

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 966 369**

51 Int. Cl.:

A61K 31/395 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 33/00 (2006.01)

A61P 33/02 (2006.01)

A61P 33/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2018** **PCT/US2018/023270**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.09.2018** **WO18175385**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2018** **E 18771869 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2023** **EP 3600286**

54 Título: **Compuestos y métodos para el tratamiento de enfermedades parasitarias**

30 Prioridad:

20.03.2017 US 201762473771 P

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

22.04.2024

73 Titular/es:

THE BROAD INSTITUTE, INC. (50.0%)

415 Main Street

Cambridge, MA 02142, US y

**PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD
COLLEGE (50.0%)**

72 Inventor/es:

COMER, EAMON;

KATO, NOBUTAKA;

MORNINGSTAR, MARSHALL y

MELILLO, BRUNO

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 966 369 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

Compuestos y métodos para el tratamiento de enfermedades parasitarias

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La malaria es una enfermedad infecciosa transmitida por vectores ocasionada por parásitos protozoarios, y se extiende ampliamente en regiones tropicales y subtropicales, incluyendo partes de América, Asia y África. De las cinco especies de parásitos *Plasmodium* que pueden infectar a humanos (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*), las formas más graves de la enfermedad son ocasionadas por *P. falciparum* y *P. vivax*. Adicionalmente, varias especies de parásitos *Plasmodium* infectan mamíferos diferentes a humanos. Por ejemplo, *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei* y *P. yoelii* pueden ocasionar malaria en ciertos roedores.

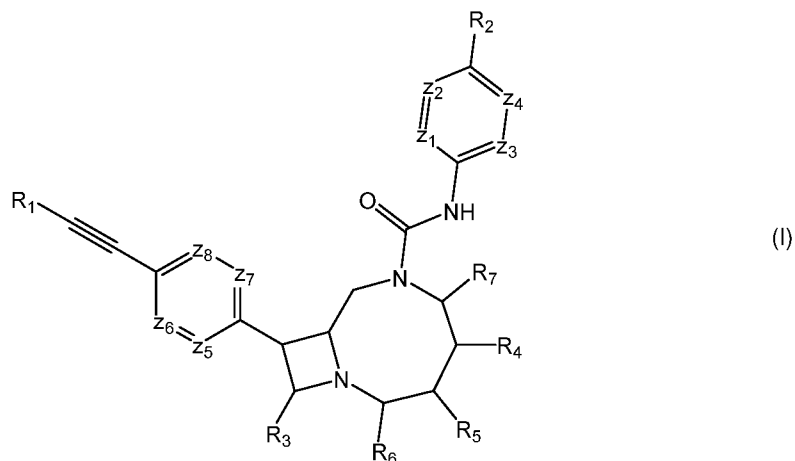
Aproximadamente 515 millones de personas sufren de malaria cada año, y entre uno y tres millones de estas personas mueren a causa de la enfermedad. La mayor parte de los fármacos antimaláricos actuales se orientan a la etapa de replicación asexual en sangre, donde los parásitos viven dentro de los eritrocitos. Aún cuando los parásitos en fase hepática y de transmisión no ocasionan síntomas de malaria, la profilaxis y los fármacos de bloqueo de transmisión son esenciales para prevenir de manera proactiva las epidemias de la enfermedad, y proteger a las poblaciones vulnerables. El armamento actual de fármacos antimaláricos aprobados, tales como cloroquina, atovaquona, pirimetamina y sulfadoxina, se limita a sólo unos cuantos objetivos dentro del parásito de la malaria humana, y la creciente resistencia generalizada a los fármacos actuales está impulsando el desarrollo de nuevos agentes antimaláricos que tienen nuevos objetivos biológicos.

La criptosporidiosis es otra enfermedad parasitaria y es ocasionada por *Cryptosporidium*, un género de parásitos protozoarios del filo Apicomplexa. La criptosporidiosis es la más comúnmente ocasionada por los parásitos apicomplejos intracelulares *C. parvum* y *C. hominis*. También puede ocasionarse por *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis* y *C. muris*. La criptosporidiosis afecta el intestino delgado distal y puede afectar el tracto respiratorio, en individuos tanto inmunocompetentes como inmunocomprometidos. La criptosporidiosis es una de las enfermedades transmitidas por agua más comunes, y se encuentra en todo el mundo. También puede transmitirse a otros animales, incluyendo ganado vacuno, ovejas, cerdos, caballos, cabras y gecos. La nitazoxanida es el estándar actual de atención para la criptosporidiosis, pero el fármaco sólo exhibe eficacia parcial en niños y no es más efectiva que el placebo en pacientes con SIDA.

Kato *et al.* (Nature 2016, vol 538 (7625): 191-199) comunican la identificación de compuestos antimaláricos novedosos basados en azetidinas bicíclicas que inhiben la fenilalanil-tRNA sintetasa en la malaria.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se expone en las reivindicaciones adjuntas. Específicamente, la presente invención proporciona compuestos que tienen una estructura de fórmula (I):



en donde

R₁ es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

R₂ es alcoxi, cicloalcoxi o heterociclilo opcionalmente sustituido;

R₃ es hidrógeno o -CH₂-X;

R₄ es hidrógeno, -X o -CH₂-X;

R₅ es -X o -CH₂-X;

R₄ y R₅ pueden formar en conjunto un fusionado anillo de cinco o seis miembros;

R₆ y R₇ son independientemente hidrógeno o R; y

z₁ a z₈ se seleccionan independientemente en cada caso de entre CH o N; donde

- 5 -X se selecciona independientemente en cada caso de entre -OH, -OR, -S(O)R, -S(O)₂R, -N(R)-S(O)₂R, -S(O)₂-N(R)(R), -NH₂, -S(O)₂-NHR, -N(R)-C(O)-R o -N(R)(R); y

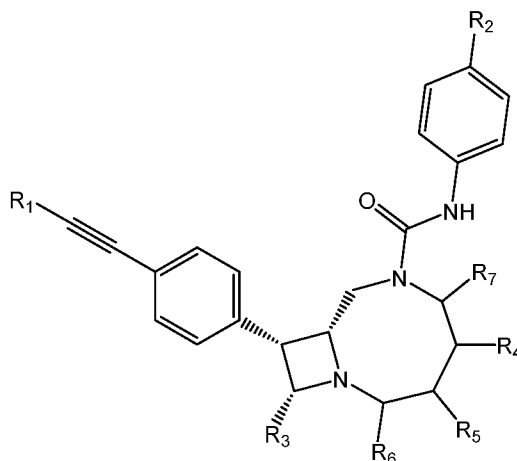
R es independientemente en cada caso un alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido;

- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. -X puede seleccionarse independientemente en cada caso de entre -OH -NH₂ o -N(R)(R). Los grupos -X en R₄ y/o R₅ (incluyendo grupos -X cuando R₄ y/o R₅ es -CH₂-X) pueden seleccionarse de entre -OH, NH₂ o -N(R)(R). También, R puede seleccionarse independientemente en cada caso un hidrocarburo C₁₋₄ lineal o ramificado.

- 15 En algunas modalidades, R₆ y R₇ son cada uno hidrógeno. En algunas modalidades, R₄ y R₅ pueden ser el mismo grupo funcional seleccionado de entre -X o -CH₂-X (por ejemplo, R₄ es -OH y R₅ es -OH, R₄ es -NH₂ y R₅ es -NH₂, R₄ es -OCH₃ y R₅ es -OCH₃, etc.). En otras modalidades, R₄ es hidrógeno y R₅ es -X, o -(CH₂)-X. En algunas modalidades, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre -OH y -OR, y R₄ y R₅ forman en conjunto un anillo fusionado de 6 miembros. En algunas modalidades, R₆ es un hidrocarburo C₁₋₄ lineal o ramificado. En otras modalidades, R₆ es hidrógeno. R₁ puede ser un arilo o heteroarilo C₆ opcionalmente sustituido (por ejemplo, fenilo, fluorofenilo, difluorofenilo, piridilo, etc.). En algunas modalidades, R₂ es alcoxi C₁₋₄ lineal o ramificado (por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, etc.). En algunas modalidades, R₂ es alcoxi C₁₋₄ lineal o ramificado sustituido con uno o más F (por ejemplo, -OCF₃, -OCHF₂ o -OCH₂F). En otras modalidades, R₂ es heterociclilo C₃₋₆ (por ejemplo, aziridinilo, oxiranilo, tiiranilo, oxetanilo, azetidnilo, tetanilo, diazetidinilo, dioxetanilo, ditiitanilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, etc.). En modalidades preferidas, R₂ es oxetanilo o azetidnilo. En otras modalidades, R₂ es cicloalcoxi C₃₋₆ (por ejemplo, ciclopropoxi). En algunas modalidades, R₃ es -CH₂-X y -X es N(R)(R).

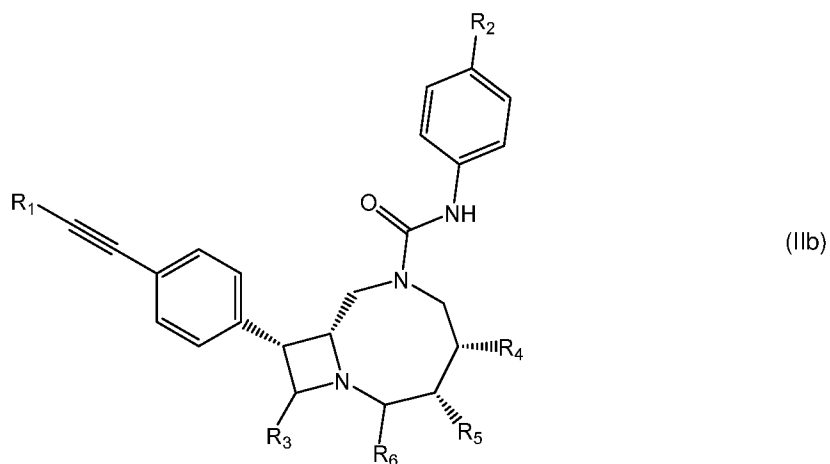
- 25 Cada uno de z₁ a z₈ puede ser CH. En algunas modalidades, uno de z₁ a z₄ es N y el resto son CH. En algunas modalidades, uno de z₅ a z₈ es N y el resto son CH. En algunas modalidades, z₁ y z₄ son cada uno N, y z₃ y z₂ son cada uno CH. En algunas modalidades, z₅ y z₇ son cada uno N, y z₆ y z₈ son cada uno CH.

- 30 Cualquier estereocentro en la estructura de la fórmula (I) puede estar en cualquier configuración, o presentarse como mezcla racémica de cada estereocentro (por ejemplo, estereoisómeros, diastereómeros, etc.). En algunas modalidades, los compuestos tienen la estructura de la fórmula (II):

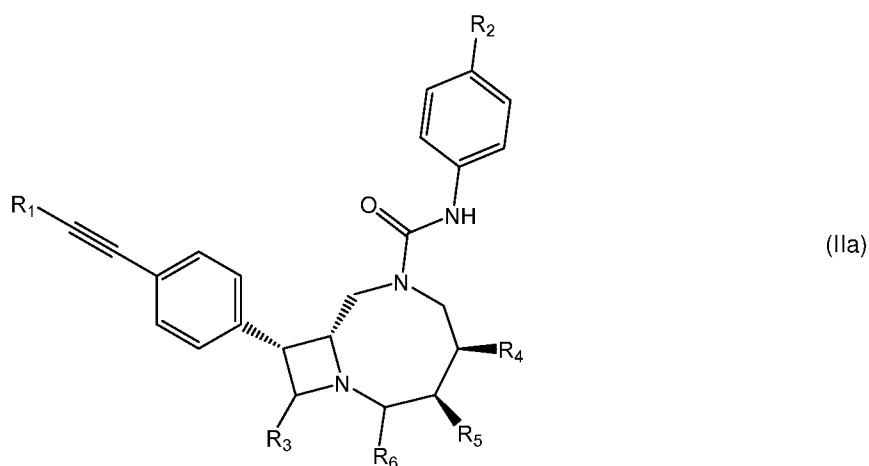


(II)

En algunas modalidades, los compuestos tienen la estructura de la fórmula (IIb):

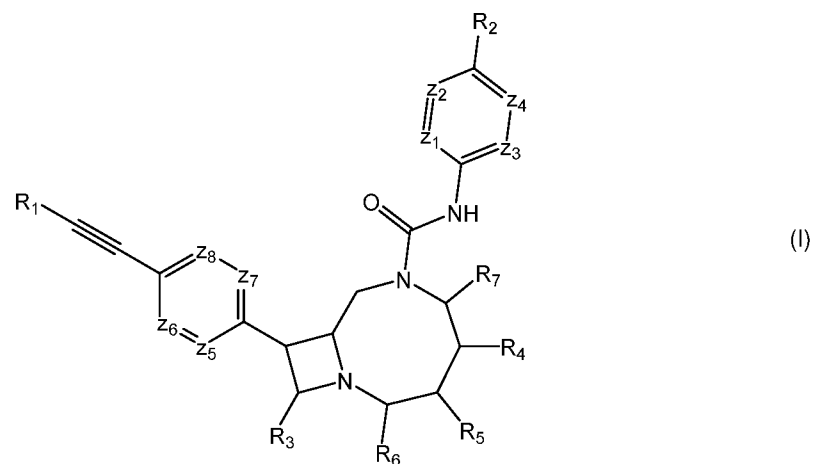


En otras modalidades, los compuestos tienen la estructura de la fórmula (IIa):



Cualquiera de los compuestos arriba descritos puede utilizarse en composiciones farmacéuticas. En algunas modalidades, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto que tiene la estructura de la fórmula (I):

5



en donde

R₁ es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

R₂ es alcoxi, cicloalcoxi o heterociclilo opcionalmente sustituido;

R₃ es hidrógeno o -CH₂-X;

R₄ es hidrógeno, -X o -CH₂-X, R₅ es -X o -CH₂-X, y R₄ y R₅ pueden formar en conjunto un fusionado anillo de cinco o seis miembros;

R₆ y R₇ son independientemente hidrógeno o R; y

5 z₁ a z₈ se seleccionan independientemente en cada caso de entre CH o N; donde

-X se selecciona independientemente en cada caso de entre -OH, -OR, -S(O)R, -S(O)₂R, -N(R)-S(O)₂R, -S(O)₂-N(R)(R), -S(O)₂-NHR, -N(R)-C(O)-R o -N(R)(R); y

R es independientemente en cada caso un alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido;

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. -X puede seleccionarse independientemente en cada caso de entre -OH -NH₂ o -N(R)(R). En algunas modalidades, los grupos -X en R₄ y/o R₅ (incluyendo grupos -X cuando R₄ y/o R₅ es -CH₂-X) pueden seleccionarse de entre -OH, NH₂ o -N(R)(R). También, R puede seleccionarse independientemente en cada caso un hidrocarburo C₁₋₄ lineal o ramificado.

15 En algunas modalidades, el compuesto se presenta en la composición farmacéutica en una cantidad efectiva. Por ejemplo, el compuesto puede presentarse en una cantidad efectiva para el tratamiento o profilaxis de la malaria. En algunas modalidades, el compuesto puede presentarse en una cantidad efectiva para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad ocasionada por un parásito del género *Cryptosporidium* (por ejemplo, criptosporidiosis). En algunas modalidades, la composición farmacéutica puede formularse para el tratamiento de la malaria y criptosporidiosis.

20 También se dan a conocer métodos relacionados del tratamiento o profilaxis de una enfermedad en un sujeto, pero no forman parte de la presente invención. El método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad parasitaria en un sujeto puede comprender la etapa de administrar al sujeto una cantidad efectiva de cualquier compuesto dado a conocer en este documento. La cantidad efectiva del compuesto puede formularse en una composición farmacéutica (por ejemplo, composición veterinaria, etc.).

25 La enfermedad parasitaria puede ser malaria. En algunas modalidades, la malaria es malaria resistente a fármacos (por ejemplo, malaria resistente a cloroquina, quinina, primetamina, sulfadoxina, mefloquina, arteméter, lumefantrina, artesunato, amodiaquina, dihidroartemisinina, piperacuina, proguanilo, doxiciclina, clindamicina, artemisinina, atovacuona, cualquier combinación de los mismos, etc.). En algunas modalidades, la malaria es malaria en fase sanguínea. En algunas modalidades, la malaria es malaria en fase de transmisión. En algunas modalidades, la malaria es malaria en fase hepática. En algunas modalidades, el sujeto se infecta con un parásito causante de malaria, y este tratamiento previene la propagación de la infección desde su hígado. En algunas modalidades, la malaria se transporta 30 en una especie de mosquito seleccionada de entre *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei* o *P. yoelii*. En modalidades preferidas, la especie de mosquito es *P. falciparum* (particularmente cuando el sujeto es humano).

La enfermedad parasitaria puede ser criptosporidiosis. En algunas modalidades, la criptosporidiosis se produce por *C. parvum*.

35 En algunas modalidades, el sujeto es humano. En otras modalidades, el sujeto no es humano (por ejemplo, la composición farmacéutica se formula como composición veterinaria). En algunas modalidades, el sujeto es un ratón, rata, conejo, primate no humano, lagartija, geco, vaca, ternero, oveja, cordero, caballo, potro, cerdo o lechón.

40 Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada, la cual simplemente son, a modo de ilustración, diversos modos contemplados para llevar a cabo la invención. Por consiguiente, la especificación en su naturaleza es ilustrativa y no restrictiva.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

45 Se entenderá que la terminología empleada en este documento es para el propósito de describir modalidades particulares, y no pretende ser limitante. Más aún, aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en este documento pueda utilizarse en la práctica o comprobación de la divulgación, los métodos y materiales ejemplares se describen ahora.

50 El término "acilo", como se utiliza en este documento, representa un hidrógeno o un grupo alquilo, como se define en este documento, que se incorpora al grupo molecular de origen a través de un grupo carbonilo, como se define en este documento, y se ejemplifica por formilo (es decir, un grupo carboxialdehído), acetilo, trifluoroacetilo, propionilo y butanoilo. Los grupos acilo sin sustituir ejemplares incluyen de 1 a 6, de 1 a 11 o de 1 a 21 carbonos. El grupo alquilo además puede sustituirse con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes, como se describe en este documento.

Como se utiliza en este documento, el término “alquilo”, solo o en combinación con otros grupos, se refiere a un radical hidrocarbonado alifático saturado monovalente de cadena ramificada o recta, de uno a veinte átomos de carbono (por ejemplo, uno a dieciséis átomos de carbono, uno a doce átomos de carbono, uno a diez átomos de carbono, uno a seis átomos de carbono, etc.).

- 5 El término “alquileo”, como se utiliza en este documento, representa un grupo hidrocarburo divalente saturado derivado de un hidrocarburo saturado de cadena recta o ramificada por el retiro de dos átomos de hidrógeno, y se ejemplifica por metileno, etileno e isopropileno. El alquileo además puede sustituirse con 1, 2, 3 o 4 grupos sustituyentes, como se define en este documento, para un grupo alquilo.

- 10 Como se utiliza en este documento, el término “alqueno”, solo o en combinación con otros grupos, se refiere a un residuo hidrocarbonado de cadena recta o ramificado que tiene un enlace olefínico.

- 15 El término “amino”, como se utiliza en este documento, representa $-N(R^{N1})_2$, en donde cada R^{N1} es independientemente H, OH, NO_2 , $N(R^{N2})_2$, SO_2OR^{N2} , SO_2R^{N2} , SOR^{N2} , un grupo *N* protector, alquilo, alqueno, alquino, alcoxi, arilo, alcarilo, cicloalquilo, alcocicloalquilo, carboxialquilo (por ejemplo, opcionalmente sustituido con un grupo *O* protector, tales como grupos arilalcocixarbonilo opcionalmente sustituidos o cualquiera descrito en este documento), sulfoalquilo, acilo (por ejemplo, acetilo, trifluoroacetilo, u otros descritos en este documento), alcocixarbonilalquilo (por ejemplo, opcionalmente sustituido con un grupo *O* protector, tales como grupos arilalcocixarbonilo opcionalmente sustituidos o cualquiera descrito en este documento), heterocicilo (por ejemplo, heteroarilo), o heterocicilalquilo (por ejemplo, heteroarilalquilo), en donde cada uno de estos grupos R^{N1} indicados puede sustituirse opcionalmente, como se define en este documento para cada grupo; o dos R^{N1} se combinan para formar un heterocicilo o un grupo *N* protector, y en donde cada R^{N2} es independientemente H, alquilo o arilo. Los grupos amino pueden ser un amino sin sustituir (es decir, $-NH_2$) o un amino sustituido (es decir, $-N(R^{N1})_2$). Preferentemente, el amino es $-NH_2$ o $-NHR^{N1}$, en donde R^{N1} es independientemente OH, NO_2 , NH_2 , NR^{N2}_2 , SO_2OR^{N2} , SO_2R^{N2} , SOR^{N2} , alquilo, carboxialquilo, sulfoalquilo, acilo (por ejemplo, acetilo, trifluoroacetilo, u otros descritos en este documento), alcocixarbonilalquilo (por ejemplo, t-butoxicarbonilalquilo) o arilo, y cada R^{N2} puede ser H, alquilo C_{1-20} (por ejemplo, alquilo C_{1-6}) o arilo C_{6-10} .

- 25 El término “arilo” se refiere preferentemente a un radical mono o policíclico aromático de 6 a 12 átomos de carbono, que tiene por lo menos un anillo aromático. Los ejemplos de estos grupos incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, 1,2-dihidronaftilo, indanilo y 1H-indenilo.

- 30 El grupo “arilalquilo”, como se utiliza en este documento, representa un grupo arilo, como se define en este documento, incorporado al grupo molecular de origen a través de un grupo alquileo, como se define en este documento. Los grupos arilalquilo sin sustituir ejemplares son de 7 a 30 carbonos (por ejemplo, de 7 a 16 o de 7 a 20 carbonos, tales como arilo C_{6-10} alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-10} o arilo C_{6-10} alquilo C_{1-20}). El alquileo y el arilo además pueden sustituirse cada uno con 1, 2, 3 o 4 grupos sustituyentes, como se define en este documento, para los grupos respectivos.

- 35 Los grupos alquilo, carbocíclico y arilo pueden sustituirse o no sustituirse. Cuando se sustituyen, por lo general habrá, por ejemplo, 1 a 4 sustituyentes presentes. Estos sustituyentes opcionalmente pueden formar un anillo con el grupo alquilo, carbocíclico o arilo con el cual se conectan. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo: grupos que contienen carbono, tales como alquilo, arilo, arilalquilo (por ejemplo, fenilo sustituido y sin sustituir, sustituido y bencilo sin sustituir); átomos de halógenos y grupos que contienen halógenos tales como haloalquilo (por ejemplo, trifluorometilo); grupos que contienen oxígeno tales como alcoholes (por ejemplo, hidroxilo, hidroxialquilo, aril(hidroxil)alquilo), éteres (por ejemplo, alcoxi, cicloalcoxi, ariloxi, alcoxialquilo, ariloxialquilo, con mayor preferencia, por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, ciclopropoxi, etc.), aldehídos (por ejemplo, carboxaldehído), cetonas (por ejemplo, alquilcarbonilo, alquilcarbonilalquilo, arilcarbonilo, arilalquilcarbonilo, arilcarbonilalquilo), ácidos (por ejemplo, carboxi, carboxialquilo), derivados de ácidos tales como ésteres (por ejemplo, alcocixarbonilo, alcocixarbonilalquilo, alquilcarboniloxi, alquilcarboniloxialquilo), amidas (por ejemplo, aminocarbonilo, mono o dialquilaminocarbonilo, aminocarbonilalquilo, mono o dialquilaminocarbonilalquilo, arilaminocarbonilo), carbamatos (por ejemplo, alcocixarbonilamino, ariloxycarbonilamino, aminocarboniloxi, mono o dialquilaminocarboniloxi, arilaminocarboniloxi) y ureas (por ejemplo, mono o dialquilaminocarbonilamino o arilaminocarbonilamino); grupos que contienen nitrógeno tales como aminas (por ejemplo, amino, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono o dialquilaminoalquilo), azidas, nitrilos (por ejemplo, ciano, cianoalquilo), nitro; grupos que contienen azufre tales como tioles, tioéteres, sulfóxidos y sulfonas (por ejemplo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, alquiltioalquilo, alquilsulfonilalquilo, alquilsulfonilalquilo, ariltio, arilsulfonilo, arilsulfonilo, ariltioalquilo, arilsulfonilalquilo, arilsulfonilalquilo); grupos heterocíclicos heteroalquilo, y grupos heterocíclicos que contienen uno o más heteroátomos, (por ejemplo, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, aziridinilo, azetidino, pirrolidinilo, pirrolinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, tetrahidrofuranilo, piranilo, pironilo, piridilo, pirazinilo, piridazinilo, piperidilo, hexahidroazepinilo, piperazinilo, morfolinilo, tianaftilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indolilo, oxindolilo, isoindolilo, indazolilo, indolinilo, 7-azaindolilo, benzopiranilo, coumarinilo, isocoumarinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, naftiridinilo, cinnolinilo, quinazolinilo, piridopiridilo, benzoxazinilo, quinoxalinilo, cromanilo, cromanilo, isocromanilo, ftalazinilo y carbolinilo).

El término “azido” representa un grupo $-N_3$, el cual también puede representarse como $-N=N=N$.

Los términos “carbocíclico” y “carbocíclico”, como se utilizan en este documento, se refieren a una estructura C₃₋₁₂ monocíclica, bicíclica o tricíclica no aromática opcionalmente sustituida, en la cual los anillos se forman por átomos de carbono. Las estructuras carbocíclicas incluyen grupos cicloalquilo, cicloalqueno y cicloalquino.

El término “cicloalquilo” se refiere a un radical mono o policarbocíclico monovalente de tres a diez, de preferencia de tres a seis átomos de carbono. Este término además se ejemplifica por radicales tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, norbornilo, adamantilo e indanilo. Las fracciones “cicloalquilo” opcionalmente pueden sustituirse con uno, dos, tres o cuatro sustituyentes. Cada sustituyente puede ser independientemente, alquilo, alcoxi, halógeno, amino, hidroxilo u oxígeno, a menos que se indique específicamente de otro modo. Los ejemplos de fracciones cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo opcionalmente sustituido, ciclobutilo opcionalmente sustituido, ciclopentilo opcionalmente sustituido, ciclopentenilo opcionalmente sustituido, ciclohexilo opcionalmente sustituido y cicloheptilo opcionalmente sustituido, o aquellos que se ejemplifican específicamente en este documento.

El término “ciano”, como se utiliza en este documento, representa un grupo –CN.

Como se utiliza en este documento, el término “halo” o “halógeno” significa un radical flúor (fluoro), cloro (cloro), bromo (bromo) o yodo (yodo).

El término “heteroalquilo”, como se utiliza en este documento, se refiere a un grupo alquilo, como se define en este documento, en el cual uno o más de los átomos de carbono constituyentes se han reemplazado cada uno por nitrógeno, oxígeno o azufre. El grupo heteroalquilo además puede sustituirse con 1, 2, 3 o 4 grupos sustituyentes, como se describe en este documento para los grupos alquilo. Los ejemplos de grupos heteroalquilo son un “alcoxi” que, como se utiliza en este documento, se refiere a alquilo-O-, y un “alcoilo” que, como se utiliza en este documento, se refiere a alquilo-CO-. Los grupos sustituyentes alcoxi o grupos sustituyentes que contienen alcoxi pueden sustituirse, por ejemplo, por uno o más grupos alquilo.

El término “heteroarilo” se refiere preferentemente a un radical mono o policíclico aromático de 5 a 12 átomos, que tiene por lo menos un anillo aromático que contiene uno, dos o tres heteroátomos de anillo seleccionados de entre N, O y S, y los átomos de anillo restantes son C. Uno o dos átomos de carbono de anillo del grupo heteroarilo pueden reemplazarse con un grupo carbonilo. Los ejemplos de grupos heteroarilo son piridilo, benzooxazolilo, benzoimidazolilo y benzotiazolilo.

El término “heterociclo” o “heterocíclico” denota un anillo alquilo mono o policíclico, en donde uno, dos o tres de los átomos de carbono de anillo se reemplazan por un heteroátomo, tal como N, O o S. Los ejemplos de grupos heterocíclico incluyen, pero no se limitan a, oxetanilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidrofuranilo y 1,3-dioxanilo. Los grupos heterocíclico pueden no sustituirse o sustituirse, y su incorporación puede ser a través de su armazón de carbonos o a través de su o sus heteroátomos, en su caso.

El término “heterociclil heteroalquilo” se refiere a un grupo heterocíclico, como se define en este documento, incorporado al grupo molecular de origen a través de un grupo heteroalquilo (por ejemplo, un grupo éter o alcoxi). Un ejemplo de un grupo heterociclil heteroalquilo es el grupo –OCH₂CH₂(morfolino).

Los grupos heterociclilo y heteroarilo arriba descritos pueden sustituirse independientemente con uno, dos, tres o más sustituyentes. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo: grupos que contienen carbono, tales como alquilo, arilo, arilalquilo (por ejemplo, fenilo sustituido y sin sustituir, sustituido y bencilo sin sustituir); átomos de halógenos y grupos que contienen halógenos tales como haloalquilo (por ejemplo, trifluorometilo); grupos que contienen oxígeno tales como alcoholes (por ejemplo, hidroxilo, hidroxialquilo, aril(hidroxil)alquilo), éteres (por ejemplo, alcoxi, ariloxi, alcoxialquilo, ariloxialquilo), aldehídos (por ejemplo, carboxaldehído), cetonas (por ejemplo, alquilcarbonilo, alquilcarbonilalquilo, arilcarbonilo, arilalquilcarbonilo, arilcarbonilalquilo), ácidos (por ejemplo, carboxi, carboxialquilo), derivados de ácidos tales como ésteres (por ejemplo, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilalquilo, alquilcarboniloxi, alquilcarboniloxialquilo), amidas (por ejemplo, aminocarbonilo, mono o dialquilaminocarbonilo, aminocarbonilalquilo, mono o dialquilaminocarbonilalquilo, arilaminocarbonilo), carbamatos (por ejemplo, alcoxycarbonilamino, ariloxycarbonilamino, aminocarboniloxi, mono o dialquilaminocarboniloxi, arilaminocarboniloxi) y ureas (por ejemplo, mono o dialquilaminocarbonilamino o arilaminocarbonilamino); grupos que contienen nitrógeno tales como aminas (por ejemplo, amino, mono o dialquilamino, aminoalquilo, mono o dialquilaminoalquilo), azidas, nitrilos (por ejemplo, ciano, cianoalquilo), nitro; grupos que contienen azufre tales como tioles, tioéteres, sulfóxidos y sulfonas (por ejemplo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilalquilo, alquilsulfonilalquilo, alquilsulfonilalquilo, ariltio, arilsulfonilo, arilsulfonilalquilo, arilsulfonilalquilo); y grupos heterocíclicos que contienen uno o más heteroátomos, (por ejemplo, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, aziridinilo, azetidino, pirrolidinilo, pirrolinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, tetrahidrofuranilo, piranilo, pironilo, piridilo, pirazinilo, piridazinilo, piperidilo, hexahidroazepinilo, piperazinilo, morfolinilo, tianaftilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indolilo, oxiindolilo, isoindolilo, indazolilo, indolinilo, 7-azaindolilo, benzopirranilo, coumarinilo, isocoumarinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, naftidinilo, cinnolinilo, quinazolinilo, piridopiridilo, benzoxazinilo, quinoxalinilo, cromenilo, cromanilo, isocromanilo, ftalazinilo, benzotiazolilo y carbolinilo).

El término “hidroxilo”, como se utiliza en este documento, representa un grupo –OH. El grupo hidroxilo puede sustituirse con un grupo O protector, como se define en este documento.

El término "grupo *N* protector", como se utiliza en este documento, representa aquellos grupos destinados a proteger un grupo amino contra reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos *N* protectores comúnmente utilizados se dan a conocer en Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999). El término "grupo *O* protector", como se utiliza en este documento, representa aquellos grupos destinados a proteger un grupo que contiene oxígeno (por ejemplo, fenol, hidroxilo o carbonilo) contra reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos *O* protectores comúnmente utilizados se dan a conocer en Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999). El término "perfluoroalquilo", como se utiliza en este documento, representa un grupo alquilo, como se define en este documento, donde cada radical hidrógeno unido al grupo alquilo se ha reemplazado por un radical fluoruro. Por ejemplo, los grupos perfluoroalquilo se ejemplifican por trifluorometilo y pentafluoroetilo.

El término "sulfonilo", como se utiliza en este documento, representa un grupo -S(O)₂-.

Un hidrocarburo "sustituido" puede tener, como sustituyente, uno o más radicales hidrocarbonados, radicales hidrocarbonados sustituidos, o puede comprender uno o más heteroátomos. Los ejemplos de radicales hidrocarbonados sustituidos incluyen, sin limitación, heterociclos, tales como heteroarilos. A menos que se especifique de otro modo, un hidrocarburo sustituido con uno o más heteroátomos comprenderá de 1 a 20 heteroátomos. Un hidrocarburo sustituido con uno o más heteroátomos puede comprender de 1 a 12, o de 1 a 8, o de 1 a 6, o de 1 a 4, o de 1 a 3, o de 1 a 2 heteroátomos. Los ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a, oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, halógeno (F, Cl, Br, I, etc.), boro, silicio, etc. Los heteroátomos pueden seleccionarse de entre el grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo y halógeno (F, Cl, Br, I, etc.). En algunas modalidades, un heteroátomo o grupo puede sustituir un carbono. Un heteroátomo o grupo puede sustituir un hidrógeno. Un hidrocarburo sustituido puede comprender uno o más heteroátomos en la estructura principal o cadena de la molécula (por ejemplo, interpuestos entre dos átomos de carbono, como en "oxa"). Un hidrocarburo sustituido puede comprender uno o más heteroátomos laterales de la estructura principal o cadena de la molécula (por ejemplo, unidos de manera covalente a un átomo de carbono en la cadena o estructura principal, como en "oxo", reemplazando un hidrógeno en la estructura principal o cadena, etc.).

El término "sustituyente" se refiere a un grupo "sustituido", por ejemplo, en un grupo alquilo, haloalquilo, cicloalquilo, heterociclilo, heterocicloalqueno, cicloalqueno, arilo o heteroarilo en cualquier átomo de ese grupo, que reemplaza uno o más átomos de hidrógeno en el mismo. En un aspecto, el o los sustituyentes en un grupo son, independientemente, cualquiera individual o cualquier combinación de dos o más de los átomos o grupos de átomos permisibles definidos para ese sustituyente. En otro aspecto, un sustituyente en sí puede sustituirse con cualquiera de los sustituyentes anteriores. Más aún, como se utiliza en este documento, la frase "opcionalmente sustituido" significa sin sustituir (por ejemplo, sustituido con un H) o sustituido. Se entenderá que la sustitución en un átomo determinado se limita por la valencia. Los sustituyentes comunes incluyen halo, alquilo C₁₋₁₂ de cadena recta o cadena ramificada, alqueno C₂₋₁₂, alquino C₂₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₃₋₁₂, heterociclilo C₃₋₁₂, alquilsulfonilo C₁₋₁₂, nitro, ciano, -COOR, -C(O)NRR', -OR, -SR, -NRR' y oxo, tales como mono, di o trisustituciones con fracciones tales como trifluorometoxi, cloro, bromo, flúor, metilo, metoxi, piridilo, furilo, triazilo, piperazinilo, pirazolo, imidazolo y similares, y cada uno contiene opcionalmente uno o más heteroátomos tales como halo, N, O, S y P. R y R' son independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₁₂, haloalquilo C₁₋₁₂, alqueno C₂₋₁₂, alquino C₂₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, cicloalquilalquilo C₄₋₂₄, arilo C₆₋₁₂, aralquilo C₇₋₂₄, heterociclilo C₃₋₁₂, heterociclialquilo C₃₋₂₄, heteroarilo C₃₋₁₂ o heteroarilalquilo C₄₋₂₄. A menos que se haga notar de otro modo, todos los grupos descritos en este documento contienen opcionalmente uno o más sustituyentes comunes, en la medida permitida por la valencia. Más aún, como se utiliza en este documento, la frase "opcionalmente sustituido" significa sin sustituir (por ejemplo, sustituido con un H) o sustituido. Como se utiliza en este documento, el término "sustituido" significa que un átomo de hidrógeno se retira y reemplaza por un sustituyente (por ejemplo, un sustituyente común). Se entenderá, por un experto en las artes químicas, que la sustitución en un átomo determinado se limita por la valencia. Se entenderá que el uso de nombres de prefijos de sustituyentes (radicales), tales como alquilo sin el modificador "opcionalmente sustituido" o "sustituido", da a entender que el sustituyente particular no se sustituye. Sin embargo, aún se entenderá que el uso de "haloalquilo", sin el modificador "opcionalmente sustituido" o "sustituido", da a entender un grupo alquilo en el cual por lo menos un átomo de hidrógeno se reemplaza por halo.

Se entenderá que la descripción de compuestos en este documento se limita por los principios de los enlaces químicos conocidos por los expertos en la técnica. Por consiguiente, en casos donde un grupo puede sustituirse por uno o más de una serie de sustituyentes, estas sustituciones se seleccionan con el fin de cumplir con los principios de los enlaces químicos en lo que respecta a valencias, etc., y para proveer compuestos que no sean inherentemente inestables.

Los compuestos proporcionados en este documento pueden tener uno o más átomos de carbono asimétricos, y pueden existir en forma de enantiómeros ópticamente puros, mezclas de enantiómeros tales como racematos, diastereoisómeros ópticamente puros, mezclas de diastereoisómeros, racematos diastereoisoméricos o mezclas de racematos diastereoisoméricos. Las formas ópticamente activas pueden obtenerse, por ejemplo, por resolución de los racematos, por síntesis asimétrica o cromatografía asimétrica (cromatografía con un adsorbente o eluyente quiral). Es decir, algunos de los compuestos dados a conocer pueden existir en diversas formas estereoisoméricas. Los estereoisómeros son compuestos que difieren sólo en su disposición espacial. Los enantiómeros son pares de estereoisómeros cuyas imágenes especulares no pueden superimponerse, muy comúnmente dado que contienen un átomo de carbono asimétricamente sustituido que actúa como centro quiral. "Enantiómero" significa una de un par de moléculas que son imágenes especulares entre sí y no pueden superimponerse. Los diastereómeros son

estereoisómeros que no se relacionan como imágenes especulares, más comúnmente debido a que contienen dos o más átomos de carbono asimétricamente sustituidos y representan la configuración de sustituyentes alrededor de uno o más átomos de carbono quirales. Los enantiómeros de un compuesto pueden prepararse, por ejemplo, al separar un enantiómero de un racemato al utilizar una o más técnicas y métodos reconocidos, tales como cromatografía quiral y métodos de separación basados en la misma. La técnica y/o método apropiado para separar un enantiómero de un compuesto descrito en este documento, a partir de una mezcla racémica, puede determinarse fácilmente por los expertos en la técnica. "Racemato" o "mezcla racémica" significan una mezcla que contiene dos enantiómeros, en donde estas mezclas no exhiben actividad óptica, es decir, no rotan el plano de la luz polarizada. "Isómero geométrico" significa isómeros que difieren en la orientación de los átomos sustituyentes (por ejemplo, a un doble enlace carbono-carbono, a un anillo cicloalquilo, a un sistema bicíclico puenteado, etc.). Los átomos (diferentes a H), a cada lado de un doble enlace carbono-carbono, pueden estar en una configuración E (los sustituyentes se encuentran en lados opuestos del doble enlace carbono-carbono) o Z (los sustituyentes se orientan en el mismo lado). "R", "S", "S*", "R*", "E", "Z", "cis" y "trans" indican configuraciones respecto a la molécula central. Algunos de los compuestos dados a conocer pueden existir en formas atropoisoméricas. Los atropoisómeros son estereoisómeros que resultan de la rotación obstaculizada alrededor de enlaces sencillos donde la barrera de tensión estérica a la rotación es suficientemente alta para hacer posible el aislamiento de los confórmers. Los compuestos dados a conocer en este documento pueden prepararse como isómeros individuales por síntesis específica de isómeros, o resolverse a partir de una mezcla isomérica. Las técnicas convencionales de resolución incluyen la formación de la sal de una base libre de cada isómero de un par isomérico, al utilizar un ácido ópticamente activo (seguido por cristalización fraccionada y regeneración de la base libre), al formar la sal de la forma ácida de cada isómero de un par isomérico al utilizar una amina ópticamente activa (seguido por cristalización fraccionada y regeneración del ácido libre), al formar un éster o amida de cada uno de los isómeros de un par isomérico al utilizar un ácido, amina o alcohol ópticamente puro (seguido por separación cromatográfica y retiro del auxiliar quiral), o al resolver una mezcla isomérica de un material de inicio o un producto final al utilizar diversos métodos cromatográficos reconocidos. Cuando la estereoquímica de un compuesto dado a conocer se nombra o representa por la estructura, el estereoisómero nombrado o representado es por lo menos el 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 99.9% en peso respecto a los otros estereoisómeros. Cuando un solo enantiómero se nombra o representa por la estructura, el enantiómero representado o nombrado es por lo menos 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 99.9% en peso ópticamente puro. Cuando un solo diastereómero se nombra o representa por la estructura, el diastereómero representado o nombrado es por lo menos 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 99.9% en peso puro. La pureza óptica porcentual es la relación proporcional del peso del enantiómero o por arriba del peso del enantiómero más el peso de su isómero óptico. La pureza diastereomérica en peso es la relación proporcional del peso de un diastereómero o por encima del peso de todos los diastereómeros. Cuando la estereoquímica de un compuesto dado a conocer se nombra o representa por la estructura, el estereoisómero nombrado o representado es por lo menos el 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 99.9% en fracción molar pura respecto a los otros estereoisómeros. Cuando un solo enantiómero se nombra o representa por la estructura, el enantiómero representado o nombrado es por lo menos 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 99.9% en fracción molar pura. Cuando un solo diastereómero se nombra o representa por la estructura, el diastereómero representado o nombrado es por lo menos 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 99.9% en fracción molar pura. La pureza porcentual en fracción molar es la relación proporcional de las moles del enantiómero o por arriba de las moles del enantiómero más las moles de su isómero óptico. De igual modo, la pureza porcentual en fracción molar es la relación proporcional de las moles del diastereómero o por arriba de las moles del diastereómero más las moles de su isómero. Cuando un compuesto dado a conocer se nombra o representa por la estructura sin indicar la estereoquímica, y el compuesto tiene por lo menos un centro quiral, se entenderá que el nombre o estructura abarca cualquier enantiómero del compuesto libre del isómero óptico correspondiente, una mezcla racémica del compuesto o mezclas enriquecidas en un enantiómero respecto a su isómero óptico correspondiente. Cuando un compuesto dado a conocer se nombra o representa por la estructura sin indicar la estereoquímica y tiene dos o más centros quirales, se entenderá que el nombre o estructura abarca un diastereómero libre de otros diastereómeros, una serie de diastereómeros libres de otros pares diastereoméricos, mezclas de diastereómeros, mezclas de pares diastereoméricos, mezclas de diastereómeros en las cuales un diastereómero se enriquece respecto al o a los otros diastereómeros, o mezclas de diastereómeros en las cuales uno o más diastereómeros se enriquece respecto a los otros diastereómeros. La divulgación adopta la totalidad de estas formas.

