tratamiento por cualquier vía adecuada de administración, incluyendo inyección intramuscular, oral, nasal, inhalados como mediante, por ejemplo, una pulverización, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, incluyendo bucal y sublingual. En algunas realizaciones, el compuesto de la invención se administra por inyección o infusión, a menudo por infusión, y puede administrarse conjuntamente con un antibiótico beta-lactámico. El antibiótico beta-lactámico puede administrarse por cualquier vía apropiada; en algunas realizaciones, el antibiótico beta-lactámico se administra por vía oral y, en otras realizaciones, el antibiótico beta-lactámico se administra por inyección o por infusión. Cuando el compuesto de la invención se administra conjuntamente con un antibiótico beta-lactámico y ambos se administran por la misma vía, opcionalmente, se pueden mezclar para la administración por

inyección o infusión, o se pueden administrar por separado siempre que el inhibidor de beta-lactamasa esté presente sistémicamente en el sujeto tratado junto con el antibiótico beta-lactámico para que pueda producirse la potenciación.

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

10 Los niveles reales de dosificación de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse para obtenerse una cantidad del principio activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, una composición y un modo de administración particular, sin que sean tóxicos para el paciente.

15 El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una diversidad de factores incluyendo la actividad del compuesto de la presente invención empleado en particular, o la sal del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto que se está empleando en particular, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con el compuesto empleado en particular, la edad, el sexo, el peso, la afección, el estado de salud general e historial médico previo del paciente que está siendo tratado, el género, la especie y cepa del patógeno bacteriano causante de la infección y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

25 En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que sea la dosis eficaz para producir un efecto terapéutico. En general, dicha dosis eficaz dependerá de los factores descritos anteriormente. En general, las dosis intravenosa y subcutánea de los compuestos de la invención para un paciente, cuando se usan en combinación con una beta-lactama para los efectos antibacterianos indicados, variarán de aproximadamente 2 a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día, más preferentemente, de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg por kg por día, y aún más preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 mg por kg por día. Una cantidad eficaz es aquella cantidad que trata una infección bacteriana, cuando se dosifica en combinación con un antibiótico beta-lactámico.

30 Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo puede administrarse como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas farmacéuticas unitarias o como infusión continua.

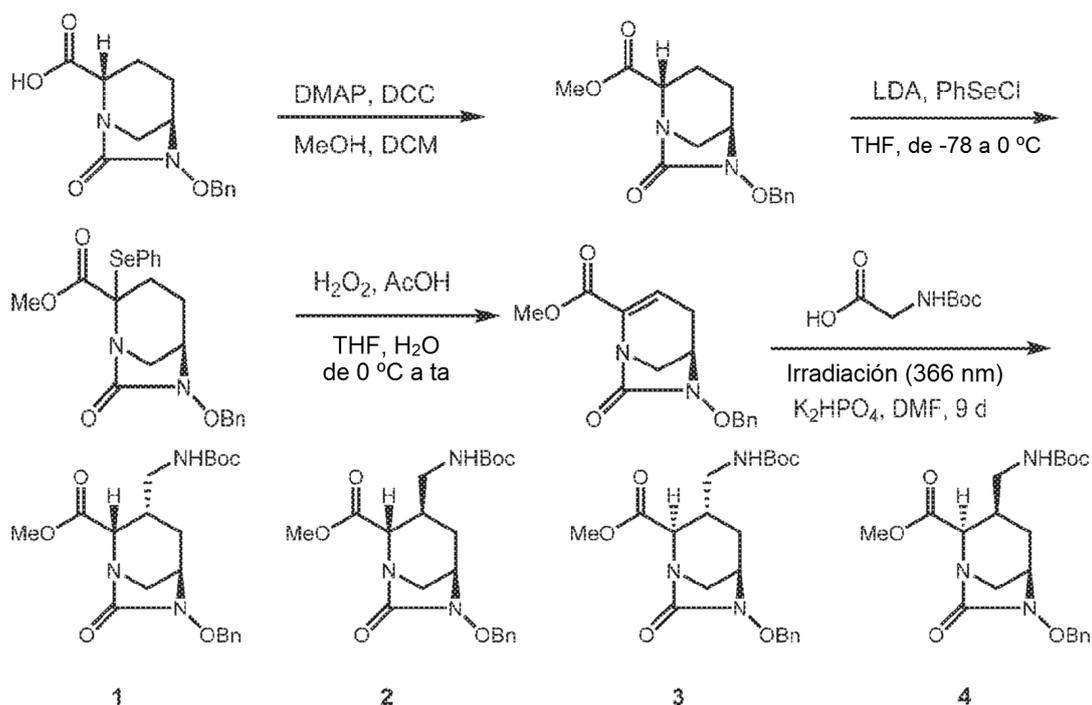
35 Si bien es posible que un compuesto de la presente invención se administre solo, Es preferible administrar el compuesto como una composición farmacéutica.

Los compuestos como se definen en las realizaciones pueden sintetizarse por las vías sintéticas generales que se presentan a continuación, cuyos ejemplos específicos se describen con más detalle en los Ejemplos.

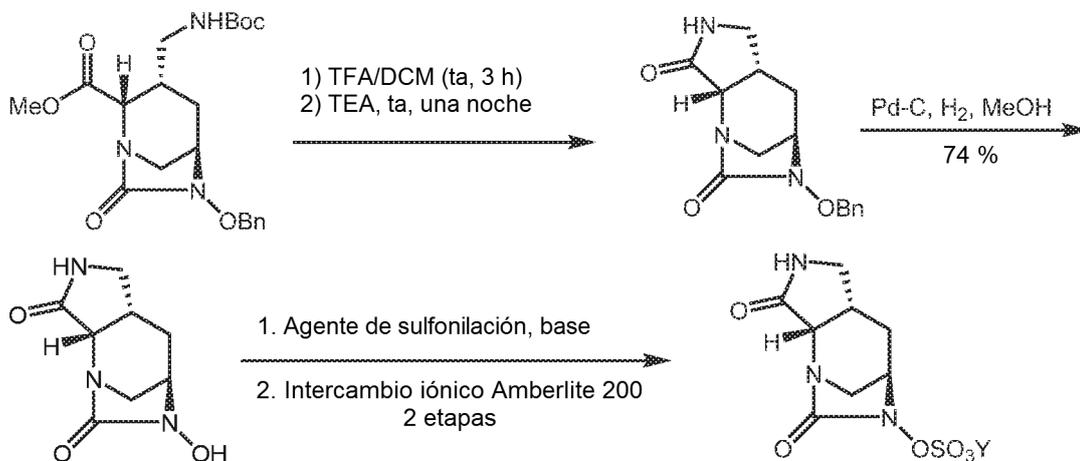
40 *Esquemas sintéticos generales*

45 Un método para sintetizar compuestos de Fórmula (I) se representa en los siguientes esquemas de reacción. El Esquema A ilustra la funcionalización de un esqueleto de diazabicyclooctano conocido en forma protegida para introducir un grupo aminoalquilo, como se describe en los ejemplos funcionales. El Esquema B ilustra la formación del anillo de lactama condensado, que también se ilustra mediante los Ejemplos. El Esquema C ilustra cómo podría N-alquilarse fácilmente la lactama para introducir un grupo alquilo opcionalmente sustituido.

50 **Esquema A**



Esquema B



Los ejemplos de agentes de sulfonilación incluyen, pero sin limitación, complejo de trióxido de azufre piridina, y similares.

10 Los ejemplos de bases incluyen, pero sin limitación, piridina y similares.

Ejemplos

15 La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no se deben considerarse limitantes. Se aceptan los ensayos usados a lo largo de los Ejemplos. La demostración de la eficacia en estos ensayos es predictiva de la eficacia en los sujetos.

Condiciones generales

20 Los espectros de masas se adquirieron en sistemas CL-EM, SFC-EM o CG-EM usando métodos de electronebulización, químicos e ionización por impacto de electrones desde una variedad de instrumentos con las siguientes configuraciones: Sistema Waters ACQUITY UPLC y equipado con un sistema de EM ZQ 2000 o SQD donde (M+1) se refiere al ion molecular protonado de la especie química, (M+) se refiere al catión de amonio cuaternario no protonado y (M-1) se refiere al ion molecular desprotonado de la especie química.

ES 2 801 874 T3

Los espectros de RMN se ejecutaron en espectrómetros de RMN Bruker BioSpin 600 MHz, Bruker AVANCE 500 MHz o Varian 400 MHz usando ICON-RMN, bajo el control del programa TopSpin. Los espectros se midieron a 298K, a menos que se indique otra cosa, y se hace referencia a ellos con respecto a la resonancia del disolvente.

5

Instrumentación

Métodos de EM:

Método 2m_acidic:

Columna Kinetex C18 50 x 2,1 mm, 2,6 μ m
Temperatura de la Columna 50 °C
Eluyentes A: H₂O, B: acetonitrilo, conteniendo ambos un 0,1 % de TFA
Caudal 1,2 ml/min
Gradiente del 2 % al 88 % de B en 1,30 min, 0,15 min 95 % de B

Método 2m_acidic_polar:

Columna Kinetex C18 50 x 2,1 mm, 2,6 μ m
Temperatura de la Columna 50 °C
Eluyentes A: H₂O, B: acetonitrilo, conteniendo ambos un 0,1 % de TFA
Caudal 1,2 ml/min
Gradiente del 1 % al 30 % de B en 1,30 min, 0,15 min 98 % de B

Método T3_3m_polar:

Columna T3 C18 50 x 2,1 mm, 2,6 μ m
Temperatura de la Columna 50 °C
Eluyentes A: H₂O, B: acetonitrilo, conteniendo ambos un 0,1 % de TFA
Caudal 1,2 ml/min
Gradiente 100 % de A durante 1,1 min, 30 % de B en 1,20 min, 95 % de B en 0,7 min

Método LCMS_2 MIN_REACTION_MONITORING:

Columna Acquity UPLC HSS T3 50 x 2,1 mm, 1,8 μ m
Temperatura de la Columna 60 °C
Eluyentes A: H₂O, B: acetonitrilo, conteniendo ambos un 0,05 % de TFA
Caudal 1,0 ml/min
Gradiente del 5 % al 98 % de B en 1,4 min
detección UV TAC (210-450 nm)

Método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS:

Columna Acquity UPLC HSS T3 50 x 2,1 mm, 1,8 μ m
Temperatura de la Columna 60 °C
Eluyentes A: H₂O (0,05 % de FA+AA 3,75 mM, B: acetonitrilo (0,04 % de FA)
Caudal 1,0 ml/min
Gradiente del 5 % al 98 % de B en 1,4 min
detección UV TAC (210-450 nm)

ES 2 801 874 T3

Método LCMS_2_MIN_Polar:

Columna	Acquity UPLC HSS T3 50 x 2,1 mm, 1,8 µm
Temperatura de la Columna	60 °C
Eluyentes	A: H ₂ O (0,05 % de FA+AA 3,75 mM), B: acetonitrilo (0,04 % de FA)
Caudal	1,0 ml/min
Gradiente	cóncavo del 1 % al 98 % de B en 1,4 min
detección UV	TAC (210-450 nm)

Método HPLC_CHIRAL:

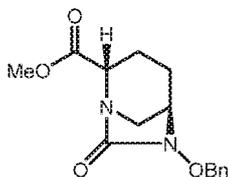
Columna	Chiralpak IC KK025 250 x 4,6 mm, 5 µm
Temperatura de la Columna	ta
Eluyentes	heptano/EtOH/dietilamina 92:8:0,05
Caudal	1,0 ml/min
detección UV	220 nm

Abreviaturas:

AA	acetato amónico
ACN	acetonitrilo
app	aparente
ATP	5'-trifosfato adenosina
BINAP	2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo racémico
Boc	butil carboxi terciario
a	ancho
s a	singlete ancho
BSA	albúmina sérica bovina
d	doblete
dd	doblete de dobletes
DCC	diciclohexilcarbodiimida
DCE	1,2-dicloroetano
DCM	diclorometano
DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
DIPEA	diisopropiletilamina
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimetilamino)piridina
DME	1,4-dimetoxietano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDTA	ácido etilendiamino tetraacético
IEN	ionización por electronebulización
EtOAc	acetato de etilo
FA	ácido fórmico
g	gramo
h	hora u horas
HATU	Hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]piridinio
HBTU	(1-) 3-óxido de hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1 <i>H</i> -benzotriazolio
HCl	ácido clorhídrico
HOBT	1-hidroxibenzotriazol
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
CLEM	cromatografía líquida y espectrometría de masas
LDA	diisopropilamida de litio
MeOH	metanol
EM	espectrometría de masas
m	multiplete
mg	miligramo

CMI	concentración inhibitoria mínima o de mínimos
min	minutos
ml	mililitro
mmol	milimol
m/z	relación masa a carga
RMN	resonancia magnética nuclear
o/n	durante una noche
p	pentuplete
PdCl ₂ (dppf)-CH ₂ Cl ₂	Complejo de diclorometano dicloruro de 1,1'-Bis(difenilfosfina)ferrocen-paladio II)
ppm	partes por millón
PyBOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio
c	cuadruplete
rac	racémico
mfr	matraz de fondo redondo
ta	temperatura ambiente
T _r	tiempo de retención
s	singlete
t	triplete
TBME	metil <i>tert</i> -butil éter
TFA	ácido trifluoroacético
TFAA	anhídrido del ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
Tris·HCl	clorhidrato de aminotris(hidroximetil)metano

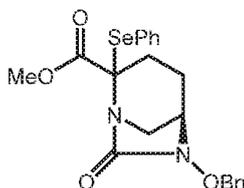
Preparación de Intermedios



5

Intermedio A: (2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo. A una solución de ácido (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxílico (5,0 g, 18,1 mmol), MeOH (880 µl, 21,7 mmol) y DMAP (44 mg, 0,36 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C se añadió DCC (3,92 g, 19,0 mmol). Después de 2 h a ta, se diluyó con DCM y se lavó con agua y después salmuera. Las capas acuosas se extrajeron con DCM (2 x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, después se concentraron al vacío. El residuo en bruto se trituró con éter dietílico, se filtró y se concentró al vacío. El filtrado en bruto se purificó por cromatografía de gel de sílice para proporcionar el compuesto del título (4,3 g, 82 %). T_r de CLEM = 0,87 min, m/z = 291,3 (M+1), Método 2 MIN_REACTION_MONITORING.

10



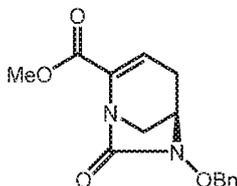
15

Intermedio B: (5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-2-(fenilselenil)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo. A una solución de diisopropilamina (29,6 ml, 210 mmol) en THF (800 ml) a -70 °C se añadió gota a gota n-butilitio (1,6 M en hexanos, 108 ml, 172 mmol) durante 10 minutos. Después de agitar durante 50 minutos a -73 °C, se añadió gota a gota una solución de (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo (43,5 g, 150 mmol) en THF (350 ml) durante 45 minutos. Después de agitar a -78 °C durante 1,5 horas, se añadió gota a gota cloruro de fenilselenilo (57,4 g, 300 mmol) en THF (260 ml) durante 45 minutos. Después de agitar a -78 °C durante 45 min, se dejó calentar a -10 °C durante 60 minutos y se agitó durante una hora más, momento en el que se enfrió a -30 °C y se inactivó con HCl (2 M, 50 ml), seguido de la adición de metanol (250 ml). Se dejó que la mezcla alcanzara ta durante 15 min, después se diluyó con TBME (1 l) y se lavó con salmuera:agua (2:1, 2 l). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera (2 l). Las capas acuosas se extrajeron con TBME (2 x 500 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (23,70 g, 36 %, mezcla 3:1 de diastereómeros) en forma de un aceite de color pardo. T_r de CLEM = 1,12/1,16 min, m/z = 447,3 (M+1), Método 2

25

MIN_REACTION_MONITORING; RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, diastereómero principal) δ 7,59 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,42-7,30 (m, 8H), 5,00 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 4,88 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 4,15 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,35 (s, 1H), 3,18 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 2,44 (ddd, *J* = 17,4, 11,8, 6,6 Hz, 1H), 2,07-2,01 (m, 1H), 1,91 (dd, *J* = 16,6, 5,8 Hz, 1H), 1,72 (td, *J* = 12,9, 6,0 Hz, 1H).

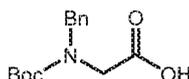
5



Intermedio C: (5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-eno-2-carboxilato de metilo. A una solución del Intermedio B en THF:agua (20:1, 22 ml) a 0 °C se añadió H₂O₂ (ac al 30 %, 0,8 ml, 7,83 mmol) y AcOH (0,55 ml, 9,61 mmol). Después de agitar durante 1 hora a 0 °C, se diluyó con EtOAc y se añadió sulfito potásico (ac. al 5 %). Tras la destrucción de todos los peróxidos (KJ-stärke-test), las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera. Las capas acuosas se extrajeron con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ (ac. al 5 %), salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para proporcionar el compuesto del título (419 mg, 81 %). CLEM: *T_r* = 0,88 min, *m/z* = 288,1 (M+1), Método 2_MIN_FINAL_ANALYSIS. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ 7,45-7,41 (m, 2H), 7,40-7,33 (m, 3H), 6,88-6,86 (m, 1H), 4,89 (s, 2H), 3,96 (s a, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,35-3,28 (m, 1H), 2,82 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,58-2,52 (m, 1H), 2,38 (s, 1H), 2,34 (s, 1H).

10

15

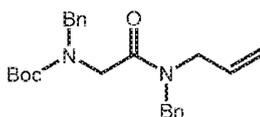


20

Intermedio D: N-bencil-N-(terc-butoxicarbonil)glicina. A una suspensión de N-bencilglicina (24,3 g, 147 mmol) en THF:agua (1:1, 500 ml) se añadió Boc-anhídrido (33,7 g, 154 mmol). Después de 6,5 h, la mezcla se diluyó con TBME (250 ml) y se añadió ácido cítrico (33 g) hasta pH = 4. Después de 10 min de agitación, las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera (250 ml). La capa acuosa se lavó con TBME (2 x 100 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y después se concentraron al vacío (45 °C), proporcionando el compuesto del título (40,70 g) en forma de un aceite incoloro, que comenzó a cristalizar después de un periodo de reposo. HPLC: 99,7 % por UV, CLEM: *T_r* = 0,94 min, *m/z* = 264,3 (M-H), Método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ 12,62 (s a, 1H), 7,44-7,09 (m, 5H), 4,41 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 1,44-1,24 (m, 9H), 3,89-3,67 (m, 2H). *Como una mezcla con O(Boc)₂ (aprox. 9 %).

25

30

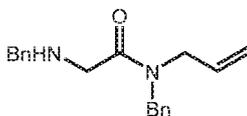


Intermedio E: (2-(Alil(bencil)amino)-2-oxoetil)(bencil)carbamato de terc-butilo. Un matraz de reacción de 4 bocas y 1500 ml con un agitador mecánico, un termómetro interno, un condensador y una entrada de nitrógeno se cargó con el intermedio D (31,6 g, 107 mmol), seguido de EtOAc (500 ml). La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo (4 °C), seguido de la adición de N-alilbencilamina (16,44 g, 107 mmol) y anhídrido propilfosfónico (T3P, 136 g, 214 mmol, 50 % en acetato de etilo). A la mezcla se le añadió gota a gota trietilamina (90 ml, 643 mmol), durante 5 min. La solución de color pardo se agitó durante 20 min a ta, después se vertió en una mezcla agitada de agua helada (500 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó sucesivamente con HCl (0,5 N, 500 ml), NaHCO₃ saturado (500 ml) y salmuera (500 ml). La capa acuosa inicial se extrajo con EtOAc (2 x 250 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío a (45 °C), proporcionando el compuesto del título (43,94 g) en forma de un aceite de color pardo. CLEM: *T_r* = 1,31 min, *m/z* = 395,5 (M+1), método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,53-6,99 (m, 10H), 5,94-5,55 (m, 1H), 5,24-4,97 (m, 2H), 4,55-4,25 (m, 4H), 4,16-3,68 (m, 4H), 1,42-1,28 (m, 9H).

35

40

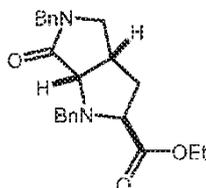
45



Intermedio F: N-alil-N-bencil-2-(bencilamino)acetamida. Un matraz de reacción de 4 bocas y 750 ml equipado con un agitador mecánico, un termómetro interno, un condensador y una entrada de nitrógeno se cargó con el intermedio E (43,9 g, 108 mmol) en DCM (400 ml). A la solución se añadió TFA (83 ml, 1,079 mol). Después de agitar durante una noche, la solución de color amarillo se vertió lentamente (desprendimiento rápido de gas) en una mezcla agitada de solución saturada de NaHCO₃ (ac., 1,5 l) y hielo (1 kg). Después de 10 min de agitación, las fases se separaron y la

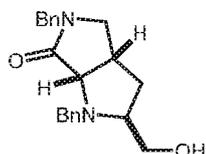
50

fase orgánica se lavó con NaHCO₃ semisaturado (ac., 0,5 l), después salmuera (0,5 l). La capa acuosa se extrajo con DCM (0,5 l) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío (45 °C) para proporcionar el compuesto del título (31,30 g) en forma de un aceite de color pardo. CLEM: T_r = 0,71 min, m/z = 295,3 (M+1), método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,49-7,04 (m, 10H), 5,90-5,55 (m, 1H), 5,19-4,92 (m, 2H), 4,64-4,37 (m, 2H), 3,98-3,76 (m, 2H), 3,73-3,61 (m, 2H), 3,44-3,32 (m, 2H), 2,44-2,28 (m, 1H).