El término "cantidad efectiva" o "terapéuticamente cantidad efectiva" de un agente, como se utiliza en este documento, es la cantidad suficiente para efectuar resultados propicios o deseados, tales como resultados clínicos y, como tal, una "cantidad efectiva" depende del contexto en el cual se aplica. Por ejemplo, en el contexto de la administración de un agente que es un agente antimalárico, una cantidad efectiva de un agente es, por ejemplo, una cantidad suficiente para lograr el alivio, mejora, prevención o profilaxis de uno o más síntomas o padecimientos; disminución del grado de enfermedad, trastorno o padecimiento; estado de enfermedad, trastorno o padecimiento estabilizado (es decir, sin empeorar); prevención de la propagación de la enfermedad, trastorno o padecimiento (por ejemplo, prevención de la propagación de infección por *Plasmodium* más allá del hígado, prevención de enfermedad sistémica, prevención de la fase sintomática de la malaria, prevención del establecimiento de la infección por *Plasmodium* y/o prevención de la propagación de la enfermedad al prevenir la transmisión de regreso al mosquito, etc.); retardo o desaceleración del progreso de la enfermedad, trastorno o padecimiento; mejora o paliación de la enfermedad, trastorno o condición; y remisión (parcial o total) detectable o indetectable, en comparación con la respuesta obtenida sin la administración del agente.

El término "composición farmacéutica", como se utiliza en este documento, representa una composición que contiene un compuesto descrito en este documento, formulado con un excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede producirse o venderse con la aprobación de una agencia reguladora gubernamental como parte de un régimen terapéutico para el tratamiento de la enfermedad en un mamífero. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse, por ejemplo, para administración oral en forma de dosificación unitaria (por ejemplo, una tableta, cápsula, comprimido oblongo, cápsula de gelatina o jarabe); para administración tópica (por ejemplo, como crema, gel, loción o ungüento); para administración intravenosa (por ejemplo, como solución estéril libre de émbolos en partículas y en un sistema solvente adecuado para uso intravenoso); o en cualquier otra formulación descrita en este documento (ver a continuación).

Los portadores farmacéuticos útiles para la preparación de las composiciones del presente pueden ser sólidos, líquidos o gases. De este modo, las composiciones pueden adoptar la forma de tabletas, píldoras, cápsulas, supositorios, polvos, formulaciones entéricamente recubiertas u otras protegidas (por ejemplo, unión en resinas de intercambio iónico o empaquetamiento en vesículas de lípido-proteína), formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires y aerosoles. El portador puede seleccionarse de entre los diversos aceites, incluyendo aquellos de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soya, aceite mineral y aceite de ajonjolí. Agua, solución salina, dextrosa acuosa y glicoles son portadores líquidos preferidos, particularmente (cuando son isotónicos con la sangre) para soluciones inyectables. Por ejemplo, las formulaciones para administración intravenosa comprenden soluciones acuosas estériles del o los ingredientes activos, que se preparan al disolver el o los ingredientes activos sólidos en agua para producir una solución acuosa, y hacer a la solución estéril. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, celulosa, talco, glucosa, lactosa, talco, gelatina, malta, arroz, harina, gis, sílice, estearato de magnesio, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, cloruro de sodio, leche descremada en polvo, glicerol, propilenglicol, agua y etanol. Las composiciones pueden someterse a aditivos farmacéuticos convencionales, tales como conservantes, agentes estabilizantes, agentes humectantes o emulsionantes, sales para ajustar la presión osmótica y reguladores. Los portadores farmacéuticos adecuados y su formulación se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences por E. W. Martin. Estas composiciones contendrán, en cualquier caso, una cantidad efectiva del compuesto activo en conjunto con un portador adecuado con el fin de preparar la forma de dosificación apropiada para su administración al destinatario.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" representa aquellas sales que son adecuadas para utilizarse en contacto con los tejidos de los humanos y otros animales sin una indebida toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similares, y son acordes con una relación razonable beneficio/riesgo. Las sales farmacéuticamente aceptables se describen en: Berge *et al.*, *J. Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977 y en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Las sales pueden prepararse a partir de ácidos y bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos y bases inorgánicas y orgánicas. Las sales de adición de ácido representativas incluyen las sales acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, dicloroacetato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glutamato, glicerofosfato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, hipurato, hidrobromuro, clorhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, isetonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, metanosulfonato, mucato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pantotenato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato y valerato. Las sales básicas representativas incluyen sales de metales alcalinos o alcalinotérreos que incluyen sodio, litio, potasio, calcio y magnesio, sales de aluminio, así como amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de aminas, incluyendo, pero sin limitarse a, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, cafeína y etilamina.

Como se utiliza en este documento, el término "sujeto" se refiere a cualquier organismo al cual una composición, en concordancia con la divulgación, puede administrarse, por ejemplo, para propósitos experimentales, diagnósticos, profilácticos y/o terapéuticos. Los sujetos típicos incluyen cualquier animal (por ejemplo, mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, primates no humanos y humanos, lagartijas, gecos, etc.). El sujeto puede ser animales domesticados (por ejemplo, vacas, terneros, ovejas, corderos, caballos, potros, cerdos, lechones, etc.) o animales de la familia *Muridae* (por ejemplo, ratas, ratones, etc.). Un sujeto puede buscar o estar en necesidad de tratamiento, requerir tratamiento, recibiendo tratamiento, puede recibir tratamiento en el futuro, o un humano o animal que está bajo el cuidado de un profesional capacitado para una enfermedad o padecimiento particular.

Como se utiliza en este documento y también como se entiende en la técnica, "tratar" un padecimiento o el "tratamiento" del padecimiento (por ejemplo, los padecimientos descritos en este documento, tales como la malaria) es una estrategia para obtener resultados propicios o deseados, tales como resultados clínicos. Los resultados propicios o deseados pueden incluir, pero no se limitan a, alivio o mejora de uno o más síntomas o padecimientos; disminución del grado de enfermedad, trastorno o padecimiento; estado de enfermedad, trastorno o padecimiento estabilizado (es decir, sin empeorar); prevención de la propagación de la enfermedad, trastorno o padecimiento (por ejemplo, prevención de la propagación de infección por *Plasmodium* más allá del hígado o prevención de la transmisión de regreso al mosquito, prevención de enfermedad sistémica, prevención de la fase sintomática de la malaria y/o prevención del establecimiento de la infección por *Plasmodium*, etc.); retardo o desaceleración del progreso de la enfermedad, trastorno o padecimiento; mejora o paliación de la enfermedad, trastorno o condición; y remisión (parcial

o total) detectable o indetectable. "Paliación" de una enfermedad, trastorno o padecimiento significa que el grado y/o las manifestaciones clínicas indeseables de la enfermedad, trastorno o padecimiento se aminoran y/o el transcurso de la progresión se desacelera o prolonga, en comparación con el grado o transcurso en ausencia de tratamiento.

5 El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como dosificación unitaria para sujetos humanos y otros mamíferos, y cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con cualquier excipiente o excipientes farmacéuticos adecuados. Las formas de dosificación unitaria ejemplares no limitantes incluyen una tableta (por ejemplo, una tableta masticable), comprimido oblongo, cápsula (por ejemplo, una cápsula dura o una cápsula blanda), losange, película, tira, cápsula de gelatina y jarabe (ver también a continuación).

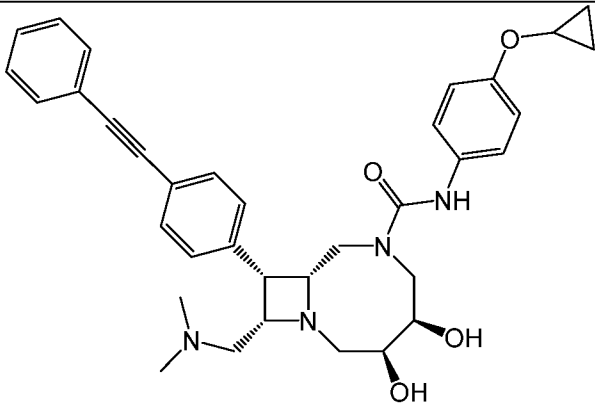
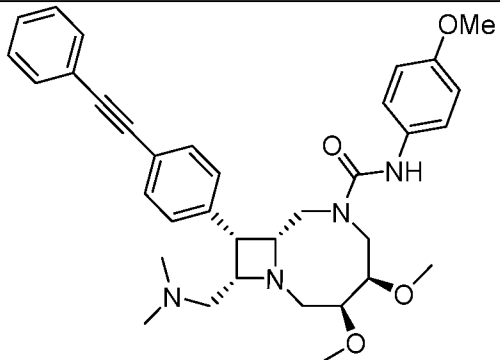
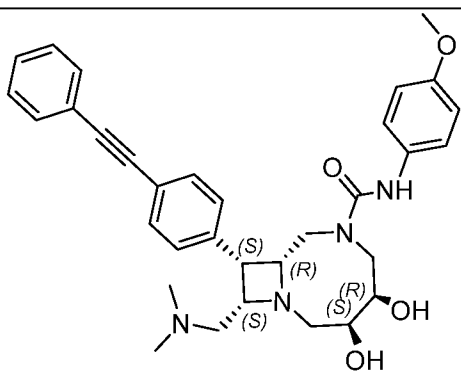
10 Otros atributos y ventajas de la divulgación se describen en la siguiente descripción detallada y en las reivindicaciones.

Compuestos

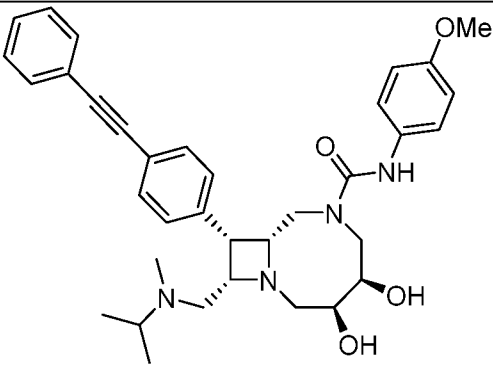
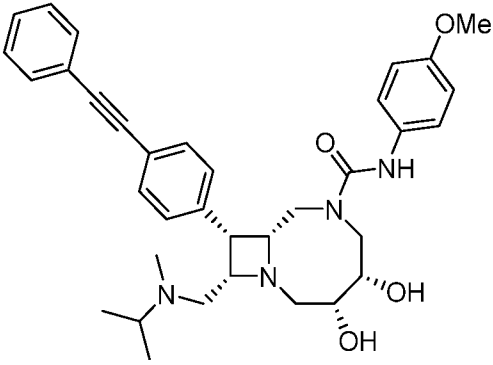
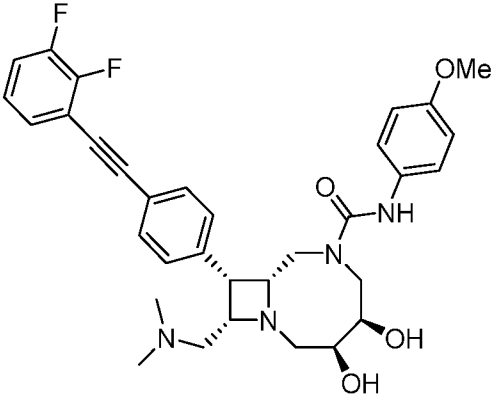
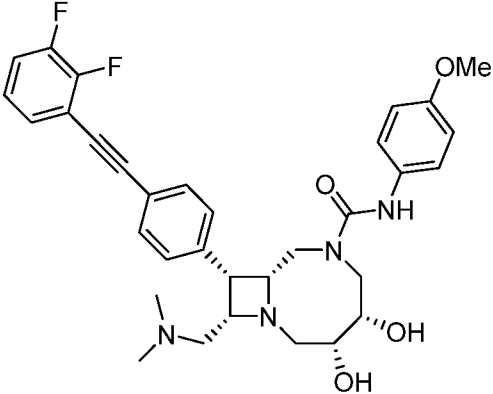
La presente divulgación hace posible novedosos compuestos y composiciones farmacéuticas, útiles para el tratamiento de la malaria. La divulgación también proporciona métodos de uso de estos compuestos y composiciones.

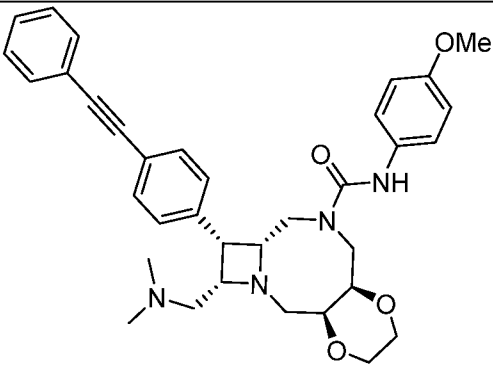
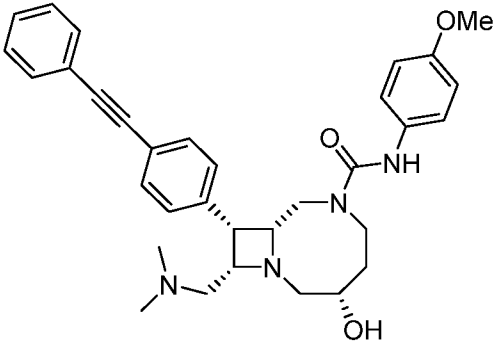
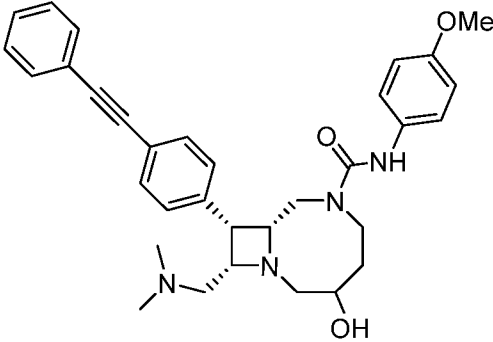
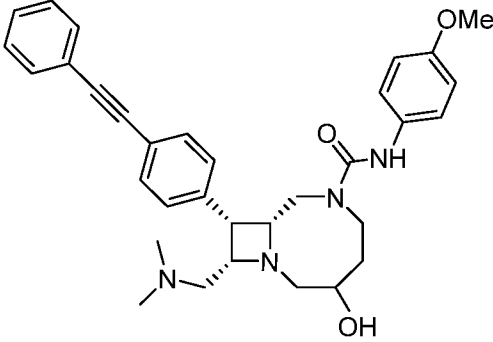
En algunas modalidades, los compuestos pueden ser cualquier compuesto listado en la Tabla 1.

15 Tabla 1

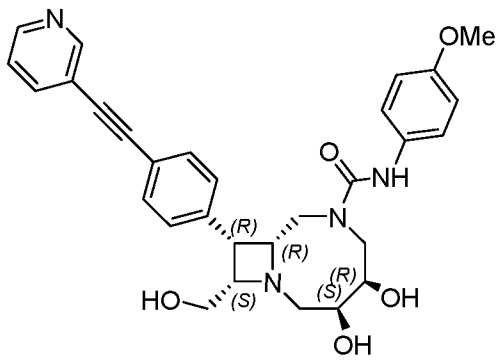
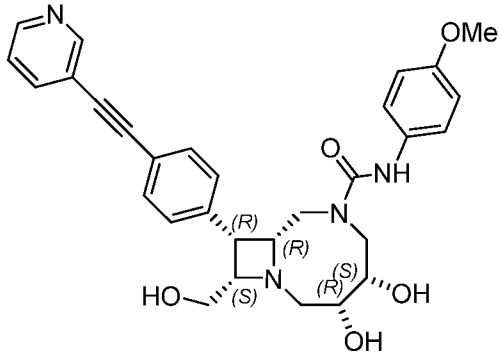
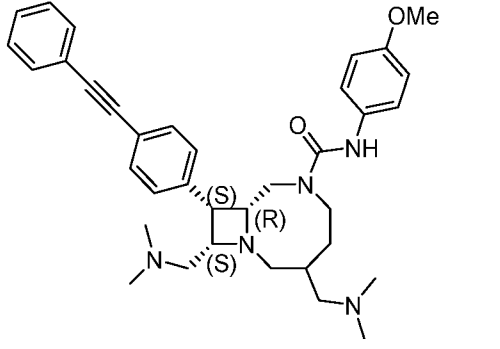
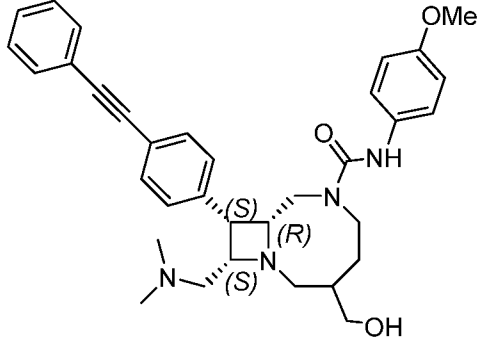
Comp.	Estructura	Nombre
E1		(3S,4R,8R,9S,10S)-N-(4-ciclopropoxifenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E2		(3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dimetoxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E5		(3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

Comp.	Estructura	Nombre
E6		(3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E7		(3S,4R,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-9-[4-[2-(2-fluorofenil)etinil]fenil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E8		(3R,4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-9-[4-[2-(2-fluorofenil)etinil]fenil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E9		(3S,4R,8R,9S,10S)-10-(dietilaminometil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

Comp.	Estructura	Nombre
E10		(3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E11		(3R,4S,8R,9S,10S)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E12		(3S,4R,8R,9S,10N)-9-[4-(2-(2,3-difluorofenil)etinil)fenil]-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E13		(3R,4S,8R,9S,10S)-9-[4-(2-(2,3-difluorofenil)etinil)fenil]-10-[[dimetilamino]metil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

Comp.	Estructura	Nombre
E14		(4a <i>R</i> ,7a <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,11a <i>S</i>)-9-((dimetilamino)metil)- <i>N</i> -(4-metoxifenil)-8-(4-(feniletinil)fenil)octahidro-2 <i>H</i> -azeto[1,2- <i>a</i>][1,4]dioxino[2,3- <i>f</i>][1,4]diazocin-6(3 <i>H</i>)-carboxamida
E15		(3 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi- <i>N</i> -(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E16		(8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi- <i>N</i> -(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida, isómero 1*
E17		(8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi- <i>N</i> -(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida, isómero 2*

Comp.	Estructura	Nombre
E18		(8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida, isómero 1*
E19		(8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida, isómero 2*
E20		(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida, isómero 1*
E21		(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida, isómero 2*

Comp.	Estructura	Nombre
E22		(3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E23		(3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E25		(8R,9S,10S)-3,10-bis[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E26		(8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

Comp.	Estructura	Nombre
E27		(8R,9R,10S)-3-[(dimetilamino)metil]-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E28		(3R,8R,9R,10S)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E29		(3S,8R,9R,10S)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E36		(3S,4R,8R,9S)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

Comp.	Estructura	Nombre
E37		(3R,4S,8R,9S)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida
E38		(3R,4S,8R,9S,10S)-N-(4-ciclopropoxifenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

*Cada estereoisómero se aisló como se describe en la síntesis ejemplar y se utilizó en todo experimento biológico como se describe a continuación. Sin embargo, la estereoquímica en la posición C3 o C4 no podía determinarse, aunque cada diastereómero (es decir, isómero 1 o isómero 2) se aisló como se describe y no se presenta como mezcla.

Se entenderá que, en caso de alguna inconsistencia entre un nombre químico y una fórmula, ambos compuestos con el nombre químico indicado y los compuestos con la estructura química indicada se considerarán adoptados por la invención.

Los compuestos de la presente invención incluyen los compuestos en sí, así como sus sales, en su caso. Una sal, por ejemplo, puede formarse entre un anión y un sustituyente cargado positivamente (por ejemplo, amino) en un compuesto descrito en este documento. Los aniones adecuados incluyen cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, nitrato, fosfato, citrato, metanosulfonato, trifluoroacetato y acetato. Asimismo, una sal también puede formarse entre un catión y un sustituyente cargado negativamente (por ejemplo, carboxilato) en un compuesto descrito en este documento. Los cationes adecuados incluyen el ión sodio, ión potasio, ión magnesio, ión calcio, y un catión amonio tal como el ión tetrametilamonio. Los ejemplos de profármacos incluyen alquil ésteres C₁₋₆ de grupos de ácido carboxílico que, con la administración a un sujeto, son capaces de proporcionar compuestos activos.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente divulgación incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicas y orgánicas farmacéuticamente aceptables. Como se utiliza en este documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal formada por la adición de un ácido o base farmacéuticamente aceptable a un compuesto dado a conocer en este documento. Como se utiliza en este documento, la frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que es aceptable para su uso en aplicaciones farmacéuticas desde una perspectiva toxicológica y no interactúa de modo adverso con el ingrediente activo.

Los ejemplos de sales de ácidos adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanforsulfonato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Pueden emplearse otros ácidos tales como el oxálico, aunque no sean en sí mismos farmacéuticamente aceptables, en la preparación de sales útiles como intermediarios en la obtención de los compuestos de la presente invención, y sus sales de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), amonio y N-(alquilo)₄⁺. La presente invención también visualiza la cuaternización de cualquier grupo que contiene nitrógeno básico de los compuestos dados a conocer en este

documento. Pueden obtenerse productos solubles o dispersables en agua o aceite por esta cuaternización. Las formas salinas de los compuestos de cualquiera de las fórmulas en este documento pueden ser sales de aminoácidos de grupos carboxilo (por ejemplo, sales de L-arginina, L-lisina, L-histidina).

Listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418; Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977); y "Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use A Handbook; Wermuth, C. G. and Stahl, P. H. (eds.) Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002 [ISBN 3-906390-26-8].

Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse al poner en contacto la sal con una base o ácido y aislar el compuesto de origen de manera convencional. La forma de origen del compuesto difiere de las diversas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tales como solubilidad en solventes polares, pero de otro modo las sales son equivalentes a la forma de origen del compuesto para los propósitos de la presente invención.

Además de formas salinas, se describen, pero que no forman parte de la presente invención, compuestos que se encuentran en forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en este documento son aquellos compuestos que se someten a cambios químicos bajo condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Adicionalmente, los profármacos pueden convertirse a los compuestos de la presente invención por métodos químicos o bioquímicos en un ambiente *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente a los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un depósito de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuado. Los profármacos a menudo son útiles dado que, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco de origen. Por ejemplo, pueden estar más biodisponibles por administración oral que el fármaco de origen. El profármaco también puede tener una solubilidad mejorada, en las composiciones farmacológicas, sobre el fármaco original. Una amplia diversidad de derivados de profármacos se conoce en la técnica, tales como aquellos que dependen de escisión hidrolítica o activación oxidativa del profármaco. Un ejemplo, sin limitación, de un profármaco, puede ser un compuesto de la presente invención, el cual se administra como éster (el "profármaco"), pero luego se hidroliza metabólicamente al ácido carboxílico, la entidad activa. Ejemplos adicionales incluyen derivados peptídico de un compuesto de la presente invención.

La presente invención también incluye diversas formas hidratadas y solvatadas de los compuestos.

Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones antinaturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen estos compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden radioetiquetarse con isótopos radioactivos, tales como, por ejemplo, tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, radioactivas o no, pretenden abarcarse dentro del alcance de la presente invención.

Métodos

Los métodos de tratamiento o profilaxis no forman parte de la presente invención. Los compuestos descritos en este documento son útiles en los métodos proporcionados en este documento y, aunque no se limita por teoría alguna, se considera que ejercen sus efectos deseables a través de su habilidad para inhibir el crecimiento o eliminar un protozoario parasitario que ocasiona malaria (por ejemplo, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y/o *P. knowlesi*) y/o criptosporidiosis (por ejemplo, *C. parvum*, *C. hominis*, *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis* y *C. muris*). El tratamiento puede incluir profilaxis causativa, tal como prevención de la propagación de la infección por *Plasmodium* y/o *Cryptosporidium* más allá del hígado, prevención de la enfermedad sistémica, prevención de la fase sintomática de la malaria, prevención del establecimiento de la infección y/o prevención de la transmisión posterior (por ejemplo, a un mosquito). El tratamiento de la malaria puede referirse al tratamiento destinado a lograr la cura (por ejemplo, de *P. vivax* o *P. malariae*), por ejemplo, el tratamiento para la cura radical (es decir, depuración de hipnozoitos del hígado). En diversos ejemplos, los métodos incluyen prevenir la propagación de la infección de un parásito causante de malaria desde el hígado. El tratamiento de la criptosporidiosis puede incluir la profilaxis causativa, tal como la prevención de la propagación de *Cryptosporidium* más allá de las porciones infectadas de un sujeto (por ejemplo, hígado, intestinos, tracto respiratorio, etc.).

Los compuestos pueden ser útiles en el tratamiento de malaria resistente a fármacos, tal como la malaria resistente a cloroquina, quinina, pirimetamina, sulfadoxina, mefloquina, arteméter, lumefantrina, artesunato, amodiaquina, dihidroartemisinina, piperarquina, proguanilo, doxiciclina, clindamicina, artemisinina, atovacuona y cualquier combinación de los mismos.

Composiciones farmacéuticas

1. Formulaciones

Para su uso en los métodos descritos en este documento, los compuestos pueden formularse como composiciones farmacéuticas o veterinarias. La formulación seleccionada puede variar dependiendo del sujeto a tratarse, el modo de administración y el tipo de tratamiento deseado (por ejemplo, prevención, profilaxis o terapia). Un resumen de técnicas de formulación se encuentra en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition*, Lippincott Williams &

Wilkins, (2005); y *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York. Las rutas de administración y formulaciones ejemplares se describen de la siguiente manera.

En la práctica de los métodos dados a conocer, los compuestos (o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos) o composiciones pueden administrarse por cualquiera de las rutas y métodos usuales y aceptables conocidos en la técnica. Los compuestos o composiciones de este modo pueden administrarse, por ejemplo, por la ruta entérica o gastrointestinal (por ejemplo, por vía oral o rectal), por vía tópica (por ejemplo, a la piel o una membrana mucosa accesible (por ejemplo, una superficie intraoral (por ejemplo, sublingual o bucal), intranasal, intrarrectal o genitourinaria)), por vía parenteral (por ejemplo, por aplicación o inyección intramuscular, intravenosa, subcutánea, intraarticular, intravesicular, subaracnoidea, epidural, ocular o aural), por vía transdérmica o por inhalación (por ejemplo, por aerosol).

Las composiciones pueden estar en forma de un sólido, líquido o gas, cuando se determina como apropiado por los expertos en la técnica. De este modo, como ejemplos generales, las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de tabletas, cápsulas, jarabes, píldoras, formulaciones con recubrimiento entérico u otras formulaciones protegidas, formulaciones de liberación sostenida, elixires, polvos, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles (por ejemplo, hidrogeles), pastas, ungüentos, cremas, emplastos, parches transdérmicos, remojos, supositorios, enemas, inyectables, implantes, rocíos o aerosoles.

Las composiciones, en general, incluyen una cantidad efectiva de un compuesto descrito en este documento y uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, como se sabe bien en la técnica. Las composiciones de este modo pueden incluir uno o más diluyentes, reguladores, conservantes, sales, carbohidratos, aminoácidos, proteínas acarreadoras, ácidos grasos, lípidos, etc. Los compuestos descritos en este documento pueden presentarse en cantidades que totalizan, por ejemplo, 1 a 95% en peso del peso total de la composición.

Para inyección, pueden prepararse formulaciones en formas convencionales como soluciones o suspensiones líquidas, o como formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los excipientes adecuados para estas formulaciones incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa y glicerol. Estas composiciones también pueden contener sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, y agentes reguladores de pH, tales como acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, etcétera.

Las formulaciones para uso oral incluyen tabletas que contienen un compuesto en una mezcla con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o rellenos inertes (por ejemplo, sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones incluyendo almidón de papa, carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio, sulfato de calcio o fosfato de sodio); agentes de granulación y desintegración (por ejemplo, derivados de celulosa incluyendo celulosa microcristalina, almidones incluyendo almidón de papa, croscarmelosa sódica, alginatos o ácido algínico); agentes aglomerante (por ejemplo, sacarosa, glucosa, sorbitol, acacia, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de magnesio y aluminio, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, polivinilpirrolidona o polietilenglicol; y agentes lubricantes, potenciadores de fluidez y antiadhesivos (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de zinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados o talco). Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes saborizantes, plastificantes, humectantes y agentes reguladores.

Las formulaciones para uso oral también pueden proporcionarse como tabletas masticables, o como cápsulas de gelatina dura, en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (por ejemplo, almidón de papa, lactosa, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín), o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva. Pueden prepararse polvos, granulados y gránulos al utilizar los ingredientes arriba mencionados en tabletas y cápsulas de manera convencional al utilizar, por ejemplo, un mezclador, un aparato de lecho fluido o un equipo de secado por pulverización.

La liberación controlada por disolución o difusión puede lograrse por el recubrimiento apropiado de una formulación en tabletas, cápsulas, gránulos o granulados de los compuestos, o al incorporar el compuesto en una matriz apropiada. Un recubrimiento de liberación controlada puede incluir una o más de las sustancias de recubrimiento arriba mencionadas y/o, por ejemplo, goma laca, cera de abejas, glucocera, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido DL-poliláctico, butirato de acetato de celulosa, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, vinilpirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metilmetacrilato, 2-hidroximetacrilato, hidrogeles de metacrilato, 1,3 butilenglicol, metacrilato de etilenglicol y/o polietilenglicoles. En una formulación de matriz de liberación controlada, el material de matriz también puede incluir, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, triestearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo, cloruro de polivinilo, polietileno y/o fluorocarburo halogenado.

Las formas líquidas en las cuales los compuestos y composiciones pueden incorporarse para administración oral incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente saborizados, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones

saborizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de ajonjolí, aceite de coco o aceite de cacahuete, como así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

La composición farmacéutica también puede formularse como composición veterinaria, destinada para su uso con sujetos diferentes a humanos. Las composiciones veterinarias, de acuerdo con la presente invención, pueden encontrarse en cualquier forma apropiada para adaptarse a los modos de administración requeridos, por ejemplo, nasal, oral, intradérmica, cutánea o parenteral. En una modalidad preferida, la composición se encuentra en una forma destinada a una administración oral y, por ejemplo, cuando el animal doméstico come, mezclada con la ración alimenticia o directamente en la boca después del alimento. Las composiciones veterinarias de la invención se encuentran en forma de una suspensión o solución líquida nasal, oral o inyectable, o en forma sólida o semisólida, polvos, comprimidos, cápsulas, gránulos, píldoras recubiertas de azúcar, aglomerados, rocíos, obleas, píldoras, tabletas, pastas, implantes o geles. En una modalidad particular, las composiciones se encuentran en forma de una forma sólida oral, de preferencia tabletas. En algunas modalidades, las composiciones veterinarias pueden tener una cantidad efectiva del compuesto para una especie específica de animal (por ejemplo, vaca, cordero, cabra, caballo, etc.).

En una modalidad preferida, las composiciones de la invención se formulan en comprimidos o tabletas para una administración oral. De acuerdo con este tipo de formulación, comprenden lactosa monohidratada, celulosa microcristalina, crospovidona/povidona, aroma, azúcar comprimible y estearato de magnesio como excipientes. Cuando las composiciones se encuentran en forma de comprimidos o tabletas son, por ejemplo, comprimidos o tabletas de 1 mg, 2 mg o 4 mg de torasemida. Estos comprimidos o tabletas son divisibles, por lo que pueden cortarse para adaptarse a la posología de acuerdo con la invención en una o dos tomas diarias. En una modalidad preferida más, las composiciones de la invención se formulan en soluciones o suspensiones inyectables para una administración parenteral. Las composiciones inyectables se producen al mezclar una cantidad terapéuticamente eficiente de torasemida con un regulador de pH, un agente regulador, un agente de suspensión, un agente de solubilización, un estabilizante, un agente de tonicidad y/o un conservante, y por la transformación de la mezcla en una inyección o perfusión intravenosa, subcutánea o intramuscular, de acuerdo con un método convencional. Posiblemente las composiciones inyectables pueden liofilizarse de acuerdo con un método convencional. Los ejemplos de agentes de suspensión incluyen metilcelulosa, polisorbato 80, hidroxietilcelulosa, goma xantana, carboximetilcelulosa sódica y monolaurato de sorbitán polietoxilado. Los ejemplos del agente de solubilización incluyen aceite de ricino solidificado con polioxietileno, polisorbato 80, nicotinamida, monolaurato de sorbitán polietoxilado, macrogol y éster etílico de ácido graso de aceite de casta. Más aún, el estabilizante incluye sulfito de sodio, metilsulfito de sodio y éter, mientras el conservante incluye metil p-hidroxibenzoato, etil p-hidroxibenzoato, ácido sórbico, fenol, cresol y clorocresol. Un ejemplo de agente de tonicidad es manitol. Cuando se preparan suspensiones o soluciones inyectables, es deseable asegurarse de que son isotónicas con la sangre.

2. Equipos

Los compuestos y composiciones pueden empacarse en un equipo, opcionalmente con uno o más agentes farmacéuticos diferentes (ver a continuación). Los ejemplos no limitantes de los equipos incluyen aquellos que contienen, por ejemplo, dos o más píldoras, una píldora y un polvo, un supositorio y un líquido en un vial, o dos cremas tópicas. Los equipos pueden incluir componentes opcionales que ayudan en la administración de la dosis unitaria a los sujetos, tales como viales para reconstituir formas en polvo, jeringas para inyección, sistemas de suministro IV personalizados o inhaladores. Adicionalmente, los equipos de dosis unitarias pueden contener instrucciones para la preparación y administración de las composiciones. Los equipos pueden fabricarse como una dosis unitaria de uso único para un sujeto, usos múltiples para un sujeto particular (a una dosis constante o en la que los compuestos individuales pueden variar en potencia a medida que avanza la terapia), o los kits pueden contener múltiples dosis adecuadas para la administración a múltiples sujetos ("empaquete a granel"). Los componentes del equipo pueden ensamblarse en cajas de cartón, blísteres, botellas y tubos.

3. Dosificación

La dosis de un compuesto depende de una serie de factores, tales como la forma de administración, la edad y el peso corporal del sujeto, y la condición del sujeto a tratar y, en última instancia, se decidirá por el médico o médico veterinario tratante. Esta cantidad del compuesto, cuando se determina por el médico o médico veterinario tratante, se refiere en este documento y en las reivindicaciones como "terapéuticamente cantidad efectiva". Por ejemplo, la dosis de un compuesto dado a conocer en este documento típicamente se encuentra en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg por día. De preferencia, la terapéuticamente cantidad efectiva es una cantidad de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg por día.

La administración de cada fármaco, como se describe en este documento, independientemente puede ser una a cuatro veces al día por un día a un año, e incluso puede ser por la vida del sujeto. La administración crónica a largo plazo puede indicarse.

4. Terapias de combinación

Los compuestos y las composiciones farmacéuticas pueden formularse y emplearse en terapias de combinación, es decir, los compuestos y las composiciones farmacéuticas pueden formularse o administrarse simultáneamente, antes o subsecuente a uno o más de otros procedimientos terapéuticos o médicos deseados. La combinación particular de terapias (terapéutica o procedimientos) a emplearse en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de las terapias y/o procedimientos deseados, y el efecto terapéutico deseado a lograrse. También se apreciará que las terapias empleadas pueden lograr un efecto deseado para el mismo trastorno, o pueden lograr diferentes efectos (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso).

Los ejemplos de otros fármacos para combinarse con los compuestos descritos en este documento incluyen productos farmacéuticos para el tratamiento de la malaria (por ejemplo, cloroquina, quinina, pirimetamina, sulfadoxina, mefloquina, arteméter, lumefantrina, artesunato, amodiaquina, dihidroartemisinina, piperarquina, proguanilo, doxiciclina, clindamicina, artemisinina, atovacuona, cualquier otro terapéutico aprobado para el tratamiento de la malaria, y cualquier combinación de los mismos) y/o productos farmacéuticos para el tratamiento de la criptosporidiosis (por ejemplo, nitazoxanida). Otros ejemplos de fármacos para combinarse con los compuestos descritos en este documento incluyen productos farmacéuticos para el tratamiento de síntomas o indicaciones diferentes, pero asociados o relacionados. Los métodos de combinación pueden implicar el uso de los dos (o más) agentes formulados en conjunto o por separado, cuando se determina como apropiado por los expertos en la técnica. En un ejemplo, dos o más fármacos se formulan en conjunto para la administración simultánea o casi simultánea de los agentes.

EJEMPLOS

Los siguientes Ejemplos ilustran la síntesis de un número representativo de compuestos, y el uso de estos compuestos en el tratamiento de la malaria. Por consiguiente, los Ejemplos se destinan a ilustrar, más no a limitar la descripción. Pueden sintetizarse compuestos adicionales no ejemplificados específicamente al utilizar métodos convencionales, en combinación con los métodos descritos en este documento.

Síntesis de compuestos

Materiales y métodos

Todas las reacciones se llevaron a cabo bajo una atmósfera de N₂ o argón. Todos los reactivos y solventes se adquirieron de vendedores comerciales y se utilizaron tal como se recibieron, o se sintetizaron de acuerdo con las referencias a pie de página. Los espectros de NMR se registraron en un espectrómetro Bruker 300 (300 MHz ¹H, 75 MHz ¹³C) y Bruker 400 (400 MHz ¹H, 100 MHz ¹³C). Los desplazamientos químicos de protones se informan en ppm (6) referenciados al solvente de NMR. Los datos se informan de la siguiente manera: desplazamientos químicos, multiplicidad (br = amplio, s = singulete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, p = pentete, m = multiplete; constantes de acoplamiento en Hz; integración). A menos que se indique de otro modo, los datos de NMR se recolectaron a 25 °C. Se realizó cromatografía instantánea al utilizar 40-60 pirn Silica Gel (malla de 60 Å) en un Teledyne Isco Combiflash Rf. Para análisis de pureza, la pureza se midió por absorbancia UV a 210 nm para todos los ejemplos, y la identidad se determinó en un espectrómetro de masas SQ por ionización por electropulverización positiva. Se utilizó el siguiente método: La cromatografía líquida/espectrometría de masas (LCMS) en tándem se realizó en un módulo de separaciones Waters 2795 y detector de masas 3100. La fase móvil A consistió en ácido fórmico al 0.01% en agua, mientras la fase móvil B consistió en ácido fórmico al 0.01% en acetonitrilo. El gradiente corrió de 5% a 95% de fase móvil B durante 2.5, 5 o 7.5 min a 1.75 ml/min. Una columna Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.7 mM, 3.0 x 30 mm, se utilizó con la temperatura de columna mantenida a 40 °C. Se inyectó una cantidad de 2.1 ml de solución de muestra. Se realizó TLC analítica en placas 60-F de gel de sílice de 0.25 mm EM Reagent. La visualización se consiguió con luz UV y tinción por permanganato de potasio acuoso (KMnO₄), seguido por calentamiento. Se obtuvieron mediciones de masas exactas en un espectrómetro de masas Agilent 6230 Time-of-Flight como (M+H)⁺. La pureza e identidad de compuestos también se determinaron por UPLC-MS. La pureza se midió por absorbancia de luz UV a 210 nm. La identidad se determinó en un espectrómetro de masas SQ por ionización por electropulverización positiva y negativa. La fase móvil A consistió en hidróxido de amonio al 0.1% o ácido trifluoroacético al 0.05% en agua, mientras la fase móvil B consistió en hidróxido de amonio al 0.1% o ácido trifluoroacético al 0.06% en acetonitrilo. El gradiente corrió de 5% a 95% de fase móvil B durante 2.65 min a 0.9 ml/min. Una columna Acquity BEH C18, 1.7 µm, 2.1 x 50 mm, se utilizó con la temperatura de columna mantenida a 65 °C. Los compuestos se disolvieron en DMSO a una concentración nominal de 1 mg/ml, y se inyectó 1.0 µl de esta solución. Se realizaron separaciones quirales por SFC-MS. Un cromatógrafo de fluido supercrítico Berger G600 se acopló con un espectrómetro de masas de un solo cuadrupolo Waters ZQ operando en modo APCI positivo. Al utilizar CO₂ licuado modificado con 20% de isopropanol, se realizó una separación isocrática por 5.0 minutos a 4.0 ml/min en una columna de 4.6 x 100 mm Chiralpak AD-H mantenida a 40 °C. Los compuestos se disolvieron en metanol a una concentración nominal de 1 mg/ml, y se inyectaron 10 µl de esta solución. Los ejemplos sintéticos a continuación no son particularmente limitantes, y otras metodologías para sintetizar los compuestos de la presente invención se conocen bien por los expertos en la técnica.

Abreviaciones

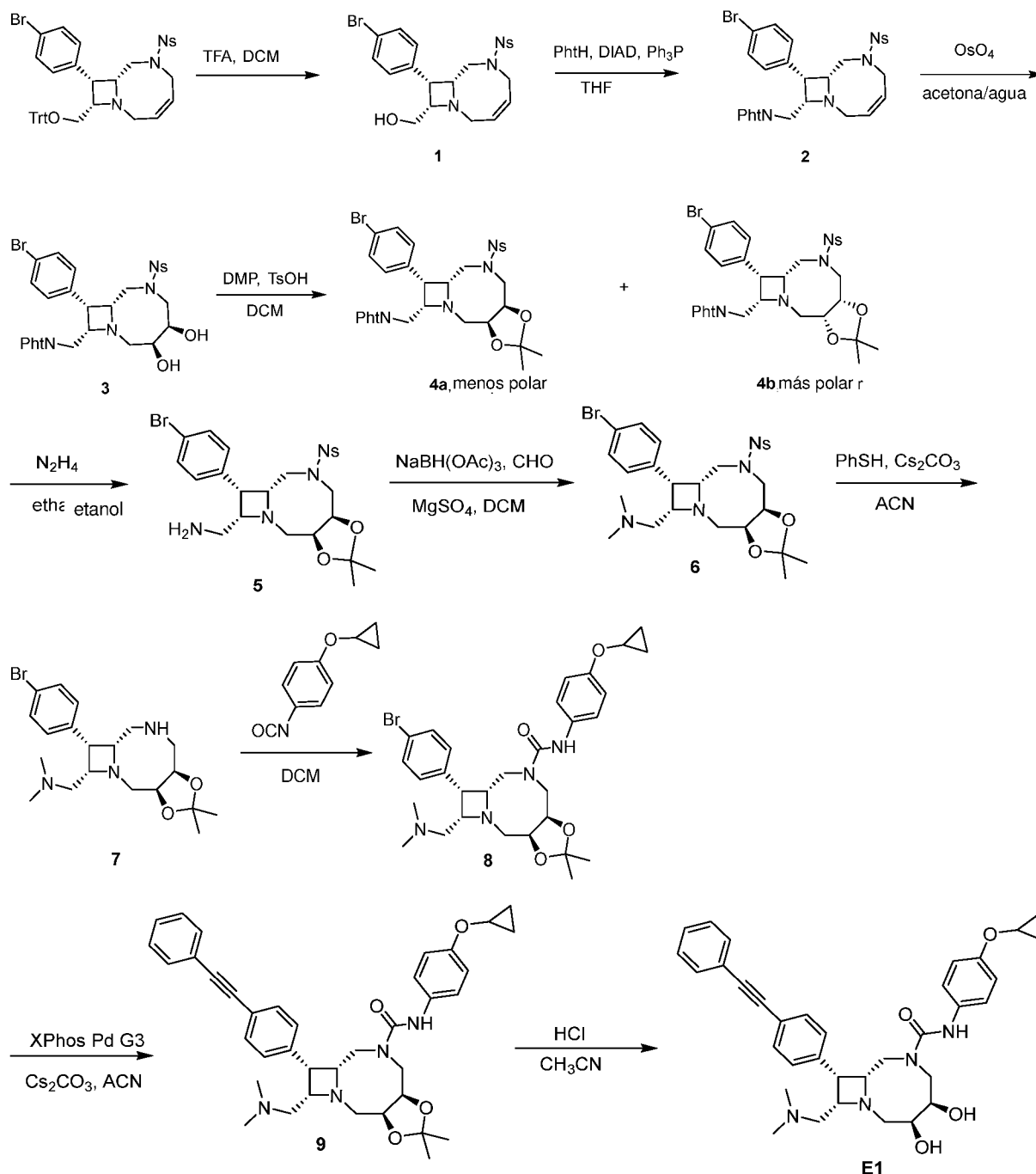
A lo largo de los ejemplos sintéticos a continuación, se emplean diversas abreviaciones que se conocen bien por los expertos en la técnica. La Tabla 2 ilustra diversos ejemplos de abreviaciones utilizadas a lo largo de los ejemplos y la referencia correspondiente.

5 Tabla 2

Abreviación	Referencia
ACN	acetonitrilo
DCM	diclorometano
DMF	dimetilformamida
EtOAc	acetato de etilo
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
MeOH	Metanol
PBS	Solución salina regulada con fosfatos
THF	Tetrahidrofurano
TFA	Ácido trifluoroacético
TLD	Cromatografía en capa fina
UPLC	Cromatografía líquida de ultra alta resolución
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
XPhos Pd G3	Precatalizador XPhos (es decir, metanosulfonato de 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladio(II), Número CAS 1445085-55-1)
TMSOTf	trimetilsilil trifluorometanosulfonato
DIAD	diisopropil azodicarboxilato
NMO	N-óxido de N-metilmorfolina
TsOH	ácido p-toluenosulfónico
TBAB/F	bromuro/fluoruro de tetra-N-butilamonio
DCE	dicloroetileno
TFAA	anhídrido trifluoroacético
DMP	2,2-dimetoxipropano
Dess-Martin	Peryodinano de Dess–Martin (es decir, 1,1,1-Tris(acetiloxy)-1,1-dihidro-1,2-benziodoxol-3-(1H)-ona, Número CAS 87413-09-0)
Catalizador de 2ª generación Hoyveda-Grubbs	Catalizador a base de rutenio de 2ª generación Hoyveda-Grubbs (es decir, (1,3-bis-(2,4,6-trimetilfenil)-2-imidazolidiniliden)dicloro(o-isopropoxifenilmetileno)rutenio, Dicloro[1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-2-imidazolidiniliden](2-isopropoxifenilmetileno)rutenio(II), Número CAS 301224-40-8).
Catalizador de 1ª generación Hoyveda-Grubbs	Catalizador a base de rutenio de 1ª generación Hoyveda-Grubbs (es decir, dicloro(2-isopropoxifenilmetileno)(triciclohexilfosfina)rutenio(II), Dicloro(o-isopropoxifenilmetileno)(triciclohexilfosfina)rutenio(II), Número CAS 203714-71-0).
NBSH	2-nitrobencenosulfonohidrazida
PhSH	Bencenotiol

Abreviación	Referencia
DIBAL-H	Hidruro de Diisobutilaluminio

Ejemplo 1: (3S,4R,8R,9S,10S)-N-(4-ciclopropoxifenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E1")



Intermediario 1: ((8R,9R,10S,Z)-9-(4-bromofenil)-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-10-il)metanol.

A una solución de (8R,9R,10S,Z)-10-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-9-(4-bromofenil)-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno (2.00 g, 2.66 mmol) (Journal of Organic Chemistry (2012), 77(17), 7187-7211; WO 2015070204), en DCM (27.00 ml), se adicionó TFA (3.03 g, 26.60 mmol, 1.97 ml). La mezcla se agitó a 15 °C durante 20 horas. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de solución de NaHCO₃ (100 ml), y luego se extrajo con DCM en 180 ml (3 x 60 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre [NaSO₄], se filtraron y se concentraron

bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo: DCM=1:1 a DCM:MeOH=10:1, lo que produjo el Intermediario 1 (1.47 g, sin purificar) como un sólido negro. La presencia del producto de reacción se confirmó por NMR y LCMS.

Intermediario 2: 2-(((8*R*,9*S*,10*S*,*Z*)-9-(4-bromofenil)-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-10-il)metil)isoindolin-1,3-diona.

A una mezcla de trifenilfosfina (1.52 g, 5.78 mmol), en THF (5 ml), desgasificada y purgada con N₂, se adicionó diisopropil azodicarboxilato (1.17 g, 5.78 mmol, 1.12 ml). A esta mezcla agitada a 0 °C bajo atmósfera de N₂ se adicionó una mezcla del Intermediario 1 (1.47 g, 2.89 mmol, 1.00 eq.) e isoindolin-1,3-diona (637.81 mg, 4.34 mmol, 1.50 eq.), en THF (5 ml), desgasificada y purgada con N₂. La mezcla se agitó a 16 °C durante 18 horas bajo atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (20 ml), y luego se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre [Na₂SO₄], se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo:etilacetato = 5:1 a 2:1), produciendo el Intermediario 2 (1.26 g, 1.98 mmol, 68.39% de rendimiento) como un sólido café, tal como se confirma por NMR y LCMS.

Intermediario 3: 2-(((8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il)metil)isoindolin-1,3-diona

A una solución del Intermediario 2 (1.26 g, 1.98 mmol), en acetona/agua (15.00 ml), se adicionó N-óxido de N-metilmorfolina (463.09 mg, 3.95 mmol, 417.20 µl) y luego OsO₄ (5.02 mg, 19.76 µmol, 1.03 µl). La mezcla se agitó a 15 °C durante 1.5 horas. La mezcla de reacción se secó sobre [Na₂SO₄], se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1 a 0:1) para producir el Intermediario 3 (1.11 g, 1.65 mmol, 83.48% de rendimiento) como un sólido blanco, tal como se confirma por LCMS y NMR.

Intermediarios 4a y 4b: 2-(((3*aR*,6*aR*,7*S*,8*R*,10*aS*)-7-(4-bromofenil)-2,2-dimetil-5-((2-nitrofenil)sulfonyl)octahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-il)metil)isoindolin-1,3-diona (Intermediario 4a) y 2-(((3*aS*,6*aS*,7*S*,8*R*,10*aS*)-7-(4-bromofenil)-2,2-dimetil-5-((2-nitrofenil)sulfonyl)octahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-il)metil)isoindolin-1,3-diona (Intermediario 4b).

A una solución del Intermediario 3 (880.00 mg, 1.31 mmol) y 2,2-dimetoxipropano (272.97 mg, 2.62 mmol, 321.14 µl), en DCM (10.00 ml), se adicionó TsOH (225.66 mg, 1.31 mmol). La mezcla se agitó a 15 °C. Después de 20 horas, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1:1), produciendo cada *cis*-diol, el Intermediario 4a (menos polar, 53.00 mg, 74.48 µmol, 5.68% de rendimiento) como un sólido blanco, y el Intermediario 4b (más polar, 260.00 mg, 365.38 µmol, 27.88% de rendimiento) como un sólido blanco, tal como se confirma por NMR y LCMS.

Intermediario 5: ((3*aR*,6*aR*,7*S*,8*S*,10*aS*)-7-(4-bromofenil)-2,2-dimetil-5-((2-nitrofenil)sulfonyl)octahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-il)metanamina.

A una solución del Intermediario 4b (360.00 mg, 505.92 µmol), en etanol (5.00 ml), se adicionó hidracina hidratada (37.99 mg, 758.88 µmol, 36.88 µl). Después de agitar a 70 °C por 1.5 horas, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para producir el Intermediario 5 (239.00 mg, 411.02 µmol, 81.24% de rendimiento) como un sólido amarillo, tal como se confirma por NMR y LCMS.

Intermediario 6: 1-((3*aR*,6*aR*,7*S*,8*S*,10*aS*)-7-(4-bromofenil)-2,2-dimetil-5-((2-nitrofenil)sulfonyl)octahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-il)-*N,N*-dimetilmetanamina.

A una solución del Intermediario 5 (239.00 mg, 411.02 µmol) y formaldehído (200.47 mg, 2.47 mmol, 183.92 µl), en DCM (500 µl), se adicionó MgSO₄ (494.74 mg, 4.11 mmol) y ácido acético (49.36 mg, 822.04 µmol, 47.01 µl). Después de 20 min, se adicionó triacetoxiborohidruro de sodio (60.32 mg, 1.23 mmol) y la mezcla se agitó a 15 °C por 23 horas. La mezcla de reacción se filtró por celite y se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1), produciendo el Intermediario 6 (210.00 mg, 344.53 µmol, 83.82% de rendimiento) como un aceite amarillo, tal como se confirma por LCMS.

Intermediario 7: 1-((3*aR*,6*aR*,7*R*,8*S*,10*aS*)-7-(4-bromofenil)-2,2-dimetiloctahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-il)-*N,N*-dimetilmetanamina.

A una solución del Intermediario 6 (210.00 mg, 344.53 µmol), en CH₃CN (2.00 ml), se adicionó bencenotiol (17.08 mg, 155.04 µmol, 15.82 µl) y luego se adicionó Cs₂CO₃ (224.51 mg, 689.06 µmol). La mezcla se agitó a 40 °C durante 1.5 horas bajo atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (5 ml), y se extrajo con DCM en 15 ml (3 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre [Na₂SO₄], se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1), produciendo el Intermediario 7 (72.00 mg, 169.66 µmol, 49.24% de rendimiento) como un aceite amarillo, tal como se confirma por NMR y LCMS.

Intermediario 8: (3*aR*,6*aR*,7*S*,8*S*,10*aS*)-7-(4-bromofenil)-*N*-(4-ciclopropoxifenil)-8-((dimetilamino)metil)-2,2-dimetilhexahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-5(4*H*)-carboxamida.

A una solución del Intermediario 7 (48.00 mg, 113.11 μ mol), en DCM (2.00 ml), se adicionó TEA (5.72 mg, 56.55 μ mol, 7.84 μ l) y 1-(ciclopropoxi)-4-isocianato-benceno (23.78 mg, 135.73 μ mol) bajo atmósfera de N₂. Después de agitar a 15 °C por 22 horas, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (5 ml), y luego se extrajo con DCM 15 ml (3 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1), produciendo el Intermediario 8 (29.40 mg, 49.04 μ mol, 43.35% de rendimiento) como un aceite pálido, tal como se confirma por LCMS.

Intermediario 9: (3*aR*,6*aR*,7*S*,8*S*,10*aS*)-*N*-(4-ciclopropoxifenil)-8-((dimetilamino)metil)-2,2-dimetil-7-(4-(feniletinil)fenil)hexahidro-3*aH*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-5(4*H*)-carboxamida.

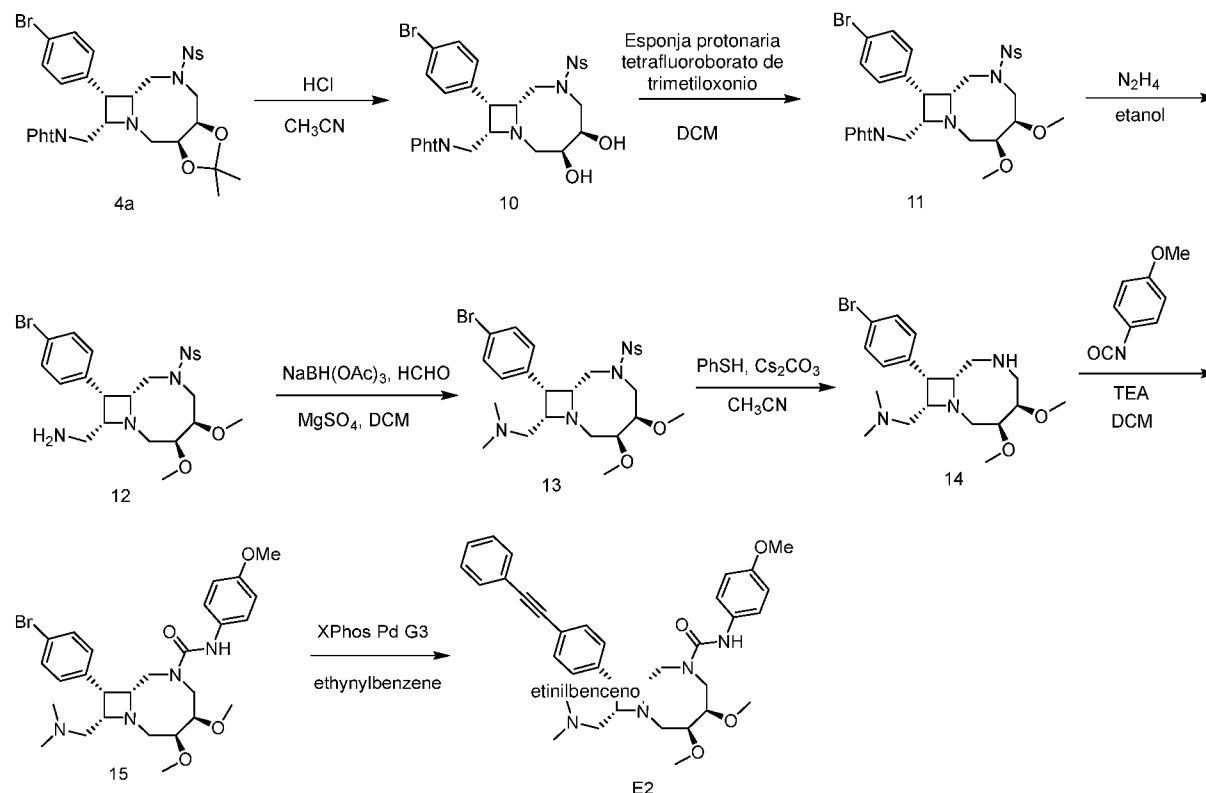
A una solución del Intermediario 8 (29.00 mg, 48.37 μ mol), en CH₃CN (1.00 ml) bajo mezcla de atmósfera de N₂, se adicionó TEA (97.89 mg, 967.38 μ mol, 134.09 μ l) y etinilbenceno (24.70 mg, 241.84 μ mol, 26.56 μ l) y XPhos Pd G3 (6.14 mg, 7.26 μ mol). Después de agitar a 70 °C por 1 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (4 ml), y luego se extrajo con DCM 15 ml (3 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer el Intermediario 9 (30.00 mg) como un aceite pálido, tal como se confirma por LCMS.

Síntesis de E1: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-*N*-(4-ciclopropoxifenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 9 (20.00 mg, 32.22 μ mol), en CH₃CN (500.00 μ l), se adicionó HCl 1 M (500.00 μ l). Después de agitar a 15 °C por 18 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo), produciendo el compuesto E1 (8.20 mg, 14.12 μ mol, 43.83% de rendimiento) como un sólido amarillo.

¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.73 (d, *J*=4.52 Hz, 4 H) 1.26 (s, 1 H) 2.32 (s, 6 H) 2.60 - 2.70 (m, 2 H) 2.86 - 2.92 (m, 1 H) 2.96 - 3.05 (m, 2 H) 3.22 (br d, *J*=15.56 Hz, 1 H) 3.52 - 3.65 (m, 3 H) 3.65 - 3.75 (m, 2 H) 3.86 (br s, 2 H) 3.97 - 4.05 (m, 1 H) 4.13 (br s, 1 H) 4.31 (br d, *J*=9.54 Hz, 1 H) 6.95 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H) 7.24 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H) 7.32 - 7.46 (m, 6 H) 7.49 - 7.57 (m, 4 H) 8.37 (br s, 1 H) 8.56 (br s, 1 H).

Ejemplo 2: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dimetoxi-*N*-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E2")



Intermediario 10: 2-(((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-

diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il)metil)isoindolin-1,3-diona.

Una solución del Intermediario 4a (170.00 mg, 238.90 μ mol), en CH₃CN (2.00 ml) y HCl 1 M (2.00 ml), se agitó a 20 °C por 18 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1), produciendo el Intermediario 10 (140.00 mg, 208.49 μ mol, 87.27% de rendimiento) como un sólido blanco, tal como se confirma por NMR.

Intermediario 11: 2-(((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-3,4-dimetoxi-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il)metil)isoindolin-1,3-diona.

A una solución del Intermediario 10 (125.00 mg, 186.15 μ mol), en DCM (4.00 ml), se adicionó tetrafluoroborato de trimetiloxonio (137.67 mg, 930.75 μ mol) y N1,N1,N8,N8-tetrametilnaftalen-1,8-diamina (239.36 mg, 1.12 mmol) a 0 °C bajo atmósfera de N₂. Después de agitar a RT (15 °C) por 18 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, acetato de etilo), produciendo el Intermediario 11 (100.00 mg, 142.94 μ mol, 76.79% de rendimiento) como un sólido blanco, tal como se confirma por NMR.

Intermediario 12: ((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-3,4-dimetoxi-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il)metanamina.

A una solución del Intermediario 11 (100.00 mg, 142.94 μ mol), en etanol (3.00 ml), se adicionó N₂H₄·H₂O (10.73 mg, 214.42 μ mol, 10.42 μ l). Después de agitar a 70 °C por 1 hora, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer el Intermediario 12 sin purificar (87.00 mg) como un sólido amarillo, tal como se confirma por NMR.

Intermediario 13: 1-((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-3,4-dimetoxi-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il)-*N,N*-dimetilmetanamina.

A una solución del Intermediario 12 (87.00 mg, 152.77 μ mol), en DCM (2.00 ml), se adicionó HCHO (27.53 mg, 916.64 μ mol, 25.25 μ l), MgSO₄ (183.89 mg, 1.53 mmol), NaBH(OAc)₃ (97.14 mg, 458.32 μ mol) y AcOH (18.35 mg, 305.55 μ mol, 17.47 μ l). Después de agitar a 15 °C por 3 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 13 (46.00 mg, 76.98 μ mol, 50.39% de rendimiento) como un aceite blanco.

Intermediario 14: ((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-3,4-dimetoxi-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il)metanamina.

A una solución del Intermediario 13 (46.00 mg, 76.98 μ mol), en CH₃CN (2.00 ml), se adicionó bencenotiol (12.72 mg, 115.48 μ mol, 11.78 μ l) y Cs₂CO₃ (50.17 mg, 153.97 μ mol). Después de agitar a 40 °C por 1.5 horas bajo atmósfera de N₂, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (2 ml), y se extrajo con DCM 15 ml (3 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre [Na₂SO₄], se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1), produciendo el Intermediario 14 (17.00 mg, 41.23 μ mol, 53.55% de rendimiento) como un aceite blanco, tal como se confirma por LCMS.

Intermediario 15: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3,4-dimetoxi-*N*-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

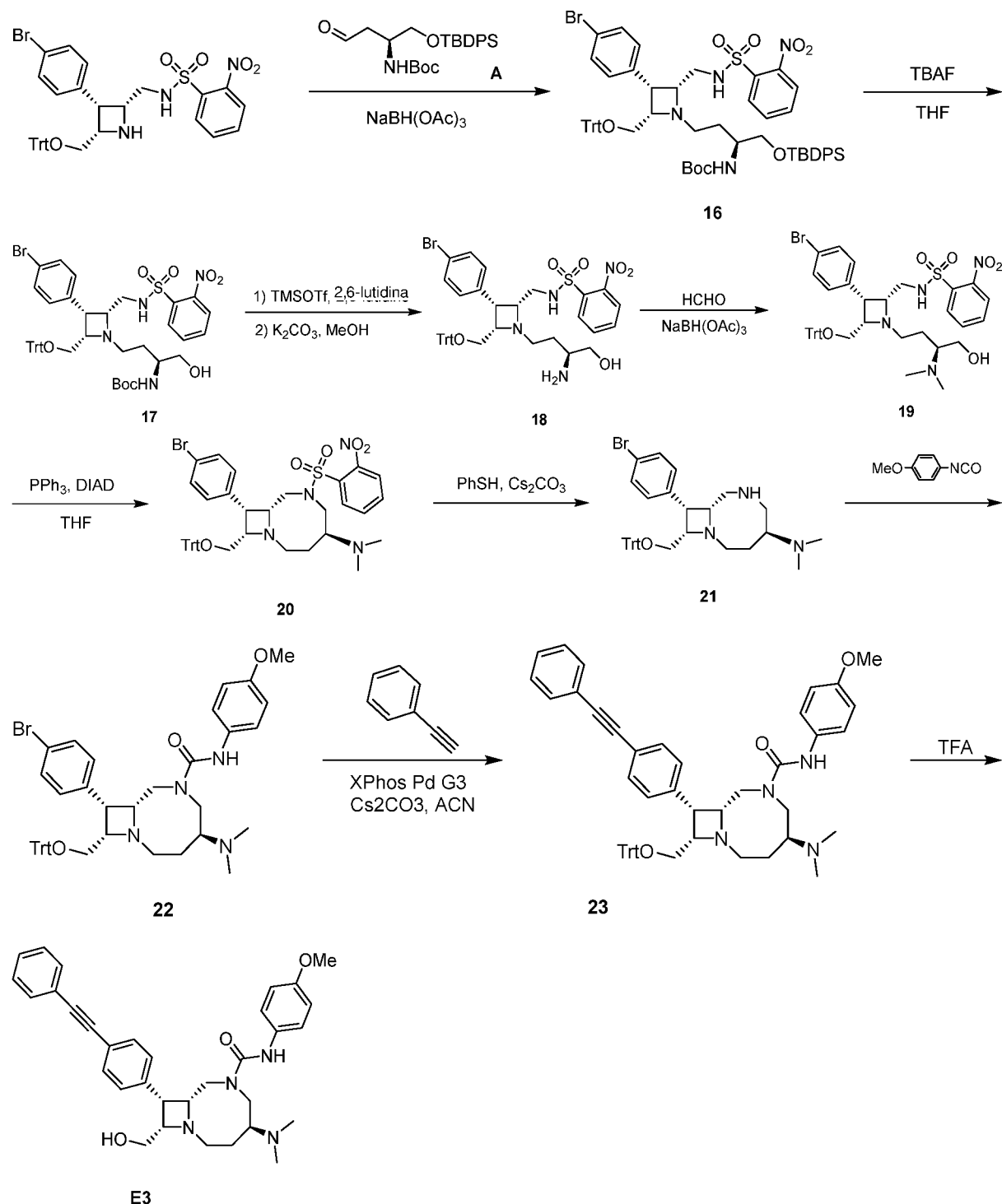
A una solución del Intermediario 14 (17.00 mg, 41.23 μ mol), en DCM (2.00 ml), se adicionó TEA (2.09 mg, 20.61 μ mol, 2.86 μ l) y 1-isocianato-4-metoxi-benceno (6.15 mg, 41.23 μ mol, 5.30 μ l). Después de agitar bajo mezcla de atmósfera de N₂ a 15 °C por 2.5 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (5 ml), y luego se extrajo con DCM 15 ml (3 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 15 (33.00 mg, sin purificar) como un aceite transparente, tal como se confirma por LCMS.

Síntesis de E2: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dimetoxi-*N*-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

A una solución del Intermediario 15 (33.00 mg, 58.77 μ mol), en acetonitrilo (2.00 ml), se adicionó TEA (118.94 mg, 1.18 mmol, 162.93 μ l) y XPhos Pd G3 (7.46 mg, 8.82 μ mol) bajo atmósfera de N₂. Después de agitar a 70 °C por 1 hora, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (2 ml), y luego se extrajo con DCM 15 ml (3 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre [Na₂SO₄], se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) seguido por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer 4.4 mg, 7.55 μ mol, 12.85% de rendimiento como un sólido blanco. La estructura se confirmó por LCMS y NMR.

¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.06 (s, 6 H) 2.39 (br s, 2 H) 2.58 (br s, 2 H) 3.03 - 3.14 (m, 1 H) 3.30 (br s, 1 H) 3.48 (s, 4 H) 3.51 - 3.58 (m, 2 H) 3.61 - 3.67 (m, 4 H) 3.78 (s, 3 H) 3.89 - 4.12 (m, 3 H) 6.83 (d, *J*=8.91 Hz, 2 H) 7.18 (d, *J*=8.78 Hz, 2 H) 7.36 (br d, *J*=5.40 Hz, 3 H) 7.43 - 7.47 (m, 2 H) 7.48 - 7.51 (m, 2 H) 7.52 - 7.56 (m, 2 H) 7.99 (br s, 1 H).

Ejemplo 3: (4*S*,8*R*,9*R*,10*S*)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-*N*-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E3"), que no forma parte de la presente invención.



Intermediario 16: *ter*-butil *N*-[1-(1*S*)-3-[(2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromofenil)-2-[(2-nitrofenil)sulfonilamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidín-1-il]-1-[[*ter*-butil(difenil)silil]oximetil]propil]carbamato.

- 10 A una solución de *N*-[1-((2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromofenil)-4-((tritoloxi)metil)azetidín-2-il)metil]-2-nitrobencenosulfonamida (WO2015070204) (1.20 g, 1.72 mmol) y (*S*)-*ter*-butil (1-((*ter*-butildifenilsilil)oxi)-4-oxobutan-2-il)carbamato (US 20150266867) (911.52 mg, 2.06 mmol), en DCM (40.00 ml), se adicionó MgSO₄ (2.07 g, 17.20 mmol) y NaBH(OAc)₃ (729.07 mg, 3.44 mmol). Después de agitar a 15 °C por 2 horas, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ sat. acuoso (15 ml) y se extrajo con DCM (2 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por
- 15

cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20:1 a 3:1) para ofrecer el Intermediario 16 (2.00 g) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.81 - 7.69 (m, 3H), 7.66 - 7.58 (m, 6H), 7.45 - 7.34 (m, 8H), 7.15 - 7.04 (m, 18H), 4.87 - 4.76 (m, 2H), 3.68 - 3.59 (m, 3H), 3.50 - 3.42 (m, 3H), 3.14 (br. s., 1H), 3.03 - 2.97 (m, 1H), 2.95 - 2.82 (m, 2H), 2.46 (br. s., 2H), 1.40 (s, 9H), 1.05 (s, 9H).

5 **Intermediario 17:** *ter*-butil ((*S*)-4-((2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromofenil)-2-((2-nitrofenilsulfonamido)metil)-4-((tritoloxi)metil)azetidin-1-il)-1-hidroxibutan-2-il)carbamato

10 A una solución del Intermediario 16 (500.00 mg, 444.74 μmol), en THF (6 ml), se adicionó TBAF (174.42 mg, 667.11 μmol) a 15 °C. Después de agitar a 15 °C por 1 hora, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 100:1 a 20:1) para ofrecer el Intermediario 17 (300.00 mg, 338.65 μmol, 76.15% de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.83 (dd, J=7.8, 17.3 Hz, 2H), 7.76 - 7.63 (m, 2H), 7.22 - 7.12 (m, 15H), 7.01 (d, J=8.0 Hz, 2H), 5.05 (br. s., 1H), 4.45 (br. s., 1H), 3.78 - 3.70 (m, 1H), 3.59 (br. s., 3H), 3.43 (d, J=9.5 Hz, 1H), 3.33 - 3.16 (m, 2H), 3.05 (d, J=6.0 Hz, 2H), 2.96 - 2.87 (m, 1H), 2.83 - 2.72 (m, 1H), 2.58 - 2.48 (m, 1H), 1.74 (dd, J=4.8, 14.8 Hz, 1H), 1.43 (s, 9H).

15 **Intermediario 18:** N-(((2*R*,3*R*,4*S*)-1-[(3*S*)-3-amino-4-hidroxi-butil]-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il)metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

20 A una solución del Intermediario 17 (800.00 mg, 903.08 μmol), en DCM (16.00 ml), se adicionó TMSOTf (602.15 mg, 2.71 mmol, 489.55 μl) y 2,6-lutidina (387.06 mg, 3.61 mmol, 420.72 μl, 4 eq.). Después de agitar a 15 °C por 16 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 1:0 a 20:1) para ofrecer el Intermediario 18 (700 mg, sin purificar) como un sólido blanco (que contiene TEA): ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.85 (td, J=2.3, 4.7 Hz, 1H), 7.76 - 7.72 (m, 1H), 7.70 - 7.63 (m, 2H), 7.25 - 7.16 (m, 15H), 6.98 (d, J=8.4 Hz, 2H), 3.72 - 3.60 (m, 3H), 3.52 - 3.42 (m, 3H), 3.27 (dd, J=6.6, 14.1 Hz, 1H), 3.14 - 3.00 (m, 3H), 2.83 - 2.68 (m, 2H), 1.85 - 1.62 (m, 2H)

25 **Intermediario 19:** N-(((2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromofenil)-1-[(3*S*)-3-(dimetilamino)-4-hidroxi-butil]-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il)metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

30 A una solución del Intermediario 18 (700.00 mg, 890.88 μmol), en DCM (15.00 ml), se adicionó HCHO (86.77 mg, 1.07 mmol, 79.61 μl, 37% de pureza), MgSO₄ (1.07 g, 8.91 mmol) y luego NaBH(OAc)₃ (377.63 mg, 1.78 mmol), adicionado en porciones. Después de agitar a 15 °C por 1 hora, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ saturado acuoso (100 ml) y se extrajo con DCM (2 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 1:0 a 15:1) para ofrecer el Intermediario 19 (500 mg, 614.40 μmol, 68.97% de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.87 (dd, J=1.5, 7.5 Hz, 1H), 7.78 - 7.73 (m, 1H), 7.72 - 7.61 (m, 2H), 7.23 - 7.12 (m, 18H), 7.05 (d, J=8.0 Hz, 2H), 3.64 - 3.54 (m, 3H), 3.22 - 3.06 (m, 4H), 3.03 - 2.98 (m, 1H), 2.87 - 2.70 (m, 2H), 2.56 (td, J=6.0, 12.0 Hz, 1H), 2.45 (br. s., 1H), 2.22 (s, 6H), 1.57 (d, J=14.1 Hz, 1H), 1.41 (d, J=6.0 Hz, 1H)

35 **Intermediario 20:** (4*S*,8*R*,9*R*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-N,N-dimetil-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-amina.

40 A una solución de trifenilfosfina (1 g, 3.76 mmol), en THF (19 ml) a 0 °C, se adicionó lentamente diisopropil azodicarboxilato (0.72 ml, 3.76 mmol). Esta mezcla luego se adicionó a una solución del Intermediario 19 (500 mg, 614.40 μmol) en THF (75 ml) a 0 °C. Después de agitar a 15 °C por 4 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 20:1) para ofrecer el Intermediario 20 (200.00 mg, 251.33 μmol, 40.91% de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 8.14 (d, J=7.5 Hz, 1H), 7.65 - 7.55 (m, 3H), 7.25 - 7.19 (m, 19H), 3.62 - 3.50 (m, 4H), 3.42 (br. s., 1H), 3.17 - 2.98 (m, 4H), 2.85 (dd, J=7.1, 9.3 Hz, 1H), 2.69 - 2.60 (m, 1H), 2.44 - 2.31 (m, 2H), 2.04 (br. s., 6H), 1.89 (br. s., 1H)

45 **Intermediario 21:** (4*S*,8*R*,9*R*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-N,N-dimetil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-amina.

50 A una solución del Intermediario 20 (150.00 mg, 188.49 μmol), en acetonitrilo (3.00 ml), se adicionó Cs₂CO₃ (368.49 mg, 1.13 mmol) y bencenotiol (83.07 mg, 753.96 μmol, 76.92 μl). Después de agitar a 40 °C por 16 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (15 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (2 x 5 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para ofrecer el Intermediario 21 (90.00 mg, 147.39 μmol, 78.20% de rendimiento) como un sólido blanco utilizado directamente.

55 **Intermediario 22:** (4*S*,8*R*,9*R*,10*S*)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 21 (90.00 mg, 147.39 μmol), en DCM (3.00 ml), se adicionó 1-isocianato-4-metoxi-

benceno (26.38 mg, 176.87 μmol). Después de agitar a 15 °C por 1 hora, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (15 ml) y se extrajo con DCM (2 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (2 x 10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , $\text{DCM}:\text{MeOH} = 20:1$) para ofrecer el Intermediario 22 (90.00 mg, 118.46 μmol , 80.37% de rendimiento) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, $\text{ClO}_2\text{FORMO}-d$) $\delta = 7.28 - 7.18$ (m, 21H), 6.82 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.15 - 4.06 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.64 - 3.47 (m, 4H), 3.18 - 2.98 (m, 3H), 2.92 - 2.82 (m, 2H), 2.70 (d, $J=13.2$ Hz, 1H), 2.43 - 2.33 (m, 7H), 2.10 (br. s., 1H), 1.95 (br. s., 1H).

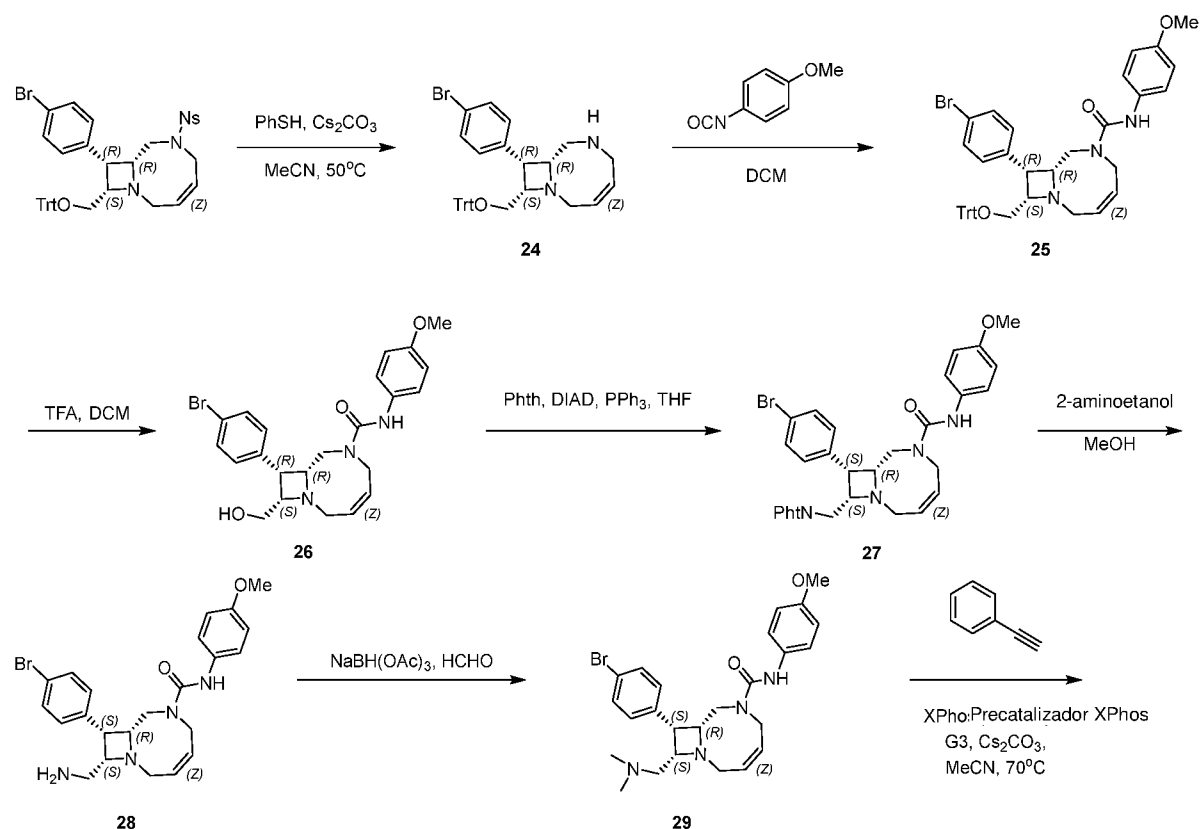
Intermediario 23: (4S,8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

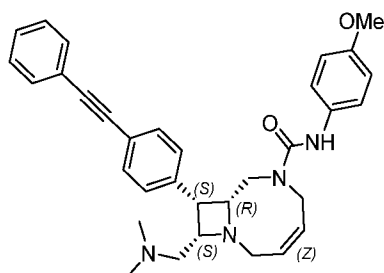
A una solución del Intermediario 22 (64.00 mg, 84.24 μmol) y etinilbenceno (25.81 mg, 252.71 μmol), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (7.13 mg, 8.42 μmol) y Cs_2CO_3 (54.89 mg, 168.47 μmol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (acetato de etilo: metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 23 (47.00 mg, 60.18 μmol , 71.44% de rendimiento) como un sólido café. ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 7.54 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 7.38-7.35(m, 7H), 7.33-7.21 (m, 18H), 6.83 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.13 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.61-3.52 (m, 4H), 3.19-3.17 (m, 2H), 2.94-2.90 (m, 2H), 2.73-2.44 (m, 1H), 2.17-1.97 (m, 1H).

Síntesis de E3: (4S,8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 23 (40.00 mg, 51.22 μmol), en DCM (1 ml), se adicionó TFA (58.40 mg, 512.17 μmol , 37.92 μl). Después de agitar a 25 °C por 12 h, la mezcla de reacción se extinguió por NaHCO_3 sat. y se extrajo con DCM (3 x 5 ml) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo), para proveer el compuesto E3 (21.70 mg, 40.28 μmol , 78.6% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539.29, encontrado 539.30. ^1H NMR: (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 7.60(d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 7.49-7.46 (m, 4H), 7.38-7.36 (m, 2H), 7.23-7.24 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.55-3.52 (m, 2H), 3.48-3.3.42 (m, 6H), 3.34-3.31 (m, 1H), 3.19 (s, 1H), 2.89 (s, 6H), 2.62 (s, 1H), 2.04 (m, 2H).

Ejemplo 4: (3Z,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-3-eno-6-carboxamida ("E4"), que no forma parte de la presente invención.





E4

Intermediario 24: (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno.

A una solución de (8R,9R,10S,Z)-10-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-9-(4-bromofenil)-6-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno y bencenotiol (132.09 mg, 1.20 mmol, 122.31 μ l), en acetonitrilo (6 ml), se adicionó Cs_2CO_3 (260.41 mg, 799.25 μ mol) a 25 °C. Después de agitar a 50 °C por 12 h, la mezcla de reacción se extinguió con H_2O (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml) para proveer la fase orgánica. La fase orgánica se concentró y purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) al Intermediario 24 (450 mg, 795.70 μ mol, 99.56% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.26-7.16 (m, 19H), 5.90-5.84 (m, 1H), 5.67-5.60 (m, 1H), 3.61-3.53 (m, 4H), 3.61-3.52 (m, 4H), 3.11-3.09 (m, 2H), 2.86-2.84 (m, 2H), 2.48 (d, J = 5.2 Hz, 1H).

Intermediario 25: (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 24 (400 mg, 707.29 μ mol) y Et_3N (196.08 μ l, 1.41 mmol), en DCM (2 ml), se adicionó 1-isocianato-4-metoxi-benceno (116.04 mg, 778.02 μ mol) por goteo a 0 °C. Después de agitar a 25 °C por 5 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 25 (400 mg, 559.68 μ mol, 79.13% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.31-7.19 (m, 19H), 6.85-6.81 (m, 2H), 6.04 (s, 1H), 5.81-5.80 (m, 1H), 5.73-5.68 (m, 1H), 4.15 (d, J = 16 Hz, 1H), 5.72 (d, J = 16 Hz, 1H), 4.15-4.00 (m, 1H), 3.99-3.70 (m, 1H), 3.66-3.56 (m, 5H), 3.21-3.19 (m, 2H), 3.19-3.00 (m, 1H), 2.81-2.77 (m, 1H).