10 **Intermedio G:** *rac (2S*,3aS*,6aS*)-1,5-dibencil-6-oxooctahidropirrol[3,4-b]pirrol-2-carboxilato de etilo*. En un reactor CR60 de Buechi de 60 l inertizado con nitrógeno equipado con un termostato Huber de 390 W, Flexy ALR con temperatura automatizada, un control de dosis y una entrada de nitrógeno se añadieron una solución del intermedio F (1,460 kg, 4,81 mol) en tolueno (20 l), sulfato de magnesio (2,32 kg, 19,24 mol) y trietilamina (0,872 l, 6,25 mol). La suspensión de color amarillo pálido se calentó a reflujo en 1 hora. A la mezcla a reflujo se añadió glicoxilato de etilo (50 % en tolueno, 1,179 kg, 5,77 mol) durante 15 h mediante una bomba de dosificación. Después de agitar durante 6 h más a reflujo, la suspensión de color amarillo se enfrió a 15 °C (temp. interna), tras lo cual se añadió agua (20 l) (exotérmica). Después de agitar durante 15 min, la mezcla se transfirió a un recipiente de separación de 80 l y las fases se separaron. La capa orgánica se extrajo sucesivamente con agua (15 l), después salmuera (15 l). La capa acuosa se lavó con TBME (2 x 10 l). El segundo lavado de TBME se filtró a través de celite (contenía material insoluble), eluyendo con TBME. Las fases orgánicas combinadas se concentraron parcialmente al vacío (45 °C) hasta un volumen de 6 l, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío (50 °C). Este material se secó adicionalmente durante una noche (50 °C, 10 mbar) para proporcionar el compuesto del título (1,970 kg) en forma de un aceite de color pardo que era una mezcla 5,2:1 de diastereómeros. CLEM: T_r = 1,21 min (67,1 % de a) m/z = 379,3 (M+1); (12,9 % de a) a T_R = 1,16 min, m/z = 379,3 (M+1), método LCMS 2 MIN FINAL ANALYSIS.

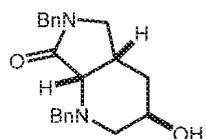
25



30 **Intermedio H:** *rac (2S*,3aS*,6aS*)-1,5-dibencil-2-(hidroximetil)-hexahidropirrol[3,4-b]pirrol-6(1H)-ona*. A una solución del intermedio G (1,967 kg, 5,847 mol) en THF (20 l) a 0 °C en un reactor CR30 Büchi de 30 l inertizado con nitrógeno equipado con un termostato Huber de 1015 W, Flexy ALR, un control de temperatura automatizado y una entrada de nitrógeno se añadió en porciones borohidruro de litio (0,238 kg, 10,39 mol) durante 10 min (ligera exotermia). Después de 5 días a ta, se introdujo más cantidad de borohidruro de litio (0,025 kg, 1,143 mol). Después de 5 días más a ta, se añadió borohidruro de litio (0,017 kg, 0,780 mol). Después de 6 días más, la mezcla se enfrió a -10 °C, tras lo cual se añadió gota a gota HCl (2 N, 8 l) mediante una bomba de dosificación durante 2 h, dando como resultado un pH = 3 (precaución: ¡gas muy fuerte y formación de espuma!). Después de agitación vigorosa, se formó una suspensión de color amarillo, que se agitó durante 30 min a 0 °C. Se añadió NaHCO₃ saturado (ac., 10 l) y la mezcla se transfirió a un recipiente de separación de 80 l y se extrajo con TBME (20 l) después de la adición de agua (8 l), que ayudó en la fase de separación. La fase orgánica se lavó con salmuera (2x10 l) y la capa acuosa se extrajo con TBME (2x7 l). Las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío (45 °C) hasta un volumen de 8 l, después se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío (50 °C). El residuo se disolvió en tolueno (3 l), se concentró al vacío y se secó durante 3 h (50 °C, 10 mbar) para proporcionar el compuesto del título (1,630 kg) en forma de un aceite de color amarillo-pardo, que era una mezcla 10,5:1 de diastereómeros. CLEM: T_r = 0,77 min*, m/z = 337,3 (M+1), método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. * Diastereómero principal.

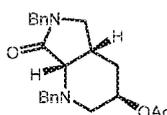
40

45

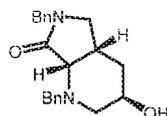


50 **Intermedio I:** *rac (3R*,4aS*,7aS*)-1,6-dibencil-3-hidroxiocetahidro-7H-pirrol[3,4-b]piridin-7-ona*. A una suspensión del intermedio H (1,627 kg, 4,836 mol), tamices moleculares (4 Å, 2,5 kg) y THF (23 l) en un reactor *Amsi Glas* de camisa triple de 30 l inertizado con nitrógeno, equipado con un control de temperatura automatizado, Unistat 390 W, un condensador de reflujo y una entrada de nitrógeno a -5 °C se añadió gota a gota TFAA (0,820 l, 5,81 mol), durante 35 min. Después de agitar durante 15 min a 0 °C, se añadió trietilamina (3,37 l, 24,18 mol) durante 10 min, tras lo cual se calentó a reflujo (temperatura interna 68 °C) durante 6 días, alcanzando una proporción de equilibrio de producto

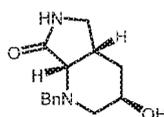
con respecto a material de partida de 9:1. La mezcla se transfirió en un recipiente de separación de 80 l que contenía NaOH enfriado con hielo (1 M, 24 l) y se agitó durante 15 min. A la suspensión de color pardo se añadió Celite (3 kg), donde se agitó durante 15 min, después se filtró sobre una capa de celite, lavando con TBME. El filtrado se extrajo con TBME (20 l). La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado (ac, 10 l), después salmuera (1 x 15 l). Las capas acuosas se extrajeron con TBME (2 x 7 l) y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío (45 °C) hasta un volumen de 8 l y se secaron sobre Na₂SO₄ (2 kg). La suspensión se filtró sobre gel de sílice (1 kg, 40-63 µm), lavando con EtOAc (4 x 2 l). El eluyente se concentró al vacío (45 °C) y se secó durante 3 h (50 °C, 15 mbar) para proporcionar el compuesto del título (1,366 kg) en forma de un aceite de color pardo oscuro. CLEM: T_r = 0,84 min, m/z = 337,3 (M+1), método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ 7,40-7,15 (m, 10H), 4,69-4,57 (m, 1H), 4,65-4,56 (m, 1H), 4,43 (d, J = 13,8 Hz, 1H), 4,29-4,21 (m, 1H), 3,62-3,49 (m, 1H), 3,46-3,39 (m, 1H), 3,18 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 2,86 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 2,70 (dd, J = 10,7, 2,7 Hz, 1H), 2,66-2,56 (m, 1H), 1,83-1,67 (m, 2H), 1,39-1,29 (m, 1H).



Intermedio J: Acetato de (3R,4aS,7aS)-1,6-dibencil-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]-piridin-3-ilo. Una suspensión del intermedio I (1,364 kg, 3,04 mol), acetato de vinilo (4,20 l, 45,6 mol), Lipasa QLM (Alcaligenes sp de Meito Sangyo, actividad: 101400 U/g, 25 g, 3,04 mol) y TBME (21 l) en un reactor de triple camisa de 30 l inertizado con nitrógeno con un control de temperatura automatizado, Unistat 390 W, un condensador y una entrada de nitrógeno se agitó a 30 °C (temp. interna) durante 6 días. La mezcla se enfrió a 20 °C y se filtró sobre Hyflo (500 g). El filtrado se concentró al vacío (35 °C) hasta un volumen de 3 l, tras lo cual se añadió tolueno (1 l), después se concentró adicionalmente al vacío (35 °C después a 50 °C). El producto en bruto se disolvió en TBME:heptano (2:1, 3 l) y se purificó en varias porciones por cromatografía sobre gel de sílice (heptano-EtOAc-metanol), proporcionando el compuesto del título (626 g) en forma de un aceite de color pardo. CLEM: T_r = 1,16 min, m/z = 379,3 (M+1), Método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. HPLC: T_r = 33,45 min, 98,2 % ee (enantiómero menor: T_r = 23,92 min) método HPLC_CHIRAL. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,41-7,22 (m, 10H), 4,74-4,65 (m, 1H), 4,56-4,51 (m, 1H), 4,36-4,26 (m, 2H), 3,75 (d, J = 14,3 Hz, 1H), 3,30-3,21 (m, 2H), 3,00 (dd, J = 9,5, 5,9 Hz, 1H), 2,75-2,68 (m, 1H), 2,62 (sext., J = 6,2 Hz, 1H), 2,23 (dd, J = 11,6, 7,2 Hz, 1H), 1,97 (s, 3H), 1,66 (t, J = 6,05 Hz, 2H).

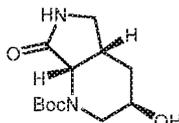


Intermedio K: (3R,4aS,7aS)-1,6-dibencil-3-hidroxiocetahidro-7H-pirrol[3,4-b]piridin-7-ona. Una mezcla del intermedio J (616 g, 1221 mmol), THF (4 l) y NaOH (2 N, 3,97 l, 7,94 mol) en un matraz de fondo redondo de 20 l de un Rotavapor Büchi se agitó vigorosamente durante 18 h a 25 °C y 6 h a 40 °C, tras lo cual se enfrió a 25 °C, seguido de la adición de MeOH (2 l) y se agitó durante una noche. La mezcla se extrajo con TBME (6 l) y la fase orgánica se lavó con salmuera (4 l). La capa acuosa se extrajo con TBME (3 x 3 l) y las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío (45 °C) hasta un volumen de 5 l, después se secó sobre sulfato sódico anhidro (1 kg), se filtró y se concentró al vacío (45 °C). El residuo se disolvió en tolueno (3 l) y se concentró de nuevo, después se secó durante 2 h (60 °C, 20 mbar), proporcionando el compuesto del título (555 g) en forma de un aceite de color pardo. CLEM: T_r = 0,84 min, m/z = 337,3 (M+1), Método LCMS_2_MIN_FINAL_ANALYSIS. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ 7,58-7,04 (m, 10H), 4,66-4,5 (m, 2H), 4,43 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 4,25 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 3,54 (ct, J = 9,3, 4,5 Hz, 1H), 3,47-3,39 (m, 1H), 3,18 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 2,85 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 2,70 (dd, J = 11,0, 2,8 Hz, 1H), 2,64-2,57 (m, 1H), 1,78-1,67 (m, 2H), 1,27 - 1,39 (m, 1H).

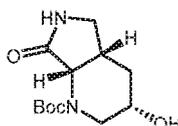


Intermedio L: (3R,4aS,7aS)-1-bencil-3-hidroxiocetahidro-7H-pirrol[3,4-b]piridin-7-ona. En un reactor CR30 de Büchi de 30 l equipado con un termostato Huber 1015, un Flexy ALR con control de temperatura automatizado, un entada de argón y una de amoniaco se inertizó con argón, se preenfrió a -80 °C, se cargó con amoniaco líquido (anhidro, 10,0 kg, 587 mol), con la salida unida a una torre de lavado de gases cargada con ácido sulfúrico (30 %, 100 l), se añadió una solución del intermedio K (543 g, 1,614 mol) en THF (1,5 l), seguido de etanol (anhidro, 236 ml, 4,04 mol). A la solución resultante se añadió en porciones litio (granular, 44,8 g, 6,46 mol), durante 15 min (la temp. se elevó de -72 °C a -63 °C). A la mezcla de color gris, después de 1 h, se añadió litio (22,4 g, 3,23 mol) y etanol (anhidro, 94 ml, 1,616 mol) mientras se mantenía la agitación a -60 °C. Después de 1 h, se añadieron más cantidad de litio (11,2 g, 1,615 mol) y etanol (anhidro, 47 ml, 0,808 mol). Después de 45 min más, se añadió litio (11,2 g, 1,615 mol). Después de 15 h, se añadió etanol (anhidro, 94 ml, 1,616 mol) a la mezcla de color azul intenso. La

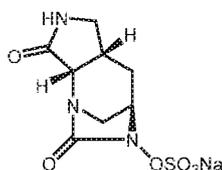
agitación se continuó hasta que quedada <5 % de material de partida y se inactivó mediante la adición en porciones de cloruro de amonio (2,0 kg, 37,4 mol) durante 10 min. La mezcla de reacción se agitó durante 17 h a -28 °C y ~2 h a 2 °C, dando como resultado la evaporación completa del amoniaco. A la mezcla se le añadió agua (15 l) y TBME (8 l), seguido de HCl (32 %) hasta que se obtuvo pH = 9-10. Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera (5 l). La capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 2 l) y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío a 45 °C hasta un volumen de 3 l, después se secaron sobre Na₂SO₄ (1 kg), se filtraron y se concentraron al vacío (45 °C después 2 h a 65 °C, 20 mbar), proporcionando el compuesto del título (373 g) en forma de un aceite de color pardo. CLEM: T_r = 0,75, m/z = 247,2 (M+H), Método LCMS_2_MIN_POLAR. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ 7,78 (s, 1H), 7,34-7,24 (m, 4H), 7,27-7,16 (m, 1H), 4,65-4,60 (m, 1H), 4,32 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 3,64-3,54 (m, 1H), 3,44 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 3,13 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 2,69 (dd, J = 10,82, 2,75 Hz, 1H), 2,66-2,62 (m, 1H), 2,60-2,54 (m, 1H), 1,80-1,69 (m, 2H), 1,41-1,30 (m, 1H).



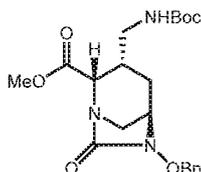
15 *Intermedio M: (3R,4aS,7aS)-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrolo-[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo.* A una solución del intermedio L (372,0 g, 1,51 mol) y Boc-anhidrido (346 g, 1,59 mol) en THF (4,0 l) se añadió Pd al 10 %/C (15 g). La mezcla se agitó en un dispositivo sacudidor a 22-25 °C y una presión de 0,1 bar de H₂ durante 89 h. Después de una absorción de hidrógeno del 57 %, se añadió otra porción de Pd al 10 %-C (15 g). La mezcla se filtró sobre Celite, se lavó con THF y se concentró al vacío para obtener un producto en bruto (545 g) en forma de un sólido de color pardo pálido. El residuo se suspendió en EtOAc (1 l) y se agitó durante 1 hora a 75 °C. A la suspensión se añadió lentamente heptano (1,5 l) a 75 °C. Después de agitar durante 2 h a ta, el producto se recogió por filtración, el sólido se lavó con heptano, después se secó al vacío (45 °C), proporcionando el compuesto del título (278,5 g) en forma de cristales de color blanco. CLEM: T_r = 0,86 min, m/z = 257,3 (M+1), Método LCMS_2_MIN_POLAR. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ 7,83-7,65 (m, 1H), 4,80-4,49 (m, 2H), 3,93-3,67 (m, 2H), 3,43-3,37 (m, 1H), 2,72 (d a, J = 9,5 Hz, 1H), 2,60 (d a, J = 12,5 Hz, 1H), 2,48-2,39 (m, 1H), 1,82-1,70 (m, 1H), 1,40 (d a, J = 6,8 Hz, 9H), 1,36-1,27 (m, 1H).



30 *Intermedio N: (3S,4aS,7aS)-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrolo-[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo.* A una solución del intermedio M (270 g, 948 mmol) en THF (13 l) contenida en un reactor de triple camisa de 20 l inertizado con nitrógeno (Amsi Glas) con un control de temperatura inertizado, Unistat 390 W, un condensador y una entrada de nitrógeno t -5 °C (temp. interna) se añadió ácido 4-nitrobenzoico (323 g, 1,90 mol) y trifetilfosfina (524 g, 1,90 mol). A la solución resultante se añadió gota a gota una solución de DIAD (359 ml, 1,85 mol) en THF (1,3 l), durante 30 min mientras se mantenía la temperatura interna a entre -4 y -10 °C. La mezcla se dejó calentar a ta y se agitó durante una noche, después se concentró al vacío (45 °C) para proporcionar un material en bruto (1,64 kg, húmedo) en forma de un aceite de color pardo. A una solución de residuo oleoso en MeOH (15 l) se añadió K₂CO₃ (393 g, 2,844 mol). Después de 1 h de agitación, la suspensión se concentró al vacío (40 °C), proporcionando un sólido de color naranja al que se añadió DCM (6 l). Después de 30 min, la suspensión se filtró, lavando con DCM, y el filtrado se concentró al vacío (45 °C). El residuo se suspendió en DCM:MeOH (97:3, 4 l) y se agitó durante 30 min a ta. La suspensión se filtró, lavando con DCM, y el filtrado se concentró al vacío (45 °C) hasta un volumen de 3 l y se purificó en dos porciones por cromatografía sobre gel de sílice, proporcionando el producto (189 g) en forma de un sólido. A este material disuelto en DCM:MeOH (95:5, 5 l) a 45 °C se añadió lentamente heptano (5 l). La solución se concentró parcialmente (45 °C), retirando un poco de DCM, causando que el producto cristalizara después de 15 min. Después de 1 h a ta, el sólido se recogió por filtración, se lavó con heptano y se secó al vacío (45 °C) hasta que se obtuvo un peso constante, proporcionando el compuesto del título (167,7 g) en forma de cristales. CLEM: T_r = 0,95 min, m/z = 257,3 (M+1), Método LCMS_2_MIN_POLAR. RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆)* δ 7,80 (d, J = 20,2 Hz, 1H), 4,97 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,57 (dd, J = 92,2, 7,0 Hz, 1H), 3,89 (ddd, J = 18,8, 9,3, 6,5 Hz, 1H), 3,33-3,23 (m, 1H), 2,75 (ddd, J = 9,7, 4,6, 2,0 Hz, 1H), 2,43 (ddt, J = 16,9, 11,8, 6,1 Hz, 1H), 2,08 (ddd, J = 86,6, 12,5, 10,7 Hz, 1H), 1,94 (dd, J = 12,2, 5,5 Hz, 1H), 1,39 (d, J = 22,6 Hz, 9H), 1,04 (dc, J = 15,2, 12,0 Hz, 1H). *Indicado como rotámeros observados.

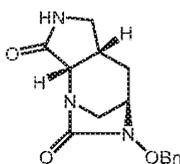


Ejemplo 1. (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico.

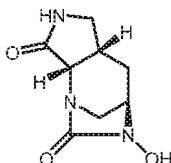


5 **Etapa 1:** (2S,3S,5R)-6-(Benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)amino)-metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo. El Intermedio C (0,82 g, 2,84 mmol), Boc-Gly-OH (1,00 g, 5,69 mmol) e Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 mg, 0,028 mmol) se disolvieron en DMF (20 ml). A la solución se añadió fosfato potásico dibásico finamente molido (0,59 g, 3,41 mmol) y la suspensión resultante se irradió en una atmósfera de argón (globo) en un embudo de goteo de 500 ml (cerrado con un matraz de fondo redondo en la parte inferior y un septo en la superior) durante 7 días con un tubo de fluorescencia UVA de 8 W. El matraz se puso horizontalmente en la parte superior de la lámpara (refrigerada por aire) para asegurar una irradiación máxima. Después de 4 días, se añadió Ir[df(CF₃)ppy₂(dtbpy)]PF₆ (32 mg, 0,028 mmol).

15 A la mezcla se añadieron agua (100 ml), después NaHCO₃ saturado (ac., 100 ml) y se extrajo con TBME (4 x 80 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con NaHCO₃ saturado (ac., 50 ml), agua (50 ml), después salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 15-100 %) para proporcionar el compuesto del título (108 mg, 9 %) en forma de un aceite. CLEM: T_r = 1,04 min, Método 2m_acidic.

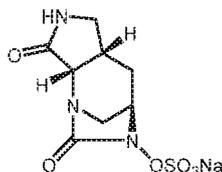


20 **Etapa 2:** (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. A una solución de (2S,3S,5R)-6-(benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)amino)-metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo (108 mg, 0,26 mmol) en DCM (3 ml) a ta se añadió gota a gota TFA (1,0 ml, 13 mmol). Se dejó en agitación a ta durante 3 h, tras lo cual se concentró al vacío. El residuo en bruto se disolvió en DCM (3 ml), se enfrió a 0 °C y se añadió trietilamina (0,31 ml, 2,3 mmol). Después de 1 h más, se añadieron trietilamina (0,11 ml, 0,75 mmol) y DCM (5 ml). El baño de hielo se retiró y la mezcla de reacción se agitó a ta durante una noche (o/n), tras lo cual se lavó con ácido cítrico (10 ml, aprox. 20 % ac.). La fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 8 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (5 ml) y salmuera (2 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (DCM-MeOH, 2-7 %) para proporcionar el compuesto del título (47 mg, 61 %) en forma de un sólido de color beige. CLEM: T_r = 0,61 min, m/z = 288 (M+1), Método 2m_acidic.



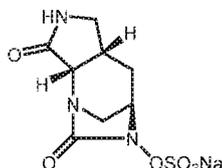
35 **Etapa 3:** (4R,5aS,8aS)-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. Una suspensión de (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (80 mg, 0,278 mmol) y Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 34 mg) en MeOH (1,8 ml) se evacuó y se cargó de nuevo con H₂ (3 x). Después de 2,5 h, se filtró a través de un lecho de Celite, se lavó con MeOH y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título (40 mg, 74 %). CLEM: T_r = 0,13 min, m/z = 198,1 (M+1), Método 2m_acidic.