Intermediario 26: (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 25 (360.00 mg, 503.71 μ mol), en DCM (1 ml), se adicionó TFA (3 ml, 5037 μ mol) por goteo a 0 °C. Después de agitar a 25 °C por 1 h, la mezcla de reacción se extinguió con NaHCO_3 saturado (3 ml) y se extrajo con DCM (5 ml) para proveer la fase orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se concentró y purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:2) para proveer el Intermediario 26 (210 mg, 444.57 μ mol, 88.26% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 6.83 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.06 (s, 2H), 5.85 (s, 1H), 5.74-5.71 (m, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.03-3.95 (m, 1H), 3.77-3.59 (m, 6H), 3.28 (m, 1H), 2.90 (s, 1H).

Intermediario 27: (3Z,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 26 (210.00 mg, 444.57 μ mol), isoindolin-1,3-diona (71.95 mg, 489.03 μ mol) y PPh_3 (233.21 mg, 889.13 μ mol), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (179.79 mg, 889.13 μ mol) por goteo a 25 °C. Después de agitar a 25 °C por 5 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 27 (200 mg, 332.51 μ mol, 74.79% de rendimiento) como un sólido café claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.80-7.67 (m, 17H), 7.54-7.67 (m, 22H), 7.25-7.20 (m, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.06 (s, 2H), 5.85 (s, 1H), 5.74 (s, 1H), 4.22 (s, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.77-3.75 (m, 4H), 3.70-3.66 (m, 3H), 3.50 (s, 3H), 3.12 (m, 1H), 2.88 (s, 1H).

Intermediario 28: (3Z,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 27 (60.00 mg, 99.75 μ mol), en MeOH (1 ml), se adicionó 2-aminoetanol (60.33 μ l, 997.52 μ mol) por goteo. Después de agitar a 25 °C por 3 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 28 (33.00 mg, 70.01 μ mol, 70.18% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.50 (d, J = 13.6 Hz, 2H), 7.46 (m, 2H), 7.21 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 6.82 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.73 (s, 1H), 4.22 (m, 2H), 4.02-4.00 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.71-3.63 (m, 2H), 3.55-3.50 (m, 1H), 3.36-3.17 (m, 1H), 2.81-2.76 (m, 3H).

Intermediario 29: (3Z,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-

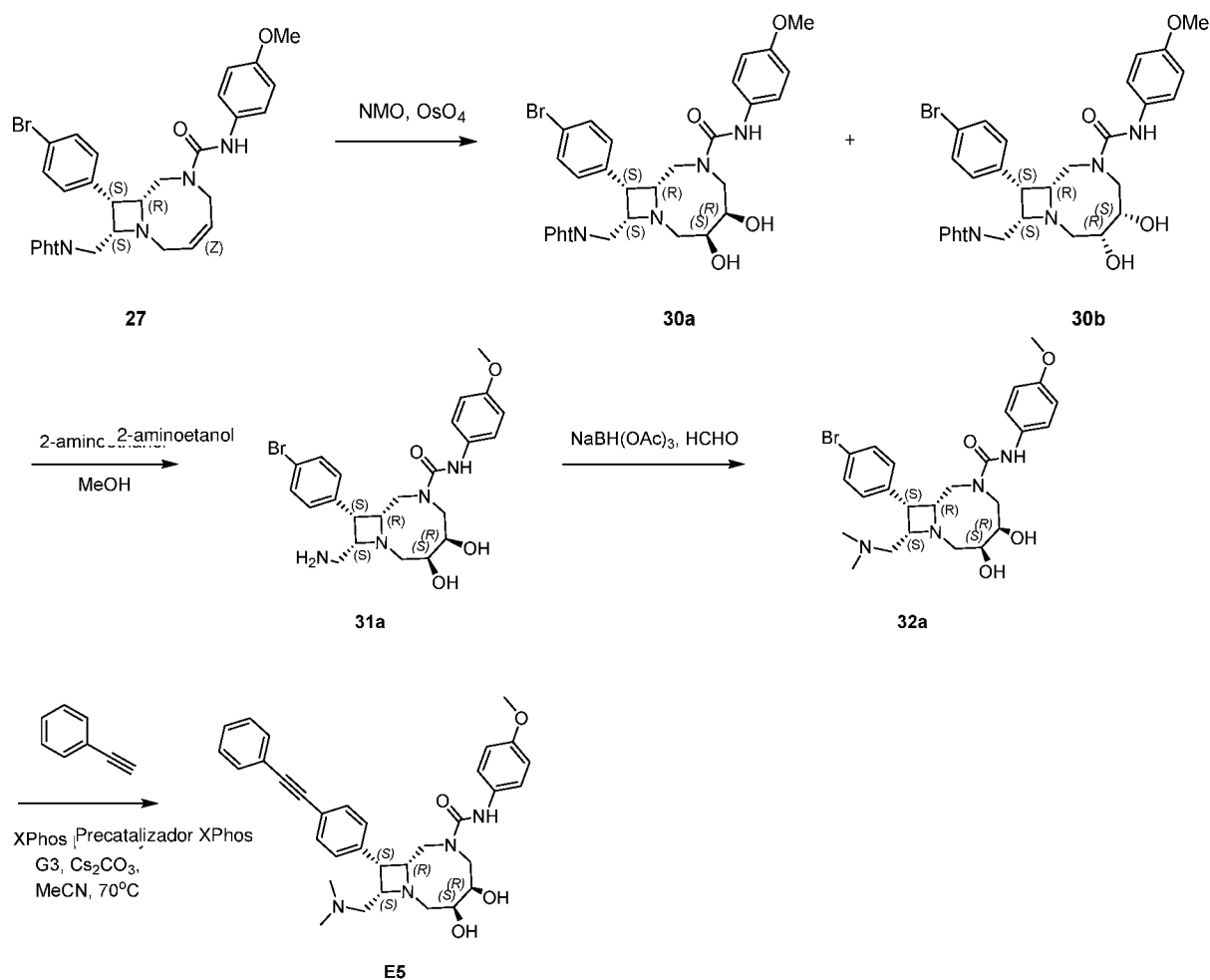
diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 28 (23.00 mg, 48.79 μmol), en DCM (2 ml), se adicionó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (51.70 mg, 243.96 μmol) a 25 °C. Después de agitar a 25 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 29 (20 mg, 40.04 μmol , 82% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31-7.26 (m, 2H), 7.19 (d, J = 8.8 Hz, 3H), 6.82 (d, J = 8.8 Hz, 3H), 6.14 (s, 1H), 5.83-5.86 (m, 2H), 4.12-4.02 (m, 3H), 3.90-3.59 (m, 9H), 3.19 (m, 1H), 3.01-2.80 (m, 2H), 2.38 (s, 6H).

Síntesis de E4: (3Z,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 29 (20.00 mg, 40.04 μmol) y etinilbenceno (12.27 mg, 120.13 μmol , 13.19 μl), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (3.39 mg, 4.00 μmol) y Cs_2CO_3 (26.09 mg, 80.09 μmol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (sistema 0.04% de HCl/acetonitrilo/ H_2O) para proveer (3Z,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida (2.00 mg, 3.84 μmol , 9.59% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 489.27, encontrado 520.10 ^1H NMR (400 MHz, MeOD-d_4) δ 7.74 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 7.20 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.13 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.33 (s, 2H), 4.30-4.21 (m, 9H), 3.90-3.75 (m, 5H), 3.50-3.31 (m, 3H), 2.77 (s, 6H).

Ejemplo 5: (3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E5")



Intermediarios 30a y 30b: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (30a) y (3R,4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (30b).

A una solución agitada del Intermediario 27 (60 mg, 99.75 μmol), en acetona/ H_2O = 10:1 (1 ml), se adicionó NMO (17.53 mg, 149.62 μmol) y OsO_4 (2.54 mg, 9.98 μmol) a temperatura ambiente. Después de agitar a 25 °C por 2 h, la

mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:5) para proveer el Intermediario 30a (menos polar) (25 mg, 39.34 μ mol, 39.44% de rendimiento) como un sólido café claro, y el Intermediario 30b (más polar) (25 mg, 39.34 μ mol, 39.44% de rendimiento) como un sólido café claro. Intermediario 30a ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.82 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.71-7.02 (m, 4H), 7.26 (m, 2H), 6.80 (d, J = 1.2 Hz, 2H), 4.24-4.07 (m, 2H), 3.93-3.81 (m, 2H), 3.74(s, 3H), 3.62-3.54 (m, 3H), 3.28-2.88 (m, 1H), 2.65-2.49 (m, 2H).

Intermediario 30b ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.83 (d, J = 2.8 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 7.73-7.47 (m, 4H), 7.24 (m, 2H), 6.80 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.58 (s, 1H), 3.96-3.90 (m, 2H), 3.70-3.68 (m, 4H), 3.56-3.50 (m, 3H), 3.00 (s, 1H), 2.87-2.76 (m, 2H).

- 10 **Intermediario 31a:** (3S,4R,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

15 A una solución agitada del Intermediario 30a (120 mg, 188.83 μ mol), en MeOH (2 ml), se adicionó 2-aminoetanol (115.34 mg, 1.89 mmol). Después de agitar a 25 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 8:1) para proveer el Intermediario 31a (70 mg, 138.50 μ mol, 73.35% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.47-7.43 (m, 3H), 7.42-7.40 (m, 1H), 7.35-7.20 (m, 3H), 7.18-6.79 (m, 2H), 4.31-4.27 (m, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.89-3.79 (m, 5H), 3.76-3.23 (m, 2H), 2.91-2.86 (m, 2H), 2.72-2.61 (m, 2H).

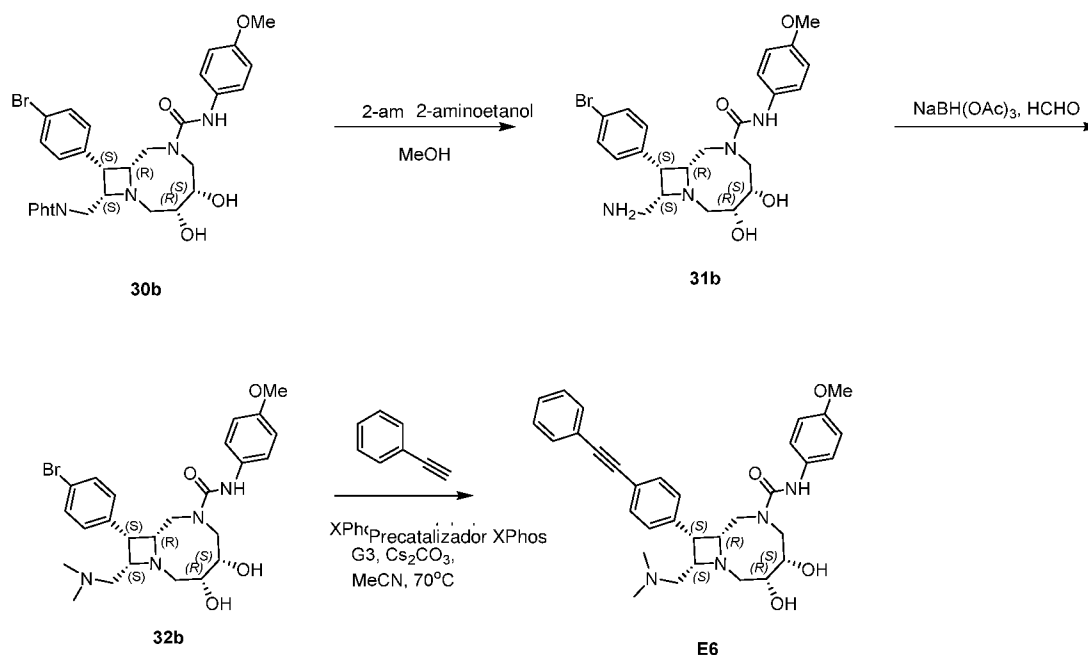
Intermediario 32a: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

- 20 A una solución agitada de 31a (70.00 mg, 138.50 μ mol), en DCM (2 ml), se adicionó HCHO (112.41 mg, 1.39 mmol, 103.13 μ l, solución al 37%) y MgSO_4 (166.72 mg, 1.39 mmol). Después de agitar a 25 °C por 0.5 h, se adicionó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (146.77 mg, 692.52 μ mol) adicional. Después de 1.5 h más, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 5:1) para proveer el Intermediario 32a (60 mg, 112.47 μ mol, 81% de rendimiento) como un sólido café claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.48-7.43 (m, 4H), 7.42-7.40 (m, 1H), 7.27-7.20 (m, 2H), 6.81-6.78 (m, 2H), 4.26-4.03 (m, 3H), 3.64-3.54 (m, 5H), 3.27-3.24 (m, 1H).

Síntesis de E5: (3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

- 30 A una solución del Intermediario 32a (20.00 mg, 40.04 μ mol) y etinilbenceno (12.27 mg, 120.13 μ mol, 13.19 μ l), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (3.39 mg, 4.00 μ mol, 0.10 eq.) y Cs_2CO_3 (26.09 mg, 80.09 μ mol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (2.00 mg, 3.84 μ mol, 9.59% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 554.29, encontrado 554.20 ^1H NMR (400 MHz, MeOD -d4) δ 7.59 (s, 4H), 7.51 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 7.38 (s, 3H), 7.16 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.85 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.20-4.11 (s, 3H), 3.85-3.82 (m, 4H), 3.75 (s, 3H), 3.57-3.44 (m, 3H), 3.12-2.97 (m, 4H), 2.97-2.56 (m, 6H).

Ejemplo 6: (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E6")



Intermediario 31b: (3R,4S,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 30b (30 mg, 47.21 μ mol), en MeOH (2 ml), se adicionó 2-aminoetanol (28.84 mg, 472.10 μ mol) a 25 °C. Después de agitar a 25 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 8:1) para proveer el Intermediario 31b (20 mg, 39.57 μ mol, 83.82% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.51-7.48 (m, 3H), 7.46-7.43 (m, 4H), 6.83 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.77-3.73 (m, 3H), 3.65-3.51 (m, 2H), 3.23-3.15 (m, 1H), 2.80-2.73 (m, 3H).

Intermediario 32b: (3R,4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 31a (10 mg, 19.79 μ mol), en DCM (2 ml), se adicionó HCHO (16.06 mg, 197.90 μ mol, 14.73 μ l, solución al 37%) y MgSO₄ (23.82 mg, 197.90 μ mol) a 25 °C. Después de agitar a 25 °C por 0.5 h, se adicionó NaBH(OAc)₃ (20.97 mg, 98.95 μ mol) adicional. Después de agitar a 25 °C por 1.5 h más, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 5:1) para proveer el Intermediario 32b (10 mg, 18.75 μ mol, 47.36% de rendimiento) como un sólido café claro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.54-7.46 (m, 4H), 7.30-7.25 (m, 7H), 6.83-6.80 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.89-3.78 (m, 2H), 3.67-3.63 (m, 6H), 3.56-3.48 (m, 3H), 2.74-2.64 (m, 3H), 2.28 (s, 6H).

Síntesis de E6: (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 32b (10 mg, 18.75 μ mol) y etinilbenceno (5.74 mg, 56.24 μ mol, 6.18 μ l), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (1.59 mg, 1.87 μ mol) y Cs₂CO₃ (12.22 mg, 37.49 μ mol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (sistema 0.04% de HCl/ACN/H₂O) para proveer (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (2 mg, 3.61 μ mol, 19.23% de rendimiento) como un sólido blanco.

HRMS (ESI) calc. para C₃₃H₃₈N₄O₄ [M + H]⁺ 554.29, encontrado 554.2. ¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ 7.62 (s, 4H), 7.53-7.51 (m, 2H), 7.40 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H), 7.24 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.18 (s, 3H), 4.08 (s, 1H), 3.94-3.93 (m, 3H), 3.76 (s, 4H), 3.56-3.52 (m, 2H), 3.42-3.40 (m, 2H), 3.23-3.21 (m, 2H), 2.99-2.95 (m, 1H), 3.70 (s, 6H).

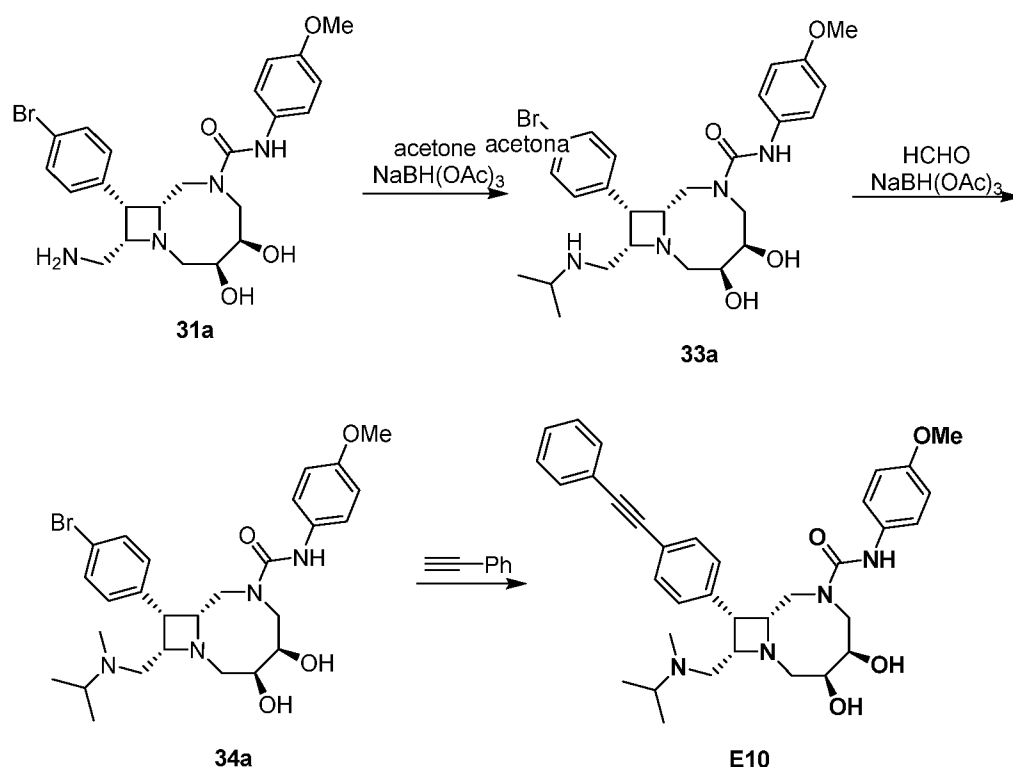
Ejemplos 7 a 9

Los siguientes compuestos ejemplares (E7 a E9) se prepararon de acuerdo con el ejemplo 6 con los alquinos listados y el aldehído especificado (en casos donde se indica) en la Tabla Tabla 3 al iniciar con el Intermediario ("Int.") 32a o 32b.

5 Tabla 3

	Alquino	Aldehído	Int.	NMR
Ejemplo 7 (3S,4R,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-9-[4-[2-(2-fluorofenil)etinil]fenil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E7")	1-etinil-2-fluorobenceno	formaldehído	32a	¹ H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 8.65 - 8.29 (m, 1H), 7.58 - 7.49 (m, 3H), 7.43 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.38 - 7.32 (m, 1H), 7.27 (d, J=9.0 Hz, 2H), 7.21 - 7.08 (m, 2H), 6.83 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.31 (d, J=11.0 Hz, 2H), 4.14 (br. s., 1H), 4.02 (d, J=13.1 Hz, 1H), 3.85 - 3.69 (m, 5H), 3.61 (br. s., 1H), 3.54 (d, J=8.0 Hz, 1H), 3.23 (d, J=16.1 Hz, 1H), 2.99 (br. s., 1H), 2.82 - 2.48 (m, 4H), 2.11 (br. s., 6H)
Ejemplo 8 (3R,4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-9-[4-[2-(2-fluorofenil)etinil]fenil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E8")	1-etinil-2-fluorobenceno	formaldehído	32b	¹ H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 8.52 (br. s., 1H), 7.61 - 7.52 (m, 3H), 7.40 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.37 - 7.30 (m, 2H), 7.21 - 7.10 (m, 2H), 6.84 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.89 (d, J=5.0 Hz, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.73 - 3.64 (m, 3H), 3.63 - 3.50 (m, 2H), 3.24 (dd, J=6.0, 14.1 Hz, 1H), 2.90 (br. s., 1H), 2.78 (d, J=14.1 Hz, 1H), 2.67 (d, J=10.0 Hz, 1H), 2.49 (dd, J=7.0, 13.1 Hz, 1H), 2.16 (s, 6H)
Ejemplo 9 (3S,4R,8R,9S,10S)-10-(dietilaminometil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E9") BIMH2W60	etinilbenceno	acetaldehído	32a	¹ H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 8.61 (br s, 1H), 8.46 (br s, 1H), 7.55 (br d, J=3.5 Hz, 2H), 7.52 - 7.47 (m, 1H), 7.50 (br d, J=8.2 Hz, 1H), 7.44 - 7.33 (m, 5H), 7.24 (br d, J=8.8 Hz, 2H), 6.81 (br d, J=8.8 Hz, 2H), 5.14 (br s, 2H), 4.34 - 4.21 (m, 1H), 4.12 (br s, 1H), 3.96 (br d, J=14.1 Hz, 1H), 3.81 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 3.75 (s, 4H), 3.55 (br t, J=7.1 Hz, 1H), 3.48 (br d, J=9.0 Hz, 1H), 3.21 (br d, J=15.7 Hz, 1H), 2.93 - 2.71 (m, 4H), 2.60 (br dd, J=7.7, 12.6 Hz, 3H), 2.52 - 2.38 (m, 2H), 0.85 (br t, J=6.7 Hz, 6H)

Ejemplo 10: (3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E10")



Intermediario 33a: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-10-[(isopropilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 31a (100.00 mg, 197.86 μmol), acetona (68.95 mg, 1.19 mmol, 87.28 μl), AcOH (11.88 mg, 197.86 μmol , 11.31 μl) y MgSO_4 (238.16 mg, 1.98 mmol), en DCM (1.00 ml), se adicionó NaBH(OAc)_3 (125.80 mg, 593.58 μmol). Después de agitar a 20 °C por 12 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer el Intermediario 33a sin purificar (116.00 mg) como un sólido café amarillo pálido.

Intermediario 34a: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 33a (116.00 mg, 211.88 μmol), formaldehído (103.08 mg, 1.27 mmol, 94.57 μl), MgSO_4 (255.04 mg, 2.12 mmol) y AcOH (12.72 mg, 211.88 μmol , 12.11 μl), en DCM (1.00 ml), se adicionó NaBH(OAc)_3 (134.72 mg, 635.64 μmol). Después de agitar a 20 °C por 2 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer el Intermediario 34b sin purificar (138.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo oscuro.

Síntesis de E10: (3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

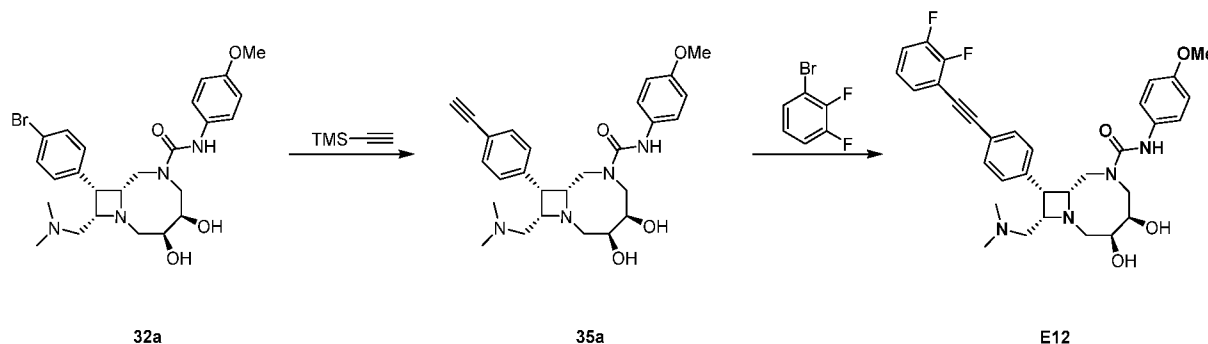
A una solución del Intermediario 34a (30.00 mg, 53.43 μmol) y etinilbenceno (10.91 mg, 106.86 μmol , 11.73 μl), en CH_3CN (1.00 ml), se adicionó Et_3N (16.22 mg, 160.29 μmol , 22.22 μl) y XPhos Pd G3 (4.52 mg, 5.34 μmol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo, el cual se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (11.20 mg, 17.81 μmol , 33.34% de rendimiento, sal de ácido fórmico) como un sólido amarillo claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.65 - 8.37 (m, 1H), 7.57 - 7.52 (m, 2H), 7.49 (d, J =8.0 Hz, 2H), 7.42 - 7.34 (m, 5H), 7.25 (d, J =9.0 Hz, 2H), 6.81 (d, J =9.0 Hz, 2H), 4.36 - 4.21 (m, 1H), 4.13 (br. s., 1H), 3.96 (d, J =14.1 Hz, 1H), 3.84 - 3.73 (m, 5H), 3.62 - 3.46 (m, 2H), 3.21 (d, J =15.6 Hz, 1H), 2.83 (d, J =14.1 Hz, 4H), 2.75 - 2.54 (m, 2H), 2.11 (br. s., 3H), 0.99 (d, J =5.5 Hz, 3H), 0.71 (d, J =5.0 Hz, 3H).

Ejemplo 11: (3R,4S,8R,9S,10S)-3,4-dihidroxi-10-[[isopropil(metil)amino]metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E11")

El Ejemplo E11 se preparó al utilizar la síntesis descrita en el Ejemplo 10, comenzando con el Intermediario

31b. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ = 8.73 - 8.47 (m, 1H), 7.56 - 7.51 (m, 4H), 7.41 - 7.34 (m, 5H), 7.28 (d, J =8.9 Hz, 2H), 6.81 (d, J =8.9 Hz, 2H), 3.88 (d, J =5.4 Hz, 1H), 3.80 - 3.74 (m, 5H), 3.72 - 3.48 (m, 5H), 3.24 (dd, J =6.8, 14.1 Hz, 1H), 2.88 (t, J =11.9 Hz, 1H), 2.82 - 2.75 (m, 1H), 2.72 (d, J =14.2 Hz, 2H), 2.65 - 2.56 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 0.95 (d, J =6.5 Hz, 3H), 0.71 (d, J =6.4 Hz, 3H).

- 5 **Ejemplo 12:** (3S,4R,8R,9S,10S)-9-[4-[2-(2,3-difluorofenil)etinil]fenil]-10-[(dimetilamino)metil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E12")



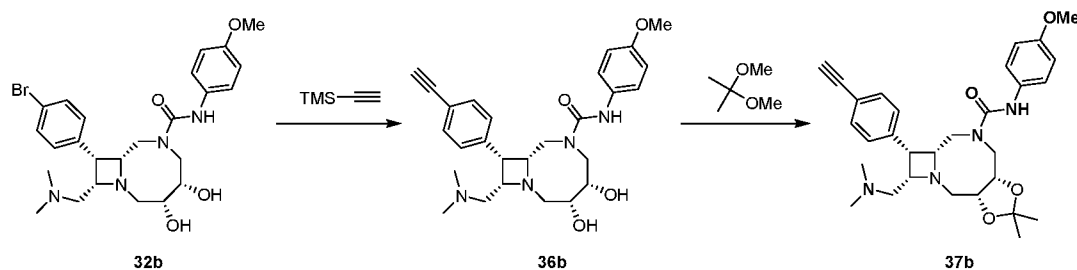
Intermediario 35a: (3S,4R,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-9-(4-etinilfenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

- 10 A una solución del Intermediario 32a (54.00 mg, 101.23 μmol) y etiniltrimetilsilano (29.83 mg, 303.69 μmol , 42.01 μl), en CH_3CN (1.00 ml), se adicionó Cs_2CO_3 (131.93 mg, 404.92 μmol) y XPhos Pd G3 (8.57 mg, 10.12 μmol). Después de agitar con atmósfera de N_2 a 70 $^\circ\text{C}$ por dos horas, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer el producto sin purificar 2 (78.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo oscuro.

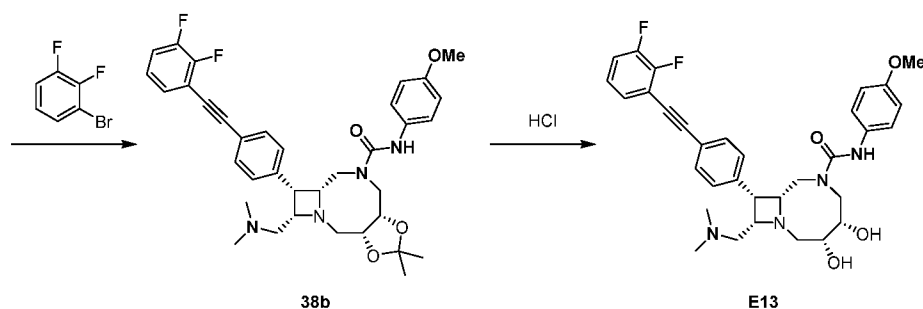
- 15 **Síntesis de E12:** (3S,4R,8R,9S,10S)-9-[4-[2-(2,3-difluorofenil)etinil]fenil]-10-[(dimetilamino)metil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

- A una solución de (3R,4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-9-(4-etinilfenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (Intermediario 35a) (21.60 mg, 45.13 μmol) y 1-bromo-2,3-difluorobenceno (8.71 mg, 45.13 μmol , 5.06 μl), en CH_3CN (500 μl), se adicionó Cs_2CO_3 (29.41 mg, 90.26 μmol) y XPhos Pd G3 (3.82 mg, 4.51 μmol). Después de agitar con atmósfera de N_2 a 40 $^\circ\text{C}$ por 1 h, el residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , $\text{DCM}:\text{MeOH} = 8:1$) para retirar el catalizador, y luego se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (3S,4R,8R,9S,10S)-9-[4-[2-(2,3-difluorofenil)etinil]fenil]-10-[(dimetilamino)metil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (2.00 mg, 3.14 μmol , 6.96% de rendimiento, sal de ácido fórmico) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ = 8.48 - 8.27 (m, 1H), 7.58 (d, J =7.9 Hz, 2H), 7.40 (d, J =7.9 Hz, 2H), 7.29 (d, J =8.4 Hz, 3H), 7.22 - 7.13 (m, 1H), 7.11 - 7.03 (m, 1H), 6.83 (d, J =8.8 Hz, 2H), 6.73 (br. s., 1H), 3.89 (br. s., 2H), 3.77 (s, 4H), 3.75 - 3.62 (m, 3H), 3.61 - 3.48 (m, 2H), 3.28 (dd, J =6.6, 14.1 Hz, 1H), 2.89 (d, J =12.8 Hz, 3H), 2.80 (d, J =14.6 Hz, 2H), 2.68 (d, J =7.5 Hz, 1H), 2.27 (s, 6H)

Ejemplo 13: (3R,4S,8R,9S,10S)-9-(4-((2,3-difluorofenil)etinil)fenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E13")



30



Intermediario 36b: (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-9-(4-etinilfenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución de (3R,4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (Intermediario 32b) (40.00 mg, 74.98 μ mol) y etinil(trimetil)silano (22.09 mg, 224.95 μ mol, 31.12 μ l), en CH₃CN (1.00 ml), se adicionó Cs₂CO₃ (97.72 mg, 299.93 μ mol) y XPhos Pd G3 (6.35 mg, 7.50 μ mol). Después de agitar con atmósfera de N₂ a 70 °C por 1 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (DCM:MeOH = 10:1, R_f = 0.2) para proveer el Intermediario 36b (30.00 mg, 62.69 μ mol, 83.60% de rendimiento) como un sólido amarillo claro.

Intermediario 37b: (3aS,6aR,7S,8S,10aR)-8-((dimetilamino)metil)-7-(4-etinilfenil)-N-(4-metoxifenil)-2,2-dimetilhexahidro-3aH-azeto[1,2-a][1,3]dioxolo[4,5-f][1,4]diazocin-5(4H)-carboxamida.

A una solución del Intermediario 36b (30.00 mg, 62.69 μ mol), en 2,2-dimetoxipropano (500 μ l) y DCM (500 μ l), se adicionó TsOH (1.08 mg, 6.27 μ mol). Después de agitar a 20 °C por 1 h, la reacción se concentró y purificó por TLC preparativa (DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 37b (20.00 mg, 38.56 μ mol, 61.51% de rendimiento) como un aceite amarillo.

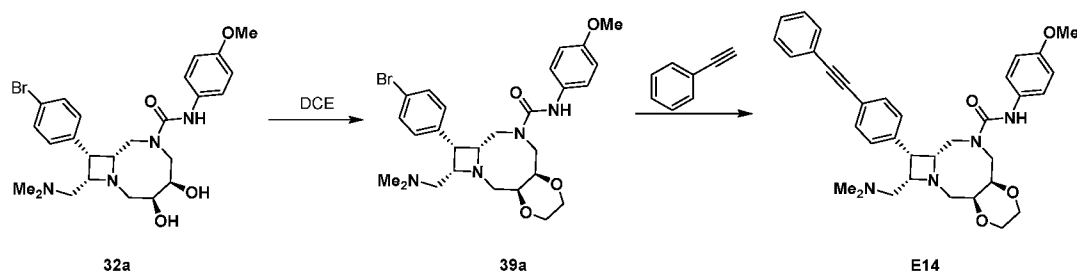
Intermediario 38b: (3aS,6aR,7S,8S,10aR)-7-(4-((2,3-difluorofenil)etinil)fenil)-8-((dimetilamino)metil)-N-(4-metoxifenil)-2,2-dimetilhexahidro-3aH-azeto[1,2-a][1,3]dioxolo[4,5-f][1,4]diazocin-5(4H)-carboxamida.

A una solución del Intermediario 37b (20.00 mg, 38.56 μ mol) y 1-bromo-2,3-difluoro-benceno (22.33 mg, 115.68 μ mol, 12.98 μ l), en CH₃CN (500 μ l), se adicionó Cs₂CO₃ (50.25 mg, 154.24 μ mol) y XPhos Pd G3 (3.26 mg, 3.86 μ mol). Después de agitar bajo atmósfera de N₂ a 70 °C por una hora, la mezcla de reacción se purificó por TLC preparativa (DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 38b (15.00 mg, 23.78 μ mol, 61.68% de rendimiento) como un aceite amarillo.

Síntesis de E13: (3R,4S,8R,9S,10S)-9-(4-((2,3-difluorofenil)etinil)fenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una mezcla del Intermediario 38b (15.00 mg, 23.78 μ mol, 1.00 eq.), en CH₃CN (500.00 μ l), se adicionó HCl 1 M (500.00 μ l). Después de agitar a 15 °C por 12 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-((2,3-difluorofenil)etinil)fenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (11.00 mg, 17.28 μ mol, 72.65% de rendimiento, sal de ácido fórmico) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-d₄) δ = 8.69 - 8.45 (m, 1H), 7.61 (s, 4H), 7.40 - 7.29 (m, 2H), 7.25 - 7.13 (m, 3H), 6.85 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.22 (dd, J=6.0, 15.6 Hz, 1H), 4.12 (d, J=6.0 Hz, 1H), 3.87 - 3.80 (m, 2H), 3.80 - 3.72 (m, 5H), 3.53 - 3.46 (m, 1H), 3.36 (br. s., 1H), 3.00 - 2.88 (m, 3H), 2.84 - 2.73 (m, 2H), 2.41 (s, 6H).

Ejemplo 14: (4aR,7aR,8S,9S,11aS)-9-((dimetilamino)metil)-N-(4-metoxifenil)-8-(4-(feniletinil)fenil)octahidro-2H-azeto[1,2-a][1,4]dioxino[2,3-f][1,4]diazocin-6(3H)-carboxamida ("E14")



Intermediario 39a: (4aR,7aR,8S,9S,11aS)-8-(4-bromofenil)-9-((dimetilamino)metil)-N-(4-metoxifenil)octahidro-2H-azeto[1,2-a][1,4]dioxino[2,3-f][1,4]diazocin-6(3H)-carboxamida ("E14")

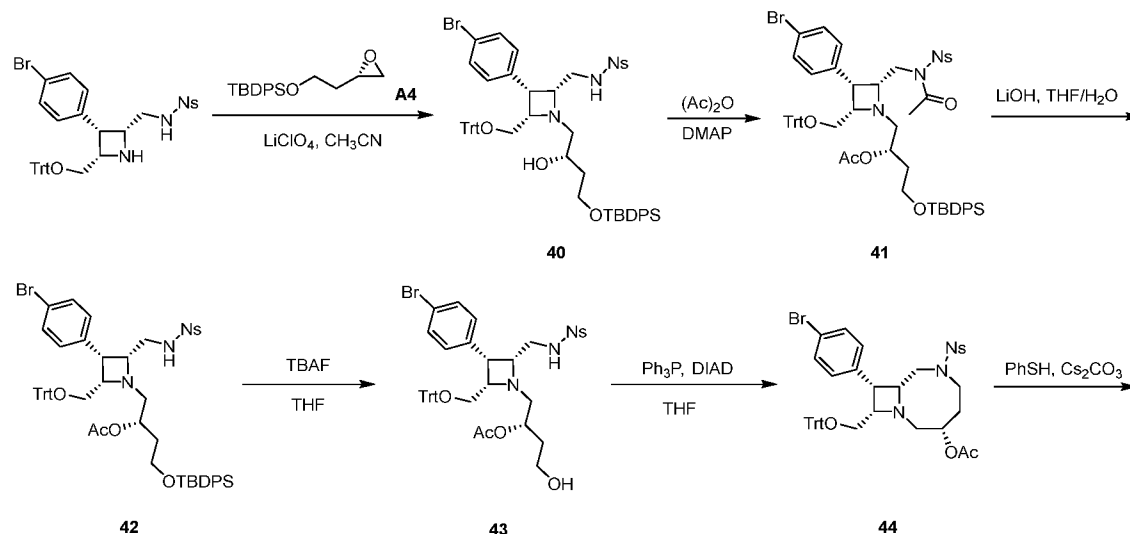
azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamida.

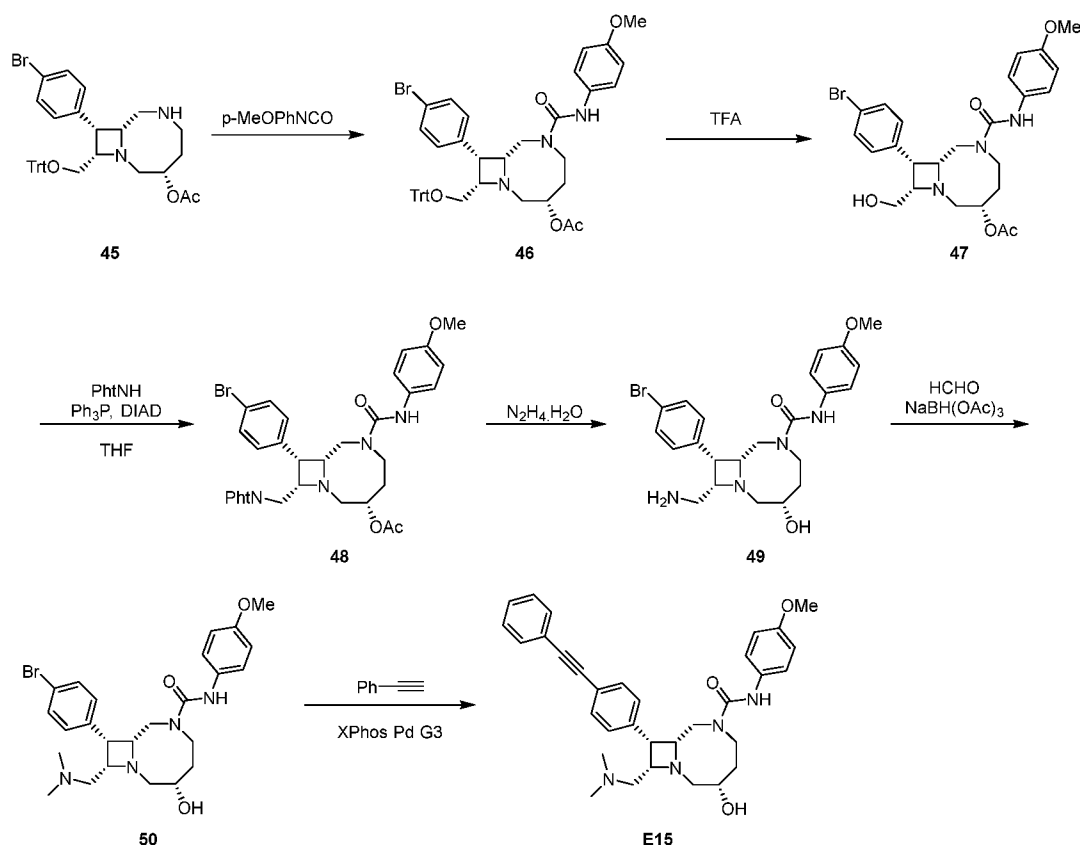
Una mezcla del Intermediario 32a (30.00 mg, 56.24 μ mol), NaOH (15.00 mg, 112.48 μ mol, 180.30 μ l, 30% m/v) y TBAB (3.63 mg, 11.25 μ mol), en DCE (1.00 ml), se agitó a 55 °C por 12 h. La LC-MS mostró que ~40% del Reactante 1 había permanecido. Se detectó un nuevo pico con el Intermediario MS deseado. La mezcla de reacción se diluyó con DCM en 10 ml y se lavó con H₂O en 15 ml * 5. Luego se lavó con agua salada 3 ml * 2, se secó sobre Na₂SO₄, y se filtró y concentró bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 39 (10.00 mg, 17.87 μ mol, 31.78% de rendimiento) como un aceite incoloro.

Síntesis de E14: (4*aR*,7*aR*,8*S*,9*S*,11*aS*)-9-((dimetilamino)metil)-*N*-(4-metoxifenil)-8-(4-(feniletinil)fenil)octahidro-2*H*-azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamida.