40

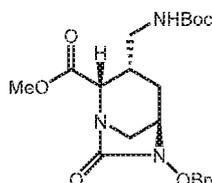


45 **Etapa 4:** (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico. A una suspensión de (4R,5aS,8aS)-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona en bruto (40,7 mg, 0,206 mmol) en piridina (2 ml) a 0 °C se añadió complejo de SO₃·Py (335 mg, 2,064 mmol). Después de 19 h de agitación vigorosa, la suspensión se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se disolvió en THF:agua

(1:1, 6 ml) y se añadió resina de intercambio de Na Amberlite 200 (1,5 g). La suspensión se agitó durante 2 h, tras lo cual se filtró, se concentró parcialmente al vacío, se congelaron y se liofilizaron. El sólido resultante se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (agua-acetonitrilo, 2-5 %), proporcionando el compuesto del título (12,3 mg, 16 %, en 2 etapas) en forma de un sólido amorfo. CLEM: $T_r = 0,25$ min, $m/z = 278,0$ (M+1). Método T3_3m_polar; RMN ^1H (500 MHz, D_2O) δ 4,24-4,18 (m, 2H), 3,52 (dd, $J = 10,7, 6,2$ Hz, 1H), 3,33 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 3,10 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 2,95 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 2,81 (p, $J = 8,5$ Hz, 1H), 2,54-2,46 (m, 1H), 1,65 (dd, $J = 14,7, 9,2$ Hz, 1H).

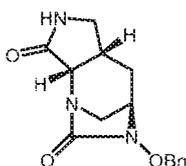


10 **Ejemplo 1. Procedimiento alternativo. (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico.**



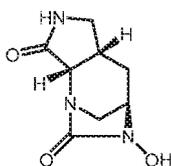
15 **Etapa 1: 6-(Benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo.** Una mezcla agitada del Intermedio C (3 g, 10,41 mmol), ácido 2-((terc-butoxicarbonil)amino)acético (2,55 g, 14,57 mmol), $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbpy})\text{PF}_6$ (0,117 g, 0,104 mmol) y fosfato potásico dibásico (2,72 g, 15,61 mmol) en DMF (30,6 ml) se desgasificó mediante un rociado con N_2 durante 15 min y se irradió con un LED azul Kessil H150 (enfriamiento con ventilador), en una atmósfera de N_2 durante 92 h. Se añadieron ácido 2-((terc-butoxicarbonil)amino)acético (2,55 g, 14,57 mmol), fosfato potásico dibásico (2,72 g, 15,61 mmol) e $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}]_2(\text{dtbpy})\text{PF}_6$ (0,117 g, 0,104 mmol) y la mezcla se irradió con un LED azul Kessil H150 (enfriamiento con ventilador), en una atmósfera de N_2 durante 20 h más. La mezcla se diluyó con NaHCO_3 saturado (ac.) y se extrajo con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-Heptanos, 0-100 %) para proporcionar el compuesto del título (352 mg, 8 %) en forma de una espuma de color amarillo. CL/EM: $T_r = 0,87$ min; $m/z = 420,2$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) δ 7,46-7,42 (m, 2H), 7,42-7,34 (m, 3H), 6,84 (s a, 1H), 4,93 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H), 3,88 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 3,76 (s a, 1H), 3,66-3,65 (m, 3H), 3,21 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,12-3,03 (m, 1H), 2,86-2,78 (m, 2H), 2,14 (s a, 1H), 2,00-1,93 (m, 1H), 1,51 (t, $J = 12,3$ Hz, 1H), 1,34 (s, 9H)

30

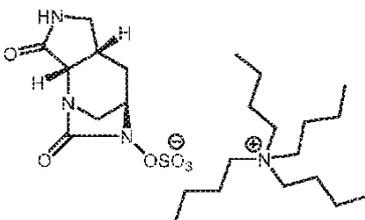


35 **Etapa 2: (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona.** A una solución de 6-(benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo (352 mg, 0,839 mmol) en DCM (4,19 ml) se añadió gota a gota TFA (1,61 ml, 20,98 mmol). Después de 90 min, se concentró al vacío, se disolvió en DCM y se concentró de nuevo (3 x). Al residuo, disuelto en DCM (5 ml) a 0°C , se añadió TEA (1,17 ml, 8,39 mmol), después de lo cual se retiró el baño de refrigeración. Después de 20 h a ta, la mezcla se diluyó con NaHCO_3 saturado (ac.) y se extrajo con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-20 %) para proporcionar el compuesto del título (158 mg, 66 %, 2 etapas) en forma de una película transparente. CL/EM: $T_r = 0,65$ min; $m/z = 288,0$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,99 (s, 1H), 7,48-7,33 (m, 5H), 4,99-4,88 (m, 2H), 3,81 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,59 (s a, 1H), 3,32-3,22 (m, 1H), 2,89 (d a, $J = 11,9$ Hz, 1H), 2,75 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 2,63 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 2,26-2,17 (m, 1H), 1,38 (ddd, $J = 14,3, 9,2, 1,9$ Hz, 1H)

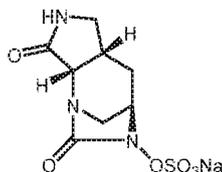
45



5 *Etapa 3:* (4R,5aS,8aS)-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona. Una suspensión de (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona (158 mg, 0,550 mmol) y Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 117 mg, 0,055 mmol) en MeOH:DCM (3:1, 3,67 ml) se evacuó y se cargó de nuevo con H₂. Después de 2 h, la mezcla se filtró a través de celite y se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C) para proporcionar el compuesto del título (102 mg, 94 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CL/EM: T_r = 0,12 min; m/z = 198,0 (M+1). Método 2m_acidic.



10 *Etapa 4:* (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato de tetrabutilamonio. A una solución de (4R,5aS,8aS)-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona en bruto (102 mg, 0,517 mmol) en Piridina (5,17 ml) se añadió SO₃·Py (412 mg, 2,59 mmol). Después de 19 h de agitación vigorosa, la mezcla se filtró y se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C). El material resultante se se disolvió en NaH₂PO₄ (1 M, 10 ml), tras lo cual se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (263 mg, 0,776 mmol). Después de 30 min de agitación, se extrajo con IPA:CHCl₃ (1:4, 3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío (temp. del baño < 30 °C). El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-30 %) para proporcionar el compuesto del título (180 mg, 67 %) en forma de una espuma de color blanco. CL/EM: T_r = 0,13 min; m/z = 278 (M+1). Método 2m_acidic; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,97 (s, 1H), 3,98 (s a, 1H), 3,81 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,28 (dd, J = 6,1, 9,9 Hz, 1H), 3,19 - 3,13 (m, 8H), 2,98 (d a, J = 12,1 Hz, 1H), 2,78 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 2,65 (d, J = 12,1 Hz, 1H), 2,49-2,44 (m, 1H), 2,28-2,19 (m, 1H), 1,63-1,51 (m, 8H), 1,40 (dd a, J = 9,3, 12,7 Hz, 1H), 1,31 (sext., J = 7,4 Hz, 8H), 0,93 (t, J = 7,3 Hz, 12H)



25 *Etapa 5:* (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico. Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se acondicionó agitando con NaOH (2 N) durante 3 h. La resina se cargó sobre una columna y se lavó con agua hasta que el pH fue ~6. Después, se lavó con 1:1 de agua/acetona. Se disolvió (4R,5aS,8aS)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato de tetrabutilamonio (180 mg, 0,347 mmol) en 1:1 de acetona/agua y se eluyó a través de la resina con 1:1 de acetona/agua. La muestra se concentró parcialmente al vacío (temp. del baño < 30 °C) y se liofilizó para proporcionar el compuesto del título (75 mg, 68 %) en forma de un sólido de color blanco. CL/EM: T_r = 0,25 min; m/z = 278,0 (M+1). Método T3_3m_polar; RMN ¹H (500 MHz, D₂O) δ 4,24-4,18 (m, 2H), 3,51 (dd, J = 10,7, 6,2 Hz, 1H), 3,33 (d a, J = 12,3 Hz, 1H), 3,10 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 2,95 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 2,81 (p, J = 8,1 Hz, 1H), 2,54-2,46 (m, 1H), 1,65 (dd, J = 14,7, 9,2 Hz, 1H).

40 *Procedimiento alternativo de la Etapa 5:* Hidrogenosulfato de (4R,5aS,8aS)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilo. A una solución de (4R,5aS,8aS)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato de tetrabutilamonio (6,9 g, 13,30 mmol) en isobutanol (20,8 ml) y agua (1,35 ml) a 40 °C se añadió una solución de 2-etilhexanoato sódico (4,56 g, 26,6 mmol) en isobutanol (20,8 ml) y agua (1,35 ml) mediante una bomba de jeringa a 8 ml/h. La mezcla se agitó durante 1 h a 40 °C, después se enfrió a ta y se agitó durante una noche, tras lo cual se filtró con un embudo Buchner usando un papel de filtro cualitativo Whatman. La torta de filtro se lavó con isobutanol (3 x) y después acetona enfriada con hielo (3 x). Se aplicó vacío al embudo con una corriente de N₂ sobre la torta de filtro durante 3 h, seguido de liofilización durante 3 días, lo que proporcionó el compuesto del título (3,05 g, 73 %) en forma de un sólido cristalino de color blanco. CL/EM: T_r = 0,25 min; m/z = 278,0 (M+1), Método T3_3m_polar.

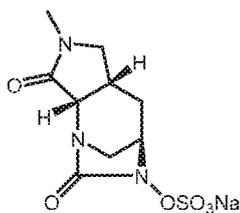
45 RMN ¹H (500 MHz, D₂O) δ =4,20 - 4,12 (m, 2H), 3,48 (dd, J = 6,2, 10,7 Hz, 1H), 3,33 - 3,25 (m, 1H), 3,05 (d, J =

10,7 Hz, 1H), 2,90 (d, J = 12,2 Hz, 1H), 2,82 - 2,71 (m, 1H), 2,46 (tdd, J = 2,8, 8,7, 14,7 Hz, 1H), 1,66 - 1,56 (m, 1H)

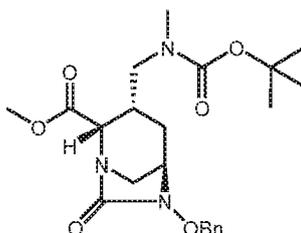
El espectro de difracción de polvo de rayos X para la sal de sodio se muestra en la Figura 1.

- 5 Instrumento: Difractómetro de rayos X (Bruker, modelo D8)
Fuente - Cu k α , ancho de Etapa 0,02°
Voltaje 40 kV
Corriente 40 mA
Tiempo por etapa 120 segundos
10 Intervalo de exploración de 3 a 39°

Pico	2theta
1	8,31 (\pm 0,2)
2	11,66 (\pm 0,2)
3	14,45 (\pm 0,2)
4	16,63 (\pm 0,2)
5	17,64 (\pm 0,2)
6	18,12 (\pm 0,2)
7	18,64 (\pm 0,2)
8	19,51 (\pm 0,2)
9	21,68 (\pm 0,2)
10	23,54 (\pm 0,2)
11	24,32 (\pm 0,2)
12	25,06 (\pm 0,2)
13	27,37 (\pm 0,2)
14	27,86 (\pm 0,2)
15	28,72 (\pm 0,2)
16	31,33 (\pm 0,2)
17	32,60 (\pm 0,2)
18	33,58 (\pm 0,2)
19	34,43 (\pm 0,2)
20	35,40 (\pm 0,2)
21	38,17 (\pm 0,2)

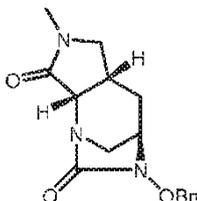


- 15 *Ejemplo 2. (4R,5aS,8aS)-7-Metil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico.*

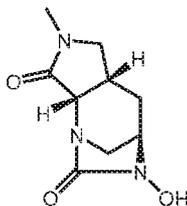


- 20 *Etapa 1: 6-(Benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)(metil)amino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo.* Una mezcla agitada del Intermedio C (3 g, 10,41 mmol), ácido 2-(((terc-butoxicarbonil)(metil)amino)acético (2,56 g, 13,53 mmol), Ir[*df*(CF₃)ppy]₂(dtbpy)PF₆ (0,117 g, 0,104 mmol) y fosfato potásico dibásico (2,175 g, 12,49 mmol) en DMF (30 ml) se desgasificó burbujeando N₂ a través de la suspensión durante 15 min y después se dejó en una línea de N₂ y se irradió con un LED azul Kessil H150 (enfriamiento con ventilador) durante 48 h. La reacción se diluyó con NaHCO₃ saturado y se extrajo con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El
- 25

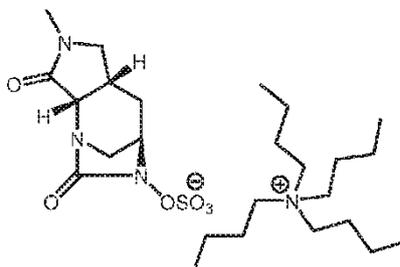
material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-Heptanos, 0-100 %) para proporcionar una espuma de color naranja (233 mg). Este material se purificó de nuevo por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-Heptanos, 0-70 %), proporcionando el compuesto del título (140 mg, 3 %) en forma de un sólido de color amarillo. CL/EM: $T_r = 0,92$ min; $m/z = 434,1$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7,46-7,42 (m, 2H), 7,41-7,33 (m, 3H), 4,98-4,91 (m, 2H), 3,88-3,81 (m, 1H), 3,78 (s a, 1H), 3,68 (s a, 3H), 3,26-3,03 (m, 2H), 2,84 (d a, $J = 11,6$ Hz, 1H), 2,67 (s, 3H), 1,97-1,88 (m, 1H), 1,62 (t a, $J = 12,6$ Hz, 1H), 1,34 (s a, 9H)



- 10 **Etapa 2:** 6-(Benciloxi)-3-((metilamino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo. A una solución agitada de 6-(benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)(metil)amino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo (140 mg, 0,323 mmol) en DCM (1,6 ml), se añadió gota a gota TFA (0,622 ml, 8,07 mmol) a ta en una atmósfera de N_2 . La reacción se agitó a ta durante 90 min y después se concentró y se coevaporó con DCM (3 x). El residuo se disolvió en DCM (2 ml) y se enfrió a 0°C . Se añadió TEA (0,450 ml, 3,23 mmol), el baño de refrigeración se retiró y la reacción se agitó a ta durante 90 min. La reacción se diluyó con NaHCO_3 saturado y se extrajo con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-20 %) para proporcionar el compuesto del título (86 mg, 88 %) en forma de una película transparente. CL/EM: $T_r = 0,46$ min; $m/z = 301,9$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,50-7,32 (m, 5H), 5,03-4,86 (m, 2H), 3,86 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 3,60 (s a, 1H), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,93-2,83 (m, 2H), 2,76 (s, 3H), 2,57 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 2,49-2,42 (m, 1H), 2,32-2,18 (m, 1H), 1,38 (ddd, $J = 14,3, 9,0, 1,9$ Hz, 1H)

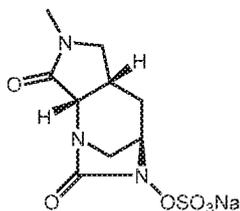


- 25 **Etapa 3:** (4R,5aS,8aS)-3-hidroxi-7-metilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona. Se disolvió 6-(benciloxi)-3-((metilamino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo (143 mg, 0,475 mmol) en metanol (2,4 ml) y se añadió Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 101 mg, 0,047 mmol). La mezcla se evacuó al vacío y se cargó de nuevo con H_2 . Después de 1 h de agitación, la mezcla se filtró a través de celite y se concentró al vacío (temp. del baño $< 30^\circ\text{C}$) para proporcionar el compuesto del título (63 mg, 63 %) en forma de un sólido de color blanco. CL/EM: $T_r = 0,11$ min; $m/z = 211,9$ (M+1), Método 2m_acidic.



- 35 **Etapa 4:** (4R,5aS,8aS)-7-Metil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio. Se disolvió (4R,5aS,8aS)-3-hidroxi-7-metilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona (63 mg, 0,298 mmol) en piridina (2,9 ml) y se añadió $\text{SO}_3 \cdot \text{piridina}$ (237 mg, 1,49 mmol). La reacción se agitó a ta durante 20 h. La reacción se filtró a través de un filtro de plástico desechable y se concentró a presión reducida (temp. del baño $< 30^\circ\text{C}$). Este material se se disolvió en NaH_2PO_4 (1 M, 10 ml) y se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (152 mg, 0,447 mmol). Después de agitar durante 30 min a ta, se extrajo con EtOAc (4x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El material acuoso se extrajo adicionalmente con IPA al 20 % en CHCl_3 (2 x), se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío (temp. del baño $< 30^\circ\text{C}$). El material orgánico combinado se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-30 %) para proporcionar el compuesto del título (62 mg, 39 %) en forma de una película transparente. CL/EM: $T_r = 0,13$ min; $m/z = 291,9$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 4,34$ (s a,

1H), 4,04 (d a, $J = 7,3$ Hz, 1H), 3,44 (dd, $J = 10,0, 5,6$ Hz, 1H), 3,34 (d a, $J = 2,6$ Hz, 1H), 3,28 (dd a, $J = 10,3$ Hz, 5,1 Hz, 8H), 2,97-2,91 (m, 4H), 2,80 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 2,75-2,61 (m, 2H), 1,74-1,60 (m, 9H), 1,44 (sext., $J = 7,4$ Hz, 8H), 1,00 (t, $J = 7,3$ Hz, 12H).

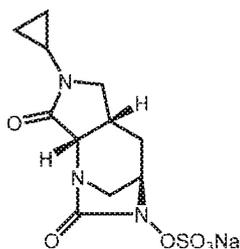


5

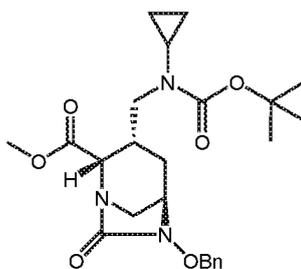
Etapa 5: (4R,5aS,8aS)-7-Metil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico. Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se acondicionó agitando con NaOH (2 N) durante 3 h. La resina se cargó sobre una columna de vidrio y se lavó con agua hasta que el pH fue ~6. Después, se lavó con agua:acetona (1:1). Se disolvió (4R,5aS,8aS)-7-metil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato de tetrabutilamonio (62 mg, 0,12 mmol) en 1:1 de acetona:agua y se pasó hacia abajo de la columna con acetona:agua (1:1). La muestra se concentró parcialmente al vacío (temp. del baño < 30 °C), después se liofilizó para proporcionar el compuesto del título (32 mg, 83 %) en forma de un polvo de color blanco. CL/EM: $T_r = 0,48$ min; $m/z = 291,8$ (M+1). Método T3_3m_polar; RMN 1H (500 MHz, D_2O) $\delta = 4,20-4,15$ (m, 2H), 3,60 (dd, $J = 10,6, 6,4$ Hz, 1H), 3,30 (dddd, $J = 12,3, 4,0, 2,7, 1,3$ Hz, 1H), 3,13 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 2,90 (s, 3H), 2,86 (d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 2,77-2,69 (m, 1H), 2,49 (tdd, $J = 14,8, 8,8, 3,0$ Hz, 1H), 1,59 (ddd, $J = 14,8, 8,9, 2,0$ Hz, 1H).

10

15



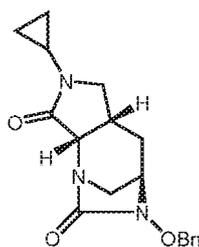
Ejemplo 3. (4R,5aS,8aS)-7-Ciclopropil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato sódico.



Etapa 1: 6-(Benciloxi)-3-(((terc-butoxicarbonil)(ciclopropil)amino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo. Una mezcla agitada del Intermedio C (4 g, 13,87 mmol), ácido 2-(((terc-butoxicarbonil)(ciclopropil)amino)acético (3,88 g, 18,04 mmol), $Ir[df(CF_3)ppy_2(dtbbpy)]PF_6$ (0,156 g, 0,139 mmol) y fosfato potásico dibásico (2,90 g, 16,65 mmol) en DMF (40 ml) se desgasificó mediante un rociado con N_2 durante 15 min. La mezcla se irradió en atmósfera de N_2 con un LED azul Kessil H150 (enfriamiento con ventilador) durante 42 h, después de lo cual se diluyó con $NaHCO_3$ saturado, se filtró y se extrajo con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-Heptanos, 0-100 %). Este material se purificó de nuevo 2 veces más por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-Heptanos, 0-100 % después EtOAc-Heptanos, 0-70 %), proporcionando el compuesto del título (190 mg, rendimiento del 3 %) en forma de una película transparente. CL/EM: $T_r = 0,99$ min; $m/z = 460,2$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) $\delta = 7,45-7,34$ (m, 5H), 5,05 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 4,89 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 4,09 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,37-3,25 (m, 2H), 3,17-3,07 (m, 1H), 2,92-2,83 (m, 1H), 2,64-2,52 (m, 1H), 2,44-2,35 (m, 1H), 2,09-1,98 (m, 1H), 1,68 (t, $J = 12,7$ Hz, 1H), 1,58-1,52 (m, 1H), 1,44-1,39 (m, 9H), 0,80-0,66 (m, 2H), 0,59-0,46 (m, 2H)

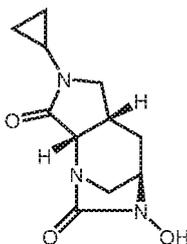
30

35



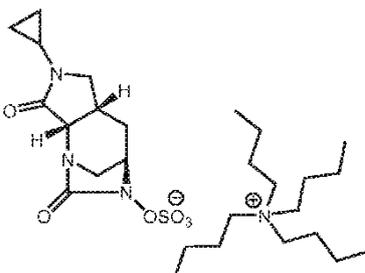
Etapa 2: (4R,5aS, 8aS)-3-(benciloxi)-7-ciclopropilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona.

A una solución agitada de 6-(benciloxi)-3-(((*tert*-butoxicarbonil)(ciclopropil)amino)metil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (2S,3S,5R)-metilo (190 mg, 0,413 mmol) disuelta en DCM (4,1 ml), se añadió gota a gota TFA (0,796 ml, 10,34 mmol) a ta en una atmósfera de N₂. La solución se agitó a ta durante 90 min y después se concentró al vacío, se diluyó con DCM y se concentró de nuevo (3 x). El residuo se disolvió en DCM (2 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió TEA (0,576 ml, 4,13 mmol) y se agitó durante 18 h a ta. La solución se concentró a presión reducida y el material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-20 %), proporcionando el compuesto del título (103 mg, 76 %) en forma de una película transparente. CL/EM: T_r = 0,69 min; m/z = 328,0 (M+1). Método 2m_acidic; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 7,46-7,42 (m, 2H), 7,41-7,33 (m, 3H), 4,97-4,89 (m, 2H), 3,87 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,59 (s a, 1H), 3,31-3,27 (m, 1H), 2,91-2,85 (m, 1H), 2,76 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 2,66 (tt, J = 7,5, 4,1 Hz, 1H), 2,56 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 2,42 (dd, J = 8,5, 6,1 Hz, 1H), 2,19 (ddt, J = 14,3, 8,5, 3,0 Hz, 1H), 1,31 (ddd, J = 14,3, 9,2, 1,9 Hz, 1H), 0,78-0,68 (m, 2H), 0,66-0,55 (m, 2H).



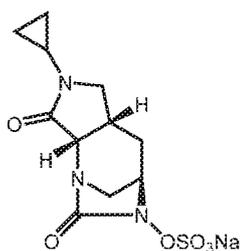
Etapa 3: (4R,5aS,8aS)-7-ciclopropil-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona.

Se disolvió (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-7-ciclopropilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona (103 mg, 0,315 mmol) en MeOH (3,2 ml) y se añadió Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 67,0 mg, 0,031 mmol). La mezcla se desgasificó al vacío y se cargó de nuevo con H₂. Después de agitar durante 40 min, se filtró a través de celite y se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C) para proporcionar el compuesto del título (75 mg, 100 %) en forma de un sólido de color blanco. CL/EM: T_r = 0,54 min; m/z = 238,0 (M+1), Método 2m_acidic.

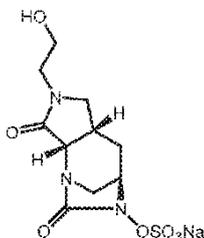


Etapa 4: (4R,5aS,8aS)-7-Ciclopropil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio.

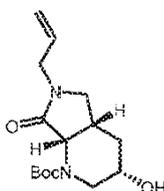
A una solución de (4R,5aS,8aS)-7-ciclopropil-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona (75 mg, 0,316 mmol) en piridina (3,16 ml) se añadió SO₃-piridina (151 mg, 0,948 mmol). Después de agitar durante durante 20 h, la suspensión se filtró y se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C). El residuo en bruto se disolvió en NaH₂PO₄ saturado (10 ml) y se lavó con EtOAc. A la capa acuosa se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (161 mg, 0,474 mmol). Después de agitar durante 45 min, se extrajo con DCM (4x), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C). El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Acetona-DCM, 0-100 %) para proporcionar 121 mg de una película transparente. CL/EM: T_r = 0,14 min; m/z = 318,0 (M+1). Método 2m_acidic; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 3,93 (s a, 1H), 3,87 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,34-3,29 (m, 1H), 3,19-3,13 (m, 8H), 2,99-2,94 (m, 1H), 2,78 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 2,68 (tt, J = 7,4, 4,2 Hz, 1H), 2,57 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 2,46-2,36 (m, 1H), 2,26-2,17 (m, 1H), 1,61-1,52 (m, 8H), 1,35-1,26 (m, 9H), 0,93 (t, J = 7,3 Hz, 12H), 0,78-0,69 (m, 2H), 0,66-0,57 (m, 2H).



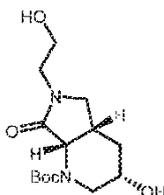
5 *Etapa 5:* (4R,5aS,8aS)-7-Ciclopropil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico. Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se acondicionó agitando con NaOH (2 N) durante 3 h. La resina se cargó sobre una columna de vidrio y se lavó con agua (hasta pH ≈ 6), seguido de agua:acetona (1:1). Se cargó una solución de (4R,5aS,8aS)-7-ciclopropil-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio (121 mg, 0,217 mmol) en agua:acetona (1:1) y se pasó a través de la columna, eluyendo con agua:acetona (1:1). La muestra se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C) y se liofilizó, proporcionando el compuesto del título (51 mg, rendimiento del 66 %) en forma de un polvo de color blanco. CL/EM: 10 $T_r = 0,36$ min; $m/z = 318,0$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN 1H (500 MHz, D_2O) δ 4,20-4,14 (m, 2H), 3,55 (dd, $J = 10,6, 6,1$ Hz, 1H), 3,32-3,26 (m, 1H), 3,09 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H), 2,83 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 2,73-2,65 (m, 2H), 2,50-2,42 (m, 1H), 1,51 (dd, $J = 14,6, 9,1$ Hz, 1H), 0,90-0,74 (m, 3H), 0,71-0,63 (m, 1H).



15 *Ejemplo 4.* (4R,5aS,8aS)-7-(2-hidroxietil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico.



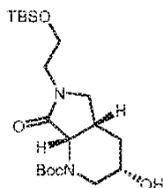
20 *Etapa 1:* (3S,4aS,7aS)-6-Alil-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (3S,4aS,7aS)-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (1,50 g, 5,62 mmol) en DMF (56 ml) a 0 °C se añadió *tert*-butóxido potásico (1 M en THF, 5,6 ml, 5,6 mmol). Después de 25 5 min, el baño de refrigeración se retiró y se dejó en agitación a *ta* durante 30 min, después se enfrió a 0 °C, después de lo cual se añadió gota a gota bromuro de alilo (490 μ l, 5,66 mmol). El baño de refrigeración se retiró después de 5 min y después de 2 h más a *ta*, se concentró al vacío y se purificó directamente por cromatografía sobre gel de sílice (etilacetato-heptano, 0-100 %) para proporcionar el compuesto del título (1,688 g, 81 %) en forma de un sólido de color blanco. CL/EM: $T_r = 0,70$ min; $m/z = 297,1$ (M+1). Método 2m_acidic; RMN 1H (500 MHz, $DMSO-d_6$)* $\delta = 5,72$ (ddt, $J = 16,4, 11,1, 5,9$ Hz, 1H), 5,23-5,15 (m, 2H), 4,96 (s, 1H), 4,77 (d, $J = 7,1$ Hz, 0,5H), 4,62 (d, $J = 7,1$ Hz, 0,5H), 3,97-3,85 (m, 1,5H), 3,85-3,75 (m, 1H), 3,71 (dd, $J = 15,3, 6,3$ Hz, 0,5H), 3,49-3,42 (m, 1H), 2,83 - 2,77 (m, 1H), 2,50-2,40 (m, 1H), 2,14 (t, $J = 11,6$ Hz, 0,5H), 2,03-1,91 (m, 1,5H), 1,42 (s, 4,5H), 1,38 (s, 4,5H), 0,96 (p, $J = 12,1$ Hz, 1H). 30 *Indicado como una mezcla de rotámeros.



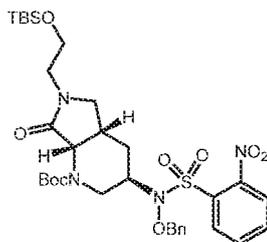
35 *Etapa 2:* (3S,4aS,7aS)-3-Hidroxi-6-(2-hidroxietil)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo. Una solución de (3S,4aS,7aS)-6-alil-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (2,72 g, 9,18 mmol) en DCM (92 ml) a -78 °C se roció con O_3 durante 30 min. Después, se purgó burbujeando con O_2

durante 20 min más a -78°C . A la solución transparente se añadió sulfuro de dimetilo (6,74 ml, 92 mmol) y se calentó a ta y se agitó durante 30 min. Se enfrió a 0°C y se añadió MeOH (18 ml), seguido de borohidruro sódico (694 mg, 18,4 mmol), después se dejó calentar lentamente a ta. Después de 14 h a ta, se enfrió a 0°C y se añadió NH_4Cl saturado (ac., 10 ml). Después de 20 min a ta, se concentró al vacío, seguido de la adición de MeOH y se reconcentró.

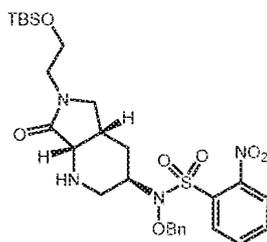
- 5 El residuo se recogió en MeOH, se filtró y después se reconcentró. Se añadió tolueno y la suspensión se sometió a ultrasonidos y después se reconcentró. CLEM: $T_r = 0,40$ min; $m/z = 301,4$ (M+1), Método 2m_acidic.



- 10 **Etapa 3:** (3S,4aS,7aS)-6-(2-((tert-butildimetilsilil)oxi)etil)-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (3S,4aS,7aS)-3-hidroxi-6-(2-hidroxi)etil)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (9,18 mmol) en piridina (18 ml) se añadió TBS-Cl (1,384 g, 9,18 mmol). Después de agitar durante 24 h a ta, se concentró al vacío y se recogió en EtOAc y se lavó con agua. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (2,433 g, 64 %, 3 etapas) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: $T_r = 0,89$ min; $m/z = 415,4$ (M+1), Método 2m_acidic.

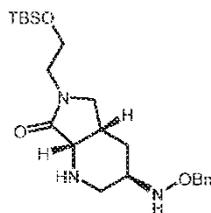


- 20 **Etapa 4:** (3R,4aS,7aS)-3-((N-(Benciloxi)-2-nitrofenil)sulfonamido)-6-(2-((tert-butildimetilsilil)oxi)etil)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (3S,4aS,7aS)-6-(2-((tert-butildimetilsilil)oxi)etil)-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (2,411 g, 5,82 mmol), N-(benciloxi)-2-nitrobencenosulfonamida (2,160 g, 7,01 mmol) y trifetilfosfina (1,830 g, 6,98 mmol) en THF (65 ml) a -17°C se añadió gota a gota DIAD (1,40 ml, 6,98 mmol) en forma de una solución en THF (10 ml). Se dejó calentar lentamente a ta y se agitó durante 18 h, después se concentró al vacío y se purificó directamente mediante cromatografía de gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (1,785 g, rendimiento del 44 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: $T_r = 1,15$ min; $m/z = 705,4$ (M+1). Método 2m_acidic.

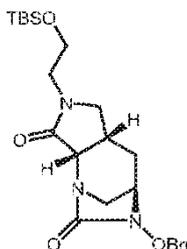


- 30 **Etapa 4:** N-(benciloxi)-N-((3R,4aS,7aS)-6-(2-((tert-butildimetilsilil)oxi)etil)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-3-il)-2-nitrobencenosulfonamida. En un matraz cargado con bromuro de cinc (II) (1,21 g, 5,37 mmol, secado a 200°C durante 3 h), se añadió una solución de (3R,4aS,7aS)-3-((N-(benciloxi)-2-nitrofenil)sulfonamido)-6-(2-((tert-butildimetilsilil)oxi)etil)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de terc-butilo (1,79 g, 2,53 mmol) en DCM (8,5 ml). Después de agitar a ta durante 18 h, se diluyó con DCM y se inactivó con NaHCO_3 saturado. Tras el cese del burbujeo, las capas se separaron y la acuosa se extrajo con DCM (3 x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío, dando como resultado una espuma de color blanco. CLEM: $T_r = 0,94$ min; $m/z = 605,3$ (M+1), Método 2m_acidic.

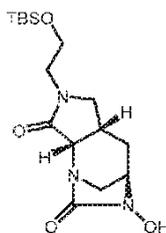
40



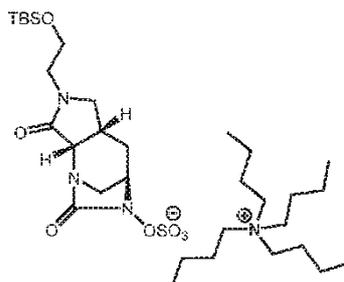
- 5 **Etapa 5:** (3R,4aS,7aS)-3-((benciloxi)amino)-6-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etil)octahidro-7H-pirrolo[3,4-b]piridin-7-ona. A una suspensión de N-(benciloxi)-N-((3R,4aS,7aS)-6-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etil)-7-oxooctahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridin-3-il)-2-nitrobenzenosulfonamida (1,53 g, 2,53 mmol) y K_2CO_3 (1,753 g, 12,68 mmol) en ACN (25 ml) se añadió tiofenol (1,343 ml, 12,65 mmol). Después de 22 h, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (919 mg, 87 %, 2 etapas) en forma de una espuma de color blanquecino. CLEM: $T_r = 0,82$ min; $m/z = 420,4$ (M+1), Método 2m_acidic.



- 10
15 **Etapa 6:** (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-7-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etil)-hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. A una solución de (3R,4aS,7aS)-3-((benciloxi)amino)-6-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etil)octahidro-7H-pirrolo[3,4-b]piridin-7-ona (919 mg, 2,19 mmol) y DIPEA (1,2 ml, 6,87 mmol) en acetonitrilo (68,4 ml) a 0 °C se añadió fosgeno (15-20 % en tolueno, 1,60 ml, 2,24 mmol) en forma de una solución en acetonitrilo (10 ml) a una tasa de 8 ml/h. Después, se dejó que alcanzara lentamente ta. Después de 20 h, se concentró al vacío, se repartió entre EtOAc/HCl (ac., 0,2 M) y las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, $NaHCO_3$ saturado, se secaron sobre $Na_2SO_4/MgSO_4$, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, proporcionando el compuesto del título (549 mg, 56 %) en forma de una espuma de color blanco. CLEM: $T_r = 0,95$ min; $m/z = 446,4$ (M+1), Método 2m_acidic.
- 20



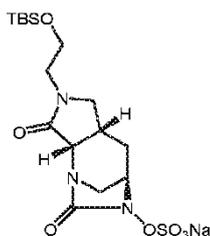
- 25 **Etapa 7:** (4R,5aS,8aS)-7-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etil)-3-hidroxi-hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. Una suspensión de (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-7-(2-((terc-butildimetilsilil)oxi)etil)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (110 mg, 0,247 mmol) y Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de gua, 25 mg, 0,012 mmol) en MeOH (2,5 ml) se desgasificó y se cargó de nuevo con H_2 (3 x). Después de 3 h de agitación vigorosa, la suspensión se purgó con N_2 , se filtró a través de celite y se concentró al vacío. Se añadió tolueno y se sometió a ultrasonidos, después se reconcentró. Asumido rendimiento cuantitativo. CLEM: $T_r = 0,71$ min; $m/z = 356,4$ (M+1), Método 2m_acidic.
- 30



- 35 **Etapa 8:** (4R,5aS,8aS)-7-(2-((terc-Butildimetilsilil)oxi)etil)-2,8-dioxo-hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-

dj[1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio. A una solución de (4R,5aS,8aS)-7-(2-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)etil)-3-hidroxihexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (0,247 mmol) en piridina (1,6 ml) se añadió SO₃Py (197 mg, 1,24 mmol). Después de agitar durante 17 h a ta, la mezcla se concentró al vacío y se suspendió en DCM, después se filtró y se concentró de nuevo al vacío. El sólido resultante se disolvió en NaH₂PO₄ (ac. 1 M, 20 ml), tras lo cual se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (131 mg, 0,386 mmol). Después de agitar durante 45 min, se extrajo con DCM (4x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-20 %) para proporcionar el compuesto del título (56 mg, 34 %, 3 etapas) en forma de una espuma de color blanquecino. CLEM: T_r = 0,81 min; m/z = 436,3 (M+1), Método 2m_acidic.

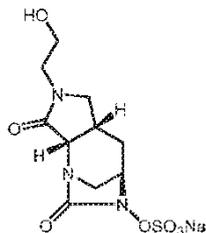
10



Etapa 9: (4R,5aS,8aS)-7-(2-((*terc*-Butildimetilsilil)oxi)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico. Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se acondicionó agitando con NaOH (2 N) durante 3 h. La resina se cargó sobre una columna de vidrio y se lavó con agua (hasta pH ≈ 6), seguido de agua:acetona (1:1). Se cargó una solución de (4R,5aS,8aS)-7-(2-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio (56 mg, 0,083 mmol) en agua:acetona (1:1) y se pasó a través de la columna, eluyendo con agua:acetona (1:1). La muestra se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C) y se liofilizó, proporcionando el compuesto del título (36 mg, rendimiento del 95 %) en forma de un polvo de color blanco. CLEM: T_r = 0,84 min; m/z = 436,3 (M+1), Método 2m_acidic.

15

20

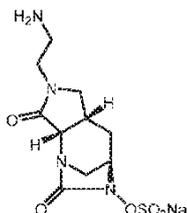


Etapa 10: (4R,5aS,8aS)-7-(2-Hidroxi)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico. A una suspensión de (4R,5aS,8aS)-7-(2-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico (36 mg, 0,079 mmol) en acetonitrilo (790 μl) se añadió gota a gota trifluorhidrato de trietilamina (13,07 μl, 0,079 mmol) y la solución resultante se calentó a 45 °C durante 3 h. Se añadió más cantidad de trifluorhidrato de trietilamina (13,07 μl, 0,079 mmol) y se calentó a 45 °C durante 2 h, después se concentró al vacío. El residuo en bruto se recogió en tampón fosfato (pH = 6) y se purificó por HPLC prep. de fase inversa (T3, columna Atlantis, 30 x 100 mm, 5 μm, columna C18; ACN-agua con tampón de NH₄OAC 3,75 mmol, 20-60 ml/min), proporcionando el compuesto del título (13,9 mg) en forma de un polvo de color blanco. CLEM: T_r = 0,34 min; m/z = 322,2 (M+1), Método T3_3m_polar. RMN ¹H (500 MHz, D₂O) δ 4,8 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,69 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,61 (dd, J = 10,7, 6,3 Hz, 1H), 3,49-3,37 (m, 2H), 3,29-3,22 (m, 1H), 3,17-3,14 (m, 1H), 2,84 (d, J = 12,2 Hz, 1H), 2,75 - 2,67 (m, 1H), 2,45 (ddt, J = 14,7, 8,7, 3,0 Hz, 1H), 1,54 (ddd, J = 14,8, 9,0, 2,0 Hz, 1H).

25

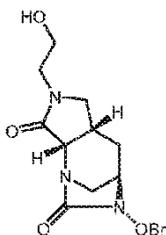
30

35

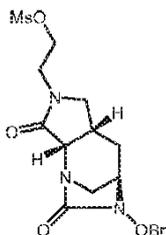


Ejemplo 5. hidrogenosulfato de (4R,5aS,8aS)-7-(2-amino)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilo.

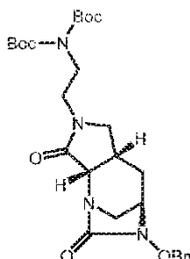
40



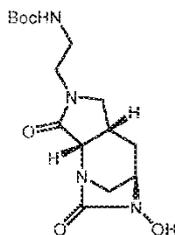
Etapa 1: (4R,5aS, 8aS)-3-(benciloxi)-7-(2-hidroxi)etilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. A una solución de (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-7-(2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)etil)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (530 mg, 1,19 mmol) en THF (12 ml) a 0 °C se añadió TBAF (1,2 ml, 1,20 mmol). Después de 1 h a 0 °C, se concentró al vacío, se repartió entre EtOAc/agua y las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄/MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-7 %) para proporcionar el compuesto del título (268 mg, 68 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: T_r = 0,55 min; m/z = 332,3 (M+1), Método 2m_acidic. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃-d) δ 7,48-7,36 (m, 5H), 5,09 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 4,93 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 4,18 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,87-3,75 (m, 2H), 3,66-3,54 (m, 2H), 3,42-3,35 (m, 1H), 3,30 (s, 1H), 3,10 (d, J = 12,2 Hz, 1H), 3,03 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 2,81-2,72 (m, 2H), 2,48-2,39 (m, 2H), 1,38 (dd, J = 14,2, 9,2 Hz, 1H).



Etapa 2: metanosulfonato de 2-((4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-2,8-dioxooctahidro-7H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-7-il)etilo. A una solución de (4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-7-(2-hidroxi)etilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (265,4 mg, 0,801 mmol) y TEA (140 μl, 1,00 mmol) se añadió MsCl (65,5 μl, 0,841 mmol). Después de 45 min, se lavó con agua. La capa acuosa se extrajo con DCM (2 x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄/MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío, proporcionando el compuesto del título (332 mg) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: T_r = 0,55 min; m/z = 410,3 (M+1), Método 2m_acidic.