A una solución del Intermediario 39a (20.00 mg, 35.75 μ mol) y etinilbenceno (10.95 mg, 107.25 μ mol, 11.77 μ l), en CH₃CN (500 μ l), se adicionó Cs₂CO₃ (46.59 mg, 143.00 μ mol) y XPhos Pd G3 (3.03 mg, 3.58 μ mol). Después de agitar bajo atmósfera de N₂ a 70 °C por 1 hora, bajo atmósfera de N₂, la mezcla de reacción se concentró, se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para retirar el catalizador, y luego se purificó por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (4*aR*,7*aR*,8*S*,9*S*,11*aS*)-9-((dimetilamino)metil)-*N*-(4-metoxifenil)-8-(4-(feniletinil)fenil)octahidro-2*H*-azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamida (sal de ácido fórmico), 6.00 mg, 10.33 μ mol, 28.90% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ = 8.26 (br s, 1H), 7.55 (dd, *J*=2.0, 7.0 Hz, 2H), 7.51 - 7.42 (m, 4H), 7.40 - 7.33 (m, 3H), 7.20 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 6.83 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 4.21 (br d, *J*=15.6 Hz, 1H), 4.10 (br d, *J*=14.1 Hz, 1H), 4.06 - 3.94 (m, 3H), 3.86 - 3.76 (m, 5H), 3.66 (br s, 1H), 3.59 - 3.52 (m, 2H), 3.48 - 3.29 (m, 3H), 2.89 (br d, *J*=13.1 Hz, 1H), 2.60 - 2.33 (m, 3H), 2.03 (s, 6H), 1.83 (br s, 1H).

Ejemplo 15: (3*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-*N*-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E15")





Intermediario 40: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-1-[(2S)-4-[ter-butil(difenil)silil]oxi-2-hidroxi-butil]-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución de N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida (400.00 mg, 572.56 μ mol) y LiClO₄ (121.83 mg, 1.15 mmol, 50.34 μ l), en CH₃CN (4.00 ml), se adicionó ter-butil-[2-[(2R)-oxiran-2-il]etoxil]-difenil-silano (Organic Letters (2016), 18(3), 468-471) (373.88 mg, 1.15 mmol). Después de agitar a 80 °C por 16 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para retirar el solvente. El residuo se diluyó con H₂O (20 ml) y se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 2/1) para proveer el Intermediario 40 (250.00 mg, 243.87 μ mol, 42.59% de rendimiento) como un sólido amarillo claro.

Intermediario 41: [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-2-[[acetil-(2-nitrofenil)sulfonyl-amino]metil]-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-1-il]metil]-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-propil]acetato.

A una solución de N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-1-[(2S)-4-[ter-butil(difenil)silil]oxi-2-hidroxi-butil]-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida (Intermediario 40) (250.00 mg, 243.87 μ mol), Et₃N (24.68 mg, 243.87 μ mol, 33.81 μ l) y DMAP (2.98 mg, 24.39 μ mol), en DCM (3.00 ml), se adicionó Ac₂O (62.24 mg, 609.68 μ mol, 57.10 μ l). Después de agitar a 15 °C por 16 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (20 ml), y luego se extrajo con DCM (3 x 15 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1, placa 2) para proveer el Intermediario 41 (270.00 mg, 243.42 μ mol, 99.81% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 42: [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[[[(2-nitrofenil)sulfonylamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidin-1-il]metil]-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-propil]acetato.

A una solución de [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-2-[[acetil-(2-nitrofenil)sulfonyl-amino]metil]-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-1-il]metil]-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-propil]acetato (Intermediario 41) (270.00 mg, 243.42 μ mol), en THF (2 ml) y H₂O (2 ml), se adicionó LiOH.H₂O (20.43 mg, 486.84 μ mol). Después de agitar a 15 °C por 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con H₂O (30 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (20 ml * 3), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1, placa 1) para proveer el Intermediario 42 (200.00 mg, 187.41 μ mol, 76.99% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 43: [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[[[(2-nitrofenil)sulfonylamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidin-1-

il]metil]-3-hidroxi-propil]acetato.

A una solución de [(1S)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[(2-nitrofenil)sulfonilamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidín-1-il]metil]-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-propil]acetato (Intermediario 42) (200.00 mg, 187.41 μ mol), en THF (3 ml), se adicionó TBAF (98.00 mg, 374.82 μ mol). Después de agitar a 15 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para retirar el solvente. El residuo se diluyó con DCM (30 ml) y se lavó con H₂O (15 ml * 5), luego agua salada (10 ml * 3), se secó sobre Na₂SO₄, y se filtró y concentró bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1, placa 1) para proveer el Intermediario 43 (150.00 mg, 180.99 μ mol, 96.57% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 44: [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

Una mezcla de PPh₃ (94.94 mg, 361.98 μ mol, 2.00 eq.) y DIAD (73.20 mg, 361.98 μ mol, 70.38 μ l, 2.00 eq.), en THF (2 ml), se agitó a 0 °C bajo atmósfera de N₂ para proveer la mezcla lechosa. A esta mezcla se adicionó una solución de [(1S)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[(2-nitrofenil)sulfonilamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidín-1-il]metil]-3-hidroxi-propil]acetato (Intermediario 43) (150.00 mg, 180.99 μ mol) en THF (1 ml). Después de agitar a 15 °C por 16 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para retirar el solvente. El residuo se diluyó con DCM (30 ml), se lavó con H₂O (10 ml * 2), se secó sobre Na₂SO₄, y se filtró y concentró bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1, placa 1) para proveer el Intermediario 44 (150.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco.

Intermediario 45: [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

A una solución de [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato (Intermediario 44) (150 mg, 185.01 μ mol), en CH₃CN (3 ml), se adicionó Cs₂CO₃ (120.56 mg, 370.02 μ mol) y bencenotiol (30.58 mg, 277.52 μ mol, 28.31 μ l). Después de agitar a 40 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para retirar el solvente. El residuo se diluyó con H₂O (30 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 5). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (20 ml * 3), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1, placa 1) para proveer el Intermediario 45 (180.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo.

Intermediario 46: [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

A una solución de [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato (Intermediario 45) (180 mg, 287.73 μ mol), en DCM (3 ml), se adicionó 1-isocianato-4-metoxibenceno (42.91 mg, 287.73 μ mol, 36.99 μ l). Después de agitar a 15 °C por 1 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de H₂O (15 ml), y luego se extrajo con DCM (20 ml * 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución de NaHCO₃ (15 ml), agua salada (15 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1, placa 1) para proveer el Intermediario 46 (200 mg, 258.15 μ mol, 89.72% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 47: [(3S, 8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

A una solución de [(3S, 8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato (Intermediario 46) (200 mg, 258.15 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (3 ml), se adicionó TFA (294.34 mg, 2.58 mmol, 191.13 μ l). Después de agitar a 15 °C por 2 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de solución de NaHCO₃ (20 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 5). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (10 ml * 3), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1, placa 1) para proveer el Intermediario 47 (130.00 mg, 244.16 μ mol, 94.58% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 48: [(3S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

Una mezcla de PPh₃ (128.08 mg, 488.32 μ mol, 2.00 eq.) y DIAD (98.74 mg, 488.32 μ mol, 94.94 μ l, 2.00 eq.), en THF (1 ml), se agitó a 0 °C bajo atmósfera de N₂ para proveer una mezcla lechosa. Esta mezcla lechosa se adicionó a la solución de [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato (Intermediario 47) (130 mg, 244.16 μ mol) e isoindolin-1,3-diona (53.88 mg, 366.24 μ mol) en THF (1 ml) a 0 °C. Después de agitar a 15 °C por 12 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para retirar el solvente, y luego se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1, placa 1) para proveer el Intermediario 48 (200 mg, sin purificar) como un aceite amarillo.

Intermediario 49: (3S,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

5 A una solución de [(3S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato (Intermediario 48) (200 mg, 302.32 μ mol), en EtOH (2 ml), se adicionó $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ (29.39 μ l, 604.64 μ mol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para retirar el solvente. El residuo se diluyó con H_2O (10 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 5). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (10 ml * 2), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo que se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , DCM:MeOH = 10:1, placa 1) para proveer el Intermediario 49 (60 mg, 122.60 μ mol, 40.55% de rendimiento) como un sólido blanco.

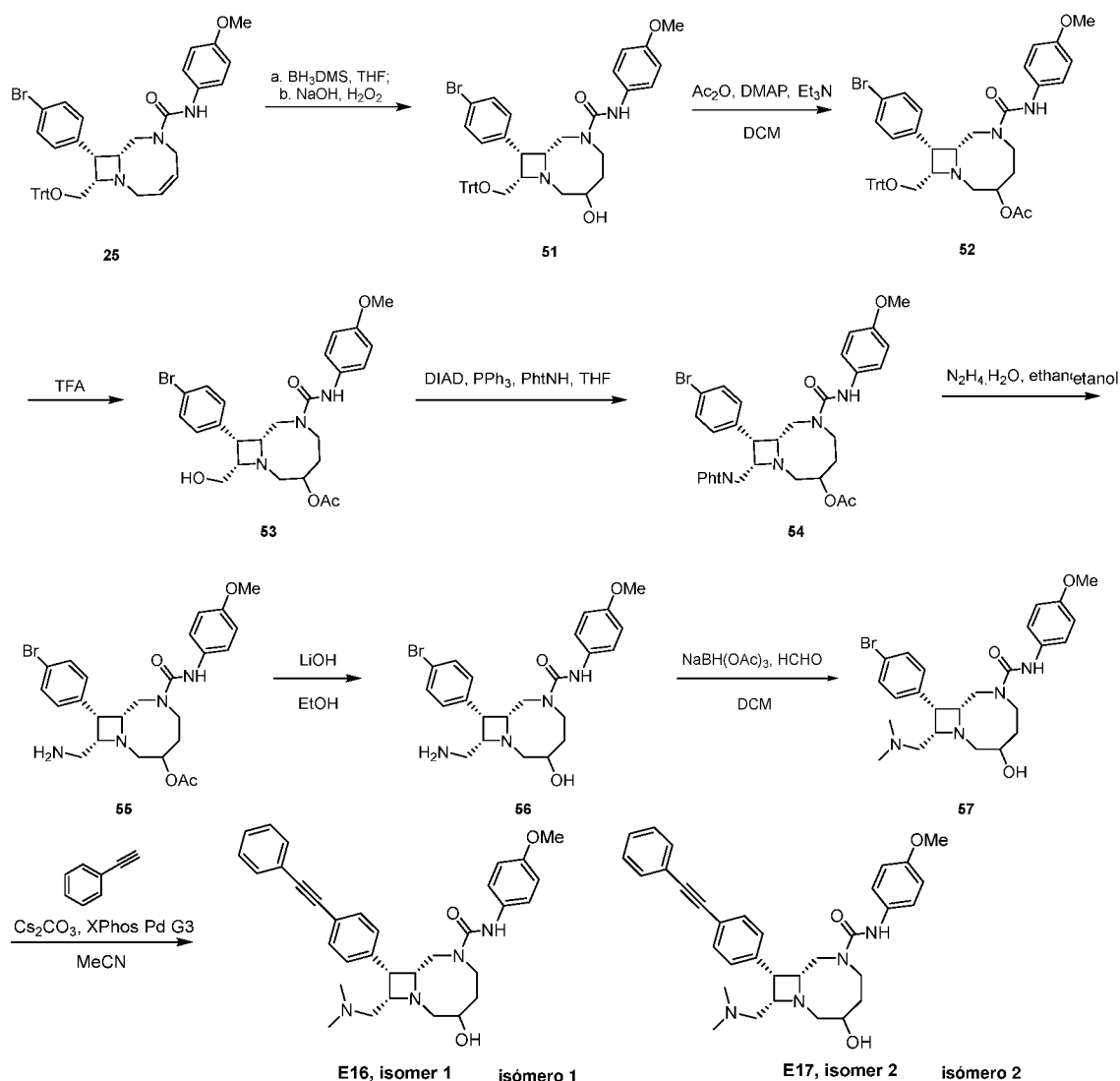
Intermediario 50: (3S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

10 A una solución de (3S,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (Intermediario 49) (60 mg, 122.60 μ mol), formaldehído (54.77 μ l, 735.60 μ mol), MgSO_4 (147.57 mg, 1.23 mmol) y AcOH (0.70 μ l, 12.26 μ mol), en DCM (3 ml), se adicionó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (77.95 mg, 367.80 μ mol). Después de agitar a 15 °C por 2 h, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con solución de NaHCO_3 (10 ml * 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer el Intermediario 50 (50 mg, 96.63 μ mol, 78.81% de rendimiento) como un sólido blanco.

Síntesis de E15: (3S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

20 A una solución de (3S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (Intermediario 50) (50 mg, 96.63 μ mol) y etinilbenceno (29.61 mg, 289.89 μ mol, 31.84 μ l), en CH_3CN (1 ml), se adicionó Cs_2CO_3 (125.94 mg, 386.52 μ mol) y catalizador XPhos Pd G3 (8.18 mg, 9.66 μ mol). Después de agitar bajo atmósfera de N_2 a 70 °C por 1 h, la mezcla de reacción se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , DCM:MeOH = 10:1, placa 1) para retirar el catalizador, proveyendo el producto sin purificar que se purificó después por HPLC preparativa (HPLC preparativa (columna: Luna C18 150*25 5u; fase móvil: A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer el producto feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (10 mg, 17.10 μ mol, 17.7% de rendimiento, sal de ácido fórmico) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.44 (br s, 1H), 7.54 (br d, J =7.0 Hz, 4H), 7.44 - 7.34 (m, 5H), 7.29 - 7.24 (m, 2H), 6.83 (br d, J =8.8 Hz, 2H), 6.29 (s, 1H), 5.71 (br s, 1H), 3.87 (br s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.75 - 3.62 (m, 4H), 3.52 - 3.38 (m, 1H), 3.18 (br dd, J =6.1, 13.6 Hz, 1H), 2.93 - 2.79 (m, 1H), 2.77 - 2.66 (m, 2H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.19 (s, 6H), 2.08 - 1.97 (m, 1H), 1.96 - 1.85 (m, 1H).

Ejemplos 16 a 17: Isómeros de (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida



Intermediario 51: (8R,9S,10S)-10-tritiloximetil-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-bromofenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

- 5 A una solución de (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritiloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (Intermediario 25, 980.00 mg, 1.37 mmol, 1.00 eq.), en THF (1.00 ml), se adicionó $\text{BH}_3\text{-Me}_2\text{S}$ (10 M, 686 μl , 5.00 eq.) a 0 °C, y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C por 3 h. Se adicionó H_2O (1.24 g, 68.56 mmol, 1.24 ml, 50.00 eq.) lentamente y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C por 30 min. Luego, a la solución de reacción se adicionó $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$ (18.27 g, 68.50 mmol, 15% de pureza, 50.00 eq.) y H_2O_2 (6.66 g, 68.56 mmol, 5.65 ml, 35% de pureza, 50.00 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 3 h. La reacción se extinguió con H_2O (10 ml) y se extrajo con DCM (50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron para proveer un producto sin purificar como un sólido blanco (mezclas), que se utilizó en la siguiente etapa sin mayor purificación.

Intermediario 52: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritiloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato.

- 15 A una solución del Intermediario 51 (1.2 g, 1.64 mmol), Et_3N (497.85 mg, 4.92 mmol) y DMAP (20.04 mg, 164 μmol), en DCM (2 ml) a 0 °C, se adicionó Ac_2O (334.86 mg, 3.28 mmol). Después de agitar a 25 °C por 3 h, la reacción se extinguió con H_2O (10 ml) y se extrajo con DCM (20 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo: acetato de etilo = 1:1) para proveer dos isómeros de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritiloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato. Cada isómero se separó por TLC preparativa para producir el Isómero 1 (126 mg, 9.92% de rendimiento, $R_f = 0.5$) como un sólido blanco, y el Isómero 2 (197 mg, 15.50% de rendimiento, $R_f = 0.4$) como un sólido blanco, y fracciones mixtas de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritiloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato (624 mg, 49.11% de rendimiento, $R_f = 0.3$) como un sólido blanco. Aunque cada estereoisómero se separó individualmente, la

estereoquímica de la posición 4 para cada compuesto no podría determinarse.

Isómero 1: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 8.25 (s, 1H), 7.47 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.19-7.11 (m, 23H), 6.77 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.62 (s, 1H), 3.92-3.88 (m, 1H), 3.74-3.70 (m, 1H), 3.56-3.55 (m, 4H), 3.45-3.41 (m, 1H), 3.30-3.29 (m, 1H), 3.08-3.07 (m, 3H), 2.89-2.87 (m, 1H), 2.73-2.70 (m, 1H), 2.55-2.52 (m, 1H), 2.43 (s, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.92-1.88 (m, 2H), 1.12-1.10 (m, 3H), 0.9-0.87 (m, 3H).

Isómero 2: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.34-7.22 (m, 23H), 7.09 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.83 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.07-5.04 (m, 1H), 3.92-3.88 (m, 1H), 3.77 (m, 5H), 3.65-3.58 (m, 3H), 3.25-3.27 (m, 2H), 3.03-3.00 (m, 1H), 3.02-2.99 (m, 1H), 2.61-2.57 (m, 1H), 2.45-2.44 (m, 1H), 2.16 (s, 3H), 2.08-2.05 (m, 1H), 1.74-1.71 (m, 2H), 1.00-0.95 (m, 1H).

Fracciones mixtas ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.52-7.17 (m, 21H), 6.84-6.82 (m, 3H), 4.81 (s, 1H), 4.29-4.16 (m, 1H), 3.99-3.77 (m, 1H), 3.67-3.66 (m, 1H), 3.65-3.63 (m, 6H), 3.63-3.56 (m, 5H), 3.40-3.39 (m, 3H), 3.16-3.12 (m, 2H), 2.96-2.94 (m, 1H), 2.63-2.59 (m, 1H), 2.28-2.25 (m, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.89-1.86 (m, 1H), 1.28-1.25 (m, 2H), 0.88-0.84 (m, 1).

Intermediario 53: acetato de (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-6-((4-metoxifenil)carbamoil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-ilo.

A una solución de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato (624 mg, 805.43 μmol), en DCM (2 ml), se adicionó TFA (918.35 mg, 8.05 mmol, 596.33 μl). Después de agitar a 25 °C por 3 h, la mezcla de reacción se extinguió por NaHCO_3 (10 ml) y se extrajo con DCM (20 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el residuo, y se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) al Intermediario 53 (265 mg, 61.80% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.46 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.83 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.47 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 3.81-3.77 (m, 4H), 3.64-3.57 (m, 5H), 3.52-3.47 (m, 3H), 3.25-3.22 (m, 1H), 3.21 (s, 1H), 2.97-2.84 (m, 1H), 2.23-2.23 (m, 2H), 2.24 (s, 2H), 2.15-1.96 (m, 2H).

Intermediario 54: [(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

A una solución del Intermediario 53 (275 mg, 516.5 μmol), isoindolin-1,3-diona (83.59 mg, 568.15 μmol) y PPh_3 (203.21 mg, 774.75 μmol), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (156.66 mg, 774.75 μmol) por goteo a 25 °C. Después de agitar a 25 °C por 5 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 54 (460 mg, sin purificar) como un sólido amarillo claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.79 (s, 2H), 7.70-7.65 (m, 20H), 7.55-7.53 (m, 20H), 7.48-7.45 (m, 30H), 6.86 (m, 3H), 6.62 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.86-3.83 (m, 6H), 3.79-7.77 (m, 3H), 3.65-3.64 (m, 3H), 3.54-3.49 (m, 1H), 3.09-3.04 (m, 1H), 2.85-2.81 (m, 1H), 2.56-2.53 (m, 1H), 3.37-3.14 (m, 1H), 2.21-2.14 (m, 1H).

Intermediario 55: [(8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]acetato.

A una solución del Intermediario 54 (460 mg, 695.35 μmol), en EtOH (1 ml), se adicionó hidracina hidratada (53.28 mg, 1.04 mmol, 51.73 μl) por goteo. Después de agitar a 80 °C por 2 h, la mezcla de reacción se filtró y concentró para proveer el Intermediario 55 (500 mg, sin purificar) como un líquido café sin purificación, que se utilizó directamente en la siguiente etapa. HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{BrN}_4\text{O}_3$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 531.15, encontrado 531.1.

Intermediario 56: (8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 55 (300 mg, 564.50 μmol), en EtOH:H₂O = 2:1 (1 ml), se adicionó LiOH.H₂O (47.37 mg, 1.13 mmol). Después de agitar a 40 °C por 2 h, la mezcla de reacción se diluyó con H₂O (3 ml) y se extrajo con DCM (10 ml) para proveer una capa orgánica. La capa orgánica se concentró y purificó por TLC previa (diclorometano:metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 56 (90 mg, 32.58% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.52-7.47 (m, 2H), 7.34-7.32 (m, 18H), 7.27-7.22 (m, 3H), 6.84 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 6.17 (s, 1H), 3.87-3.84 (m, 1H), 3.78-3.74 (m, 3H), 3.70-3.66 (m, 3H), 3.57-3.55 (m, 2H), 3.13-3.10 (m, 1H), 2.77-2.71 (m, 1H), 2.04-1.88 (m, 5H).

Intermediario 57: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 56 (90 mg, 183.9 μmol) en DCM (2 ml) se adicionó HCHO (149.26 mg, 1.84 mmol, 136.93 μl , solución al 37%) y MgSO_4 (442.72 mg, 3.68 mmol). Después de agitar a 25 °C por 0.5 h, se adicionó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (194.88 mg, 919.49 μmol). Después de agitar a 25 °C por 1.5 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 57 (58 mg, 60.95% de rendimiento) como un sólido café claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 -d1) δ 7.51-7.44 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 5H), 6.85 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.15 (s, 1H), 3.89-3.87 (m, 2H), 3.83-3.78 (m, 3H), 3.73-3.67 (m,

4H), 3.20-3.15 (m, 1H), 2.72-2.69 (m, 2H), 2.60-2.51 (m, 2H), 2.14 (s, 5H), 2.05-2.026 (m, 4H), 2.00-1.91 (m, 1H).

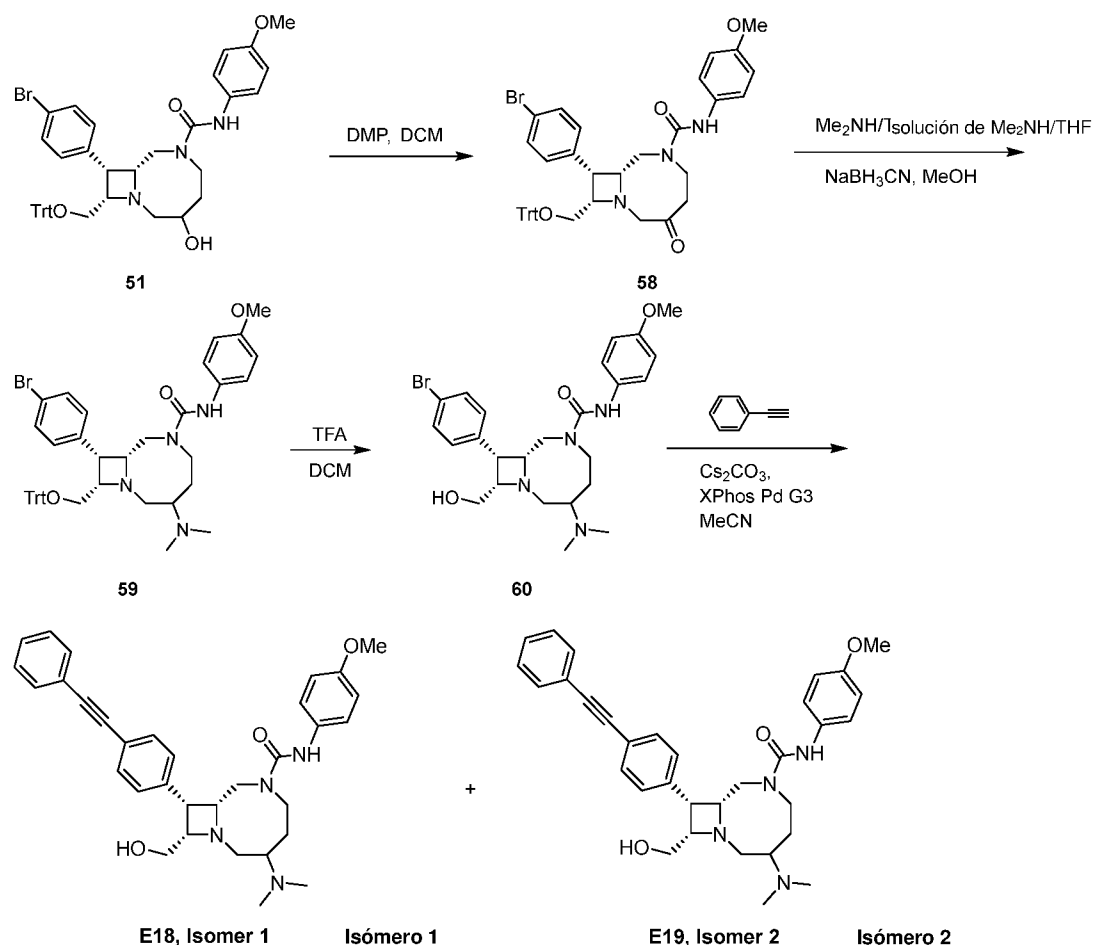
Síntesis de E16 y E17: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida isómero 1 (E16) e isómero 2 (E17).

A una solución del Intermediario 57 (50 mg, 96.63 μmol) y etinilbenceno (29.61 mg, 289.89 μmol) en acetonitrilo (1 ml) se adicionó XPhos Pd G3 (8.18 mg, 9.66 μmol) y Cs_2CO_3 (62.97 mg, 193.26 μmol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer cada estereoisómero de (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida. Cada isómero se separó para producir el Isómero 1 (5.1 mg, 9.80% de rendimiento) e Isómero 2 (17.1 mg, 32.85% de rendimiento) como un sólido blanco.

E16: Isómero 1: HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539.29, encontrado 529. ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 7.60-7.50 (m, 6H), 7.39-7.37 (m, 3H), 7.36-7.18 (m, 2H), 6.85 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 3.83-3.80 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.69-3.68 (m, 2H), 3.55-3.52 (m, 3H), 3.15-3.09 (m, 2H), 3.01-3.00 (m, 2H), 3.41-3.34 (m, 2H), 2.26 (m, 6H), 1.75-1.72 (m, 1H).

E17: Isómero 2: HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539.29, encontrado 529.40. ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 7.61-7.54 (m, 6H), 7.50 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H), 7.38-7.36 (m, 2H), 6.85 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 3.84-3.80 (m, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.67-3.61 (m, 2H), 3.55-3.51 (m, 1H), 3.08-3.05 (m, 2H), 2.83-2.80 (m, 1H), 2.74-2.68 (m, 3H), 2.26 (s, 6H), 2.03-1.94 (m, 2H).

Ejemplos 18 a 19: (8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida isómero 1 ("E18") e isómero 2 ("E19")



Intermediario 58: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-3-oxo-10-((tritoloxi)metil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 51 (500.00 mg, 682.41 μmol , 1 eq.), en DCM (5 ml), se adicionó Dess-Martin (347.32 mg, 818.89 μmol). Después de agitar a 25 °C por 3 h, la mezcla de reacción se extinguió por Na_2SO_3 saturado (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se concentró por TLC preparativa (éter

de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 58 (280 mg, 56.15% de rendimiento) como un sólido café. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.37-7.19 (m, 30H), 6.86-6.82 (m, 2H), 6.20 (s, 1H), 4.27-4.20 (m, 3H), 4.07-3.81 (m, 1H), 3.79-3.77 (m, 3H), 3.70-3.66 (m, 3H), 3.54-3.31 (m, 1H), 3.06-3.04 (m, 1H), 2.98-2.94 (m, 2H), 2.76-2.73 (m, 1H), 2.72-2.45 (m, 1H).

- 5 **Intermediario 59:** (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-(dimetilamino)-N-(4-metoxifenil)-10-((tritoloxi)metil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 58 (250 mg, 342.14 μmol), en MeOH (2 ml), se adicionó N-metilmetanamina (2 M, 1.71 ml) y CH₃COOH (205.46 mg, 3.42 mmol). Después de agitar a 25 °C por 0.5 h, se adicionó NaBH₃CN (21.50 mg, 342.14 μmol). Después de agitar a 25 °C por 1.5 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 15:1) para proveer el Intermediario 59 (120 mg, 46.16% de rendimiento) como un sólido café claro. HRMS (ESI) calc. para C₃₂H₃₃N₄O [M + H]⁺ 759.28, encontrado 759.2.

Intermediario 60: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

- 15 A una solución agitada del Intermediario 59 (115 mg, 151.36 μmol), en DCM (1 ml), se adicionó TFA (172.58 mg, 1.51 mmol). Después de agitar a 25 °C por 12 h, la mezcla de reacción se extinguió con NaHCO₃ saturado (5 ml) y se extrajo con DCM (5 ml) para proveer una capa orgánica. La solución orgánica se recolectó, se concentró y luego se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 60 (45.00 mg, 57.45% de rendimiento) como un sólido café claro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.47-7.43 (m, 2H), 7.38-7.31 (m, 4H), 6.83 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.99 (s, 1H), 3.77 (s, 5H), 3.63-3.61 (m, 5H), 3.59-3.57 (m, 5H), 3.48-3.46 (m, 2H), 3.32-3.13 (m, 3H), 2.76 (s, 6H), 2.48-2.34 (m, 4H), 2.04-2.00 (m, 1H).

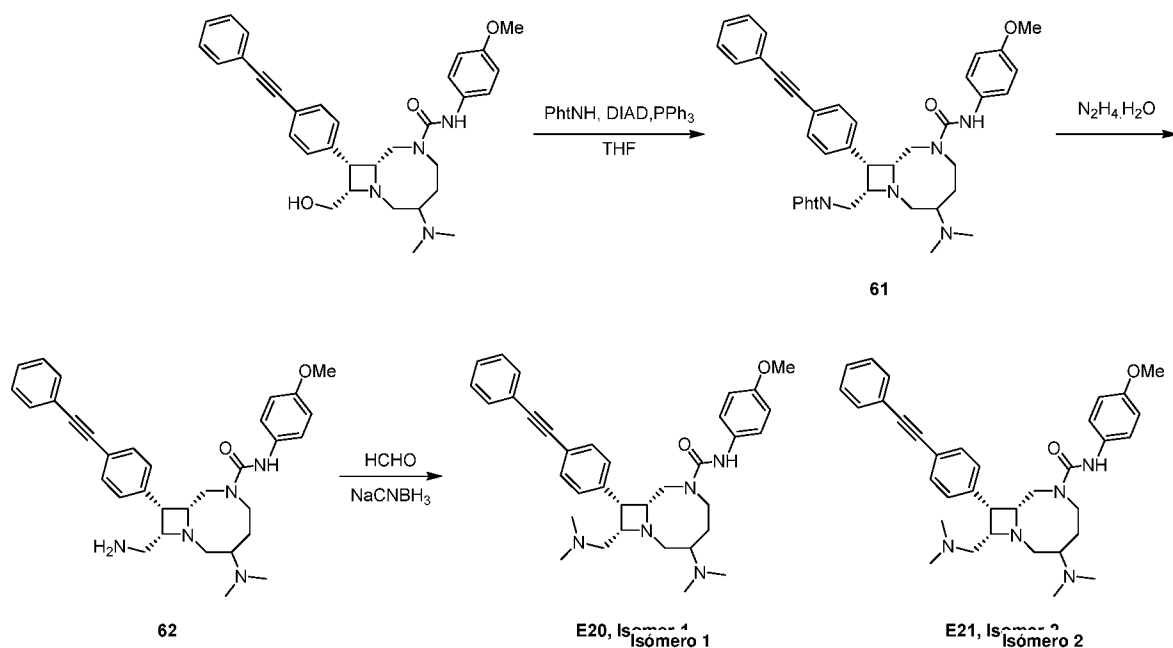
Síntesis de E18 y E19: (8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida isómero 1 (E18) e isómero 2 (E19)

- 25 A una solución del Intermediario 59 (30 mg, 57.98 μmol) y etinilbenceno (17.76 mg, 173.94 μmol), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (4.91 mg, 5.80 μmol) y Cs₂CO₃ (37.78 mg, 115.96 μmol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer cada estereoisómero de (8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida separada como isómero 1 (E18) (2.60 mg, 8.32% de rendimiento) e isómero 2 (E19) (11.40 mg, 36.50% de rendimiento) como un sólido blanco.

E18: Isómero 1, HRMS (ESI) calc. para: C₃₃H₃₈N₄O₃ [M + H]⁺ 539.29, encontrado 539.4. ¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ8.34 (s, 1H), 7.56-7.51 (m, 2H), 7.50-7.48 (m, 4H), 7.37 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 6.85 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.09-4.05 (m, 1H), 3.75-3.72 (m, 3H), 3.66-3.65 (m, 1H), 3.52-3.46 (m, 4H), 3.26-3.20 (m, 2H), 2.64 (s, 6H), 2.55-2.52 (m, 1H), 1.97 (s, 2H).

- 35 E19: Isómero 2, HRMS (ESI) calc. para: C₃₃H₃₈N₄O₃ [M + H]⁺ 539.29, encontrado 539.4. ¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ8.55 (s, 1H), 7.61 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.51-7.49 (m, 4H), 7.38-7.36 (m, 3H), 7.23 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.21-4.11 (m, 1H), 3.76-3.73 (m, 5H), 3.76-3.73 (m, 2H), 3.62-3.40 (m, 3H), 3.31-3.13 (m, 3H), 2.81-2.77 (s, 6H), 2.64 (s, 1H), 2.46 (s, 1H), 2.06-2.03 (m, 1H).

Ejemplos 20 a 21: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida isómero 1 ("E20") e isómero 2 Ejemplo 21 ("E21")



Intermediario 61: (8R,9S,10S)-3-(dimetilamino)-10-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución de una mezcla de los Ejemplos 18 y 19 (165 mg, 318.87 μ mol, 1 eq.), isoindolin-1,3-diona (51.61 mg, 350.75 μ mol) y PPh₃ (125.45 mg, 478.30 μ mol), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (96.72 mg, 478.30 μ mol) por goteo. Después de agitar a 25 °C por 12 h, el residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 0:1) para proveer el Intermediario 61 (184 mg, 89.25% de rendimiento) como un sólido amarillo claro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.83-7.81 (m, 1H), 7.73-7.72 (m, 2H), 7.55-7.26 (m, 5H), 6.82-6.79 (m, 2H), 3.94-3.74 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.67-3.56 (m, 5H), 3.54-3.55 (m, 2H), 3.35-3.06 (m, 1H), 2.77 (s, 6H), 1.26 (s, 1H).

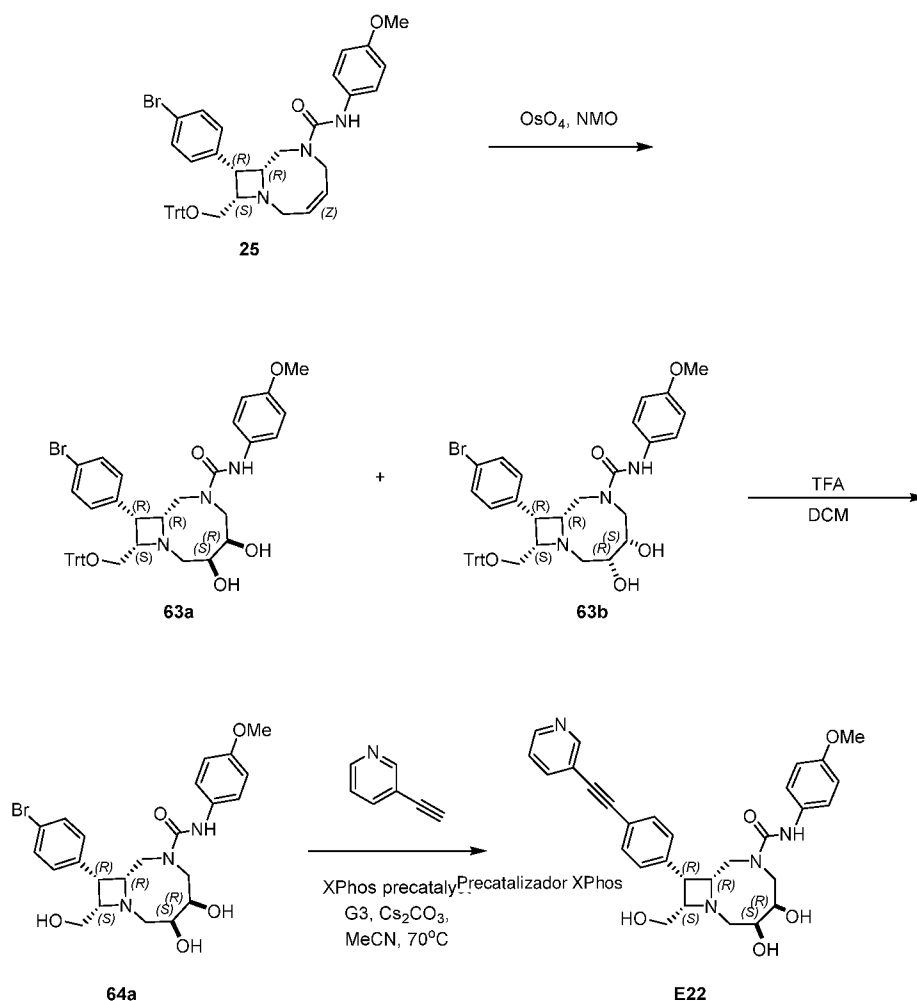
Intermediario 62: (8R,9S,10S)-10-(aminometil)-3-(dimetilamino)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

A una solución del Intermediario 61 (174 mg, 260.56 μ mol), en EtOH (1 ml), se adicionó hidracina hidratada (19.96 mg, 390.84 μ mol) por goteo. Después de agitar a 80 °C por 2 h, la mezcla de reacción se filtró y concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 6:1) para proveer el Intermediario 62 (50.00 mg, 35.69% de rendimiento) como un líquido café. HRMS (ESI) calc. para C₃₃H₃₉N₅O₂ [M + H]⁺ 538.31, encontrado 538.2.

Síntesis de E20 y E21: (4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E20) y (4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E21).

A una solución agitada del Intermediario 61 (50 mg, 96.81 μ mol), en DCM (2.00 ml), se adicionó HCHO (78.57 mg, 968.10 μ mol, 72.08 μ l) y MgSO₄ (116.53 mg, 968.10 μ mol). Después de agitar a 25 °C por 0.5 h, se adicionó CH₃COOH (5.81 mg, 96.81 μ mol) y NaBH(OAc)₃ (102.59 mg, 484.05 μ mol). Después de agitar a 25 °C por 1.5 h, la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 3) para proveer una capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa para proveer y separar cada isómero de (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(dimetilamino)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida como isómero 1 (E20) (2.90 mg, 5.33 μ mol, 5.51% de rendimiento) como un sólido café claro (HRMS (ESI) calc. para: C₃₅H₄₃N₅O₂ [M + H]⁺ 566.34, encontrado 566.4; ¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ 7.61-7.51 (m, 5H), 7.44-7.38 (m, 4H), 7.37-7.23 (m, 2H), 6.87-6.85 (m, 2H), 4.05-3.77 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.66-3.51 (m, 2H), 3.19-3.16 (m, 1H), 2.50-2.47 (m, 1H), 2.35-2.19 (m, 1H), 1.86-1.80 (m, 1H)) e isómero 2 (E21) (15.20 mg, 27.91 μ mol, 28.83% de rendimiento) como un sólido café claro (¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ 7.56-7.54 (m, 6H), 7.52-7.51 (m, 3H), 7.23-7.22 (m, 2H), 6.83-6.84 (m, 2H), 4.14-4.12 (m, 1H), 3.87-3.81 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.67-3.48 (m, 2H), 3.24-3.22 (m, 2H), 2.77 (s, 6H), 2.71-2.60 (m, 4H), 2.32-2.31 (m, 2H), 2.31-2.30 (m, 1H)).

Ejemplo 22: (3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E22")



Intermediarios 63a y 63b: (3S,4R,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (63a) y (3R,4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (63b)

A una solución del Intermediario 25 (220 mg, 307.83 μmol) y NMO (43.27 mg, 369.4 μmol), en acetona/ H_2O = 10:1 (1 ml), se adicionó OsO_4 (7.83 mg, 30.78 μmol) a 25°C . Después de agitar a 25°C por 12 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:5) para proveer el Intermediario 63a (120 mg, 52.07% de rendimiento) como un sólido blanco (^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7.31-7.05 (m, 23H), 6.85-6.81 (m, 2H), 6.82 (d, J = 8 Hz, 2H), 4.23-4.19 (m, 1H), 3.99 (s, 1H), 3.76-3.73 (m, 6H), 3.50-3.43 (m, 2H), 3.19-3.13 (m, 2H), 2.98-2.96 (m, 1H), 2.86-2.84 (m, 1H), 2.78-2.59 (m, 1H)) e Intermediario 63b (134 mg, 58.14% de rendimiento) como un sólido blanco (^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7.39-7.24 (m, 23H), 7.09-7.05 (m, 2H), 6.84 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.85-3.78 (m, 5H), 3.69-3.61 (m, 4H), 3.45-3.40 (m, 3H), 3.14-3.13 (m, 1H), 3.05-3.04 (m, 1H), 2.78-2.75 (m, 1H)).