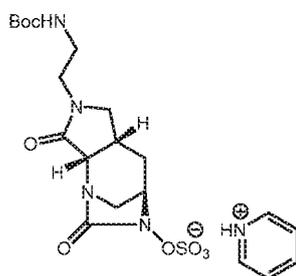


Etapa 3: (2-((4R,5aS,8aS)-3-(Benciloxi)-2,8-dioxooctahidro-7H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-7-il)etil)iminodicarboxilato de di-*tert*-butilo. A una solución de iminodicarboxilato de di-*tert*-butilo (153 mg, 0,704 mmol) en DMF (3,2 ml) se añadió *tert*-butóxido potásico (1 M en THF, 700 μl, 0,700 mmol). Después de 30 min a ta, se añadió una solución de metanosulfonato de 2-((4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-2,8-dioxooctahidro-7H-14-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-7-il)etilo (262 mg, 0,640 mmol) en DMF (2 ml, lavados de 2 x 500 μl). Se agitó a ta durante 10 min, se calentó a 50 °C durante 100 min, después se agitó a ta durante 12 h, tras lo cual se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera (semisaturada). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄/MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-heptano, 0-90 %), proporcionando el compuesto del título (293 mg, 86 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: T_r = 0,87 min; m/z = 431,4 (M - Boc +1), Método 2m_acidic.



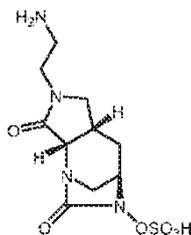
5 *Etapa 4:* (2-((4R,5aS,8aS)-3-Hidroxi-2,8-dioxooctahidro-7H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-7-il)etil)carbamato de *terc-butilo*. Una suspensión de (2-((4R,5aS,8aS)-3-(benciloxi)-2,8-dioxooctahidro-7H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-7-il)etil)iminodicarboxilato de di-*terc-butilo* (226,8 mg, 0,427 mmol) y Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 45,3 mg, 0,021 mmol) en MeOH (4,2 ml) se desgasificó y se cargó de nuevo con H₂ (3 x). Después de 3 h de agitación vigorosa, la suspensión se purgó con N₂, se filtró a través de celite y se concentró al vacío. Se añadió tolueno y se sometió a ultrasonidos, después se reconcentró. Asumido rendimiento cuantitativo. CLEM: T_r = 0,65 min; m/z = 341,4 (M+1), Método 2m_acidic.

10



15 *Etapa 5:* (4R,5aS,8aS)-7-(2-((*terc-Butoxicarbonil*)amino)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de *piridin-1-io*. A una solución de (2-((4R,5aS,8aS)-3-hidroxi-2,8-dioxooctahidro-7H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-7-il)etil)carbamato de *terc-butilo* en piridina (3 ml) se añadió SO₃·piridina (335 mg, 2,10 mmol). Después de 15 h a ta, se concentró al vacío, se suspendió en DCM y se filtró, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino. Asumido rendimiento cuantitativo. CLEM: T_r = 0,59 min; m/z = 321,4 (M - Boc +1). Método 2m_acidic.

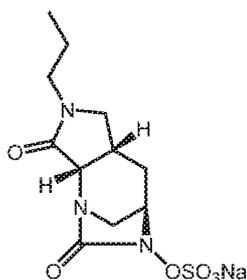
20



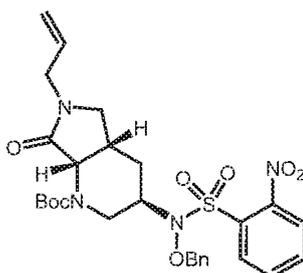
20

25 *Etapa 6:* Hidrogenosulfato de (4R,5aS, 8aS)-7-(2-aminoetil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilo. A una suspensión de (4R,5aS,8aS)-7-(2-((*terc-butoxicarbonil*)amino)etil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de piridin-1-io (210 mg, 0,421 mmol) en DCM (4,2 ml) a 0 °C se añadió TFA (973 µl, 12,63 mmol). Después de 2,5 h a 0 °C, se concentró al vacío, se suspendió en DCM y se concentró de nuevo. El residuo en bruto se recogió en tampón fosfato (pH = 6), se filtró y se purificó por HPLC prep. de fase inversa (T3, columna Atlantis, 30 x 100 mm, 5 µm, columna C18; agua con tampón de NH₄OAC 3,75 mmol, 20-60 ml/min), proporcionando el compuesto del título (155 mg) en forma de un polvo de color blanco. CLEM: T_r = 0,22 min; m/z = 321,4 (M+1), Método T3_3m_polar. RMN ¹H (500 MHz, D₂O) δ 4,00 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,94 (s, 1H), 3,61 (dt, J = 14,3, 6,9 Hz, 1H), 3,45 (dd, J = 10,5, 6,4 Hz, 1H), 3,28 (dt, J = 14,8, 5,6 Hz, 1H), 3,06 (d a, J = 12,4 Hz, 1H), 2,96 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,92 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,68 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 2,55 (p, J = 8,3 Hz, 1H), 2,31-2,21 (m, 1H), 1,38 (dd, J = 14,9, 9,1 Hz, 1H).

30



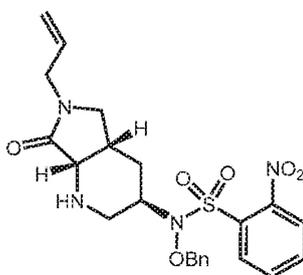
Ejemplo 6. (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxo-7-propilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico.



5

Etapa 1: (3R,4aS,7aS)-6-Alil-3-((N-(benciloxi)-2-nitrofenil)sulfonamido)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de *tert*-butilo. A una solución de (3S,4aS,7aS)-6-alil-3-hidroxi-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de *tert*-butilo (786,4 mg, 2,65 mmol), N-(benciloxi)-2-nitrobenenosulfonamida (900 mg, 2,92 mmol) y trifetilfosfina (835 mg, 3,18 mmol) en THF (29 ml) a -17 °C se añadió gota a gota DIAD (0,640 ml, 3,18 mmol) en forma de una solución en THF (4,1 ml) a 6:30 pm. Se dejó calentar lentamente a ta y se agitó durante 22 h, después se concentró al vacío y se purificó directamente por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc-heptano, 0-40 %), proporcionando el compuesto del título (846 mg, 54 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CLEM: $T_r = 0,95$ min; $m/z = 587,3$ (M+1), Método 2m_acidic.

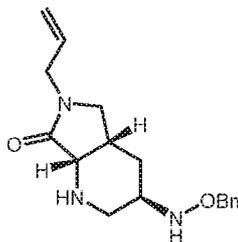
15



Etapa 2: N-((3R,4aS, 7aS)-6-alil-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-3-il)-N-(benciloxi)-2-nitrobenenosulfonamida. En un matraz cargado con bromuro de cinc (II) (681 mg, 3,02 mmol, secado a 200 °C durante 4 h) y (3R,4aS,7aS)-6-alil-3-((N-(benciloxi)-2-nitrofenil)sulfonamido)-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-1-carboxilato de *tert*-butilo (845 mg, 1,44 mmol), en una atmósfera de N_2 , se añadió DCM (4,8 ml). Después de agitar a ta durante 15 h, se diluyó con DCM y se inactivó con $NaHCO_3$ saturado. Tras el cese del burbujeo, las capas se separaron y la acuosa se extrajo con DCM (3 x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, dando como resultado una espuma de color blanco. Asumido rendimiento cuantitativo. CLEM: $T_r = 0,70$ min; $m/z = 487,2$ (M+1), Método 2m_acidic.

20

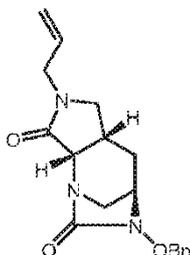
25



Etapa 3: (3R,4aS,7aS)-6-alil-3-((benciloxi)amino)octahidro-7H-pirrol[3,4-b]piridin-7-ona. A una suspensión de N-((3R,4aS,7aS)-6-alil-7-oxooctahidro-1H-pirrol[3,4-b]piridin-3-il)-N-(benciloxi)-2-nitrobenenosulfonamida (1,44 mmol) y K_2CO_3 (995 mg, 7,20 mmol) en ACN (14,4 ml) se añadió tiofenol (764 μ l, 7,20 mmol). Después de 21 h, se filtró y se

30

concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-8 %), proporcionando el compuesto del título (385 mg, 89 %, 2 etapas) en forma de una espuma de color blanquecino. CLEM: $T_r = 0,49$ min; $m/z = 302,4$ (M+1). Método 2m_acidic.

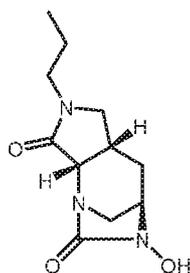


5

Etapa 4: (4R,5aS,8aS)-7-allyl-3-(benzyloxymethyl)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. A una solución de (3R,4aS,7aS)-6-allyl-3-((benzyloxi)amino)octahidro-7H-pirrol[3,4-b]piridin-7-ona (385 mg, 1,28 mmol) y DIPEA (670 μ l, 3,83 mmol) en ACN (40 ml) a 0 °C se añadió fosgeno (1,20 ml, 1,66 mmol) en forma de una solución en ACN (5,7 ml) a una tasa de 6,5 ml/h. Después, se dejó que alcanzara lentamente ta. Después de 20 h, se concentró al vacío, se repartió entre EtOAc/HCl (0,2 N) y las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y NaHCO₃ saturado. El lavado de se combinó con el lavado de NaHCO₃ y la solución se extrajo con MeOH al 10 %/DCM (2 x). La capa acuosa ácida se extrajo de nuevo con MeOH al 10 %/DCM (2 x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-10 %), proporcionando el compuesto del título (369,2 mg, 88 %) en forma de una espuma de color blanco. CLEM: $T_r = 0,60$ min; $m/z = 328,4$ (M+1), Método 2m_acidic.

10

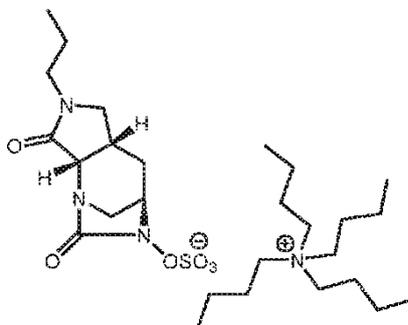
15



20

Etapa 5: (4R,5aS,8aS)-3-hidroxi-7-propilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona. Una suspensión de (4R,5aS,8aS)-7-allyl-3-(benzyloxi)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (209 mg, 0,638 mmol) y Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 41 mg, 0,019 mmol) en MeOH (6,4 ml) se desgasificó y se cargó de nuevo con H₂ (3 x). Después de 5 h de agitación vigorosa, la suspensión se purgó con N₂, se añadió más cantidad de Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 41 mg, 0,019 mmol) y se desgasificó y se cargó de nuevo con H₂ (3 x). Después de 2 h de agitación vigorosa, se purgó con N₂, después se filtró a través de celite y se concentró al vacío. Se añadió tolueno y se sometió a ultrasonidos, después se reconcentró. Asumido rendimiento cuantitativo. CLEM: $T_r = 0,27$ min; $m/z = 240,3$ (M+1). Método 2m_acidic.

25

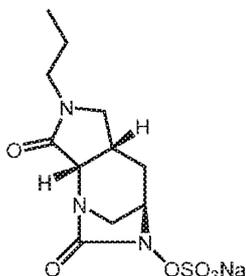


30

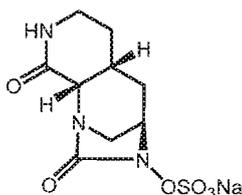
Etapa 6: (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxo-7-propilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-il sulfato de tetrabutilamonio. A una solución de (4R,5aS,8aS)-3-hidroxi-7-propilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona (0,638 mmol) en piridina (6,4 ml) se añadió SO₃·Py (508 mg, 3,19 mmol). Después de agitar durante 13 h a ta, la mezcla se filtró y se concentró al vacío. El sólido resultante se disolvió en NaH₂PO₄ (ac. 1 M, 40 ml), tras lo cual se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (325 mg, 0,957 mmol). Después de agitar durante 1,5 h, se extrajo con DCM (4x) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-15 %) para

35

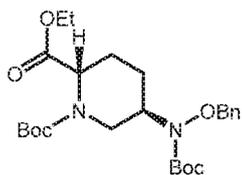
proporcionar el compuesto del título (229 mg, 64 %, 3 etapas) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: $T_r = 0,81$ min; $m/z = 436,3$ ($M+1$), Método 2m_acidic.



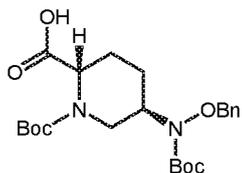
5 *Etapa 7: (4R,5aS,8aS)-2,8-Dioxo-7-propilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato sódico.*
Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se acondicionó agitando con NaOH (2 N) durante 2 h. La resina se cargó sobre una columna de vidrio y se lavó con agua (hasta $\text{pH} \approx 6$), seguido de agua:acetona (1:1). Se cargó una solución de (4R,5aS,8aS)-2,8-dioxo-7-propilhexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio (228 mg, 0,408 mmol) en agua:acetona (1:1) y se pasó a través de la columna, eluyendo con agua:acetona (1:1). La muestra se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C) y se liofilizó, proporcionando el compuesto del título (120 mg, 85 %) en forma de un polvo de color blanco. CLEM: $T_r = 0,30$ min; $m/z = 320,3$ ($M+1$), Método 2m_acidic. RMN ^1H (500 MHz, D_2O) δ 4,18 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,54 (dd, $J = 10,9, 6,3$ Hz, 1H), 3,32-3,17 (m, 3H), 3,10 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 2,80 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 2,69 (p, $J = 8,2$ Hz, 1H), 2,50-2,41 (m, 1H), 1,57-1,47 (m, 3H), 0,81 (t, $J = 7,4$, 3H).



20 *Ejemplo 7. (4R,5aR,9aS)-2,9-Dioxooctahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-3(2H)-ilhidrogenosulfato sódico.*

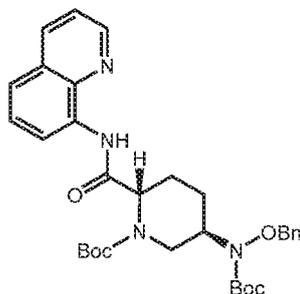


25 *Etapa 1: (2S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)piperidin-1,2-dicarboxilato de 1-(terc-butil)2-etilo.* A una suspensión de oxalato de 5-((benciloxi)amino)piperidin-2-carboxilato de (2S,5R)-etilo (13,25 g, 36,0 mmol) en EtOAc (200 ml) se añadieron Na_2CO_3 (2,0 M, 80 ml, 160 mmol) e hidróxido sódico (1,0 M, 40 ml, 40 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El precipitado formado se retiró por filtración y las dos capas del filtrado se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío, proporcionando un aceite viscoso (10,0 g). A una solución de este aceite (10,0 g, 35,9 mmol) en THF (100 ml) se añadieron Boc-anhídrido (23,5 g, 108 mmol), trietilamina (15,0 ml, 108 mmol) y DMAP (4,38 g, 35,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 60 h y después se calentó a 50 °C durante 2 días. El disolvente se retiró al vacío y se recogió de nuevo en EtOAc/Heptano (300 ml, 1/1), se lavó con agua (100 ml), HCl (0,1 N, 50 ml) y salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-40 %) para proporcionar el compuesto del título (9,6 g, 55 %) en forma de un aceite. CLEM: $T_r = 1,19$ min, $m/z = 479,2$ ($M+1$), Método 2m_acidic.



40 *Etapa 2: Ácido (2S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico.* A una solución de (2S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)piperidin-1,2-dicarboxilato de 1-(terc-butil)2-etilo (9,60 mg, 20,06 mmol) en THF:MeOH (3:1, 80 ml) a 0 °C se añadió lentamente una solución de hidróxido sódico (1 N,

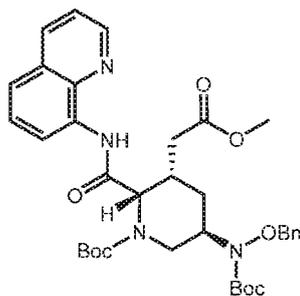
40 ml). Después de 5 h a ta, se añadió lentamente HCl (1 N, 41 ml), después se extrajo con EtOAc (300 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (8,78 g, 97 %) en forma de un sólido blando. CLEM: T_r = 1,05 min, m/z = 451,2 (M+1), Método 2m_acidic.



5

Etapa 3: (2S,5R)-5-((Benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de ácido (2S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico (6,010 g, 13,34 mmol) en DCM (100 ml) a 0 °C se añadió quinolin-8-amina (2116 mg, 14,67 mmol), seguido de DIPEA (4,66 ml, 26,7 mmol) y HATU (6,087 g, 16,01 mmol). Después de agitar en una atmósfera de argón a ta durante 2,5 h, la mezcla se vertió en agua (150 ml) y se extrajo con DCM (100 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-Heptano, 10-40 %), proporcionando el compuesto del título (6,60 g, 86 %) en forma de un sólido blando. CLEM: T_r = 1,22 min, m/z = 577,3 (M+1), Método 2m_acidic.

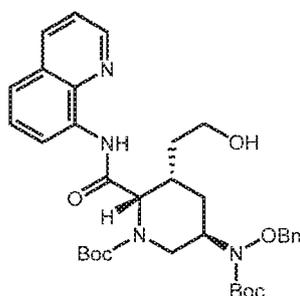
15



Etapa 4: (2S,3S,5R)-5-((Benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(2-metoxi-2-oxoetil)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (2S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (5,580 g, 9,68 mmol) en 2-metil-2-butanol (95 ml) se añadieron hidrogenofosfato de dibencilo (538 mg, 1,94 mmol), carbonato de plata (5,336 mg, 19,35 mmol), acetato de Pd (II) (434 mg, 1,94 mmol) y 2-bromoacetato de metilo (2,83 ml, 29,0 mmol). La mezcla se purgó con argón, se cerró herméticamente y se calentó a 110 °C durante 20 h. Se añadieron más acetato de Pd(II) (217 mg, 0,97 mmol) y 2-bromoacetato de metilo (1,88 ml, 19,36 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 110 °C durante 20 h más. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con DCM (100 ml), se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-Heptano, 0-35 %) para proporcionar el compuesto del título (2,170 g, 35 %) en forma de un aceite viscoso. CLEM: T_r = 1,26 min, m/z = 649,3 (M+1), Método 2m_acidic.

20

25

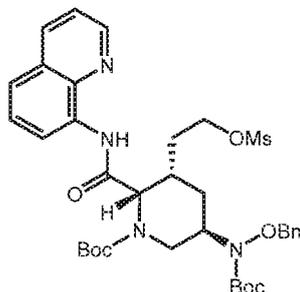


30

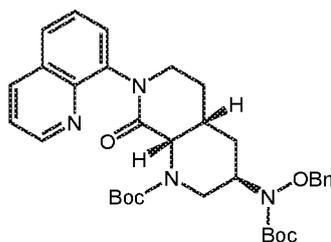
Etapa 5: (2S,3S,5R)-5-((Benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(2-hidroxi-etil)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (2S,3S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(2-metoxi-2-oxoetil)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (2,40 g, 3,70 mmol) en THF (60 ml) a 0 °C se añadió súper-hidruro (1,0 M en THF, 18,50 ml, 18,5 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 5 h, se añadió AcOH (50 % ac., 10 ml), seguido de NH₄Cl saturado (30 ml) y EtOAc (150 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-Heptano, 10-60 %) para proporcionar el compuesto del título (680 mg,

35

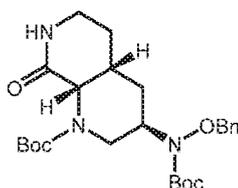
30 %). CLEM: $T_r = 1,16$ min, $m/z = 621,1$ (M+1), Método 2m_acidic.



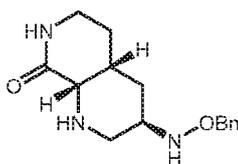
- 5 **Etapa 6:** (2S,3S,5R)-5-((Benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(2-((metilsulfonilo)xi)etil)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (2S,3S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(2-hidroxi)etil)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (680 mg, 1,10 mmol) en diclorometano (20 ml) a 0 °C se añadieron trietilamina (0,30 ml, 2,19 mmol) y cloruro de metilsulfonilo (0,17 ml, 2,19 mmol). Después de agitar durante 20 h a ta, la mezcla se diluyó con agua (20 ml) y EtOAc (100 ml) y se agitó durante 5 min más, tras lo cual las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con NaH_2PO_4 (1,0 M, 2x40 ml) y salmuera (30 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío, proporcionando el compuesto del título (rendimiento cuantitativo) en forma de un sólido blando. CLEM: $T_r = 1,22$ min, $m/z = 699,4$ (M+1), Método 2m_acidic.



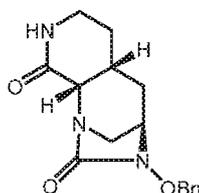
- 15 **Etapa 7:** (3R,4aR,8aS)-3-((Benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-8-oxo-7-(quinolin-8-il)octahidro-1,7-naftiridin-1(2H)-carboxilato de terc-butilo. A una solución de (2S,3S,5R)-5-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-3-(2-((metilsulfonilo)xi)etil)-2-(quinolin-8-ilcarbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (690 mg, 0,99 mmol) en THF (16 ml) a 0 °C se añadió LDA (1,0 M en THF/hexano, 1,97 ml). Después de agitar a 0 °C durante 2,5 h, se calentó a ta y se agitó durante una noche. Se añadió una solución saturada de NH_4Cl (20 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (80 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-Heptano, 30-80 %) para proporcionar el compuesto del título (680 mg, 45 %) en forma de un sólido blando. CLEM: $T_r = 1,03$ min, $m/z = 603,4$ (M+1), Método 2m_acidic.



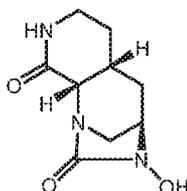
- 30 **Etapa 8:** (3R,4aR,8aS)-3-((Benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-8-oxooctahidro-1,7-naftiridin-1(2H)-carboxilato de terc-butilo. Una solución de (3R,4aR,8aS)-3-((benciloxi)(terc-butoxicarbonil)amino)-8-oxo-7-(quinolin-8-il)octahidro-1,7-naftiridin-1(2H)-carboxilato de terc-butilo (270 mg, 0,448 mmol) en DCM seco (15 ml) a -78 °C se roció con O_3 hasta que persistió un color azul, tras lo cual se retiró la línea de rociado. Después de agitar a -78 °C durante 45 min, el color azul desapareció y se roció de nuevo con O_3 hasta que persistió el color azul. Después de 15 min de agitación, el sistema se roció con O_2 hasta que se quedó incoloro. A la solución se añadió sulfuro de dimetilo (100 μl , 1,36 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla se concentró al vacío. El residuo se disolvió de nuevo en THF (5 ml) y se añadió NH_4OH (25 % ac., 5 ml). Después de agitar durante 16 h, la mezcla se diluyó con EtOAc (50 ml) y la capa orgánica se lavó con agua (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc-Heptano, 70-100 %) para proporcionar el compuesto del título (96 mg, 45 %) en forma de un sólido. CLEM: $T_r = 1,00$ min, $m/z = 476,2$ (M+1), Método 2m_acidic.



5 *Etapa 9: (3R,4aR,8aS)-3-((benciloxi)amino)octahidro-1,7-naftiridin-8(2H)-ona.* A una solución de (3R,4aR,8aS)-3-((benciloxi)(*tert*-butoxicarbonil)amino)-8-oxooctahidro-1,7-naftiridin-1(2H)-carboxilato de *tert*-butilo (120 mg, 0,252 mmol) en DCM (3 ml) a 0 °C se añadió lentamente TFA (1,5 ml). Después de 3 h a 0 °C, después ta durante 1 h, se concentró al vacío (temp. del baño <30 °C). El residuo se recogió en DCM:EtOH (5:1, 30 ml) y se añadió Na₂CO₃ (2 M, 10 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM:EtOH (5:1,2 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 10-25 %) para proporcionar el compuesto del título (60 mg, 86 %) en forma de un sólido. CLEM: T_r = 0,58 min, m/z = 276,1 (M+1), Método 2m_acidic.

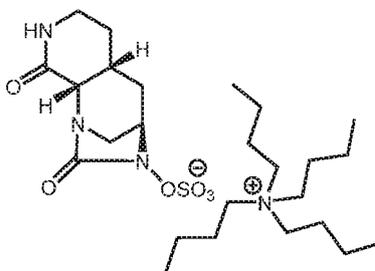


15 *Etapa 10: (4R,5aR,9aS)-3-(benciloxi)hexahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-2,9(3H,6H)-diona.* A una solución de (3R,4aR,8aS)-3-((benciloxi)amino)octahidro-1,7-naftiridin-8(2H)-ona (56 mg, 0,20 mmol) en ACN (21 ml) a 0 °C en una atmósfera de N₂ se añadió DIPEA (140 µl, 0,81 mmol). Se añadió una solución de trifosgeno (24 mg, 0,08 mmol) en ACN (3 ml) mediante una bomba de jeringa (0,1 ml/min). Después de agitar a 0 °C durante 6 h, se concentró parcialmente (~10 ml) al vacío, se diluyó con DCM (40 ml), se lavó con agua (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (MeOH-DCM, 0-5 %) para proporcionar el compuesto del título (50 mg, 82 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CLEM: T_r = 0,65 min, m/z = 302,0 (M+1), Método 2m_acidic.



25 *Etapa 11: (4R,5aR,9aS)-3-hidroxihexahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-2,9(3H,6H)-diona.* Una suspensión de (4R,5aR,9aS)-3-(benciloxi)hexahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-2,9(3H,6H)-diona (50 mg, 0,17 mmol) y Pd-C (10 %, tipo Degussa 101, 50 % de agua, 27 mg) en MeOH:DCM (3:1, 4 ml) se evacuó y se cargó de nuevo con H₂. Después de 2 h de agitación vigorosa, se filtró a través de un lecho de celite, lavando con MeOH, y se concentró al vacío. CLEM: T_r = 0,20 min, m/z = 212,0 (M+1), Método 2m_acidic.

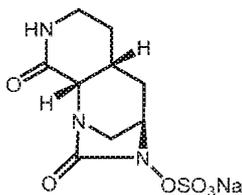
30



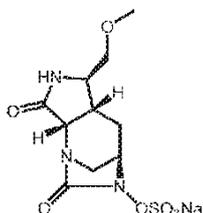
35 *Etapa 12: (4R,5aR,9aS)-2,9-Dioxooctahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-3(2H)-ilsulfato de tetrabutilamonio.* A una suspensión de (4R,5aR,9aS)-3-hidroxihexahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-2,9(3H,6H)-diona en bruto (35 mg, 0,17 mmol) en piridina (3 ml) a 0 °C se añadió SO₃·Py (132 mg, 0,83 mmol). Después de agitación vigorosa a ta durante 20 h, la suspensión se filtró y el sólido se lavó con DCM frío (5 ml). El filtrado se concentró al vacío (temp. del baño <30 °C) y el residuo en bruto se disolvió en NaH₂PO₄ (1 M, 10 ml), tras lo cual se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (84 mg, 0,25 mmol). Después de 30 min se extrajo con CHCl₃:IPA (4:1, 3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (MeOH-DCM, 5-20 %) para proporcionar el compuesto del título en forma de

40

una espuma de color blanco. CLEM: $T_r = 0,15$ min, $m/z = 292,0$ ($M+1$), Método 2m_acidic.

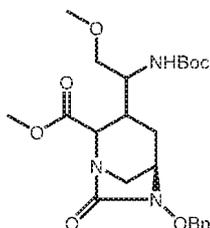


- 5 **Etapa 13:** (4R,5aR,9aS)-2,9-Dioxooctahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-3(2H)-ilhidrogenosulfato sódico. Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se acondicionó agitando con NaOH (2 N) durante 2 h. La resina se cargó sobre una columna de vidrio y se lavó con agua (hasta $\text{pH} \approx 6$), seguido de agua:acetona (1:1). Se cargó (4R,5aR,9aS)-2,9-dioxooctahidro-1,4-metanopirido[3,4-d][1,3]diazepin-3(2H)-ilsulfato de tetrabutilamonio (228 mg, 0,408 mmol) en acetona:agua (1:1) y se pasó a través de la columna, eluyendo con agua (20 ml), después acetona:agua (1:4, 30 ml). La muestra se liofilizó para proporcionar el compuesto del título (28 mg, 52 %) en forma de un sólido de color blanco. CLEM: $T_r = 0,29$ min, $m/z = 291,8$ ($M+1$). Método T3_3m_polar; RMN ^1H (500 MHz, D_2O) δ 4,31(m, 1H), 4,09 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 3,55 (td, $J = 12,8, 4,3$ Hz, 1H), 3,26-3,34 (m, 2H), 2,87 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 2,55-2,64 (m, 1H), 2,21-2,30 (m, 1H), 1,99-2,09 (m, 1H), 1,80-1,88 (m, 1H), 1,72-1,79 (m, 1H).



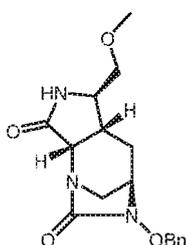
- 15 **Ejemplo 8.** (4R,5aS,6R,8aS)-6-(Metoximetil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilhidrógenosulfato sódico

- 20 **Etapa 1:** (5R)-6-(Benciloxi)-3-(1-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-metoxietil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo (mezcla de diaestereoisómeros).



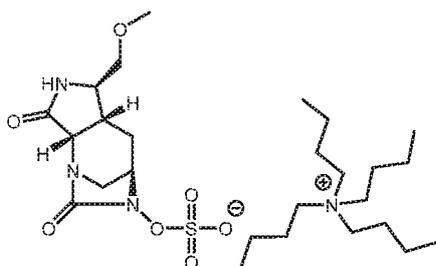
- 25 El Intermedio C (1,10 g, 3,82 mmol), Boc-L-Ser(OMe)-OH (1,04 g, 4,58 mmol) e $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (43 mg, 0,04 mmol) se disolvieron en DMF (16 ml). A la solución se añadió fosfato potásico dibásico finamente molido (0,62 g, 4,58 mmol) y la suspensión resultante se agitó y se irradió durante 12 días con una lámpara Kessil H150-Blue desde una distancia de ≤ 2 cm. Después de 3 y después de 9 días, se añadió $\text{Ir}[\text{df}(\text{CF}_3)\text{ppy}_2(\text{dtbpy})]\text{PF}_6$ (43 mg, 0,04 mmol) (total de 3 %mol de catalizador). A la mezcla de reacción se añadió agua (15 ml), seguido de NaHCO_3 saturado (ac., 15 ml), que después se extrajo con TBME (3 x 60 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, dando como resultado en el compuesto del título (1,85 g) en forma de un aceite de color amarillo que consistía en 4 diaestereoisómeros (proporción 39:16:11:34). CLEM: $T_r = 1,02$ min, 1,05 min, 1,08 min, 1,12 min todos con $m/z = 464$ ($M+1$), LCMS_2 MIN_REACTION_MONITORING.

- 35 **Etapa 2:** (4R,5aS,6R,8aS)-3-(benciloxi)-6-(metoximetil)hexahidro-2H-1,4-metanopirrolo[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(3H)-diona.

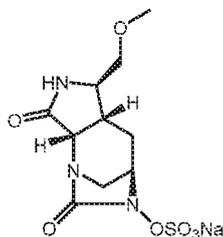


A una solución de (5R)-6-(benciloxi)-3-(1-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-metoxietil)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo (1,85 g, 4,0 mmol) en DCM (60 ml) a 0 °C se añadió gota a gota TFA (15,4 ml, 200 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 1,5 h, después se concentró al vacío. El residuo en bruto se disolvió en DCM (60 ml), después se añadió gota a gota trietilamina (11,1 ml, 80 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante una noche, tras lo cual se concentró para formar un aceite rojizo (6,8 g). Se añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con TBME (3 x 80 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para producir un aceite de color amarillo (1,13 g). La fase acuosa se saturó con NaCl (s) y se extrajo adicionalmente con DCM (3 x 80 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para producir más cantidad de producto en bruto (0,95 g). El producto en bruto combinado se purificó por HPLC cromatografía (Sunfire-C18, 5µm, 50 x 250 mm, agua/ACN + 0,1 % de TFA, 100 ml/min, 18-38 % de 21 min, total 35 min) donde el pH de las fracciones se ajustó a 6,9 mediante la adición de NaHCO₃ saturado (ac.) y se liofilizó para proporcionar un residuo de color pardo claro (0,59 g). Este residuo se disolvió en ACN/agua y se purificó en un cartucho C18 (ACN-agua), tras lo cual el material liofilizado proporcionó el compuesto del título (62 mg, 4,1 %, 3 etapas). CLEM: T_r = 0,70 min, m/z = 332 (M+1), LCMS_2_MIN_REACTION_MONITORING.

Etapa 3: (4R,5aS,6R,8aS)-3-hidroxi-6-(metoximetil)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona. Se disolvió (4R,5aS,6R,8aS)-3-(benciloxi)-6-(metoximetil)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona (59 mg, 0,178 mmol) en MeOH:DCM (1:1, 1,78 ml). La mezcla se purgó con nitrógeno, se añadió Pd-C (10 %, tipo Degussa, 101, 50 % de agua, 37,9 mg, 0,018 mmol), después se dejó en una atmósfera de H₂ a durante 90 min. La mezcla se filtró a través de celite, eluyendo con DCM:MeOH (1:1) y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (49 mg, cuantitativo) en forma de un sólido incoloro. CL/EM: T_r = 0,12 min; m/z = 242,0 (M+1). Método 2m_acidic.



Etapa 4: (4R,5aS,6R,8aS)-6-(Metoximetil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio. A una solución de (4R,5aS,6R,8aS)-3-hidroxi-6-(metoximetil)hexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-2,8(8aH)-diona (42 mg, 0,174 mmol) en piridina (1,85 ml) se añadió SO₃piridina (139 mg, 0,870 mmol). La mezcla se agitó durante 18 h, después se filtró a través de una membrana de filtro y se concentró al vacío (temp. del baño < 30 °C). El residuo en bruto se disolvió en NaH₂PO₄ saturado y se lavó con EtOAc. Las capas se separaron y a la fase acuosa se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (89 mg, 0,261 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos, después se extrajo con DCM, se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH-DCM, 0-30 %), proporcionando el compuesto del título (57 mg, 58 %) en forma de una película incolora. CL/EM: T_r = 0,12 min; m/z = 322,0 (M+1), Método 2m_acidic.



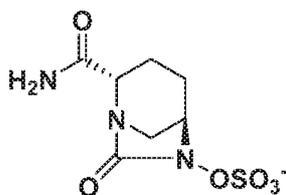
Etapa 5: (4R,5aS,6R,8aS)-6-(Metoximetil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilhidrogenosulfato sódico. Una DOWEX 50Wx8, forma de hidrógeno, malla 200-400, se agitó con NaOH (2 N) durante 3 h, después se cargó en una columna y se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fue ~6, seguido de lavado con agua-acetona (1:1). Se disolvió (4R,5aS,6R,8aS)-6-(metoximetil)-2,8-dioxohexahidro-2H-1,4-metanopirrol[3,4-d][1,3]diazepin-3(4H)-ilsulfato de tetrabutilamonio (57 mg, 0,101 mmol) en acetona-agua (1:1) y se pasó a través de la columna, eluyendo con 1:1 de acetona/agua. Las fracciones se concentraron al vacío y se liofilizaron para proporcionar el producto deseado (27 mg, 70 %) en forma de un polvo incoloro. CL/EM: T_r = 0,41 min; m/z = 321,9 (M+1). Método T3_3m_polar; RMN ¹H (500 MHz, D₂O) δ = 4,30 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,24 (s a, 1H), 3,60-3,56 (m, 1H), 3,56-3,45 (m, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,38-3,34 (m, 1H), 2,97 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 2,67 (c, J = 8,4 Hz, 1H), 2,64-2,56 (m, 1H), 1,72 (dd, J = 14,7, 8,4 Hz, 1H).

Prueba de susceptibilidad

Se determinaron las CIM mediante el método de microdilución en caldo de acuerdo con las pautas del Instituto Clínico y de Laboratorios (CLSI, *Clinical and Laboratories Institute*). En síntesis, se suspendieron cultivos bacterianos recién preparados durante la noche en solución salina estéril y se ajustaron a un patrón de turbidez de 0,5 McFarland. Las suspensiones bacterianas se diluyeron en caldo Mueller-Hinton ajustado con cationes (MHB II; BBL) para producir un inóculo final de aproximadamente 5×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Se preparó una placa maestra de antibióticos a una concentración equivalente a cien veces la concentración final más alta deseada en dimetilsulfóxido al 100 % (DMSO). La placa antibiótica maestra se diluyó luego mediante dilución doble en serie con una pipeta multicanal. La serie de dilución de los compuestos resultante se diluyó 1:10 con agua estéril o una solución de inhibidor de beta-lactamasa preparada a una concentración equivalente a once veces la concentración final de disred en agua desionizada que conduce a una concentración final de DMSO al 10 %. Se transfirió un volumen de 10 μ l de la serie de dilución del fármaco a placas de ensayo de 96 pocillos. Las placas de ensayo se inocularon con 90 μ l de suspensiones bacterianas y se incubaron a 35 °C durante 20 h. Las placas de ensayo se leyeron usando un lector de placas de microtitulación (Molecular Devices) a 600 nm, así como mediante observación visual con un espejo de lectura. La concentración más baja del compuesto que evitó el crecimiento visible se registró como la CIM. El rendimiento del ensayo se controló probando aztreonam contra cepas de control de calidad de laboratorio de acuerdo con las pautas del CLSI.

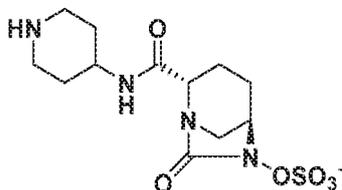
En las siguientes tablas, se mencionan los siguientes inhibidores de beta-lactamasa y antibióticos beta-lactámicos:

Inhibidor de beta-lactamasa 1: Avibactam



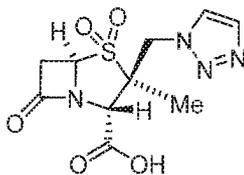
25

Inhibidor de beta-lactamasa 2: Relebactam



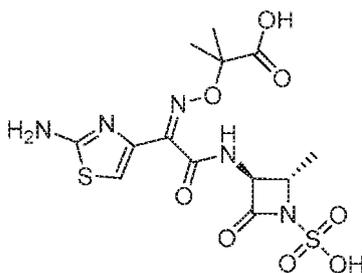
30

Inhibidor de beta-lactamasa 3: Tazobactam

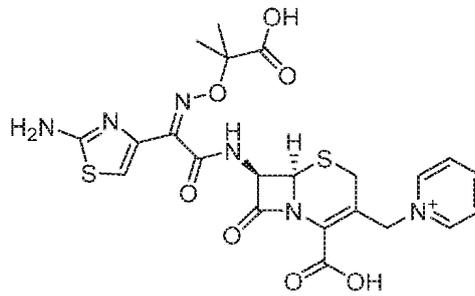


35

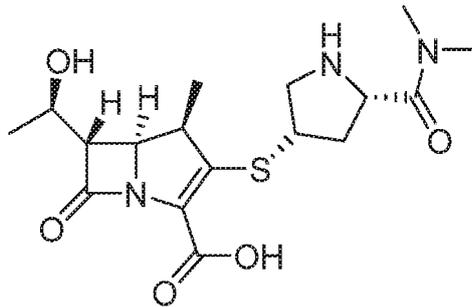
Beta-Lactama 1: Aztreonam



Beta-Lactama 2: Ceftazidima

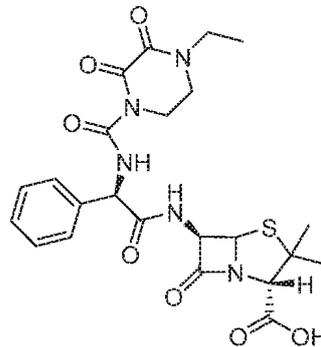


Beta-Lactama 3: Meropenem



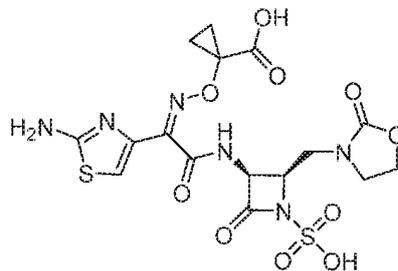
5

Beta-Lactama 4: Piperacilina



10

Beta-Lactama 5 (LYS228):



15 *Sinergia con beta-lactamas a través de la inhibición de beta-lactamasas*

Se evaluó la sinergia o potenciación de los antibióticos beta-lactámicos mediante la inhibición de las L-lactamasas frente a un panel isogénico de cepas de *E. coli*, cada una expresando una beta-lactamasa única y contra cepas clínicas.

20

Construcción de cepas isogénicas de *E. coli* NB27273-CDY0026 (original), NB27273-CDY0033 (KPC-2), NB27273-CDY0030 (SHV-12), NB27273-CDY0034 (CTX-M-15) y NB27273-CDY0036 (AmpC).