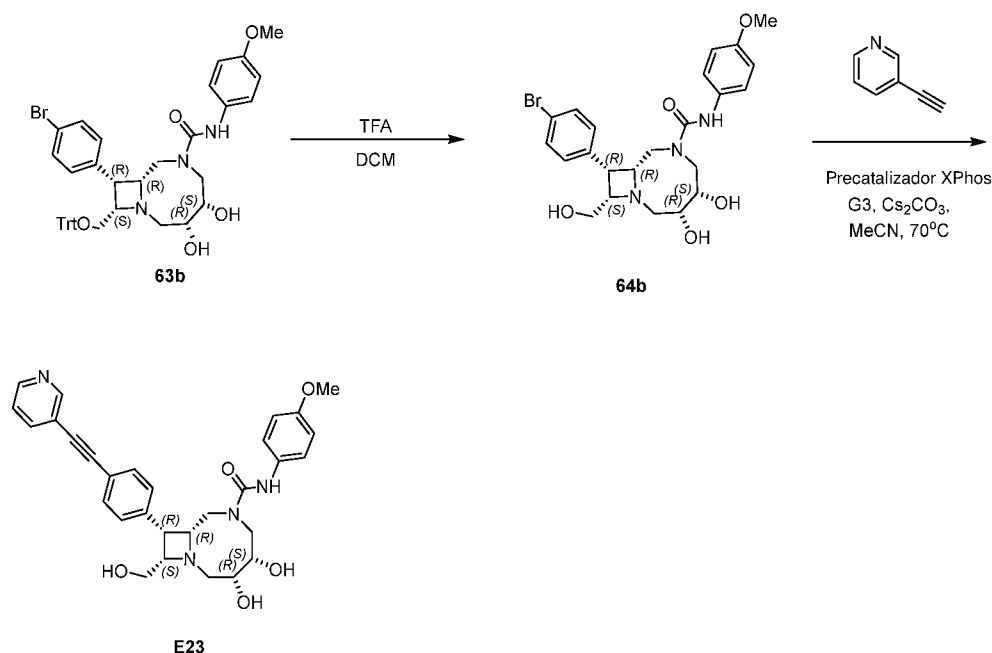
Intermediario 64a: (3S,4R,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 63a (60 mg, 80.14 μmol), en DCM (2 ml), se adicionó TFA (91.37 mg, 801.39 μmol). Después de agitar a 25°C por 3 h, la reacción se extinguió con NaHCO_3 (10 ml) y se extrajo con DCM (20 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo) para proveer el Intermediario 64a (35 mg, 86.24% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7.43 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.20 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.82 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.32-4.28 (m, 1H), 4.13-4.06 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.61 (s, 1H), 3.48 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 2.98-2.88 (m, 2H), 2.77-2.70 (m, 2H), 2.0 (s, 1H).

Síntesis de E22: (3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 64a (20 mg, 39.5 μ mol) y 3-etilpiridina (8.15 mg, 78.99 μ mol) en acetonitrilo (1 ml) se adicionó XPhos Pd G3 (3.34 mg, 3.95 μ mol) y Cs_2CO_3 (25.74 mg, 78.99 μ mol). Después de agitar a 70 °C por 1 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (6.8 mg, 29.69% de rendimiento) como un sólido blanco (HRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 529.24, encontrado 529.30; ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 8.69 (s, 1H), 8.51 (d, J = 4 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.60-7.52 (m, 4H), 7.48-7.45 (m, 1H), 7.16 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.84 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.16-4.11 (m, 2H), 3.84-3.82 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.64-3.58 (m, 4H), 3.39-3.60 (m, 2H), 2.88-2.79 (m, 3H)).

Ejemplo 23: (3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E23")



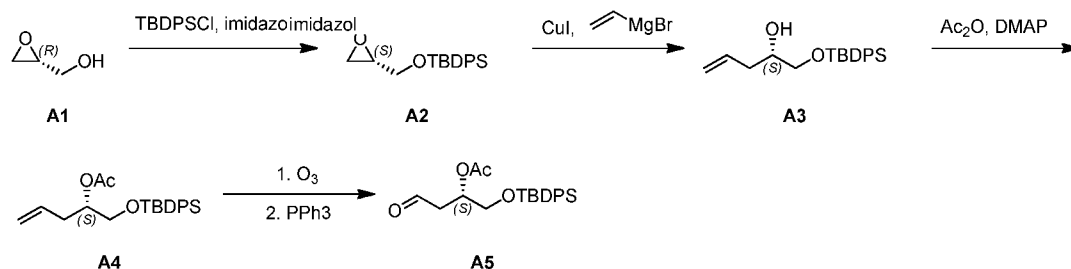
Intermediario 64b: (3R,4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 63b (130 mg, 173.63 μ mol), en DCM (2 ml), se adicionó TFA (197.98 mg, 1.74 mmol). Después de agitar a 25 °C por 3 h, la reacción se extinguió con NaHCO_3 (10 ml) y se extrajo con DCM (20 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo) para proveer el Intermediario 64b (75 mg, 85.30% de rendimiento) como un sólido blanco (^1H NMR (400 MHz, CDCl_3-d_1) δ 7.48 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.09-7.28 (m, 7H), 6.84 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.78 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 3.72-3.66 (m, 4H), 3.59-3.57 (m, 5H), 3.53-3.51 (m, 4H), 3.27-3.25 (m, 1H), 2.88-2.74 (m, 2H)).

Síntesis de E23: (3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 64b (20 mg, 39.50 μ mol) y 3-etilpiridina (8.15 mg, 78.99 μ mol) en acetonitrilo (1 ml) se adicionó XPhos Pd G3 (3.34 mg, 3.95 μ mol) y Cs_2CO_3 (25.74 mg, 78.99 μ mol). Después de agitar a 70 °C por 2 h, la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihidroxi-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(piridin-3-iletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (7.4 mg, 29.69% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI) calc. para $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 529.24, encontrado 529.30. ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 8.69 (s, 1H), 8.52 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.61-7.56 (m, 4H), 7.48-7.46 (m, 1H), 7.23 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.86 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 3.84-3.80 (m, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.65-3.50 (m, 7H), 3.31-3.28 (m, 1H), 3.08-3.26 (m, 1H), 2.74-2.71 (m, 1H).

Síntesis de intermediario A5: [(1S)-1-[[ter-butil(difenil)silil]oximetil]-3-oxo-propil]acetato.



Intermediario A2: ter-butyl-[(2S)-oxiran-2-yl]metoxi]-difenil-silano

A una solución de (*R*)-oxiran-2-ilmetanol (3.00 g, 40.50 mmol, 2.68 ml) e imidazol (5.51 g, 80.99 mmol), en DCM (80 ml) a 0 °C, se adicionó TBDPSCI (13.36 g, 48.60 mmol, 12.48 ml). Después de agitar a 25 °C por 12 h, la mezcla de reacción se extinguió con H₂O (20 ml) y se extrajo por DCM (60 ml * 2) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 10:1) para proveer el Intermediario A2 (12.66 g, 100.00% de rendimiento) como un líquido incoloro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.69-7.68 (m, 4H), 7.46-7.40 (m, 5H), 8.87-3.85(m, 1H), 3.73-3.70 (m, 1H), 3.14-3.13 (m, 1H), 2.76-2.74 (m, 1H), 1.05 (s, 9H).

Intermediario A3: (2S)-1-[ter-butyl(difenil)silil]oxipent-4-en-2-ol.

Se colocó CuI (1.83 g, 9.60 mmol, 1.5 eq.) en un matraz de tres cuellos bajo nitrógeno, y luego se adicionó THF anhidro (20 ml). La mezcla resultante se enfrió a -78 °C, y luego se adicionó bromuro de vinil magnesio (1 M, 22.40 ml, 3.5 eq.) por goteo, mientras se mantenía la temperatura interna debajo de -78 °C. La mezcla heterogénea se calentó a -20 °C y se agitó a esta temperatura por 30 min. Después de enfriar la solución de regreso a -78 °C, el Intermediario A2 (2.00 g, 6.40 mmol, 1 eq.) se adicionó por goteo. La mezcla se agitó y se dejó calentar gradualmente a 20 °C por 12 h. La mezcla de reacción se extinguió con H₂O (20 ml) y se extrajo por DCM (60 ml * 2) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 7:1) para proveer el Intermediario A3 (2.18 g, 100.00% de rendimiento) como un líquido incoloro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.67-7.65 (m, 4H), 7.44-7.37 (m, 7H), 5.82-5.76 (m, 1H), 5.10-4.90 (m, 2H), 3.81-3.78 (m, 1H), 3.68-3.65 (m, 1H), 3.57-3.54 (m, 1H), 2.46-2.44 (m, 1H), 2.25-2.22 (m, 1H), 1.05 (m, 9H).

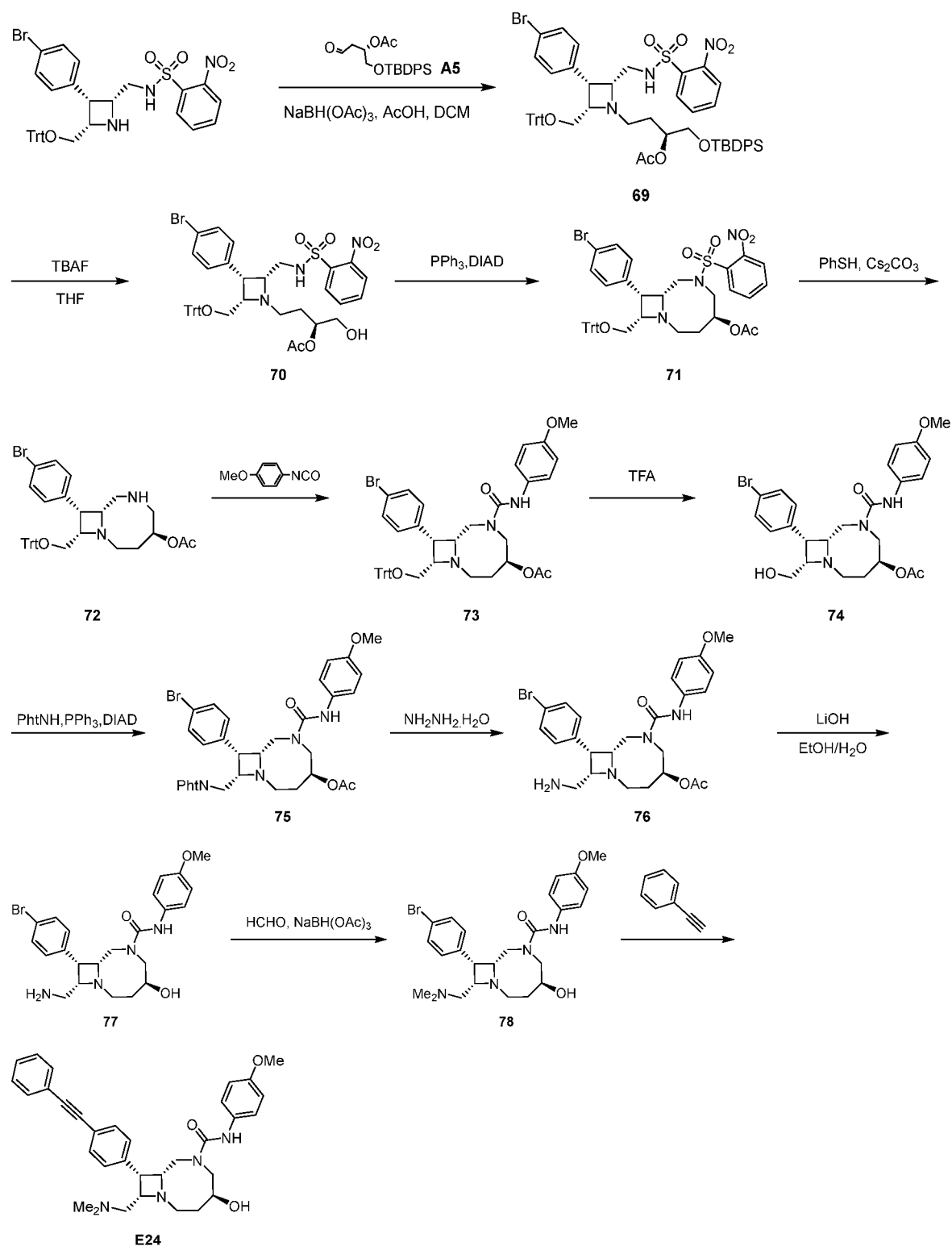
Intermediario A4: [(1S)-1-[[ter-butyl(difenil)silil]oximetil]but-3-enil]acetato.

A una solución del Intermediario A3 (2.18 g, 6.40 mmol, 1 eq.), Et₃N (1.94 g, 19.21 mmol, 3 eq.) y DMAP (78.21 mg, 640.18 μmol, 0.1 eq.), en DCM (2 ml) a 0 °C, se adicionó anhídrido acético (980.06 mg, 9.60 mmol, 1.5 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 3 h. La TLC (éter de petróleo:acetato de etilo = 10:1) mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió con H₂O (10 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 3) para proveer una capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 10:1) para proveer el Intermediario A4 (2.30 g, 93.94% de rendimiento) como un líquido incoloro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.67-7.65 (m, 4H), 7.40-7.26 (m, 6H), 5.77-5.69 (m, 1H), 5.11-5.01 (m, 3H), 3.73-3.66 (m, 2H), 2.48-2.32 (m, 1H), 2.02 (m, 3H), 1.09 (m, 9H).

Intermediario A5: [(1S)-1-[[ter-butyl(difenil)silil]oximetil]-3-oxo-propil]acetato.

Una solución a -78 °C del Intermediario A4 (1.70 g, 4.44 mmol, 1 eq.), en DCM/MeOH = 1:1 (30 ml), se trató con una corriente de O₃ en O₂ hasta que la solución se tornó azul. Luego se hizo burbujear N₂ a través de la solución hasta que el color desapareció. La solución resultante se trató con Me₂S (2.76 g, 44.44 mmol, 10 eq.), se calentó a 20 °C y se agitó por 2 h. La TLC (éter de petróleo:acetato de etilo = 5:1) mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml) y se lavó con H₂O (10 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el Intermediario A5 (1.70 g, sin purificar) como un líquido incoloro sin mayor purificación.

Ejemplo 24: (4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E24"), que no forma parte de la presente invención.



Intermediario 69: [(1S)-3-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[[[(2-nitrofenil)sulfonilamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidin-1-il]-1-[[ter-butil(difenil)silil]oximetil]propil]acetato.

10 A una solución agitada de *N*-(((2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromofenil)-4-((tritoloxi)metil)azetidin-2-il)metil)-2-nitrobencenosulfonamida (WO2015070204) (1.20 g, 1.72 mmol, 1 eq.), en DCM (12 ml), se adicionó el Intermediario A5 (1.46 g, 3.78 mmol, 2.2 eq.) a 25 °C y CH_3COOH (103.29 mg, 1.72 mmol, 1 eq.). La mezcla de reacción resultante

se agitó a 25 °C por 0.5 h. A la mezcla se adicionó NaBH(OAc)₃ (1.09 g, 5.16 mmol, 3 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 1.5 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 69 (1.67 g, sin purificar) como un sólido café claro.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 5.15-5.11 (m, ¹H), 4.96-4.95 (m, 1H), 4.10-4.07 (m, 1H), 3.62-3.44(m, 4H), 3.17-3.12 (m, 1H), 2.88-2.81 (m, 3H), 2.51-2.44 (m, 2H), 2.06-2.08 (m, 3H).

Intermediario 70: [(1S)-3-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[[[(2-nitrofenil)sulfonilamino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidin-1-il]-1-(hidroximetil)propil]acetato.

A una solución agitada del Intermediario 69 (1.67 g, 1.56 mmol, 1 eq.), en THF (16 ml), se adicionó TBAF (1.22 g, 4.68 mmol, 3 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 70 (920.00 mg, 71.16% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.85-7.66 (m, 10), 7.26-6.97 (m, 20H), 5.02 (m, 1H), 4.85-4.82 (m, 1H), 4.05-3.76 (m, 1H), 3.70-3.52 (m, 3H), 3.12-2.86 (m, 3H), 2.03 (s, 5H), 1.52-1.46 (m, 2H).

Intermediario 71: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato.

A una solución agitada del Intermediario 70 (660.00 mg, 796.36 μmol, 1 eq.), en THF (20 ml), se adicionó una mezcla de PPh₃ (835.51 mg, 3.19 mmol, 4 eq.) y DIAD (644.13 mg, 3.19 mmol, 619.35 μl, 4 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 71 (445.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.92-7.90 (m, 1H), 7.69-7.61 (m, 3H), 7.26-7.16 (m, 20H), 4.42-4.40 (m, 2H), 4.14-4.10 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.56-3.45 (m, 1H), 3.10-3.03 (m, 3H), 2.85-2.84 (m, 1H), 2.37-2.31 (m, 1H), 2.13-1.98 (m, 1H), 1.87-1.54 (m, 1H), 0.128-1.26 (m, 3H).

Intermediario 72: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato.

A una solución agitada del Intermediario 71 (660.00 mg, 796.36 μmol, 1 eq.), en THF (20.00 ml), se adicionó una mezcla de PPh₃ (835.51 mg, 3.19 mmol, 4 eq.) y DIAD (644.13 mg, 3.19 mmol, 619.35 μl, 4 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 72 (445.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.26-7.22 (m, 25H), 4.01-4.00 (m, 1H), 3.83-3.81 (m, 1H), 3.62-3.47 (m, 1H), 3.51-3.47 (m, 1H), 3.49-3.48 (m, 1H), 3.21-3.11 (m, 1H), 2.92-2.88 (m, 1H), 2.49-2.47 (m, 2H), 2.05 (s, 3H), 1.85-1.084 (m, 1H), 1.60 (s, 3H).

Intermediario 73: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato.

A una solución agitada del Intermediario 72 (154.00 mg, 246.17 μmol, 1 eq.) y Et₃N (49.82 mg, 492.34 μmol, 68.25 μl, 2 eq.), en DCM (2 ml), se adicionó 1-isocianato-4-metoxibenceno (40.39 mg, 270.78 μmol, 34.82 μl, 1.1 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (2 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 73 (169 mg, 88.61% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.33-7.23 (m, 20H), 6.83-6.82 (m, 2H), 4.59-4.57 (m, 1H), 4.30-4.27 (m, 1H), 3.78-3.75 (m, 4), 3.63-3.3.62 (m, 1H), 3.54-3.53 (m, 1H), 3.15-3.13 (m, 2H), 2.92-2.90 (m, 2H), 2.08-2.00 (m, 3H), 1.89-1.85 (s, 2H), 1.57 (m, 1H).

Intermediario 74: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato.

A una solución agitada del Intermediario 73 (169.00 mg, 218.14 μmol, 1 eq.), en DCM (2 ml), se adicionó TFA (248.72 mg, 2.18 mmol, 10 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por NaHCO₃ y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:2) para proveer el Intermediario 74 (81.00 mg, 152.13 μmol, 69.74% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para C₂₅H₃₀BrN₃O₅ [M + H]⁺ 532.14, encontrado 534.1.

Intermediario 75: [(4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]acetato.

A una solución del Intermediario 74 (81.00 mg, 104.55 μmol , 1 eq.), isoindolin-1,3-diona (16.92 mg, 115.01 μmol , 1.1 eq.) y PPh_3 (41.13 mg, 156.82 μmol , 1.5 eq.), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (31.71 mg, 156.82 μmol , 30.49 μl , 1.5 eq.) por goteo a 25 °C bajo N_2 . La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 75 (58.00 mg, 83.86% de rendimiento) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7.83-7.81 (m, 2H), 7.73-7.71 (m, 2H), 7.51-7.49 (m, 4H), 7.25-7.23 (m, 2H), 6.89-6.84 (m, 2H), 6.56 (s, 1H), 4.59-4.55 (m, 1H), 4.28-4.27 (m, 1H), 3.82-3.78 (m, 4H), 3.58-3.55 (m, 3.50H), 3.50-3.25 (m, 2H), 2.99-2.98 (m, 1H), 2.37-2.12 (m, 1H), 2.08 (s, 5H).

Intermediario 76: acetato de (4S,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-6-((4-metoxifenil)carbamoil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-ilo.

A una solución del Intermediario 75 (58.00 mg, 87.67 μmol , 1 eq.), en EtOH (1 ml), se adicionó hidracina hidratada (6.72 mg, 131.51 μmol , 6.52 μl , 98% de pureza, 1.5 eq.) por goteo a 25 °C bajo N_2 . La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 1 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el Intermediario 76 residual sin mayor purificación. HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{BrN}_4\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 531.15, encontrado 531.1.

Intermediario 77: (4S,8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-4-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 76 (46.00 mg, 86.56 μmol , 1 eq.), en EtOH:H₂O = 1:1 (1 ml), se adicionó LiOH.H₂O (7.26 mg, 173.12 μmol , 2 eq.) a 25 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 2 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (2 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el Intermediario 77 (80.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco. HRMS (ESI): ET6538-397-P1P calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{BrN}_4\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 489.14, encontrado 491.1.

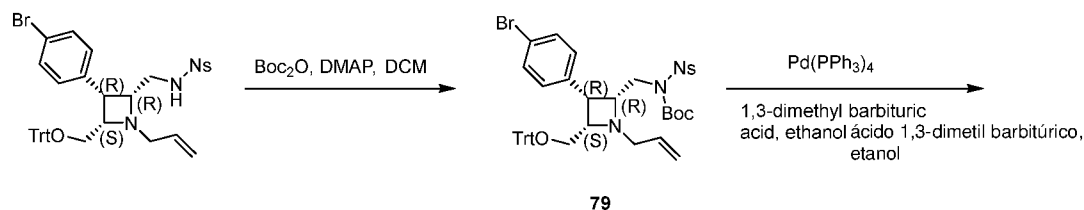
Intermediario 78: (4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-((dimetilamino)metil)-4-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

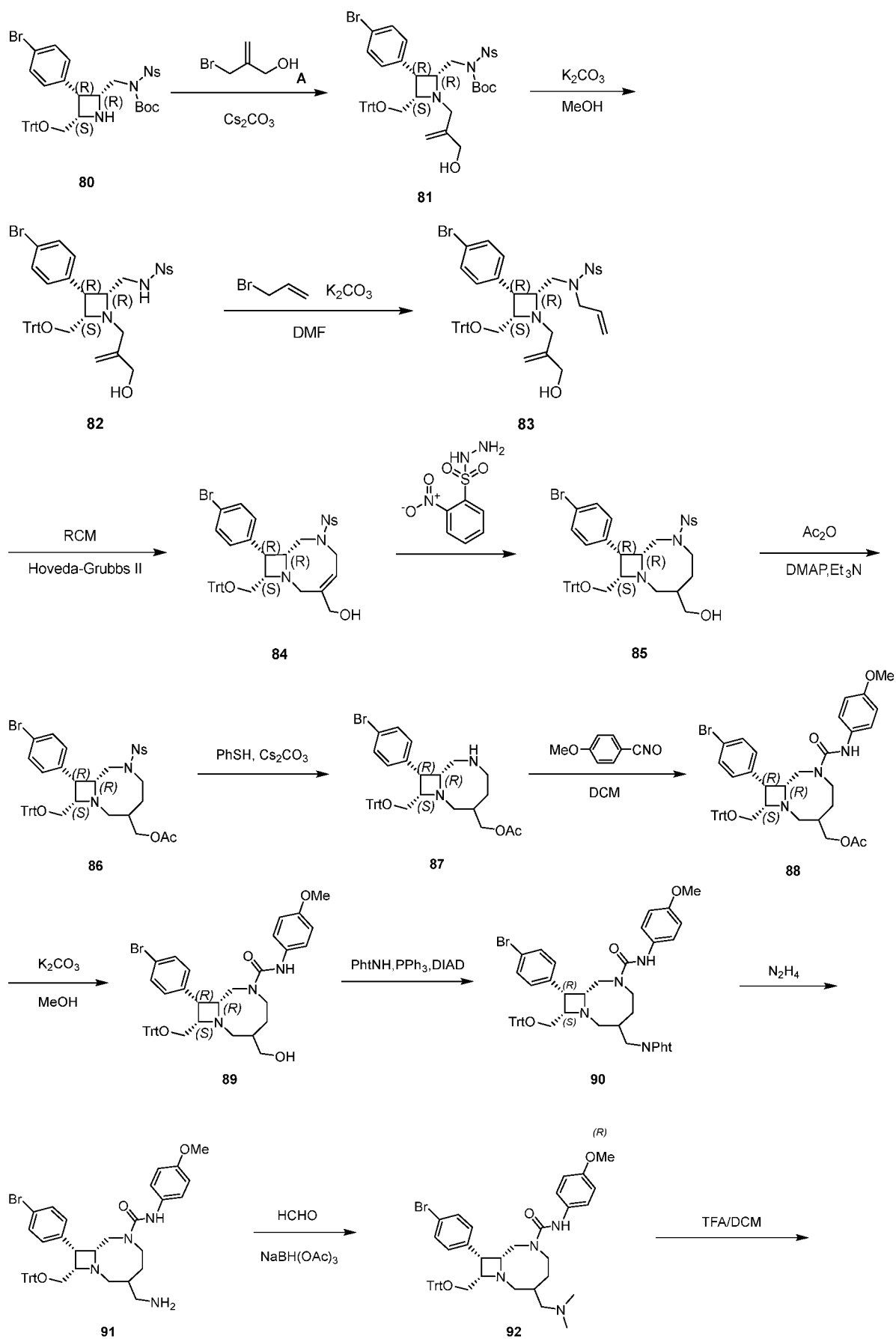
A una solución del Intermediario 77 (757.00 mg, 1.01 mmol, 1 eq.), isoindolin-1,3-diona (164.07 mg, 1.12 mmol, 1.1 eq.) y PPh_3 (398.85 mg, 1.52 mmol, 1.5 eq.), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (307.49 mg, 1.52 mmol, 1.5 eq.) por goteo a 25 °C bajo N_2 . La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 78 (1.13 g, sin purificar) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7.45-7.44 (m, 3H), 7.39-7.37 (m, 2H), 6.83-6.81 (m, 2H), 4.08-3.97 (m, 2H), 3.77-3.76 (m, 2H), 3.45-3.44 (m, 1H), 3.29-3.10 (m, 3H), 2.02 (s, 6H), 0.87 (s, 2H).

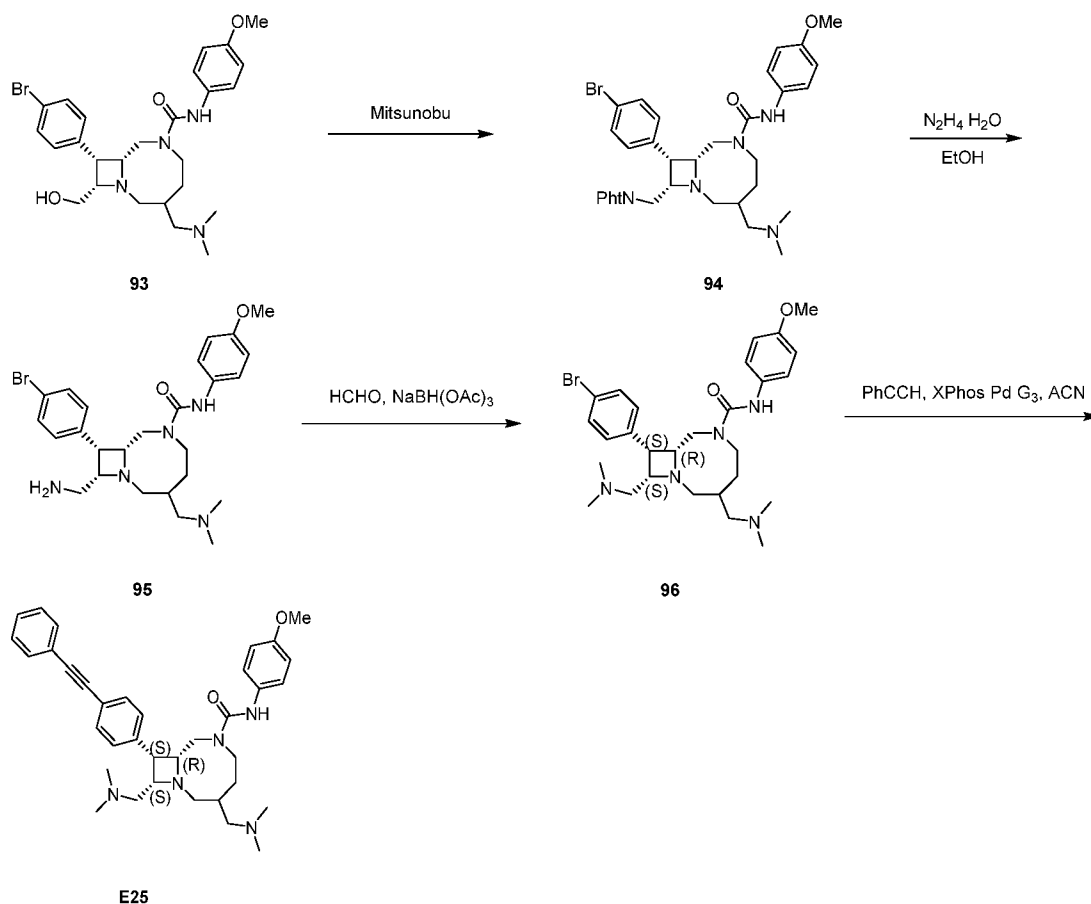
Síntesis de E24: (4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E24).

A una solución del Intermediario 78 (40.00 mg, 77.30 μmol , 1 eq.) y etinilbenceno (23.68 mg, 231.90 μmol , 25.47 μl , 3.00 eq.), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (6.54 mg, 7.73 μmol , 0.1 eq.) y Cs_2CO_3 (50.37 mg, 154.60 μmol , 2 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 2 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer (4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (6.10 mg, 14.65% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539.29, encontrado 539.4. ^1H NMR (400 MHz, MeOD- d_4) δ 7.55-7.50 (m, 2H), 7.49-7.37 (m, 4H), 6.86-6.84 (m, 2H), 4.18-4.05 (m, 1H), 4.02-4.00 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.64-3.31 (m, 1H), 2.90-2.85 (m, 3H), 2.43 (s, 6H), 2.35-2.34 (m, 1H), 2.34-2.06 (m, 1H).

Ejemplo 25: (8R,9S,10S)-3,10-bis[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E25")







5 **Intermediario 79:** ter-butil N-[[[(2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-N-(2-nitrofenil)sulfonyl-carbamato.

10 A una solución de *N*-(((2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-((tritoloxi)metil)azetidin-2-il)metil)-2-nitrobencenosulfonamida (WO2015070204) (8.50 g, 11.51 mmol, 1 eq.), DMAP (140.58 mg, 1.15 mmol, 0.1 eq.) y Et₃N (3.49 g, 34.52 mmol, 4.79 ml, 3 eq.), en DCM (60 ml), se adicionó BOC₂O (2.76 g, 12.66 mmol, 1.1 eq.), y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C por 4 h. La TLC (éter de petróleo:DCM = 3:1) mostró que la reacción estaba completa, la reacción se extinguió con H₂O (100 ml) y se extrajo con DCM (300 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 3:1) para proveer el Intermediario 79 (8.19 g, 84.83% de rendimiento) como un sólido café. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 8.20 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 7.70 (s, 3H), 7.35-7.32 (m, 5H), 7.19-7.13 (m, 10H), 7.11 (m, 7H), 5.73-5.63 (m, 1H), 5.09-5.05 (m, 1H), 4.90-4.87 (m, 1H), 3.95-3.91 (m, 1H), 3.65-3.64 (m, 3H), 3.54-3.49 (m, 1H), 3.09-3.04 (m, 1H), 2.85-2.81 (m, 1H), 2.56-2.53 (m, 1H), 3.06-3.05 (m, 1H), 2.94-2.89 (m, 1H).

Intermediario 80: ter-butil N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-N-(2-nitrofenil)sulfonyl-carbamato.

20 A una solución del Intermediario 79 (7.70 g, 9.18 mmol, 1 eq.), en EtOH (10 ml), se adicionó 1,3-dimetilhexahidropirimidin-2,4,6-triona (2.15 g, 13.77 mmol, 1.5 eq.) y Pd(PPh₃)₄ (1.06 g, 917.98 μmol, 0.1 eq.), y la mezcla de reacción se agitó a 40 °C por 2 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, la reacción se extinguió con NaOH al 10% (20 ml) y se extrajo con DCM (500 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 3:1) para proveer el Intermediario 80 (6.44 g, 8.06 mmol, 87.83% de rendimiento) como un sólido café claro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 8.24-8.22 (m, 1H), 7.72-7.65 (m, 3H), 7.33 (s, 4H), 7.22-7.19 (m, 16H), 7.42-7.34 (m, 2H), 3.95-3.89 (m, 1H), 3.06-3.04 (m, 1H), 3.02-2.95 (m, 1H), 2.05 (s, 1H), 1.03 (s, 9H).

Intermediario 81: ter-butil N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-1-[2-(hidroximetil)alil]-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-N-(2-nitrofenil)sulfonyl-carbamato.

30 A una solución del Intermediario 80 (6.44 g, 8.06 mmol, 1 eq.) y K₂CO₃ (3.34 g, 24.18 mmol, 3 eq.), en DMF (60 ml), se adicionó 2-(bromometil)prop-2-en-1-ol (1.83 g, 12.09 mmol, 1.5 eq.) a 25 °C, y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, la reacción se extinguió con H₂O (50 ml) y se extrajo con DCM (100 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró

para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 2:1) para proveer el Intermediario 81 (5.52 g, 78.83% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 8.20 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.72-7.67 (m, 3H), 7.42-7.40 (m, 2H), 7.30-7.26 (m, 2H), 7.18-7.16 (m, 10H), 7.08-7.07 (m, 7H), 4.80 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.06-3.98 (m, 3H), 3.84 (m, 1H), 3.65-3.62 (m, 2H), 3.55-3.51 (m, 2H), 3.03-3.00 (m, 2H), 1.30 (s, 9H).

Intermediario 82: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-1-[2-(hidroximetil)alil]-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución del Intermediario 81 (5.00 g, 5.75 mmol, 1 eq.), en MeOH (50 ml), se adicionó K₂CO₃ (3.97 g, 28.75 mmol, 5 eq.), y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C por 3 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, la reacción se extinguió con H₂O (100 ml) y se extrajo con DCM (300 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 82 (2.50 g, 3.25 mmol, 56.56% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.82-7.78 (m, 2H), 7.71-7.69 (m, 1H), 7.18-7.13 (m, 18H), 5.10 (s, 1H), 5.01-4.97 (m, 2H), 4.12-4.07 (m, 2H), 3.70-3.58 (m, 3H), 3.34-3.23 (m, 1H), 3.07-3.06 (m, 1H), 2.93-2.89 (m, 2H).

Intermediario 83: N-alil-N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-1-[2-(hidroximetil)alil]-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución del Intermediario 82 (2.50 g, 3.25 mmol, 1 eq.), en DMF (1.00 ml), se adicionó 3-bromoprop-1-eno (590.18 mg, 4.88 mmol, 1.5 eq.) y K₂CO₃ (1.35 g, 9.76 mmol, 3 eq.) a 25 °C, y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, la reacción se extinguió con H₂O (100 ml) y se extrajo con DCM (500 ml) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 83 (2.62 g, 99.68% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 8.02 (s, 1H), 7.66-7.53 (m, 1H), 7.37-7.35 (m, 3H), 7.15-7.11 (m, 19H), 5.43-5.36 (m, 1H), 5.00-4.98 (m, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.80-4.76 (m, 2H), 4.04- (s, 2H), 3.82-3.79 (m, 2H), 3.52-3.32 (m, 3H), 3.16 (m, 1H), 3.06-3.02 (m, 2H), 2.96-2.88 (m, 2H).

Intermediario 84: [(3E,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-3-il]metanol.

A una solución del Intermediario 83 (2.20 g, 2.72 mmol, 1 eq.), en DCM (20 ml), se adicionó [1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)imidazolidin-2-iliden]-dicloro-[(2-isopropoxifenil)metil]rutenio (Hoyveda-Grubbs 2nd Generation Catalyst) (426.12 mg, 680.04 μmol, 0.25 eq.), y la mezcla de reacción se agitó a 40 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 84 (2.12 g, 100.00% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.89-7.87 (m, 1H), 7.70-7.61 (m, 3H), 7.26-7.22 (m, 17H), 7.11-7.08 (m, 2H), 5.68-5.64 (m, 1H), 4.15-4.05 (m, 1H), 3.99-3.64 (m, 2H), 3.53-3.52 (m, 1H), 3.31-3.22 (m, 2H), 3.12-3.09 (m, 2H), 2.85-2.84 (m, 1H), 2.17 (s, 1H).

Intermediario 85: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metanol.

A una solución del Intermediario 84 (750.00 mg, 960.65 μmol, 1 eq.) y Et₃N (1.94 g, 19.21 mmol, 2.66 ml, 20 eq.), en THF (15 ml), se adicionó 2-nitrobencenosulfonohidracida (2.09 g, 9.61 mmol, 10 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a 40 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, la reacción se extinguió con H₂O (3 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 2) para proveer la capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 85 (1.50 g, 100.00% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.76-7.74 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.65-7.55 (m, 4H), 7.26-7.22 (m, 19H), 7.10-7.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.75-3.61 (m, 6H), 3.26-3.22 (m, 1H), 3.16-3.12 (m, 1H), 3.00-2.99 (m, 2H), 2.89-2.87 (m, 2H), 2.72-2.69 (m, 1H), 2.17 (s, 1H), 1.97-1.90 (m, 3H), 1.40-1.26 (m, 2H).

Intermediario 86: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución del Intermediario 85 (1.49 g, 1.90 mmol, 1 eq.), Et₃N (576.78 mg, 5.70 mmol, 3 eq.) y DMAP (23.21 mg, 190.00 μmol, 0.1 eq.), en DCM (15 ml) a 0 °C, se adicionó anhídrido acético (387.94 mg, 3.80 mmol, 355.91 μl, 2 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 3 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió con H₂O (10 ml) y se extrajo con DCM (30 ml * 2) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 86 (1.51 g, 96.32% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.80-7.76 (m, 1H), 7.61-7.56 (m, 3H), 7.27-7.22 (m, 15H), 7.13-7.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.01-3.99 (m, 2H), 3.69-3.63 (m, 4H), 3.22-3.12 (m, 3H), 2.94-2.88 (m, 2H), 2.62-2.61 (m, 1H), 2.20-2.05 (m, 1H), 1.92 (s, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.32-1.27 (m, 1H).

Intermediario 87: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución del Intermediario 86 (1.51 g, 1.83 mmol, 1 eq.) y bencenotiol (302.57 mg, 2.75 mmol, 280.16 µl, 1.5 eq.), en acetonitrilo (15 ml), se adicionó Cs₂CO₃ (1.19 g, 3.66 mmol, 2 eq.) por goteo a 25 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió con H₂O (10 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 3) para proveer la capa orgánica. El orgánico se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (diclorometano:metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 87 (1.09 g, sin purificar) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para C₃₇H₃₉BrN₂O₃ [M + H]⁺ 639.21, encontrado 639.1.

Intermediario 88: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución del Intermediario 87 y Et₃N (344.05 mg, 3.40 mmol, 2 eq.), en DCM (10 ml), se adicionó 1-isocianato-4-metoxi-benceno (278.91 mg, 1.87 mmol, 1.1 eq.) por goteo a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 3 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió con H₂O (20 ml) y se extrajo con DCM (50 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 87 (1.10 g, 81.76% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.30-7.23 (m, 20H), 6.84-6.82 (m, 2H), 6.09 (s, 1H), 4.07-4.03 (m, 1H), 3.79-3.78 (m, 3H), 3.72 (m, 1H), 3.62-3.55 (m, 3H), 3.19-3.17 (m, 1H), 3.00-2.94 (m, 2H), 2.55-2.54 (m, 1H), 2.52-2.50 (m, 1H), 2.00 (s, 1H), 1.87 (s, 3H), 1.86-1.77 (m, 1H).

Intermediario 89: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 88 (750.00 mg, 950.85 µmol, 1 eq.), en MeOH (7 ml), se adicionó K₂CO₃ (394.25 mg, 2.85 mmol, 3 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se filtró para proveer el filtrado y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 88 (757.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.29-7.23 (m, 24H), 7.09-7.07 (m, 1H), 6.84-6.81 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.66-3.63 (m, 2H), 3.62 (m, 4H), 3.15-3.07 (m, 1H), 2.82-2.79 (m, 1H), 2.66-2.64 (m, 1H), 1.77 (s, 1H), 1.28-1.25 (s, 2H).

Intermediario 90: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 89 (757.00 mg, 1.01 mmol, 1 eq.), isoindolin-1,3-diona (164.07 mg, 1.12 mmol, 1.1 eq.) y PPh₃ (398.85 mg, 1.52 mmol, 1.5 eq.), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (307.49 mg, 1.52 mmol, 1.5 eq.) por goteo a 25 °C bajo N₂. La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 90 (1.13 g, sin purificar) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.70-7.68 (m, 3H), 7.68-7.65 (m, 8H), 7.49-7.47 (m, 3H), 7.22-7.17 (m, 3H), 6.74-6.72 (m, 2H), 5.99 (s, 1H), 3.84-3.77 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.64-3.60 (m, 4H), 3.54-3.50 (m, 3H), 3.16 (s, 1H), 3.05 (s, 1H), 2.94 (s, 1H), 2.64-2.62 (m, 1H), 1.88 (s, 1H).

Intermediario 91: (8R,9R,10S)-3-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 90 (1.13 g, 1.29 mmol, 1 eq.), en EtOH (2 ml), se adicionó NH₂NH₂·H₂O (98.86 mg, 1.94 mmol, 98% de pureza, 1.5 eq.) por goteo. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 1 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (2 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 91 (586.00 mg, 60.91% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.21-7.14 (m, 20H), 7.12-7.09 (m, 3H), 6.81-6.78 (m, 2H), 3.76-3.70 (m, 5H), 3.59-3.51 (m, 5H), 3.17-3.14 (m, 1H), 3.00-2.99 (m, 1H), 2.77-2.72 (m, 1H), 2.68-2.46 (m, 3H), 1.91 (m, 2H), 1.69 (s, 1H), 1.63 (s, 1H).