25 La cepa NB27273 (BW25113 *pspB*::Km^r) se obtuvo de la colección de inserciones de transposones Keio. La cepa tiene el gen *pspB* reemplazado por un marcador de resistencia a la kanamicina (BW25113 *pspB*::Km^r). Esta cepa se curó del transposón en *pspB* a través de recombinasa FLP usando la metodología publicada. La cepa resultante,

BW25113 *pspB*, se usó como hospedadora para vectores multicopia que expresaban beta-lactamasas clave. Los plásmidos multicopia que dirigen la expresión constitutiva de las beta-lactamasas se establecieron de la siguiente manera: Se crearon genes con optimización de codones, sintéticos, codificantes de las beta-lactamasas KPC-2, SHV-12 y CTX-M-15 de *E. coli* con DNA2.0 (Palo Alto, CA). Cada uno de los fragmentos sintéticos fue diseñado para contener sitios de restricción de NotI y NcoI en sus extremos, permitiendo la ligadura en un derivado de pET28a (+) digerido con NotI/NcoI para la expresión de proteínas. Las inserciones en estos vectores sirvieron como molde de ADN para la amplificación por PCR de los genes codificantes de KPC-2, SHV-12 y CTX-M-15 usando los pares de cebadores E225 (tcgcCTCGAGgcgactcgctgacgaattgg) (SEQ ID NO: 1) y E202 (aatcGAATTCtactgaccattaacgccaagc) (SEQ ID NO: 2) y E227 (tcgcCTCGAGgcgagcccgcaccgctgga) (SEQ ID NO: 3) y E204 (aatcGAATTCtaacgctgccagtgtcaatc) (SEQ ID NO: 4) y E226 (cgctCTCGAGagcgtcccgtgtacgcacaaaagc) (SEQ ID NO: 5) y E203, (aatcGAATTCtacagaccgtcggtgacaatc) (SEQ ID NO: 6), respectivamente. A continuación, se muestran las secuencias de nucleótidos con optimización de codones y la información relevante de reconocimiento de cebadores:

15 **KPC-2**

ATGGGCCATCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCGCGACTGCGCT
GA

CGAATTTGGTGGCCGAGCCGTTTCGCGAAATTGGAGCAAGATTTTGGTGGTTCGATCGGTGTCTACGCG
AT

GGACACCGGTAGCGGTGCCACCGTGAGCTACCGTGCCGAAGAGCGTTTTCCGCTGTGTAGCTCTTTCA
AG

GGTTTTCTGGCCGAGCCGTGCTGGCACGCAGCCAACAGCAAGCGGGCCTGCTGGACACCCCGATCCG
TT

ACGGCAAAAATGCGCTGGTTCGGTGGAGCCCGATTAGCGAAAAGTACCTGACCACCGGCATGACGGTG
GC

GGAGTTGAGCGCTGCGGCGGTTTCAGTATTCCGATAACGCTGCGGCAAATCTGCTGCTGAAAGAAGTGG
GC

GGTCCAGCGGGTCTGACGGCTTTTCATGCGTTCATTGGCGACACCCTTTCCGCTTGGACCGCTGGGA
GC

TGGAGCTGAACAGCGCGATTCCGGGCGACGCACGTGATACGAGCAGCCCGCTGCAGTGACCGAGAGC
CT

GCAGAAGCTGACCCTGGGCAGCGCACTGGCCGCACCGCAGCGCAACAGTTCGTCGATTGGCTGAAGG
GT

AACACCACCGGTAACCATCGTATTTCGCGCAGCGGTCCCGCTGATTGGGCAGTTGGTGACAAAGACTGG
TA

CGTGCGGCGTTTATGGTACGGCGAATGACTACGCGGTTGTTTGGCCTACGGGTTCGTGCGCCGATCGTC
CT

GGCGGTGTATACCCGTGCTCCGAACAAAGACGATAAACACTCCGAAGCGGTCATCGCCGCAGCAGCGC
GT

CTGGCCCTGGAAGGCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAACGCCGGC (SEQ ID NO:7)

20 E225 TCGCCTCGAGGCGACTGCGCTGACGAATTTGG (SEQ ID NO: 8)
 E202 AATCGAATTCCTACTGACCATTAACGCCCAAGC (SEQ ID NO: 9)
 REV. COMP. E202 GCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAAGAATTTCGATT (SEQ ID NO: 10)
SUBRAYADO = ADN CODIFICANTE DE BL

25 **SHV-12**

ES 2 801 874 T3

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCGCGAG
CCCGCAACCGCTGGAGCAGATCAAGCAGTCTGAGAGCCAGCTGAGCGGCCGTGTGGGTATGATCGAGA
TGGATCTGGCTTCCGGCCGTACGCTGACGGCATGGCGTGCCGACGAACGTTTCCCGATGATGTCGACC
TTTAAAGTTGTTCTGTGTGGTGC GGTC TTGGCACGTGTAGACGCGGGTGACGAACA ACTGGAGCGCAA
GATCCATTACCGCCAACAGGACTTGGTCGACTACAGCCCGTTAGCGAAAAGCACCTGGCGGATGGCA

TGACCGTGGGTGAATTGTGCGCCGCTGCGATTACCATGAGCGACAATAGCGCGGCTAATCTGCTGTTG
GCGACCGTTGCTGCCCCAGCGGGCTTGACCCGATTTCTGCGTCAAATCGGCGATAATGTTACGCGTCT
GGATCGCTGGGAAACGGAGCTGAACGAGGCACTGCCGGGTGATGCCCGTGATACCACGACTCCTGCTA
GCATGGCAGCGACCCTGCGTAAACTGCTGACCAGCCAGCGTCTGAGCGCACGTAGCCAACGCCAGCTG
CTGCAATGGATGGTGGATGACCGCGTGGCGGGTCCGCTGATCCGCTCCGTCCTGCCAGCAGGCTGGTT
CATTGCGGACAAA ACTGGTGCCTCTAAGCGTGGTGC GCGTGGTATCGTCGCGCTGCTGGGTCCGAACA
ACAAAGCCGAACGTATTGTGGTTATCTATCTGCGGACACCCCGCAAGCATGGCCGAGCGCAACCAG
CAAATTGCGGGCATTGGTGC GGC ACTGATTGAGCACTGGCAGCGTTAACGCCGCG (SEQ ID

NO:11)

E227 TCGCCTCGAGGCGAGCCCGCAACCGCTGGA (SEQ ID NO:12)

E204 AATCGAATTC TTAACGCTGCCAGTGCTCAATC (SEQ ID NO:13)

REV. COMP. E204 GATTGAGCACTGGCAGCGTTAAGAATTCGATT (SEQ ID NO:14)

CTX-M-15

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCGAGCGT
CCCGCTGTACGCACAAACGGCCGACGTGCAACAGAAACTGGCGGAGTTGGAACGTCAGAGCGGTGGCC
GTTTGGGTGTAGCCCTGATCAATACCGCGGACAATAGCCAAATTTCTGTATCGTGCGGACGAACGCTTC
GCGATGTGCAGCACGAGCAAGGTGATGGCCGCTGCGGCCGTTCTGAAGAAATCCGAGAGCGAGCCGAA
CTTGCTGAATCAGCGCGTTGAGATCAAGAAGTTCGGATCTGGTGA ACTATAAC CCTATCGCGGAAAAAC
ATGTCAACGGCACCATGTCCCTGGCAGAGCTGAGCGCGGCTGCGTTGCAGTACTCTGATAACGTCGCA
ATGAATAAACTGATCGCACACGTCGGTGGCCAGCAAGCGTGACCGCCTTTGCGCGTCAACTGGGCGA
TGAAACTTTTCGTCTGGATCGTACCGAACCGACCCTGAATACGGCAATTCGGGTGATCCGCGCGACA
CGACGAGCCCGGTGCAATGGCACAGACCCTGCGCAACCTGACCCTGGGTAAAGCGCTGGGCGATAGC
CAACGTGCGCAGCTGGTTACGTGGATGAAGGGTAACACCACCGGTGCGGCCAGCATTCAAGCGGGCCT
GCCGGCCAGCTGGGTTGTTGGTGATAAACTGGCTCCGGTGGTTATGGTACCACGAATGACATCGCGG
TTATTTGGCCGAAGGACCGTGC GCGCTTGATCCTGGTGACCTACTTCACCCAGCCG CAGCCGAAAGCT
GAGTCTCGCCGTGACGTGCTGGCGAGCGCAGCTAAGATTGTCACCGACGGTCTGTAAACGCCGCGG

5

E226 cgctCTCGAGagcgtcccgtgtacgcacaaacg (SEQ ID NO:15)

E203, aatcGAATTCttacagaccgtcggtgacaatc (SEQ ID NO:16)

10 El gen codificante de AmpC se amplificó por PCR a partir del genoma de la cepa de *P. aeruginosa* PAO1 (NB52019) (GenBank ID U5R279) usando el par de cebadores E252 (gccCTCGAGggcgaggccccggcgatgc) (SEQ ID NO: 17) and E253 (tgaGAATTCttagcgttcagcgacact) (SEQ ID NO: 18).

15 Después, se digirieron los productos de PCR con XhoI y EcoRI, y se ligaron en el plásmido pAH63-pstS(BlaP) digerido de manera similar. El plásmido pAH63-pstS(BlaP) es un derivado del plásmido pAH63 (*J Bacteriol.*183(21): 6384-6393) creado mediante la clonación del promotor TEM-1 (*bla*) y la región codificante del péptido señal del plásmido pBAD (*J Bacteriol.* Julio de 1995. 177(14):4121-30) en el plásmido pAH63. Este fragmento se amplificó por PCR a partir de pBAD usando el par de cebadores E192 (ttcaCTGCAGtgaacgttgcaagcaacggc) (SEQ ID NO:19) y E194

(TCGAggatcctcgagagcaaaaacaggaaggcaaaatgccg) (SEQ ID NO:20), se digirió con PstI y BamHI, y se insertó en el plásmido digerido de manera similar pAH63. Por lo tanto, la expresión de beta-lactamasas a partir de construcciones basadas en pAH63-pstS(BlaP) es constitutiva, y se proporciona la secuencia señal para dirigir estas proteínas al periplasma. Los vectores basados en el plásmido pAH63 se usan para la inserción en el genoma en una sola copia, sin embargo, para proporcionar niveles de expresión más altos que permitieran una detección más sensible de la susceptibilidad de los compuestos a las beta-lactamasas expresadas, se trasladaron las inserciones de expresión contenidas en estos vectores al vector multicopia replicativo pBAD-Kan (*J Bacteriol.* Julio de 1995. 177(14):4121-30). Para conseguir esto, las inserciones que abarcan los genes de beta-lactamasa, con el promotor de TEM asociado y las secuencias de señal, se amplificaron por PCR a partir de sus vectores correspondientes usando el cebador E268 (ccgTCTAGAcggatggccttttgcgttc) (SEQ ID NO:21) y E202 (aatcGAATTCtactgaccattaacgccaagc) (SEQ ID NO:22) para la construcción KPC2, E204 (aatcGAATTCtaacgctgcccagtgctcaatc) (SEQ ID NO: 23) para la construcción SHV-12 y E203 (aatcGAATTCtacagaccgctggtgacaatc) (SEQ ID NO: 24) para la construcción CTX-M-15. Estos fragmentos se digirieron luego con XbaI y EcoRI, y cada uno fue insertado en pBAD18-kan que había sido digerido con las mismas enzimas para generar vectores multicopia que expresaran KPC-2, SHV-12 y CTX-M-15, respectivamente. Estos vectores se transformaron en BW25113 *pspB* para generar las cepas NB27273-CDY0033 (que expresan KPC-2), NB27273-CDY0030 (que expresan SHV-12), NB27273-CDY0034 (que expresan CTX-M-15) y NB27273-CDY0036 (que expresan AmpC). El vector pBAD18-kan también contiene la región promotora de TEM y la secuencia de señal, (pero carece de cualquier gen intacto de beta-lactamasa), y se transformó en BW25113 *pspB* usando protocolos convencionales para generar la cepa de control NB27273-CDY0026. La expresión de las beta-lactamasas se confirmó verificando la reducción de la susceptibilidad a los antibióticos de prueba de ejemplo que son sustratos conocidos de KPC-2, SHV-12, CTX-M-15 o AmpC.

Construcción de cepas isogénicas de *E. coli*, NB27273-CDY0105 (OXA-18) y NB27273-CDY0048 (TEM-10). El vector plasmídico para la expresión de OXA-18, fue construido de la siguiente manera: Life Technologies sintetizó los genes codificantes de GIM-1 (GenBank ID Q704V1) y OXA-18 (GenBank ID 007293) con secuencias flanqueantes de 5'-tgctctcgttttgcctcgcgag y gaattcgtagcccaaaaaaacgg-3' (SEQ ID NO: 25). El fragmento codificante de GIM-1 se digirió con XhoI y EcoRI y se insertó en la construcción de expresión de KPC-2 descrita anteriormente de la que se eliminó el gen codificante de KPC-2 mediante la digestión con XhoI y EcoRI. La secuenciación de nucleótidos confirmatoria reveló un sitio XhoI en la cadena principal del vector que luego se eliminó mediante mutagénesis dirigida usando el par de cebadores E396 (cgtctgctccaggccgattaaatcc) (SEQ ID NO: 26) y E397 (tcgcgccctggagcaagcgttc) (SEQ ID NO: 27). El gen codificante de OXA-18 se digirió luego con XhoI y EcoRI y se insertó en este vector, del que se había eliminado el gen para GIM-1 con XhoI y EcoRI.

Para generar un vector que expresara TEM-10, se usó el plásmido pBAD18 (*J Bacteriol.* Julio de 1995, 177(14):4121-30), que contiene el gen codificante de TEM-1, como molde para la mutagénesis dirigida basada en PCR para convertir el gen codificante de TEM-1 en un codificante de TEM-10. De este molde de ADN, se generaron tres fragmentos por PCR usando los siguientes pares de cebadores; B124 (tcacgtagcgtatagcggag) (SEQ ID NO: 28) y E387 (tggagccggaagcgtgggtctcgcggt) (SEQ ID NO: 28) para generar el fragmento A codificante de una sustitución E237K E389 (cgcgagaccacgcttaccggtccaga) (SEQ ID NO: 29) y E391 (ctcgccttgatgtgggaaccgga) (SEQ ID NO: 30) para generar el fragmento B codificante de las sustituciones E237K y R162S E393 (cggttccaactatcaaggcaggt) (SEQ ID NO: 31) y E289 (gacattgcccgtactgcgtct) SEQ ID NO: 32) para generar el fragmento C, también introduciendo una sustitución R162.

Luego se usaron los fragmentos A, B y C como molde para generar un gen completo codificante de TEM-10 de la siguiente manera:

Los fragmentos A y B se usaron como molde para la PCR usando los cebadores B124 (tcacgtagcgtatagcggag) (SEQ ID NO: 33) y E390 (gtaactgccttgatgtgggaaccgagctgaatgaagc) (SEQ ID NO: 34) para combinar los fragmentos A y B en el fragmento D

Los fragmentos B y C se usaron como molde para la PCR usando los cebadores E290 (gcgggaccaaagccatgaca) (SEQ ID NO: 35) y E388 (accgagaccacgcttaccggtccagattatcagcaataaacc) (SEQ ID NO: 36) para combinar los fragmentos B y C en el fragmento E

Finalmente, se usaron los fragmentos D y E como molde para la PCR usando los cebadores E395 (gtaaGAATTCttaccaatgcttaacagtgaggc) (SEQ ID NO: 37), E268 (ccgTCTAGAcggatggccttttgcgttc) (SEQ ID NO: 38) para combinar los fragmentos D y E en el producto codificante de TEM-10 intacto. Este fragmento se digirió luego con XbaI y EcoRI, y se insertó en pBAD-kan que también se cortó con las mismas enzimas.

Estos vectores finales para la expresión de OXA-18 y TEM-10 se transformaron en BW25113 *pspB* para generar las cepas NB27273-CDY0105 (que expresaba OXA-18) y NB27273-CDY0048 (que expresaba TEM-10). La expresión de beta-lactamasa se confirmó verificando la reducción de la susceptibilidad a los antibióticos de prueba ilustrativos que son sustratos conocidos de OXA-18 o TEM-10.

Tabla A: Concentraciones inhibitoras mínimas (CIM), en µg/ml de BLI seleccionados

BLI	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 43816	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Avibactam	16	32	>64
Relebactam	>64	>64	>64
Ejemplo 1	>64	>64	>64
Ejemplo 2	>64	>64	>64
Ejemplo 3	>64	>64	>64
Ejemplo 4	>64	>64	>64
Ejemplo 5	>64	>64	>64
Ejemplo 6	>64	>64	>64
Ejemplo 7	>64	>64	>64
Ejemplo 8	>64	>64	>64

5 La Tabla 1 anterior demuestra que, si bien algunos inhibidores de la beta-lactamasa, tales como avibactam, presentan actividad antibacteriana directa, los compuestos de Fórmula (A) muestran poca actividad directa.

10 Los siguientes datos demuestran el efecto de potenciación o actividad sinérgica de los compuestos de la invención, según lo ilustrado por el compuesto del Ejemplo 1, cuando se usa en combinación con distintos antibióticos beta-lactámicos. Como el compuesto del Ejemplo 1 no presenta mucha actividad antibiótica directa (véase la Tabla 1), la sinergia o potenciación se define en el presente documento como una reducción de cuatro veces o más en la CIM del antibiótico beta-lactámico causada por la presencia del compuesto de fórmula (A), en comparación con el antibiótico beta-lactámico solo. Preferentemente, las combinaciones de la invención presentan al menos una reducción de 8 veces en la CIM en comparación con el antibiótico beta-lactámico solo.

15 *Potenciación de la actividad (CIM en µg/ml) de aztreonam por inhibidores de beta-lactamasas en cepas isogénicas de E. coli que expresan beta-lactamasas individuales.*

AZTREONAM (AZ)	<i>E. coli</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA-18)
AZ solo	64	64	>64	64	4	>64
AZ + Ej 1 (2 µg/ml)	0,125	0,125	0,25	≤ 0,06	0,125	1
AZ + Avibactam (2 µg/ml)	0,125	0,25	1	0,125	≤ 0,06	1
AZ + Relebactam (2 µg/ml)	1	2	32	0,5	0,125	>64

20 *Potenciación de la actividad (CIM en µg/ml) de ceftazidima por inhibidores de beta-lactamasas en cepas isogénicas de E. coli que expresan beta-lactamasas individuales.*

CEFTAZIDIMA (Ceft)	<i>E. coli</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA-18)
Ceftazidima sola	4	>64	>64	16	4	>64
Ceft + Ej. 1 (2 µg/ml)	0,125	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5
Ceft + Avibactam (2 µg/ml)	0,25	1	0,5	0,25	0,125	0,5
Ceft + Relebactam (2 mg/ml)	0,25	8	8	0,5	0,125	>64

Potenciación de la actividad (CIM en µg/ml) de meropenemo por inhibidores de beta-lactamasas en cepas isogénicas de *E. coli* que expresan beta-lactamasas individuales.

MEROPENEMO (Mero)	<i>E. coli</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA-18)
Mero solo	1	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06
Mero + Ex. 1 (2 µg/ml)	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06
Mero + Avibactam (2 µg/ml)	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06
Mero +Relebactam (2 µg/ml)	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06	≤ 0,06

5 Potenciación de la actividad (CIM en µg/ml) de piperacilina por inhibidores de beta-lactamasas en cepas isogénicas de *E. coli* que expresan beta-lactamasas individuales.

Piperacilina (Pip)	<i>E. coli</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA-18)
Pip sola	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Pip + Tazobactam (4 µg/ml)	>32	4	32	4	8	8
Pip + Avibactam (2 µg/ml)	4	2	4	4	4	2
Pip + Relebactam (2 µg/ml)	4	>32	>32	16	4	>32
Pip + Ej. 1 (2 µg/ml)	4	2	2	2	8	2
Pip + Ej. 2 (2 µg/ml)	2	4	4	4	8	4
Pip + Ej. 3 (2 µg/ml)	2	4	2	4	8	4
Pip + Ej. 4 (4 µg/ml)	2	4	4	2	4	ND
Pip + Ej. 5 (4 µg/ml)	1	2	2	2	16	ND
Pip + Ej. 6 (4 µg/ml)	2	4	4	4	4	ND
Pip + Ej. 7 (2 µg/ml)	2	2	4	4	8	8
Pip + Ej. 8 (4 µg/ml)	4	4	4	2	4	ND

10 Potenciación de la actividad (µg/ml) de Beta-Lactama 5 por inhibidores de beta-lactamasas en cepas isogénicas de *E. coli* que expresan beta-lactamasas individuales.

Beta-Lactama 5 (5)	<i>E. coli</i> (KPC-2)	<i>E. coli</i> (TEM-10)	<i>E. coli</i> (SHV-12)	<i>E. coli</i> (CTX-M-15)	<i>E. coli</i> (AmpC)	<i>E. coli</i> (OXA-18)
Beta-Lactama 5 sola	0,25	2	0,5	0,125	0,25	0,5
5 + Ej. 1 (2 µg/ml)	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25	0,25
5 + Avibactam (2 µg/ml)	0,125	0,125	0,125	0,25	0,125	0,125
5 + Relebactam (2 µg/ml)	0,125	0,25	0,125	0,25	0,25	0,25

Potenciación de la actividad (µg/ml) de aztreonam por inhibidores de beta-lactamasas en aislados clínicos resistentes a beta-lactamas.

AZTREONAM	NB29323 de <i>K. pneumoniae</i> (CTX-M-15, OXA-48, VEB-1)	NB25044 de <i>Enterobacter cloacae</i> (CTX-M-12, ACT, KPC-2)
Aztreonam solo	>64	>64
AZ +Ej. 1 (2 µg/ml)	0,25	4
AZ + Avibactam (2 µg/ml)	2	8
AZ + Relebactam (2 µg/ml)	8	>64

5

Potenciación de la actividad (µg/ml) de la piperacilina por inhibidores de beta-lactamasas en aislados clínicos resistentes a beta-lactamas.

PIPERACILINA	NB29082 de <i>K. pneumoniae</i> (KPC-2)	NB25055 de <i>Enterobacter cloacae</i> (CMY-2)	NB01437 de <i>S. aureus</i> (BLA+)
Piperacilina	>64	>64	64
Pip + Tazobactam (4 µg/ml)	>64	64	1
Pip + Ej. 1 (2 µg/ml)	8	4	1

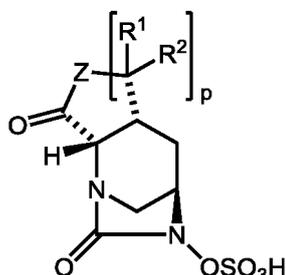
10

Estos datos demuestran que la potenciación de los compuestos de la invención es similar o superior a la de algunos inhibidores de beta-lactamasas usados en la clínica cuando se usan en combinación con antibióticos beta-lactámicos comerciales para tratar infecciones causadas por bacterias que son resistentes a algunos antibióticos beta-lactámicos conocidos.