Intermediario 92: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 91 (586.00 mg, 785.80 µmol, 1 eq.), en DCM (6 ml), se adicionó HCHO (637.77 mg, 7.86 mmol, 585.11 µl, 10 eq.) y MgSO₄ (945.86 mg, 7.86 mmol, 10 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 0.5 h. A la mezcla se adicionó CH₃COOH (47.19 mg, 785.80 µmol, 1 eq.) y NaBH(OAc)₃ (832.71 mg, 3.93 mmol, 5 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 1.5 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 3) para proveer una capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 92 (370.00 mg, 60.85%

de rendimiento) como un sólido café claro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.34-7.29 (m, 2H), 7.76-7.22 (m, 10H), 7.14-7.12 (m, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.83-6.79 (m, 2H), 3.76-3.67 (m, 4H), 3.63-3.60 (m, 4H), 3.15-3.14 (m, 1H), 2.97-2.96 (m, 1H), 2.73-2.64 (m, 3H), 2.73-2.65 (m, 1H), 2.02-1.88 (m, 3H).

Intermediario 93: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-[(dimetilamino)metil]-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución agitada del Intermediario 92 (370.00 mg, 478.16 μmol, 1 eq.), en DCM (1 ml), se adicionó TFA (545.20 mg, 4.78 mmol, 10 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por NaHCO₃ (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 8:1) para proveer (172.00 mg, 67.68% de rendimiento) como un sólido café claro.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.44 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.28-7.25 (m, 3H), 6.84 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.78-3.73 (m, 4H), 3.70-3.61 (m, 1H), 3.60-3.56 (m, 4H), 3.51-3.39 (m, 1H), 3.23-3.14 (m, 1H), 2.89-2.63 (m, 1H), 2.29 (m, 6H), 2.17-2.12 (m, 1H), 1.89 (s, 2H), 1.64-1.61 (m, 1H).

Intermediario 94: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-3-[(dimetilamino)metil]-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 93 (172.00 mg, 323.62 μmol, 1 eq.), isoindolin-1,3-diona (52.38 mg, 355.98 μmol, 1.1 eq.) y PPh₃ (127.32 mg, 485.43 μmol, 1.5 eq.), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (98.16 mg, 485.43 μmol, 1.5 eq.) por goteo a 25 °C bajo N₂. La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (diclorometano:metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 94 (152.00 mg, 71.10% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.81 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.26-7.23 (m, 3H), 6.82 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.92-3.89 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.70-3.68 (m, 2H), 3.66-3.64 (m, 2H), 3.57-3.53 (m, 4H), 2.79 (m, 1H), 2.67-2.61 (m, 1H), 2.39-2.38 (m, 1H), 2.36 (m, 3H), 2.16-1.99 (m, 1H), 1.26 (s, 1H).

Intermediario 95: (8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-3-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 94 (152.00 mg, 230.09 μmol, 1 eq.), en EtOH (2 ml), se adicionó NH₂NH₂·H₂O (17.63 mg, 345.14 μmol, 17.12 μl, 98% de pureza, 1.5 eq.) por goteo. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 1 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (2 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 5:1) para proveer el Intermediario 95 (80.00 mg, 65.54% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para C₂₆H₃₆BrN₅O₂ [M + H]⁺ 530.21, encontrado 530.1.

Intermediario 96: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-3,10-bis[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

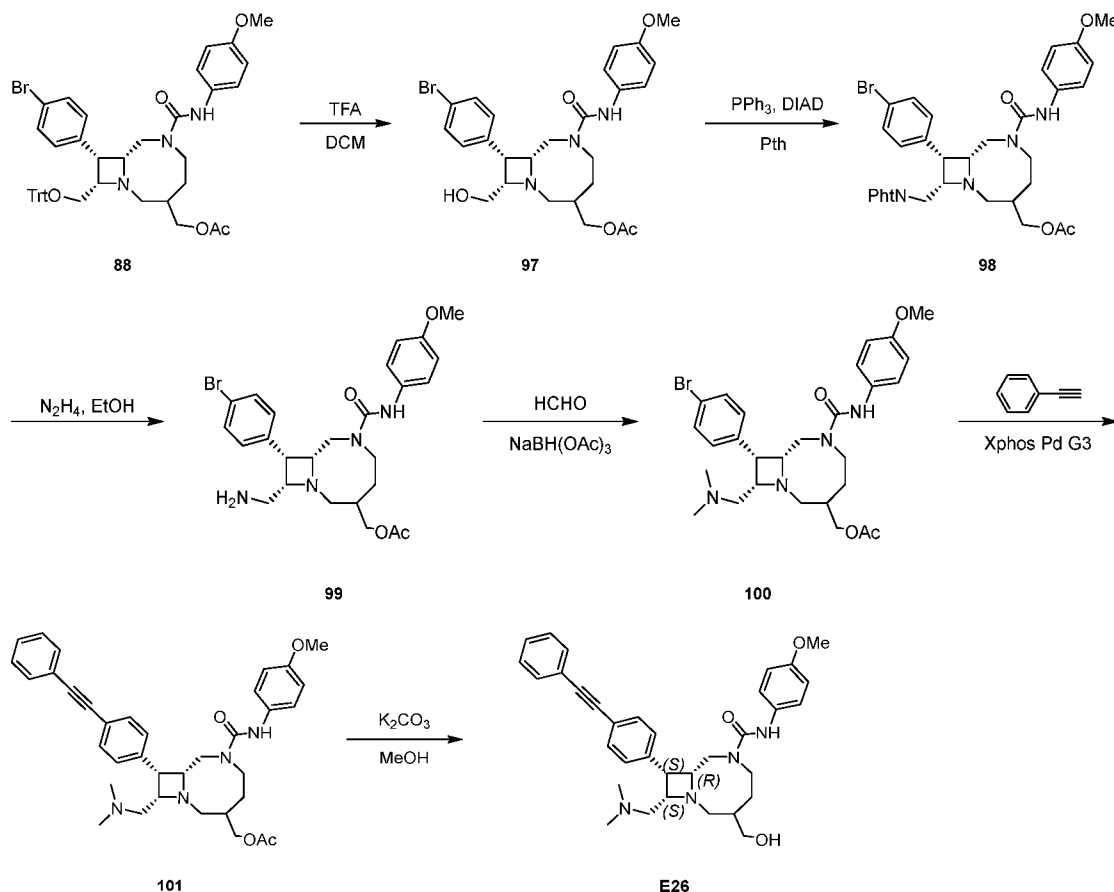
A una solución agitada del Intermediario 95 (120.00 mg, 226.20 μmol, 1 eq.), en DCM (2 ml), se adicionó HCHO (183.43 mg, 2.26 mmol, 168.28 μl, 10 eq.) y MgSO₄ (272.28 mg, 2.26 mmol, 10 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 0.5 h. A la mezcla se adicionó CH₃COOH (13.58 mg, 226.20 μmol, 1 eq.) y NaBH(OAc)₃ (239.71 mg, 1.13 mmol, 5 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 1.5 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 3) para proveer una capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 2:1) para proveer (100.00 mg, 79.15% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ7.46 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H), 6.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.12 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.61-3.59 (m, 2H), 3.57-3.55 (m, 2H), 3.41-3.39 (m, 2H), 2.78-2.75 (m, 1H), 2.42-2.38 (m, 1H), 2.28-2.26 (m, 2H), 2.16 (s, 6H), 2.00 (m, 1H), 1.76 (m, 1H).

Síntesis de E25: (8R,9S,10S)-3,10-bis[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E25).

A una solución del Intermediario 96 (50.00 mg, 89.52 μmol, 1 eq.) y etinilbenceno (27.43 mg, 268.55 μmol, 29.49 μl, 3 eq.), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (7.58 mg, 8.95 μmol, 0.1 eq.) y Cs₂CO₃ (58.33 mg, 179.04 μmol, 2 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 2 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5μ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo), para proveer el Ejemplo 25 (10.00 mg, 17.25 μmol, 19.27% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para C₃₆H₄₅N₅O₂ [M + H]⁺ 580.36, encontrado 580.5. ¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ7.56-7.51 (m, 6H), 7.38-7.37 (m, 2H), 7.37 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.02-3.98 (m, 2H), 3.853-3.82 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.54-3.51

(m, 1H), 2.99-2.91 (m, 3H), 2.87 (m, 1H), 2.71 (s, 6H), 2.44 (s, 6H), 2.02 (m, 2H), 1.84-1.81 (m, 1H).

Ejemplo 26: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E26")



Intermediario 97: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución agitada del Intermediario 88 (180.00 mg, 228.20 μ mol, 1 eq.), en DCM (3.6 ml), se adicionó TFA (2.28 mmol, 168.96 μ l, 10 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió con NaHCO₃ saturado (10 ml) y se extrajo con DCM (50 ml * 3) para proveer una capa orgánica, y la capa se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 97 (300.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.47-7.45 (m, 1H), 7.38-7.32 (m, 2H), 7.26-7.22 (m, 3H), 6.84-6.82 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.08 (s, 1H), 4.24-4.20 (m, 1H), 4.11-4.07 (m, 1H), 3.80-3.77 (m, 4H), 3.65 (s, 4H), 3.55-3.54 (m, 2H), 3.48-3.43 (m, 1H), 2.97 (s, 1H), 2.83 (s, 1H), 2.08-2.03 (m, 4H), 1.96-1.94 (m, 1H), 1.86-1.84 (m, 1H).

Intermediario 98: acetato de [(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución del Intermediario 97 (300.00 mg, 549.00 μ mol, 1 eq.), isoindolin-1,3-diona (88.85 mg, 603.90 μ mol, 1.1 eq.) y PPh₃ (216.00 mg, 823.50 μ mol, 1.5 eq.), en THF (2 ml), se adicionó DIAD (166.52 mg, 823.50 μ mol, 1.5 eq.) por goteo a 25 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (éter de petróleo:acetato de etilo = 1:1) para proveer el Intermediario 98 (458.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.80-7.70 (m, 2H), 7.68-7.65 (m, 12H), 7.49-7.46 (m, 19H), 7.46-7.44 (m, 3H), 6.85-6.80 (m, 3H), 6.06 (s, 1H), 4.12-4.06 (m, 2H), 3.84-3.77 (m, 1H), 3.67-3.65 (m, 4H), 3.59-3.55 (m, 5H), 2.87-2.83 (m, 2H), 2.46-2.42 (m, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.30-1.26 (m, 3H).

Intermediario 99: acetato de [(8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución del Intermediario 98 (458.00 mg, 677.95 μ mol, 1 eq.), en EtOH (2 ml), se adicionó NH₂NH₂·H₂O (51.95 mg, 1.02 mmol, 98% de pureza, 1.5 eq.) por goteo. La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 1 h. La

LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (2 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 99 (180.00 mg, 48.67% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.47-7.45 (m, 3H), 7.38-7.34 (m, 2H), 7.24-7.22 (m, 2H), 6.84-6.81 (m, 2H), 6.07 (s, 1H), 4.20-4.18 (m, 1H), 4.10-4.09 (m, 1H), 3.77-3.62 (m, 5H), 3.60-3.57 (m, 3H), 3.45-3.33 (m, 2H), 3.35-3.32 (m, 2H), 2.95-2.92 (m, 1H), 2.77-2.76 (m, 2H), 2.55-2.54 (m, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.94-1.74 (m, 2H), 1.27-1.24 (m, 2H).

Intermediario 100: acetato de [(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución agitada del Intermediario 99 (180.00 mg, 329.99 μmol, 1 eq.), en DCM (2 ml), se adicionó HCHO (267.83 mg, 3.30 mmol, 245.71 μl, 10 eq.) y MgSO₄ (397.21 mg, 3.30 mmol, 10 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 0.5 h. A la mezcla se adicionó CH₃COOH (19.82 mg, 329.99 μmol, 1 eq.) y NaBH(OAc)₃ (349.69 mg, 1.65 mmol, 5 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 1.5 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (20 ml * 3) para proveer una capa orgánica. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (diclorometano:metanol = 12:1) para proveer el Intermediario 100 (134.00 mg, 70.80% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ 7.49-7.47 (m, 2H), 7.35-7.26 (m, 2H), 7.24-7.22 (m, 2H), 6.84-6.81 (m, 2H), 6.08 (s, 1H), 4.23-4.19 (m, 1H), 3.77 (s, 4H), 3.73-3.58 (m, 4H), 3.60-3.58 (m, 1H), 2.98-2.93 (m, 1H), 2.95-2.93 (m, 1H), 2.76 (m, 2H), 2.56-2.51 (m, 2H), 2.05 (s, 6H), 1.92-1.88 (m, 2H).

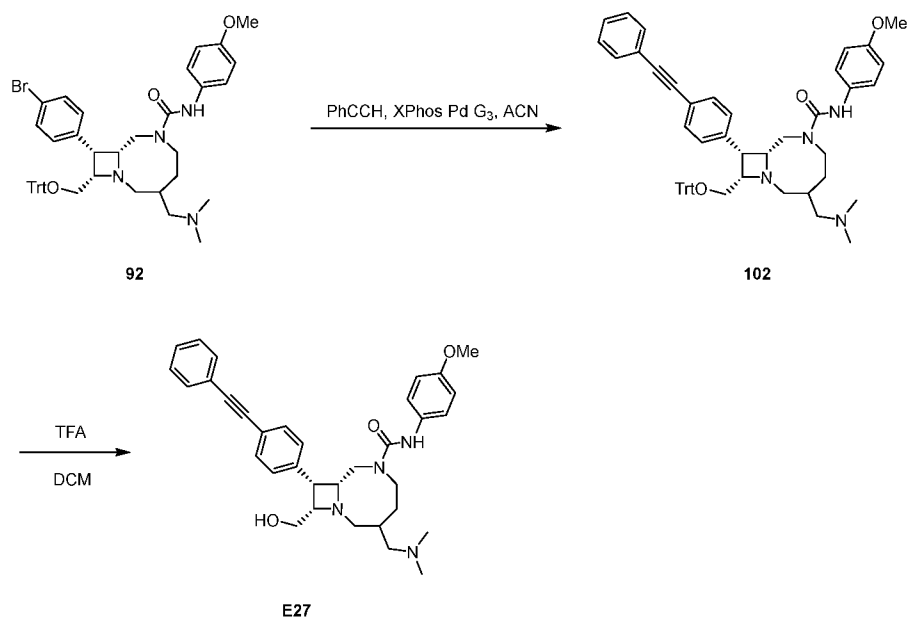
Intermediario 101: acetato de [(8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]metilo.

A una solución del Intermediario 100 (60.00 mg, 104.62 μmol, 1 eq.) y etinilbenceno (32.05 mg, 313.85 μmol, 34.47 μl, 3 eq.), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (8.86 mg, 10.46 μmol, 0.1 eq.) y Cs₂CO₃ (68.17 mg, 209.23 μmol, 2 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 2 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (diclorometano:metanol = 7:1) para proveer el Intermediario 101 (42.00 mg, 67.50% de rendimiento) como un sólido café. HRMS (ESI): calc. para C₃₆H₄₂N₄O₄ [M + H]⁺ 595.32, encontrado 565.2.

Síntesis de E26: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-3-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E26).

A una solución del Intermediario 101 (42.00 mg, 70.62 μmol, 1 eq.), en MeOH (2 ml), se adicionó K₂CO₃ (29.28 mg, 211.86 μmol, 3 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por H₂O (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo), para proveer el compuesto E26 (10.80 mg, 27.67% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para C₃₄H₄₀N₄O₃ [M + H]⁺ 553.31, encontrado 553.4. ¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ 7.57-7.51 (m, 6H), 7.39-7.38 (m, 3H), 6.85-6.83 (m, 2H), 3.91-3.82 (m, 1H), 3.76-3.71 (m, 1H), 3.71-3.69 (m, 4H), 3.76 (m, 2H), 3.03-2.94 (m, 3H), 2.59-2.47 (m, 4H), 1.95-1.92 (m, 1H), 1.91-1.82 (m, 2H).

Ejemplo 27: (8R,9R,10S)-3-[(dimetilamino)metil]-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E27")



Intermediario 102: (8R,9R,10S)-3-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-10-(tritiloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

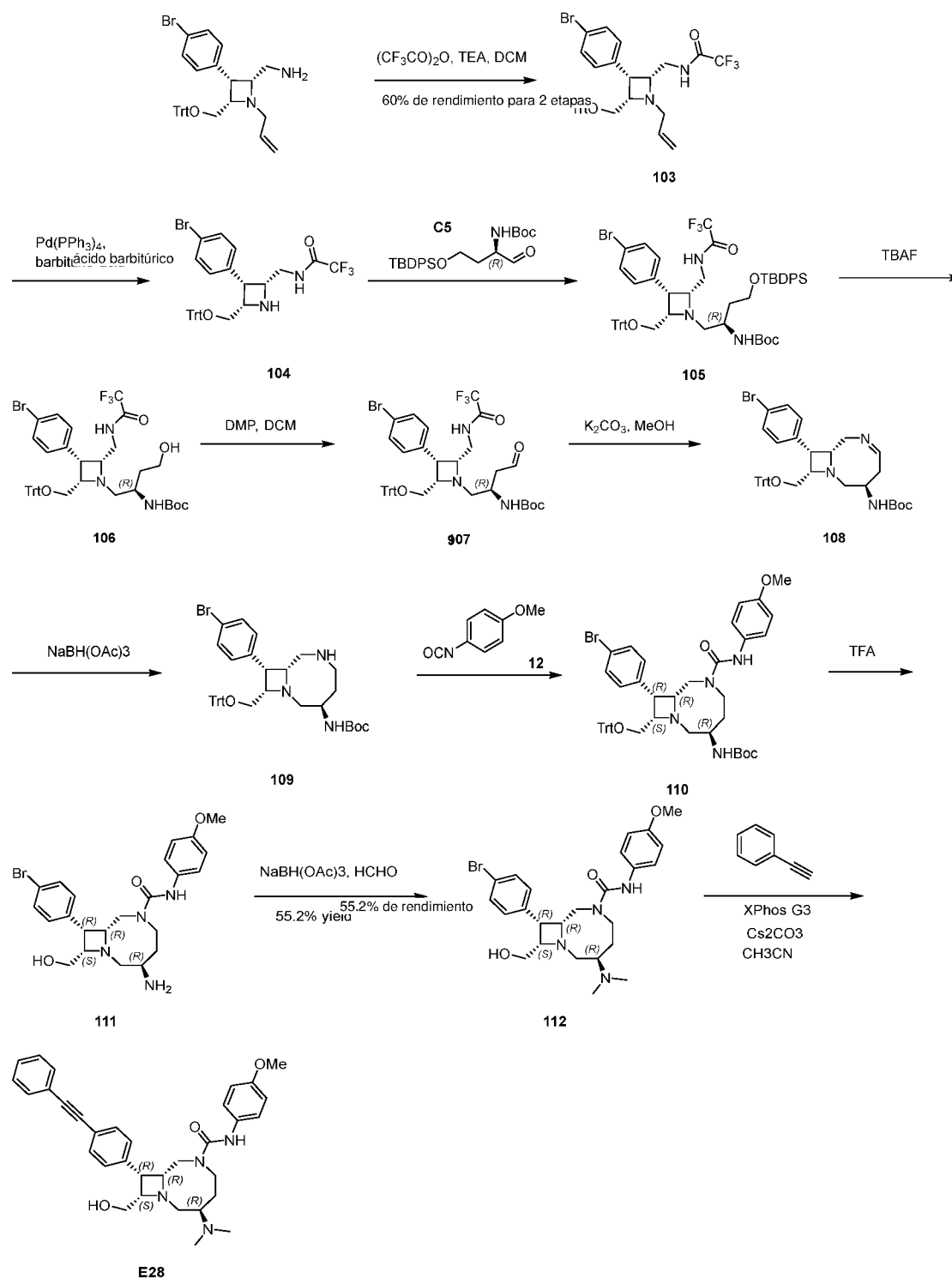
A una solución del Intermediario 92 (30.00 mg, 38.77 μmol , 1 eq.) y etinilbenceno (11.88 mg, 116.31 μmol , 12.77 μl , 3 eq.), en acetonitrilo (1 ml), se adicionó XPhos Pd G3 (3.28 mg, 3.88 μmol , 0.1 eq.) y Cs_2CO_3 (25.26 mg, 77.54 μmol , 2 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 70 °C por 2 h. La LCMS mostró que la reacción se completó, y la mezcla de reacción se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por TLC previa (diclorometano:metanol = 7:1) para proveer el Intermediario 102 (50.00 mg, sin purificar) como un sólido café. HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{53}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 795.42, encontrado 795.4.

Síntesis de E27: (8R,9R,10S)-3-[(dimetilamino)metil]-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E27).

A una solución agitada del Intermediario 102 (50.00 mg, 62.89 μmol , 1 eq.), en DCM (1 ml), se adicionó TFA (71.71 mg, 628.91 μmol , 46.56 μl , 10.00 eq.). La mezcla de reacción resultante se agitó a 25 °C por 12 h. La LCMS mostró que la reacción estaba completa, y la mezcla de reacción se extinguió por NaHCO_3 (5 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 3) para proveer la capa orgánica. La capa se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proveer el residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo), para proveer el compuesto E27 (4.70 mg, 13.52% de rendimiento) como un sólido blanco. HRMS (ESI): calc. para $\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 553.29, encontrado 553.4.

^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 7.544-7.51 (m, 6H), 7.39-7.37 (m, 3H), 7.34-7.22 (m, 2H), 6.86-6.81 (m, 2H), 4.02-3.99 (m, 1H), 3.76-3.72 (m, 4H), 3.70-3.66 (m, 1H), 3.41-3.40 (m, 1H), 3.38-3.35 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 2.85-2.75 (m, 1H), 2.16-2.09 (m, 2H), 1.81-1.77 (m, 1H).

Ejemplo 28: (3R,8R,9R,10S)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E28")



Intermediario 103: N-[[[(2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metil]-2,2,2-trifluoro-acetamida.

A una solución de [(2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidin-2-il]metanamina (J.O.C. (2012), 77(17), 7187-7211) (25.00 g, 31.62 mmol, 1.00 eq.), en DCM (250.00 ml), se adicionó TEA (25.59 g, 252.92 mmol, 35.06 ml, 8.00 eq.), y luego se enfrió a 0 °C. Se adicionó TFAA (26.56 g, 126.46 mmol, 17.59 ml, 4.00 eq.) a la mezcla de reacción por goteo. Después de agitar a 20 °C por 16 h, la mezcla de reacción se extinguió por solución de NaHCO₃ (100 ml), se extrajo con DCM (50 ml x 3), y la capa orgánica combinada se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 1:1), produciendo el

Intermediario 103 (11.00 g, 16.94 mmol, 53.56% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.87 - 3.08 (m, 2 H) 3.09 - 3.24 (m, 2 H) 3.30 - 3.51 (m, 3 H) 3.57 - 3.69 (m, 2 H) 5.10 (br d, *J*=10.14 Hz, 1 H) 5.18 - 5.33 (m, 1 H) 5.80 (dddd, *J*=17.28, 10.01, 7.44, 5.40 Hz, 1 H) 6.11 (br s, 1 H) 7.17 - 7.23 (m, 16 H) 7.33 (d, *J*=8.38 Hz, 2 H)

5 **Intermediario 104:** N-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-(tritoloximetil)azetidín-2-il]metil]-2,2,2-trifluoro-acetamida.

A una solución del Intermediario 103 (11.00 g, 16.94 mmol, 1.00 eq.), en EtOH (169.00 ml), se adicionó ácido 1,3-dimetilbarbitúrico (3.97 g, 25.41 mmol, 1.50 eq.) y Pd(PPh₃)₄ (1.96 g, 1.69 mmol, 0.10 eq.) bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 40 °C por 16 h. La mezcla de reacción se extinguió por solución de NaHCO₃ (200 ml), se extrajo con DCM (50 ml x 3), y la capa orgánica combinada se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 5:1), produciendo el Intermediario 104 (7.80 g, 12.80 mmol, 75.55% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.26 (br s, 1 H) 2.20 - 2.31 (m, 1 H) 2.99 - 3.07 (m, 1 H) 3.10 - 3.23 (m, 2 H) 3.30 - 3.39 (m, 1 H) 3.76 (br t, *J*=7.28 Hz, 1 H) 4.27 - 4.49 (m, 2 H) 6.10 (br s, 1 H) 7.17 - 7.24 (m, 16 H) 7.32 - 7.38 (m, 2 H)

15 **Intermediario 105:** ter-butil N-[(1R)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[(2,2,2-trifluoroacetil)amino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidín-1-il]metil]-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-propil]carbamato.

A una solución del Intermediario 104 (4.00 g, 6.56 mmol, 1.00 eq.), ter-butil N-[(1R)-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-1-formil-propil]carbamato (sintetizado como se describe en Bioorganic & Medicinal Chemistry (2006), 14(1), 214-236, incorporado por la presente por su referencia en su totalidad) (2.90 g, 6.56 mmol, 1.00 eq.), en DCM (50.00 ml), se adicionó MgSO₄ (158.00 mg, 1.31 mmol, 20.00 eq.) y NaBH(OAc)₃ (139.10 mg, 656.30 μmol, 10.00 eq.). Después de agitar a 20 °C por 16 h, se adicionó más ter-butil N-[(1R)-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-1-formil-propil]carbamato (1 g). Después de 0.5 h más, la mezcla de reacción se extinguió por solución de NaHCO₃ (200 ml), se extrajo con DCM (50 ml x 3), y la capa orgánica combinada se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 10:1), para proveer el Intermediario 105 (4.20 g, 4.06 mmol, 61.85% de rendimiento) como una goma amarilla. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.01 - 1.05 (m, 9 H) 1.41 - 1.47 (m, 10 H) 1.63 - 1.78 (m, 1 H) 1.82 - 1.92 (m, 1 H) 2.65 - 2.76 (m, 1 H) 2.82 - 3.01 (m, 2 H) 3.13 (br dd, *J*=9.60, 6.09 Hz, 1 H) 3.29 - 3.79 (m, 7 H) 4.67 (br d, *J*=9.29 Hz, 1 H) 7.11 - 7.25 (m, 17 H) 7.31 - 7.50 (m, 8 H) 7.63 (td, *J*=7.37, 1.44 Hz, 4 H) 8.40 - 8.73 (m, 1 H)

25 **Intermediario 106:** ter-butil N-[(1R)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[(2,2,2-trifluoroacetil)amino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidín-1-il]metil]-3-hidroxi-propil]carbamato.

30 A una solución del Intermediario 105 (4.20 g, 4.06 mmol, 1.00 eq.), en THF (50.00 ml), se adicionó TBAF (1.59 g, 6.09 mmol, 1.50 eq.). Después de agitar a 20 °C por 16 horas, la mezcla de reacción se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 2:1), para proveer el Intermediario 106 (2.30 g, 2.89 mmol, 71.23% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.41 (s, 3 H) 1.45 - 1.53 (m, 9 H) 1.58 - 1.77 (m, 2 H) 2.49 (br dd, *J*=12.74, 4.33 Hz, 2 H) 2.82 (t, *J*=12.17 Hz, 1 H) 2.88 - 2.98 (m, 2 H) 3.08 - 3.29 (m, 3 H) 3.47 (td, *J*=7.87, 3.20 Hz, 1 H) 3.60 - 3.72 (m, 1 H) 4.51 (br d, *J*=9.41 Hz, 1 H) 7.12 (d, *J*=8.41 Hz, 1 H) 7.09 - 7.14 (m, 1 H) 7.16 - 7.26 (m, 17 H) 7.34 (d, *J*=8.41 Hz, 1 H) 8.13 (br s, 1 H)

35 **Intermediario 107:** ter-butil N-[(1R)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-2-[(2,2,2-trifluoroacetil)amino]metil]-4-(tritoloximetil)azetidín-1-il]metil]-3-oxo-propil]carbamato.

40 A una solución del Intermediario 106 (2.30 g, 2.89 mmol, 1.00 eq.), en DCM (30.00 ml), se adicionó DMP (2.45 g, 5.78 mmol, 1.79 ml, 2.00 eq.) a 0 °C bajo N₂. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora. La LCMS mostró que el reactante 106 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, y la mezcla de reacción se extinguió por una solución de NaHCO₃ (2.5 g) y Na₂SO₃ (2.5 g) en H₂O (20 ml), se extrajo con DCM (20 ml x 3) y la capa orgánica combinada se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 2/1 a 0:1), para proveer el Intermediario 107 (1.80 g, 2.27 mmol, 78.37% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.47 (s, 9 H) 1.51 - 1.69 (m, 3 H) 2.46 - 2.54 (m, 2 H) 2.78 - 2.88 (m, 1 H) 2.89 - 3.00 (m, 2 H) 3.08 - 3.20 (m, 2 H) 3.49 - 3.69 (m, 4 H) 3.91 - 4.07 (m, 1 H) 4.50 - 4.76 (m, 1 H) 7.08 - 7.13 (m, 3 H) 7.17 - 7.26 (m, 22 H) 8.25 (br s, 1 H) 9.63 (s, 1 H)

45 **Intermediario 108:** ter-butil N-[(3R,5Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-5-en-3-il]carbamato.

50 A una solución del Intermediario 107 (1.70 g, 2.14 mmol, 1.00 eq.), en MeOH (20.00 ml) y H₂O (77.13 mg, 4.28 mmol, 77.13 μl, 2.00 eq.), se adicionó K₂CO₃ (591.32 mg, 4.28 mmol, 2.00 eq.). Después de agitar a 20 °C por 16 h, se adicionó más K₂CO₃ (200 mg). Después de 2 h más, la mezcla de reacción se disolvió en agua (30 ml), se extrajo con DCM (20 ml x 3), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y luego se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1 a 0:1), para proveer el Intermediario 108 (750.00 mg, 771.30 μmol, 45.05% de rendimiento, 70% de pureza) como un sólido amarillo.

55 **Intermediario 109:** ter-butil N-[(3R,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-

il]carbamato.

A una solución del Intermediario 108 (750.00 mg, 1.10 mmol, 1.00 eq.), en DCM (18.00 ml), se adicionó AcOH (66.17 mg, 1.10 mmol, 63.02 μ l, 1.00 eq.) y NaBH(OAc)₃ (2.34 g, 11.02 mmol, 10.00 eq.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0.5 horas. La LCMS mostró que el reactante 108 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, la mezcla de reacción se extinguió por solución de NaHCO₃ (20 ml), se extrajo con DCM (10 ml x 3), y la capa orgánica combinada se concentró para proveer el Intermediario 109 como un sólido amarillo (750 mg, sin purificar), que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Intermediario 110: ter-butil N-[(3R,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-il]carbamato.

A una solución del Intermediario 109 (750.00 mg, 769.02 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (10.00 ml), se adicionó TEA (38.91 mg, 384.51 μ mol, 53.30 μ l, 0.50 eq.) y 1-isocianato-4-metoxi-benceno (137.64 mg, 922.82 μ mol, 118.66 μ l, 1.20 eq.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 0.5 horas. La LCMS mostró que el reactante 109 se consumió completamente, y la mayoría era el producto deseado. La mezcla de reacción se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo), y además se purificó por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo). El Intermediario 110 (150.00 mg, 180.33 μ mol, 23.45% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.45 (br d, *J*=6.15 Hz, 9 H) 2.18 (br s, 2 H) 3.20 - 3.68 (m, 3 H) 3.72 - 4.51 (m, 11 H) 5.14 - 5.42 (m, 1 H) 6.78 (br s, 1 H) 6.88 (br t, *J*=7.97 Hz, 2 H) 7.22 - 7.38 (m, 20 H) 7.47 - 7.53 (m, 1 H).

Intermediario 111: (3R,8R,9R,10S)-3-amino-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 110 (120.00 mg, 144.26 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (3.00 ml), se adicionó TFA (1.54 g, 13.51 mmol, 1.00 ml, 93.63 eq.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La LCMS mostró que el reactante 110 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, y la mezcla de reacción se extinguió por solución de NaHCO₃ (20 ml), luego se lavó con NH₃.H₂O (1 ml), se extrajo con DCM (10 ml x 3), y la capa orgánica combinada se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 111 (60.00 mg, 122.60 μ mol, 84.98% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 112: (3R,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 111 (60.00 mg, 122.60 μ mol, 1.00 eq.) y HCHO (99.50 mg, 1.23 mmol, 91.28 μ l, 10.00 eq.), en DCM (3.00 ml), se adicionó MgSO₄ (147.57 mg, 1.23 mmol, 10.00 eq.) y NaBH(OAc)₃ (259.84 mg, 1.23 mmol, 10.00 eq.) a 20 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. La LCMS mostró que el reactante 111 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, y la mezcla de reacción se extinguió por solución de NaHCO₃ (10 ml), se extrajo con DCM (5 ml x 3), y la capa orgánica combinada se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para proveer el Intermediario 112 (38.00 mg, 73.44 μ mol, 59.90% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.84 - 1.99 (m, 1 H) 2.49 (br s, 6 H) 2.55 (br d, *J*=9.26 Hz, 2 H) 2.88 (br d, *J*=11.69 Hz, 1 H) 3.02 - 3.16 (m, 3 H) 3.41 (br dd, *J*=11.58, 4.52 Hz, 1 H) 3.51 - 3.61 (m, 3 H) 3.62 - 3.86 (m, 6 H) 3.98 - 4.17 (m, 1 H) 4.73 (s, 1 H) 6.78 - 6.91 (m, 2 H) 7.23 (d, *J*=8.82 Hz, 2 H) 7.34 - 7.53 (m, 4 H).

Síntesis de E28: (3R,8R,9R,10S)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E28).

A una solución del Intermediario 112 (25.00 mg, 48.31 μ mol, 1.00 eq.) y etinilbenceno (14.80 mg, 144.93 μ mol, 15.91 μ l, 3.00 eq.), en CH₃CN (350.00 μ l), se adicionó Cs₂CO₃ (47.22 mg, 144.93 μ mol, 3.00 eq.) y XPhos Pd G3 (4.09 mg, 4.83 μ mol, 0.10 eq.) bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 70 °C durante 3 horas. La LCMS mostró que el reactante 1 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, y la mezcla de reacción se disolvió en agua (2 ml), se extrajo con DCM (2 ml x 3), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1), luego se purificó además por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer el compuesto E28 (13.00 mg, 24.13 μ mol, 49.95% de rendimiento como sal de ácido fórmico) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.88 (br d, *J*=7.65 Hz, 1 H) 2.38 (s, 7 H) 2.49 (br dd, *J*=13.30, 9.29 Hz, 3 H) 2.71 (br s, 1 H) 2.79 - 2.96 (m, 1 H) 3.09 (br d, *J*=15.94 Hz, 1 H) 3.25 (br dd, *J*=13.30, 5.02 Hz, 1 H) 3.41 - 3.73 (m, 6 H) 3.78 (s, 3 H) 3.90 - 4.03 (m, 1 H) 6.84 (d, *J*=8.91 Hz, 2 H) 7.21 (d, *J*=8.91 Hz, 2 H) 7.32 - 7.40 (m, 3 H) 7.46 - 7.57 (m, 6 H).

Ejemplo 29: (3S,8R,9R,10S)-3-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E29")

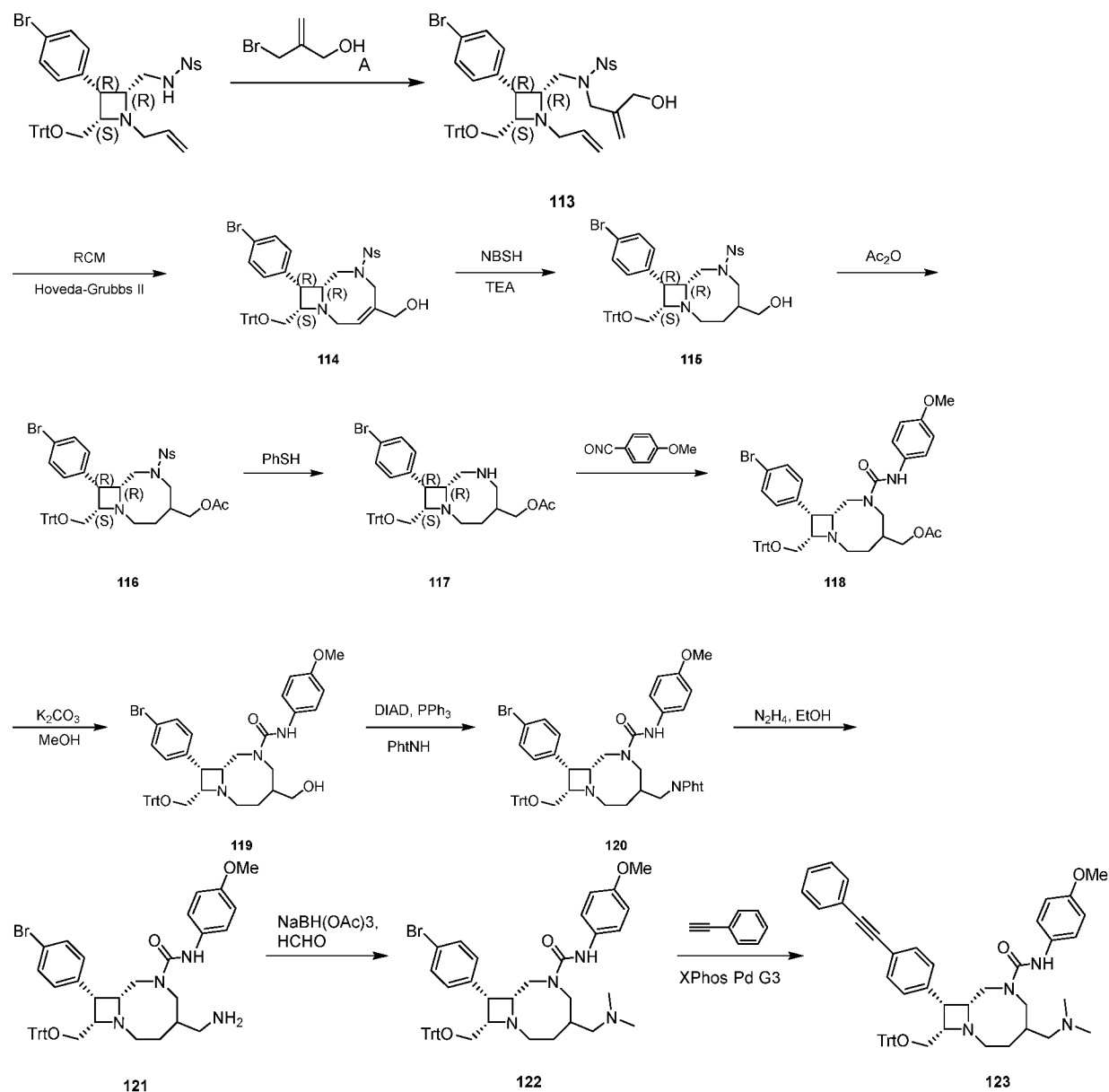
La síntesis se realizó de igual modo que el descrito en el Ejemplo 28 después de la síntesis del Intermediario 105 (Intermediario 105) al utilizar el ter-butil N-[(1S)-3-[ter-butil(difenil)silil]oxi-1-formil-propil]carbamato enantiomérico (Bioorganic & Medicinal Chemistry (2006)) en lugar del Intermediario 105. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ =

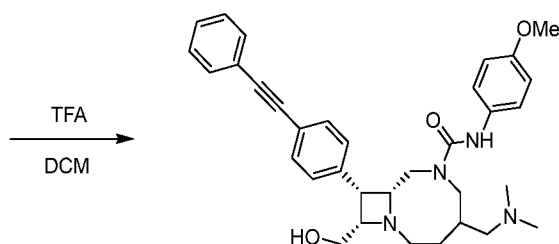
7.64 - 7.46 (m, 6H), 7.44 - 7.34 (m, 3H), 7.33 - 7.29 (m, 1H), 7.29 - 7.25 (m, 2H), 6.85 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.29 (br s, 1H), 3.86 (br d, $J=10.8$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.72 - 3.65 (m, 1H), 3.65 - 3.54 (m, 4H), 3.21 - 3.11 (m, 1H), 2.99 - 2.87 (m, 1H), 2.72 - 2.60 (m, 2H), 2.37 (s, 6H), 2.15 (br s, 1H), 2.01 (br d, $J=7.9$ Hz, 1H).

Ejemplo 30: (4R,8R,9R,10S)-4-(dimetilamino)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E30"), que no forma parte de la presente invención.

La síntesis se realizó como se muestra en el Ejemplo 3 al utilizar el (*R*)-*ter*-butil (1-((*ter*-butildifenilsilil)oxi)-4-oxobutan-2-il)carbamato enantiomérico (US 20150266867) como el material de inicio. ^1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ = 7.59 - 7.54 (m, 2H), 7.52 - 7.45 (m, 4H), 7.41 - 7.30 (m, 5H), 6.89 - 6.80 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.77 - 3.58 (m, 5H), 3.57 (br d, $J=8.2$ Hz, 1H), 3.51 - 3.43 (m, 2H), 3.29 (br d, $J=13.6$ Hz, 1H), 3.02 (br s, 1H), 2.67 - 2.44 (m, 2H), 2.34 (s, 6H), 1.81 (br s, 1H), 1.66 (br s, 1H).

Ejemplo 31: (8R,9R,10S)-4-((dimetilamino)metil)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E31"), que no forma parte de la presente invención.





E31

Intermediario 113: N-[[[(2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-(trifluorometil)azetidín-2-il]metil]-N-[2-(hidroximetil)alil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución de N-[[[(2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-(trifluorometil)azetidín-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida (WO2015070204) (5.00 g, 6.77 mmol, 1.00 eq.), en DMF (62.5 ml), se adicionó K₂CO₃ (2.11 g, 15.23 mmol, 2.25 eq.) y se enfrió a 0 °C, con lo cual se adicionó 2-(bromometil)prop-2-en-1-ol (2.04 g, 13.54 mmol, 2.00 eq.) en DMF (7.5 ml). La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 horas. La LC-MS mostró que el Reactante 113 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (100 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20:1 a 2:1) para ofrecer el Intermediario 113 (5.00 g, 6.18 mmol, 91.32% de rendimiento) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 8.00 (s, 1H), 7.68 - 7.62 (m, 1H), 7.60 - 7.46 (m, 3H), 7.30 - 7.23 (m, 3H), 7.19 - 7.12 (m, 10H), 7.07 (dd, J=2.9, 6.8 Hz, 6H), 5.57 (tdd, J=6.6, 10.4, 17.0 Hz, 1H), 5.10 - 5.00 (m, 2H), 4.89 (d, J=10.1 Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 3.91 (d, J=8.8 Hz, 3H), 3.70 - 3.61 (m, 1H), 3.54 - 3.38 (m, 3H), 3.26 - 3.14 (m, 3H), 2.98 (dd, J=4.4, 9.3 Hz, 1H), 2.85 - 2.73 (m, 2H).