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (A):



5

en la que p es 1 o 2;

10 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre halo, CN, -OR, oxo y -NRR';
Z es NR^3 o $N-OR^3$;

R^3 se selecciona, independientemente en cada caso, entre H, Cy y alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre Cy, halo, CN, -OR y -NRR';

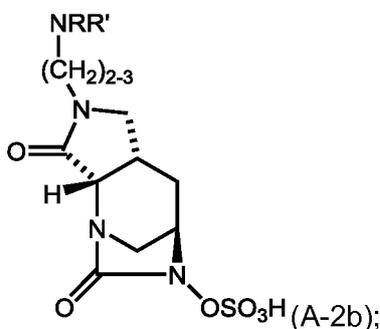
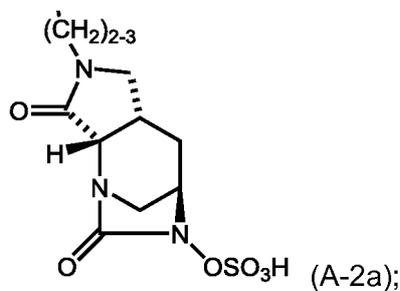
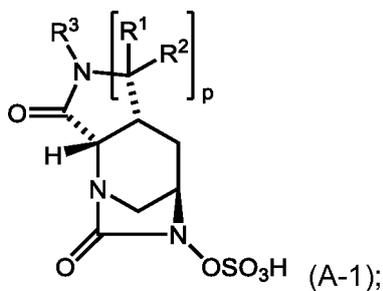
15 Cy es un anillo cicloalquilo C_3-C_6 o anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo, y Cy está opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre oxo, halo, alquilo C_1-C_2 , CN, -OR y -NRR'; y R y R' se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_4 opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, -OH, -CN, -O-(alquilo C_1-C_4), oxo, - NH_2 , -NH(alquilo C_1-C_4) y -N(alquilo C_1-C_4)₂,

20 o R y R', tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos, pueden formar un anillo seleccionado entre piperidina, morfolina, pirrolidina y azetidina, en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C_1-C_2 , -OH, -CN, -O-(alquilo C_1-C_4), oxo, - NH_2 , -NH(alquilo C_1-C_4) y -N(alquilo C_1-C_4)₂;

o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

25

2. El compuesto de la reivindicación 1, que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas:

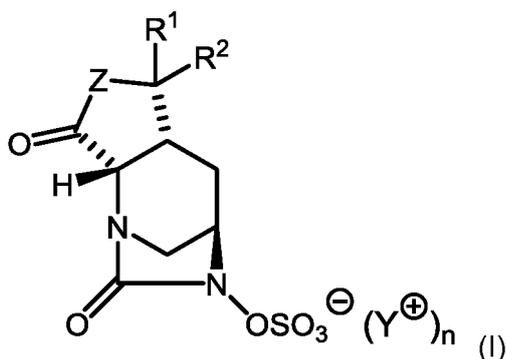


30

o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

3. Un compuesto de la reivindicación 1, que es un compuesto de Fórmula (I):

35



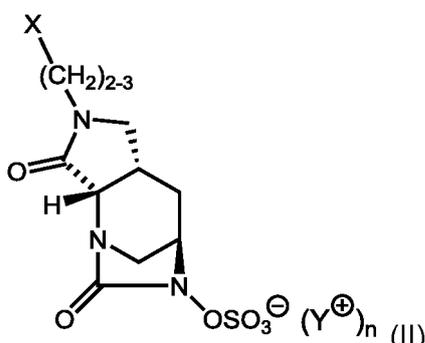
en la que:

- 5 R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre halo, CN, -OR, oxo y -NRR';
Z es NR³ o N-OR³;
R³ se selecciona, independientemente en cada caso, entre H, Cy y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre Cy, halo, CN, -OR y -NRR';
- 10 Cy es un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo, y Cy está opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre oxo, halo, alquilo C₁-C₂, CN, -OR y -NRR'; y
R y R' se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂,
15 o R y R', tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos, pueden formar un anillo seleccionado entre piperidina, morfolina, pirrolidina y azetidina, en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂;
Y es un grupo catiónico;
20 n es 0 o 1; y
cuando n es 0, el compuesto de Fórmula I es una forma zwitteriónica.

4. El compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 3, en el que Z es NR³,
y R³ es H o alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con -OR o -NRR', o una sal o forma zwitteriónica del mismo, y
25 en el que R³ es particularmente (i) alquilo C₁-C₂ opcionalmente sustituido con -OR o -NRR', o una sal o forma zwitteriónica del mismo, o (ii) H, o una sal o forma zwitteriónica del mismo.

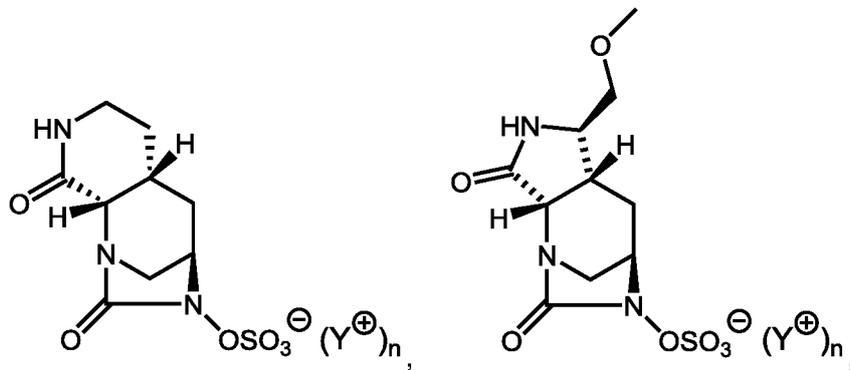
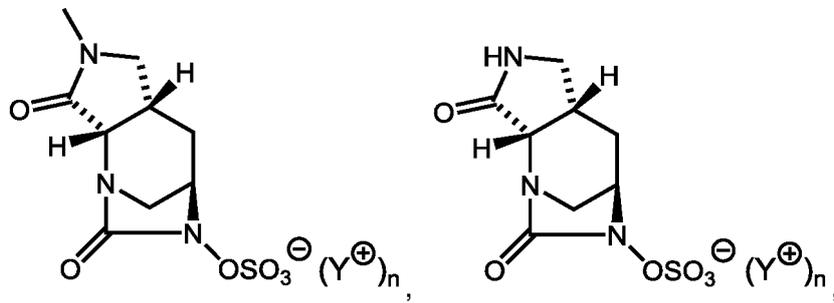
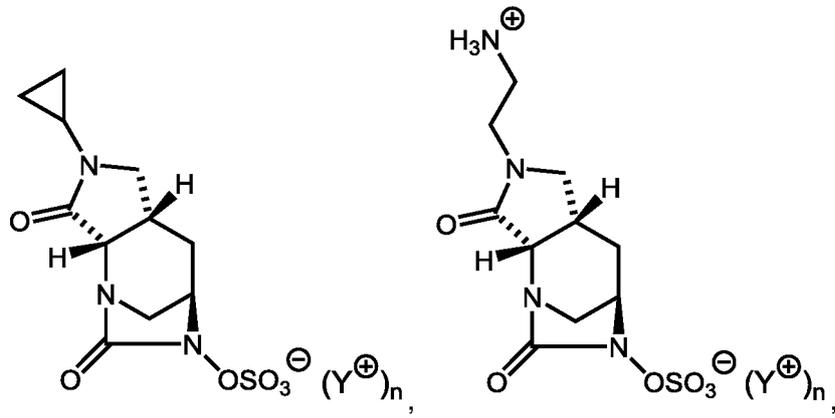
5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R¹ y R² son ambos H, o una sal o forma zwitteriónica del mismo.
30

6. El compuesto de la reivindicación 1 o 3, que tiene la estructura:

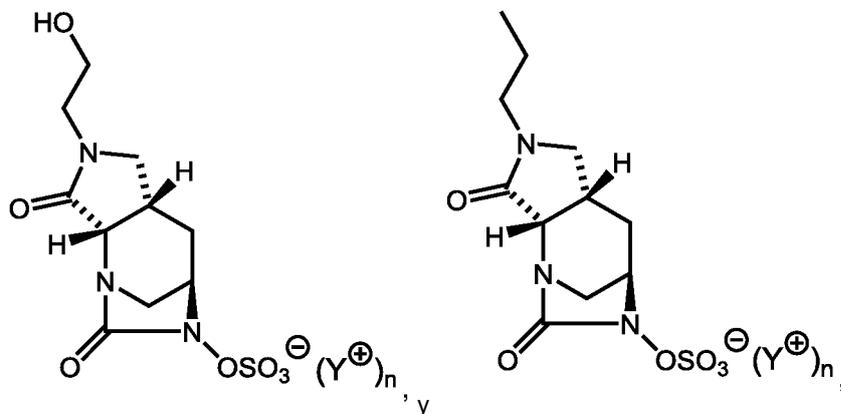


- 35 en la que X es -OR o -NRR';
como una sal o forma zwitteriónica del mismo.

7. El compuesto de la reivindicación 1 o 3, que se selecciona de entre:



5



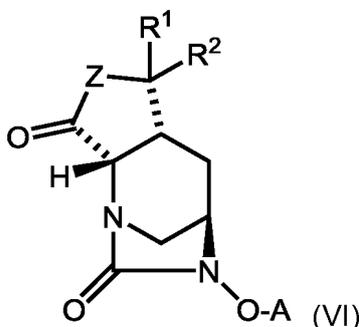
y las sales o formas zwitteriónicas del mismo.

10

8. El compuesto de una de las reivindicaciones 1-3, en el que n es 1 e Y se selecciona entre sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, cinc y cobre, particularmente entre sodio.

9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que está en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o zwitteriónica.

5 10. Un compuesto de Fórmula (VI):

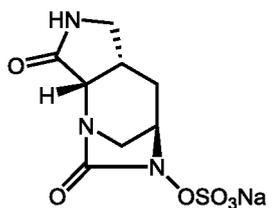


en la que:

- 10 R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre halo, CN, -OR, oxo y -NRR';
Z es NR³ o N-OR³;
- 15 R³ se selecciona, independientemente en cada caso, entre H, Cy y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre Cy, halo, CN, -OR y -NRR';
Cy es un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o anillo heterocíclico de 4-6 miembros que contiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S como miembros del anillo, y Cy está opcionalmente sustituido con hasta tres grupos seleccionados entre oxo, halo, alquilo C₁-C₂, CN, -OR y -NRR'; y R y R' se seleccionan independientemente entre H y alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂,
- 20 o R y R', tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están ambos unidos, pueden formar un anillo seleccionado entre piperidina, morfolina, pirrolidina y azetidina, en el que el anillo está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₂, -OH, -CN, -O-(alquilo C₁-C₄), oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄) y -N(alquilo C₁-C₄)₂;
- 25 A es H o -CH₂-Ph, donde Ph representa fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados entre halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄;

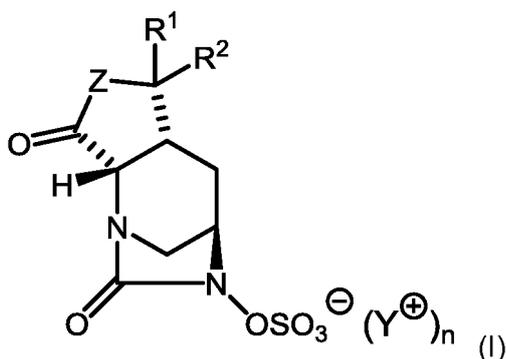
o una sal del mismo.

30 11. El compuesto de la fórmula (VII):



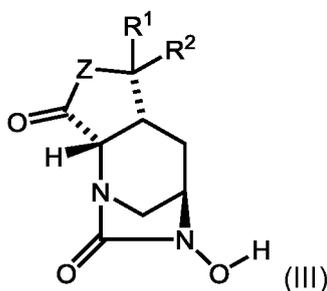
12. El compuesto de la reivindicación 11 en forma cristalina,
35 que muestra particularmente una endoterma en la calorimetría diferencial de barrido entre 283 °C y 350 °C y que opcionalmente está caracterizado por picos de XRPD en ángulos de difracción (2Theta) de 8,3 y 16,6 grados, opcionalmente caracterizado además por uno o más picos adicionales de XRPD en ángulos de difracción (2Theta) de 25,1 o 31,3 grados, opcionalmente caracterizado además por uno o más picos de XRPD adicionales en ángulos de difracción (2Theta) de 27,4 o 28,7 grados y opcionalmente caracterizado además por picos de XRPD adicionales en ángulos de difracción (2Theta) de 19,5 grados o 21,7 grados.

13. Un proceso para preparar compuesto de Fórmula (I),



de acuerdo con la reivindicación 3;
 en el que el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (III)

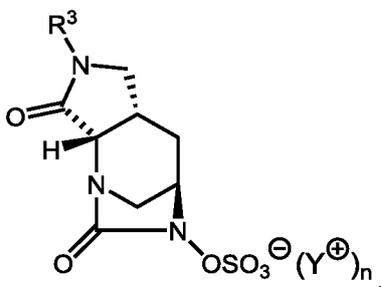
5



en la que Z, R¹ y R² y R³ son como se definen en la reivindicación 3, particularmente
 en el que Z es NR³, y R³ es H o alquilo C₁-C₂ opcionalmente sustituido con -OR o -NRR', con un agente de sulfonilación
 en presencia de una base.

10

14. El proceso de la reivindicación 13, en el que el compuesto de Fórmula (I) es de la fórmula



15

y en el que R³ particularmente es H.

15. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y
 al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

16. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para su uso en terapia.

17. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en el tratamiento de una
 infección bacteriana, particularmente, en el tratamiento de una infección bacteriana Gram-negativa, más
 particularmente, en el tratamiento de una infección bacteriana Gram-negativa causada por una especie de *Citrobacter*,
Enterobacter, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Moraxella*, *Providencia*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Proteus*,
Salmonella, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Campylobacter*, *Neisseria*, *Enterococcus* o
Stenotrophomonas.

25

18. Una combinación farmacéutica, que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
 1 a 12 y un antibiótico beta-lactámico.

30

19. La combinación farmacéutica de la reivindicación 18 para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana
 Gram negativa, en donde el compuesto de Fórmula (A) se administra particularmente en una cantidad eficaz para
 potenciar la actividad antibacteriana del antibiótico beta-lactámico.

35

20. La combinación farmacéutica de la reivindicación 18 para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana que es una neumonía nosocomial, una infección intraabdominal o una infección del tracto urinario causada por una especie de *Enterobacteriaceae* o *Pseudomonas*.

5

FIGURA 1. Imagen de microscopio electrónico de barrido de forma cristalina del Compuesto de Fórmula (VII).

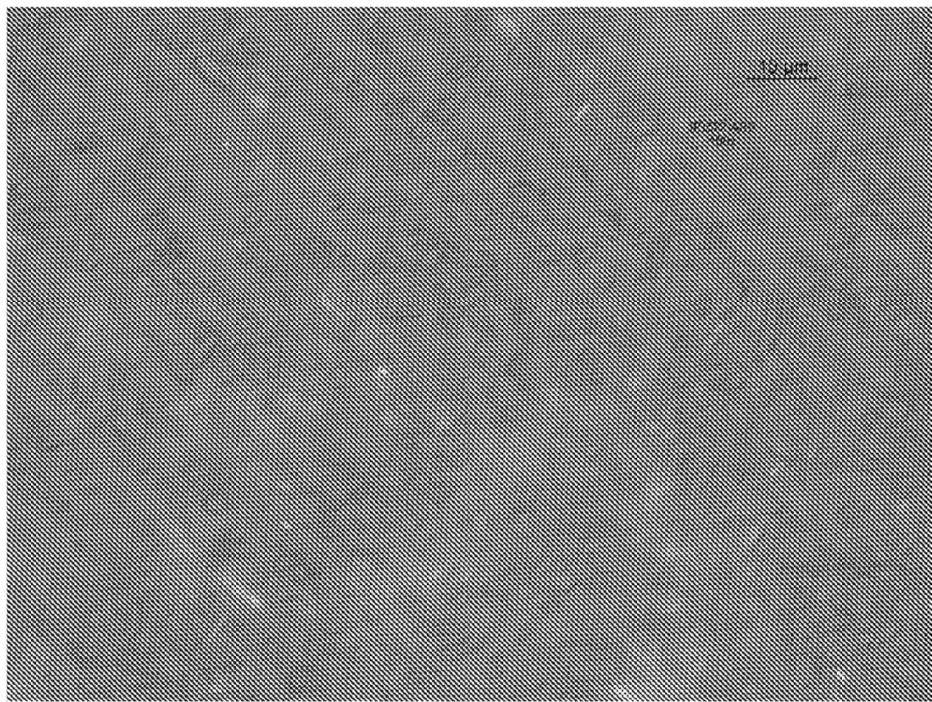


FIGURA 2. Espectro de XRPD de compuesto cristalino de Fórmula (VII).

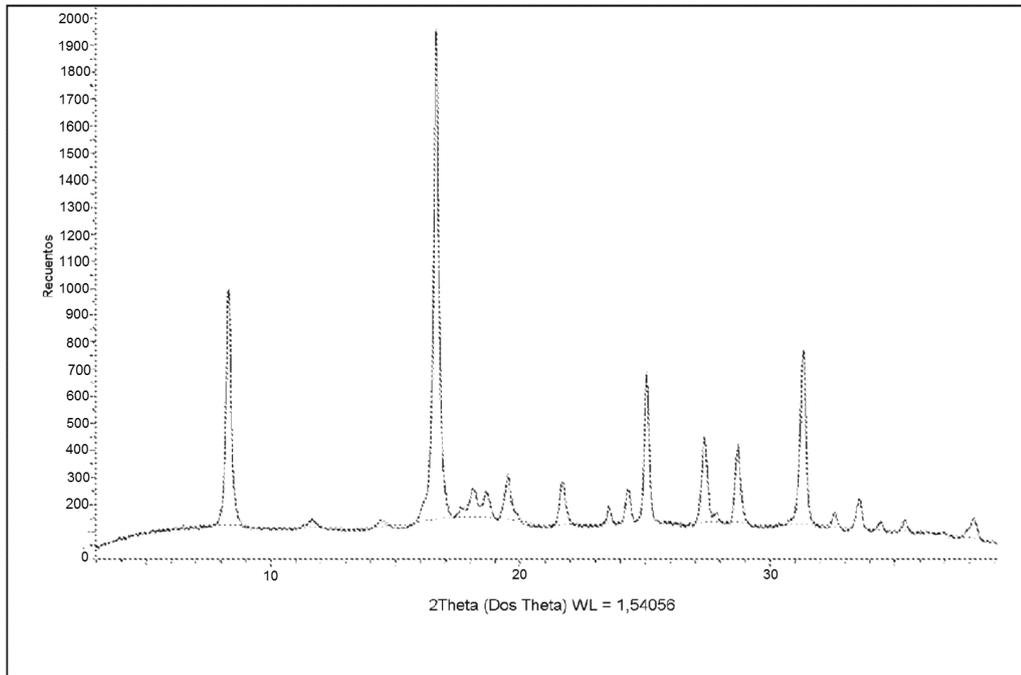
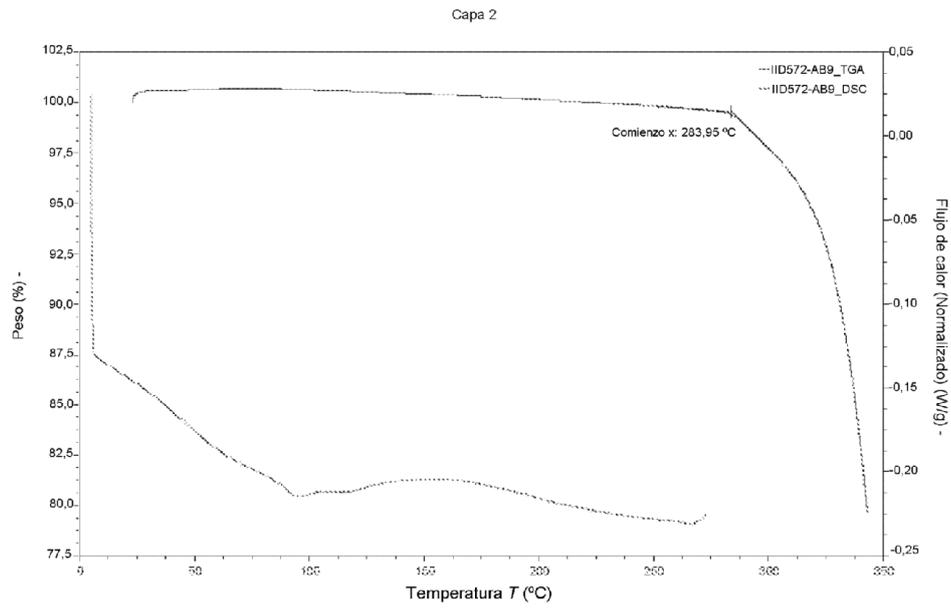


FIGURA 3. Análisis termogravimétrico y DSC de compuesto cristalino de Fórmula (VII).



TA Instruments TGA/DTG

DSC: inferior
 TGA - superior