Intermediario 114: [(3E,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonyl-10-(trifluorometil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-4-il]metanol.

A una solución del Intermediario 113 (5.00 g, 6.18 mmol, 1.00 eq.), en DCM (500.00 ml), se adicionó Hoveyda-Grubbs Catalyst 2nd Generation (774.77 mg, 1.24 mmol, 0.20 eq.). La mezcla se agitó a 55 °C durante 2 horas. La TLC (éter de petróleo:etilacetato = 1:1) mostró que el Intermediario 113 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20:1 a 1:1) para ofrecer el Intermediario 114 (4.00 g, 5.12 mmol, 82.90% de rendimiento) como un sólido café: ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.88 - 7.83 (m, 1H), 7.64 - 7.51 (m, 3H), 7.18 (d, J=6.0 Hz, 2H), 7.13 (s, 14H), 7.06 (d, J=8.5 Hz, 2H), 5.81 (t, J=6.3 Hz, 1H), 4.07 - 4.02 (m, 3H), 3.96 - 3.88 (m, 1H), 3.59 - 3.32 (m, 6H), 3.19 (d, J=14.1 Hz, 1H), 3.09 - 2.93 (m, 3H), 2.83 - 2.79 (m, 1H).

Intermediario 115: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonyl-10-(trifluorometil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metanol.

A una solución del Intermediario 114 (4.00 g, 5.12 mmol, 1.00 eq.), en THF (51.00 ml), se adicionó 2-nitrobencenosulfonohidracida (5.56 g, 25.60 mmol, 4.00 eq.) y TEA (5.18 g, 51.23 mmol, 7.10 ml, 10.00 eq.). Después de agitar a 40 °C por 16 horas, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 1:1) para ofrecer el Intermediario 115 (3.60 g, sin purificar) como un sólido blanco.

Intermediario 116: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonyl-10-(trifluorometil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución del Intermediario 115 (3.60 g, 4.60 mmol, 1.00 eq.), en DCM (80.00 ml), se adicionó DMAP (56.19 mg, 460.00 μmol, 0.1 eq.) y TEA (465.40 mg, 4.60 mmol, 637.53 μl, 1.00 eq.), y luego Ac₂O (939.07 mg, 9.20 mmol, 861.53 μl, 2.00 eq.) a 0 °C. Después de agitar a 20 °C por 2 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ sat. acuoso (150 ml) y se extrajo con DCM (50 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 30/1 a 1:1) para ofrecer el Intermediario 116 (3.00 g, 3.64 mmol, 79.07% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 117: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(trifluorometil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución del Intermediario 116 (3.00 g, 3.64 mmol, 1.00 eq.), en acetonitrilo (80.00 ml), se adicionó Cs₂CO₃ (1.42 g, 4.37 mmol, 1.20 eq.) y bencenotiol ("PhSH") (601.14 mg, 5.46 mmol, 1.50 eq.) a 0 °C. Después de agitar a 20 °C por 16 h, la mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (50 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron.

y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1 a 1:1) para ofrecer el Intermediario 117 (2.00 g, 3.13 mmol, 85.90% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 118: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución del Intermediario 117 (2.00 g, 3.13 mmol, 1.00 eq.), en DCM (50.00 ml), se adicionó 1-isocianato-4-metoxi-benceno (560.21 mg, 3.76 mmol, 1.20 eq.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15 °C por 2 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 117 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (100 ml) y se extrajo con DCM (30 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 100:1 a 20:1) para ofrecer el Intermediario 118 (2.20 g, 2.79 mmol, 89.11% de rendimiento) como un sólido blanco: 1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.28 - 7.16 (m, 23H), 6.83 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.01 - 3.95 (m, 1H), 3.92 - 3.85 (m, 1H), 3.80 - 3.73 (m, 5H), 3.63 - 3.54 (m, 2H), 3.42 (t, J=8.0 Hz, 1H), 3.20 - 2.90 (m, 5H), 2.74 (dd, J=11.0, 14.1 Hz, 1H), 2.50 - 2.40 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.66 (dd, J=6.8, 13.8 Hz, 1H), 1.53 - 1.45 (m, 1H).

Intermediario 119: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-4-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 118 (200.00 mg, 253.56 μmol, 1.00 eq.), en DCM (1.00 ml) y MeOH (1 ml), se adicionó K₂CO₃ (175.22 mg, 1.27 mmol, 5.00 eq.). La mezcla se agitó a 15 °C por 4 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 118 se consumió completamente y se detectó un pico principal con la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (10 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1 a 1:1) para ofrecer el Intermediario 119 (150.00 mg, 200.88 μmol, 79.22% de rendimiento) como un sólido blanco. 1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.37 (d, J=8.5 Hz, 2H), 7.27 (s, 4H), 7.22 (s, 15H), 6.80 (d, J=8.5 Hz, 2H), 3.90 (d, J=16.1 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.70 - 3.57 (m, 3H), 3.43 - 3.32 (m, 2H), 3.19 - 3.07 (m, 2H), 3.05 - 2.94 (m, 2H), 2.75 (d, J=11.5 Hz, 1H), 2.47 (t, J=12.0 Hz, 1H), 1.89 (br. s., 1H), 1.52 - 1.38 (m, 2H).

Intermediario 120: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-4-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución de PPh₃ (0.15 g) en 3 ml de THF se adicionó DIAD (0.11 ml) a 0 °C. Después de 5 minutos, esta mezcla se adicionó a una solución del Intermediario 119 (20.00 mg, 26.78 μmol, 1.00 eq.) e isoindolin-1,3-diona (5.91 mg, 40.17 μmol, 1.50 eq.) en THF (1 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15 °C por 16 h. La LC-MS mostró que el Intermediario 9 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1:1) para ofrecer el Intermediario 120 (10.00 mg, 11.42 μmol, 42.63% de rendimiento) como un sólido blanco. 1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.87 (dd, J=3.0, 5.5 Hz, 1H), 7.75 (dd, J=3.3, 5.3 Hz, 2H), 7.32 - 7.28 (m, 7H), 7.27 - 7.20 (m, 15H), 6.80 (d, J=9.0 Hz, 2H), 6.17 (s, 1H), 3.83 - 3.75 (m, 3H), 3.74 - 3.56 (m, 5H), 3.52 (d, J=7.5 Hz, 1H), 3.24 - 3.12 (m, 3H), 3.03 - 2.96 (m, 1H), 2.83 - 2.74 (m, 1H), 2.45 - 2.30 (m, 2H), 1.83 (d, J=7.5 Hz, 1H).

Intermediario 121: (8R,9R,10S)-4-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 120 (500.00 mg, 570.87 μmol, 1.00 eq.), en EtOH (10.00 ml), se adicionó N₂H₄.H₂O (28.58 mg, 570.87 μmol, 27.75 μl, 1.00 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 120 se consumió y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (30 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (10 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 100:1 a 10:1) para ofrecer el Intermediario 121 (150.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo que contiene Ph₃PO. 1H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.64 - 7.56 (m, 4H), 7.51 - 7.45 (m, 3H), 7.39 (dt, J=2.8, 7.4 Hz, 5H), 7.14 (s, 13H), 6.71 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.79 - 3.62 (m, 4H), 3.56 - 3.46 (m, 2H), 3.31 (br. s., 1H), 3.11 - 2.85 (m, 5H), 2.74 (d, J=12.5 Hz, 1H), 2.44 - 2.18 (m, 2H), 1.62 - 1.39 (m, 3H).

Intermediario 122: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-4-((dimetilamino)metil)-N-(4-metoxifenil)-10-((tritoloxi)metil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 121 (150.00 mg, 201.14 μmol, 1.00 eq.), en DCM (5.00 ml), se adicionó MgSO₄ (290.53 mg, 2.41 mmol, 12.00 eq.) y HCHO (98.21 mg, 1.21 mmol, 90.10 μl, 37% de pureza, 6.02 eq.), y luego NaBH(OAc)₃ (639.44 mg, 3.02 mmol, 15.00 eq.). La mezcla se agitó a 15 °C por 16 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 121 se consumió y se detectó una MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ sat. acuoso (20 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC

preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 20:1) para ofrecer el Intermediario 122 (60.00 mg, 77.54 μmol, 38.55% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.24 - 7.08 (m, 24H), 6.72 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.88 (d, J=14.1 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.57 - 3.48 (m, 3H), 3.33 - 3.25 (m, 1H), 3.10 - 2.86 (m, 5H), 2.64 (dd, J=10.8, 14.3 Hz, 1H), 2.44 - 2.36 (m, 1H), 2.21 (s, 6H), 1.90 (d, J=12.0 Hz, 1H), 1.51 (br. s., 2H), 1.36 (d, J=4.5 Hz, 2H).

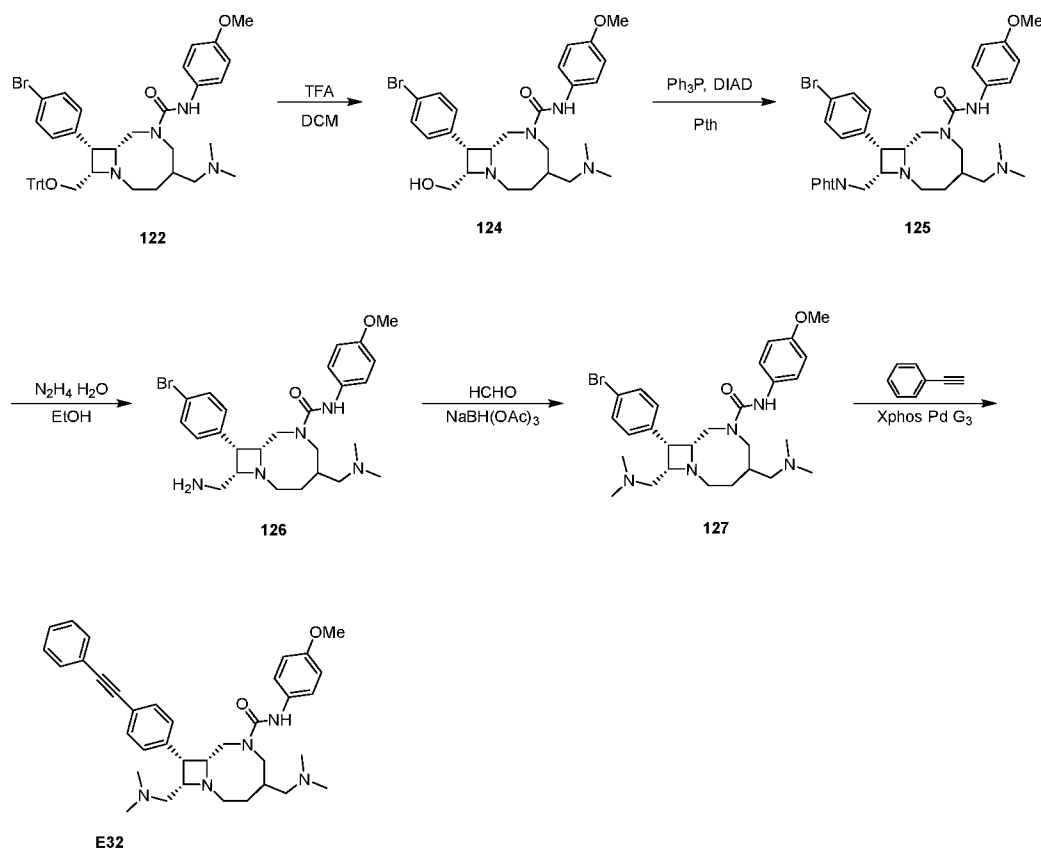
Intermediario 123: (8R,9R,10S)-4-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-10-(tritoloximetil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 122 (60.00 mg, 77.54 μmol, 1.00 eq.), en acetonitrilo (1.00 ml), se adicionó etinilbenceno (23.76 mg, 232.62 μmol, 25.55 μl, 3.00 eq.), Cs₂CO₃ (101.06 mg, 310.16 μmol, 4.00 eq.) y Xphos Pd G3 (6.56 mg, 7.75 μmol, 0.1 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 2 horas. La LC-MS mostró que el reactante se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (10 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (5 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 20:1) para ofrecer el Intermediario 123 (50.00 mg, 62.89 μmol, 81.11% de rendimiento) como un sólido amarillo.

Síntesis de E31: (8R,9R,10S)-4-[(dimetilamino)metil]-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E31).

A una solución del Intermediario 123 (50.00 mg, 62.89 μmol, 1.00 eq.), en DCM (1.00 ml), se adicionó TFA (71.71 mg, 628.90 μmol, 46.56 μl, 10.00 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 123 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ sat. acuoso (10 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para ofrecer el compuesto E31 (4.50 mg, 8.14 μmol, 12.95% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.54 (dd, J=2.0, 7.5 Hz, 2H), 7.48 (s, 4H), 7.37 - 7.29 (m, 5H), 6.82 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.05 (d, J=14.1 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.73 - 3.62 (m, 4H), 3.60 - 3.52 (m, 2H), 3.46 (t, J=8.5 Hz, 1H), 3.15 (dd, J=5.3, 16.3 Hz, 2H), 2.86 (dd, J=10.5, 14.6 Hz, 1H), 2.58 (br. s., 1H), 2.32 (s, 6H), 2.25 (t, J=12.3 Hz, 2H), 2.03 (d, J=12.5 Hz, 1H), 1.59 (br. s., 2H), 1.53 (br. s., 1H).

Ejemplo 32: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E32"), que no forma parte de la presente invención.



Intermediario 124: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-4-[(dimetilamino)metil]-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 122 (400.00 mg, 516.93 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (10.00 ml), se adicionó TFA (589.40 mg, 5.17 mmol, 382.73 μ l, 10.00 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 122 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ sat. acuoso (10 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM:MeOH = 100:1 a 10:1) para ofrecer el Intermediario 124 (130.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.47 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.39 - 7.32 (m, 3H), 7.32 - 7.26 (m, 9H), 7.23 (d, J=9.3 Hz, 3H), 6.91 (d, J=8.4 Hz, 1H), 3.93 (d, J=14.1 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.60 - 3.52 (m, 4H), 3.04 (d, J=14.1 Hz, 2H), 2.75 - 2.63 (m, 2H), 2.23 (s, 6H), 2.15 (d, J=11.9 Hz, 1H), 1.65 - 1.46 (m, 4H).

Intermediario 125: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4-[(dimetilamino)metil]-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución de PPh₃ (0.15 g) en 3 ml de THF se adicionó DIAD (0.11 ml) a 0 °C. Esta mezcla (1.16 ml) se adicionó a una solución del Intermediario 124 (30.00 mg, 56.45 μ mol, 1.00 eq.) e isoindolin-1,3-diona (12.46 mg, 84.67 μ mol, 1.50 eq.) en THF (1.00 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 124 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 20:1) para ofrecer el Intermediario 125 (30.00 mg, sin purificar) como un sólido blanco que contiene Ph₃PO.

Intermediario 126: (8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-4-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 125 (100.00 mg, 151.38 μ mol, 1.00 eq.), en EtOH (2.00 ml), se adicionó N₂H₄.H₂O (7.58 mg, 151.38 μ mol, 7.36 μ l, 1.00 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 125 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (10 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (5 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 8:1) para ofrecer el Intermediario 126 (90.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo.

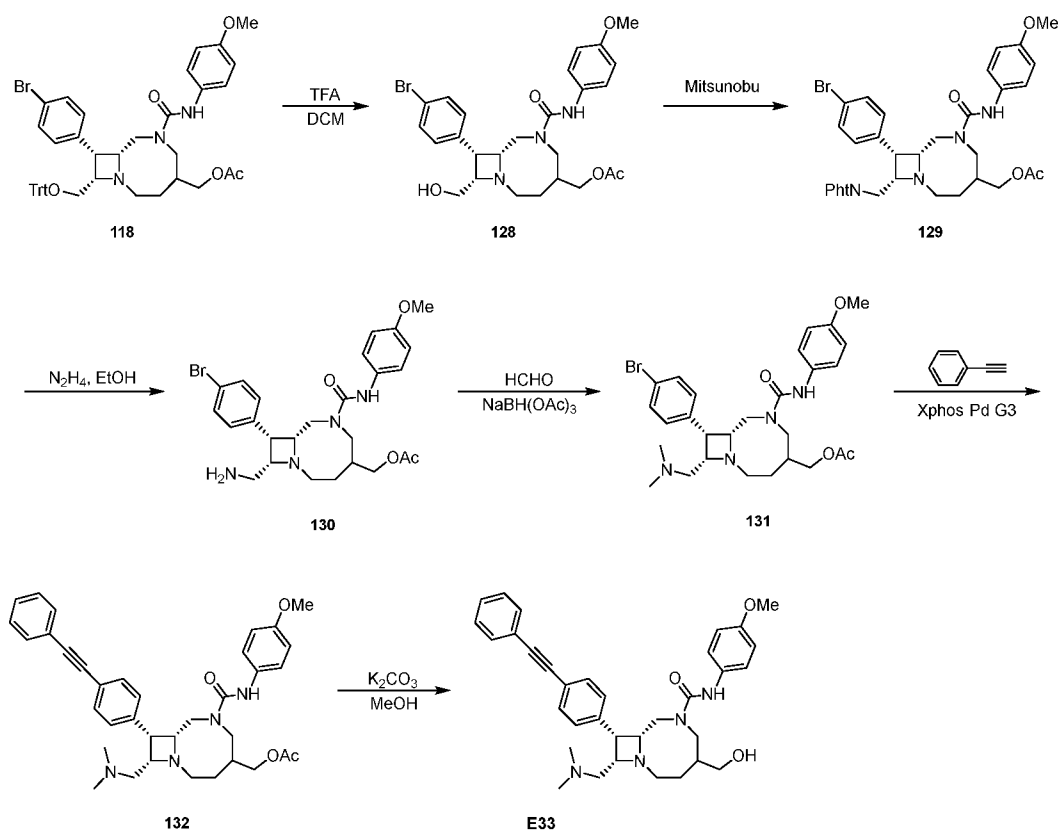
Intermediario 127: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-4,10-bis[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 126 (45.00 mg, 84.83 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (2.00 ml), se adicionó HCHO (41.31 mg, 508.98 μ mol, 37.90 μ l, solución al 37%, 6.00 eq.) y MgSO₄ (122.53 mg, 1.02 mmol, 12.00 eq.), después se agitó por 30 min, y se adicionó NaBH(OAc)₃ (269.68 mg, 1.27 mmol, 15.00 eq.). La mezcla se agitó a 15 °C por 16 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 126 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO₃ sat. acuoso (10 ml) y se extrajo con DCM (3 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (3 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 10:1) para ofrecer el Intermediario 127 (20.00 mg, 35.81 μ mol, 42.21% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.46 - 7.40 (m, 2H), 7.37 - 7.33 (m, 2H), 7.30 (d, J=9.0 Hz, 2H), 6.81 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.97 (d, J=14.1 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.67 (d, J=15.6 Hz, 1H), 3.60 - 3.54 (m, 1H), 3.45 - 3.32 (m, 2H), 3.15 - 3.03 (m, 2H), 2.74 (dd, J=10.8, 14.3 Hz, 1H), 2.47 - 2.34 (m, 4H), 2.30 (s, 6H), 2.25 - 2.17 (m, 1H), 2.02 (s, 6H), 1.62 - 1.48 (m, 3H).

Síntesis de E32: (8R,9S,10S)-4,10-bis[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E32).

A una solución del Intermediario 127 (15.00 mg, 26.86 μ mol, 1.00 eq.), en acetonitrilo (1.00 ml), se adicionó etinilbenceno (10.97 mg, 107.42 μ mol, 3.00 eq.), Xphos Pd G3 (2.27 mg, 2.69 μ mol, 0.10 eq.) y Cs₂CO₃ (35.00 mg, 107.42 μ mol, 4.00 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 127 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (3 ml * 2), se secaron sobre Na₂SO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, DCM:MeOH = 8:1) para ofrecer el compuesto E32 (4.30 mg, 7.42 μ mol, 27.61% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ = 7.50 - 7.44 (m, 2H), 7.44 - 7.36 (m, 4H), 7.31 - 7.21 (m, 5H), 6.74 (d, J=8.5 Hz, 2H), 3.93 (d, J=14.6 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.63 - 3.52 (m, 2H), 3.42 - 3.28 (m, 2H), 3.09 - 2.99 (m, 2H), 2.72 (dd, J=10.5, 14.1 Hz, 1H), 2.36 (d, J=10.0 Hz, 3H), 2.23 (s, 6H), 2.16 (t, J=12.5 Hz, 2H), 1.96 (br. s., 6H), 1.54 (br. s., 1H), 1.45 (br. s., 2H).

Ejemplo 33: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E33"), que no forma parte de la presente invención.



Intermediario 128: acetato de [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución del Intermediario 118 (600.00 mg, 760.68 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (10.00 ml), se adicionó TFA (867.33 mg, 7.61 mmol, 563.20 μ l, 10.00 eq.). La mezcla se agitó a 20 °C por 2 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 118 se consumió y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de $NaHCO_3$ sat. acuoso (30 ml) y se extrajo con DCM (10 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , DCM/MeOH = 1:0 a 20:1) para ofrecer el Intermediario 128 (300.00 mg, 549.00 μ mol, 72.17% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 129: acetato de [(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-il)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución de trifetilfosfina (1 g, 3.76 mmol), en THF (19 ml) a 0 °C, se adicionó lentamente DIAD (0.73 ml, 3.76 mmol). Esta mezcla preparada (11 ml) se adicionó a una mezcla del Intermediario 128 (300.00 mg, 549.00 μ mol, 1.00 eq.) e isoindolin-1,3-diona (121.16 mg, 823.50 μ mol, 1.50 eq.), en THF (15.00 ml) a 0 °C, y luego la mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas bajo atmósfera de N_2 . La LC-MS mostró que el Intermediario 128 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , DCM:MeOH = 1:0 a 10:1) para ofrecer el Intermediario 129 (400.00 mg, sin purificar) como un sólido amarillo que contiene Ph_3PO .

Intermediario 130: acetato de [(8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución del Intermediario 129 (400.00 mg, 592.09 μ mol, 1.00 eq.), en EtOH (10.00 ml), se adicionó $N_2H_4 \cdot H_2O$ (29.64 mg, 592.09 μ mol, 28.78 μ l, 1.00 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 2 h. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (30 ml) y se extrajo con DCM (30 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (30 ml * 2), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , DCM:MeOH = 1:0 a 20:1) para ofrecer el Intermediario 130 (280.00 mg, 513.32 μ mol, 86.70% de rendimiento) como un sólido blanco.

Intermediario 131: acetato de [(8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(dimetilamino)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

A una solución del Intermediario 130 (140.00 mg, 256.66 μ mol, 1.00 eq.), en DCM (5.00 ml), se adicionó MgSO_4 (370.73 mg, 3.08 mmol, 12.00 eq.) y HCHO (124.99 mg, 1.54 mmol, 114.67 μ l, solución al 37%, 6.00 eq.), y luego se adicionó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (815.95 mg, 3.85 mmol, 15.00 eq.) en porciones. La mezcla se agitó a 15 °C por 16 horas. La LC-MS mostró que el Intermediario 130 se consumió y se detectó una MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de NaHCO_3 sat. acuoso (20 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , $\text{DCM}:\text{MeOH} = 20:1$) para ofrecer el Intermediario 131 (73.00 mg, 127.28 μ mol, 49.59% de rendimiento) como un sólido blanco.

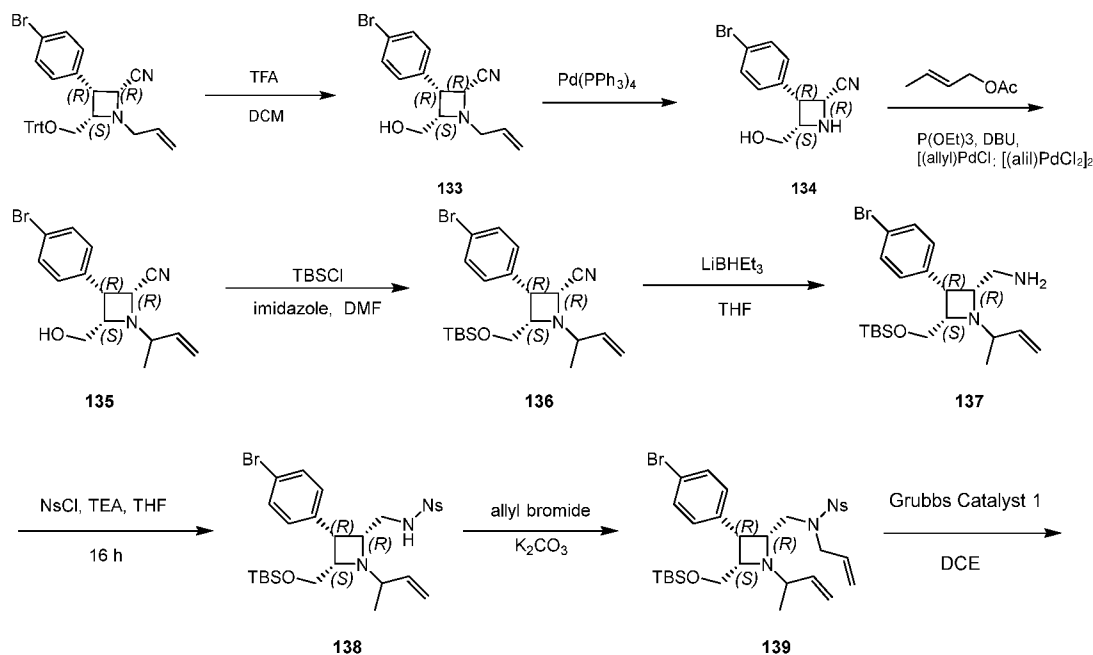
Intermediario 132: acetato de [(8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-6-[(4-metoxifenil)carbamoil]-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-il]metilo.

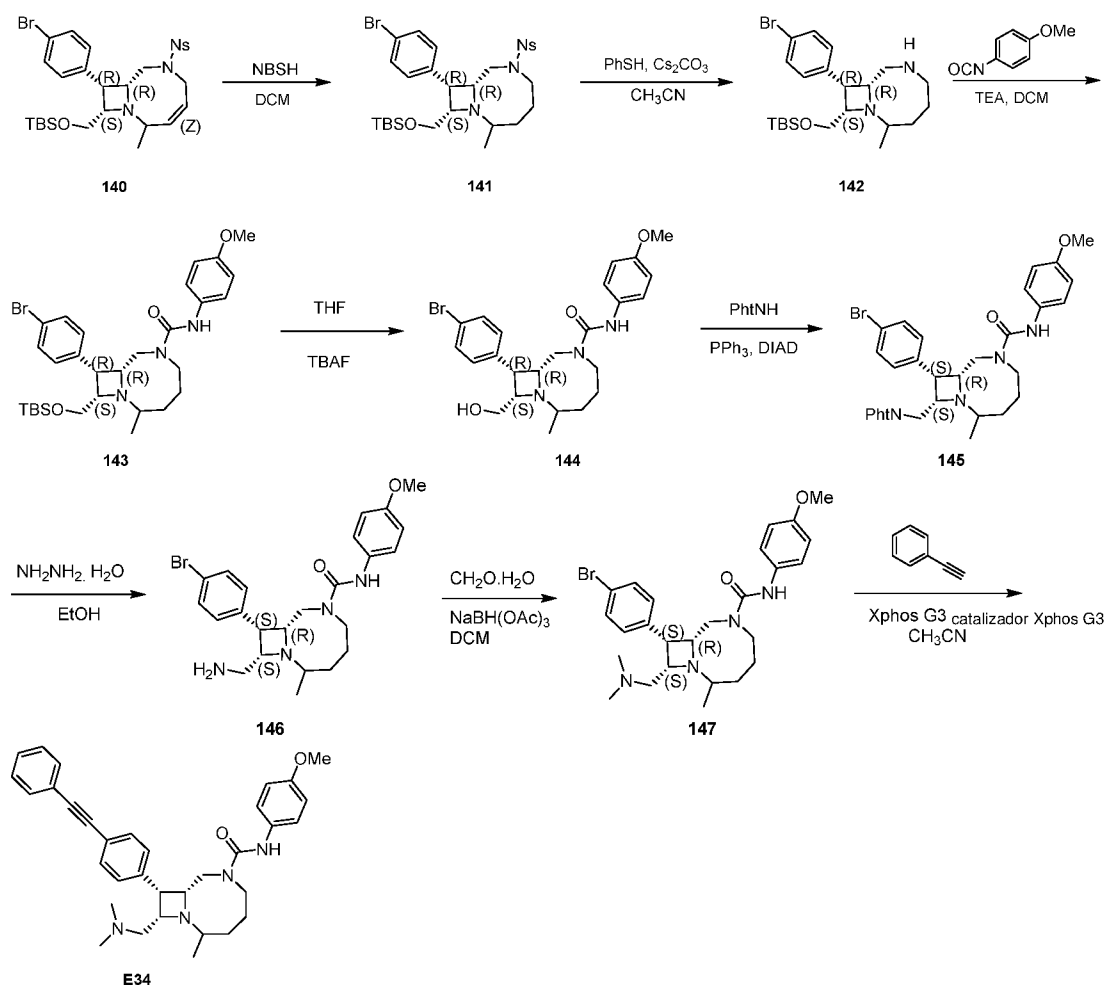
A una solución del Intermediario 131 (73.00 mg, 127.28 μ mol, 1.00 eq.), en acetonitrilo (4.00 ml), se adicionó etinilbenceno (39 mg, 381.85 μ mol, 3.00 eq.), Xphos Pd G3 (10.77 mg, 12.73 μ mol, 0.10 eq.) y Cs_2CO_3 (165.89 mg, 509.14 μ mol, 4.00 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 131 se consumió completamente y se detectó la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua salada (3 ml * 2), se secaron sobre Na_2SO_4 , y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , $\text{DCM}:\text{MeOH} = 10:1$) para ofrecer el Intermediario 132 (30.00 mg, 50.44 μ mol, 39.63% de rendimiento) como un sólido café.

Síntesis de E33: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E33).

A una solución del Intermediario 132 (30.00 mg, 50.44 μ mol, 1.00 eq.), en MeOH (500.00 μ l)/ DCM (0.5 ml), se adicionó K_2CO_3 (34.86 mg, 252.20 μ mol, 5.00 eq.). La mezcla se agitó a 15 °C por 1 hora. La LC-MS mostró que el Intermediario 132 se consumió completamente y se detectó un pico principal con la MS deseada. La mezcla de reacción se extinguió por la adición de agua (10 ml) y se extrajo con DCM (5 ml * 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna: Luna C18 150*25 5u; fase móvil: [agua (0.225% de ácido fórmico)-acetonitrilo]; B%: 25% a 45%, 12 min) para ofrecer el compuesto E33 (11.00 mg, 18.37 μ mol, 36.42% de rendimiento, sal de ácido fórmico) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, $\text{METANOL}-d_4$) $\delta = 7.58 - 7.49$ (m, 6H), 7.38 (d, $J=3.5$ Hz, 3H), 7.29 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.81 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 3.92 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 3.82 - 3.71 (m, 5H), 3.59 (d, $J=6.2$ Hz, 2H), 3.45 (t, $J=9.0$ Hz, 1H), 3.20 - 3.05 (m, 2H), 3.01 - 2.91 (m, 2H), 2.88 - 2.81 (m, 1H), 2.48 (t, $J=12.1$ Hz, 1H), 2.40 - 2.29 (m, 6H), 1.83 (br. s., 1H), 1.67 - 1.48 (m, 2H).

Ejemplo de referencia 34: (8R,9S,10S)-10-[(dimetilamino)metil]-N-(4-metoxifenil)-2-metil-9-[4-(feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E34")





Intermediario 133: (2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-(hidroximetil)azetidin-2-carbonitrilo.

- 5 A una solución de (2R,3R,4S)-1-alil-3-(4-bromofenil)-4-((tritoloxi)metil)azetidin-2-carbonitrilo (J.O.C (2012), 77(17), 7187-7211) (16.00 g, 29.12 mmol, 1.00 eq.), en DCM (291.00 ml), se adicionó TFA (33.20 g, 291.20 mmol, 21.56 ml, 10.00 eq.) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas. La TLC mostró que el reactante se consumió completamente, y el producto deseado se observó y se extinguió con solución de NaHCO₃ (500 ml), se extrajo con DCM (200 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para proveer un residuo (8.95 g, sin purificar) como un sólido amarillo, el cual se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Intermediario 134: (2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-(hidroximetil)azetidin-2-carbonitrilo.

- 15 Una mezcla del Intermediario 133 (8.95 g, 29.14 mmol, 1.00 eq.), ácido 1,3-dimetil barbitúrico (6.82 g, 43.71 mmol, 1.50 eq.), Pd(PPh₃)₄ (3.37 g, 2.91 mmol, 0.10 eq.), en EtOH (290.00 ml), se desgasificó y purgó con N₂ por 3 veces, y luego la mezcla se agitó a 40 °C por 16 horas bajo atmósfera de N₂. La LCMS mostró que el reactante 133 se consumió completamente y la MS deseada se observó, y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (NH₄HCO₃ 10 mM); B: acetonitrilo) para proveer el Intermediario 134 (4.70 g, 17.60 mmol, 60.38% de rendimiento) como un sólido naranja.

Intermediario 135: (2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-(hidroximetil)-1-(1-metilalil)azetidin-2-carbonitrilo

- 20 A una solución del Intermediario 134 (1.60 g, 5.99 mmol, 1.00 eq.), en THF (3.50 ml), se adicionó P(OEt)₃ (39.81 mg, 239.59 μmol, 41.04 μl, 0.04 eq.), acetato de (E)-but-2-en-1-ilo (724.70 mg, 6.35 mmol, 1.06 eq.), alil(cloro)paladio (21.92 mg, 59.90 μmol, 0.01 eq.) y DBU (911.89 mg, 5.99 mmol, 902.86 μl, 1.00 eq.), la mezcla se desgasificó y purgó con N₂ por 3 veces, y luego la mezcla se agitó a 40 °C por 16 h bajo atmósfera de N₂. La reacción se extinguió con agua (15 ml), se extrajo con DCM (20 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 0:1) para proveer el Intermediario 135 (150.00 mg, 466.98 μmol, 7.80% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-d₄) δ = 1.20 (dd, J=11.04, 6.53 Hz, 3 H) 3.11 (quin, J=7.03 Hz, 1 H) 3.43 - 3.55 (m, 2 H) 3.59 - 3.67 (m, 1 H) 3.80 - 3.92 (m, 1 H) 4.04 - 4.15 (m, 1 H) 4.35 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 4.41 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 5.05 - 5.41 (m, 2 H) 5.64 - 5.91 (m, 1 H) 7.47 - 7.52 (m, 2 H) 7.52 - 7.56 (m, 2 H).

Intermediario 136: (2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-[[ter-butil(dimetil)silil]oximetil]-1-(1-metilalil)azetidin-2-carbonitrilo.

A una solución del Intermediario 135 (1.23 g, 3.83 mmol, 1.00 eq.), en DMF (6.00 ml), se adicionó imidazol (1.56 g, 22.98 mmol, 6.00 eq.) y TBSCI (2.31 g, 15.32 mmol, 1.88 ml, 4.00 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas. La LCMS mostró que el reactante se consumió completamente y la MS deseada se observó, se lavó con agua (30 ml), se extrajo con acetato de etilo (30 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 100/1 a 10:1) para proveer el Intermediario 136 (1.60 g, 3.67 mmol, 95.93% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm -0.36 - -0.13 (m, 7 H) 0.69 - 0.77 (m, 9 H) 1.19 (dd, *J*=18.57, 6.53 Hz, 3 H) 3.04 - 3.17 (m, 1 H) 3.39 - 3.47 (m, 1 H) 3.53 - 3.59 (m, 1 H) 3.61 - 3.72 (m, 1 H) 3.82 - 3.92 (m, 1 H) 4.33 - 4.44 (m, 1 H) 5.07 - 5.35 (m, 2 H) 5.61 - 5.85 (m, 1 H) 7.46 - 7.50 (m, 2 H) 7.52 - 7.56 (m, 2 H).

Intermediario 137: [(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-[[ter-butil(dimetil)silil]oximetil]-1-(1-metilalil)azetidin-2-il]metanamina.

A una solución del Intermediario 136 (1.85 g, 4.25 mmol, 1.00 eq.), en THF (200.00 ml), se adicionó LiBHET₃ (1 M, 5.06 ml, 10.00 eq.) a 0 °C bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas. La LCMS mostró que el reactante 136 se consumió completamente y la MS deseada se observó, se extinguió con H₂O (100 ml), se extrajo con acetato de etilo (300 ml x 3) y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM/MeOH = 1/0 a 10:1) para proveer el Intermediario 137 (1.40 g, 3.19 mmol, 74.95% de rendimiento) como un aceite.

Intermediario 138: N-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-[[ter-butil(dimetil)silil]oximetil]-1-(1-metilalil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución del Intermediario 138 (1.36 g, 3.09 mmol, 1.00 eq.), en THF (55.00 ml), se adicionó TEA (9.91 g, 97.95 mmol, 13.58 ml, 31.70 eq.) y cloruro de 2-nitrobencenosulfonilo (2.05 g, 9.27 mmol, 3.00 eq.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas. La LCMS mostró que el reactante 1 se consumió completamente y la MS deseada se observó, y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 5:1) para ofrecer el Intermediario 138 (1.93 g, sin purificar) como un aceite amarillo.

Intermediario 139: N-alil-N-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromofenil)-4-[[ter-butil(dimetil)silil]oximetil]-1-(1-metilalil)azetidin-2-il]metil]-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución del Intermediario 138 (1.95 g, 3.12 mmol, 1.00 eq.), en DMF (15.00 ml), se adicionó K₂CO₃ (647.17 mg, 4.68 mmol, 1.50 eq.) y luego se adicionó 3-bromoprop-1-eno (1.13 g, 9.36 mmol, 808.84 µl, 3.00 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas. La LCMS mostró que el reactante 138 se consumió completamente y la MS deseada se observó, se lavó con agua salada (20 ml x 3), se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 5:1), para proveer el Intermediario 139 (1.90 g, 2.86 mmol, 91.61% de rendimiento) como una goma amarilla. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ =ppm -0.34 - -0.27 (m, 3 H) -0.23 - -0.18 (m, 3 H) 0.70 - 0.75 (m, 9 H) 1.14 (dd, *J*=16.76, 6.62 Hz, 3 H) 3.11 - 3.42 (m, 5 H) 3.15 - 3.79 (m, 6 H) 4.69 - 4.82 (m, 1 H) 4.93 - 5.04 (m, 1 H) 5.05 - 5.22 (m, 2 H) 5.28 - 5.50 (m, 1 H) 5.67 - 5.81 (m, 1 H) 7.32 (d, *J*=8.38 Hz, 2 H) 7.43 (dd, *J*=8.38, 1.32 Hz, 2 H) 7.52 - 7.62 (m, 3 H) 7.62 - 7.70 (m, 1 H).

Intermediario 140: [(3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-2-metil-6-(2-nitrofenil)sulfonil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-10-il]metoxi-ter-butil-dimetil-silano.

A una solución del Intermediario 139 (1.84 g, 2.77 mmol, 1.00 eq.), en DCE (368.00 ml), se adicionó Hoveyda-Grubbs Catalyst 1st Generation (569.51 mg, 692.50 µmol, 0.25 eq.). La mezcla se agitó a 90 °C por 16 horas. La mezcla de reacción se filtró y concentró bajo presión reducida para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5:1). El Intermediario 140 (1.25 g, 1.96 mmol, 70.88% de rendimiento) se obtuvo como sólido negro claro.

Intermediario 141: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-2-metil-6-(2-nitrofenil)sulfonil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il]metoxi-ter-butil-dimetil-silano.

A una solución del Intermediario 140 (1.00 g, 1.57 mmol, 1.00 eq.), en THF (40.00 ml), se adicionó TEA (1.43 g, 14.13 mmol, 1.96 ml, 9.00 eq.) y 2-nitrobencenosulfonohidracida (1.02 g, 4.71 mmol, 3.00 eq.). La reacción se agitó a 40 °C en un baño de aceite por 16 h. La LCMS mostró que el reactante 140 se consumió completamente, y la mayoría era el producto deseado. La mezcla de reacción se extinguió con una solución saturada de NaHCO₃ (20 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo (30 ml x 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proporcionar el producto sin purificar. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 5:1), para proveer el Intermediario 141 (830.00 mg, 1.04 mmol, 66.22% de rendimiento, 80% de pureza) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ=ppm -0.29 - -0.08 (m, 6 H) 0.75 (d, *J*=14.05 Hz, 9 H) 1.03 - 1.17 (m, 2 H) 1.36 - 1.48 (m, 1 H) 1.71 - 2.17 (m, 3 H) 2.62 (br. s., 1 H) 2.75 - 2.94 (m, 1 H) 3.00 - 3.29 (m, 2 H) 3.37 - 3.48 (m, 1 H) 3.49 - 3.67 (m, 3 H) 3.69 - 3.87 (m, 2 H) 7.28 - 7.46 (m, 4 H) 7.53 - 7.66 (m, 3 H) 7.78 (d, *J*=6.02 Hz, 1 H)

Intermediario 142: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-2-metil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-il]metoxi-ter-butil-dimetil-silano.

A una solución del Intermediario 141 (830.00 mg, 1.30 mmol, 1.00 eq.), en CH₃CN (8.00 ml), se adicionó Cs₂CO₃ (508.28 mg, 1.56 mmol, 1.20 eq.) y bencenotiol (214.77 mg, 1.95 mmol, 198.86 µl, 1.50 eq.). Después de agitar a 20 °C por 16 horas, la reacción se diluyó con agua (15 ml), se extrajo con acetato de etilo (15 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5:1), para proveer el Intermediario 142 (580.00 mg, 1.02 mmol, 78.70% de rendimiento, 80% de pureza) como un sólido amarillo.

Intermediario 143: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[[ter-butil(dimetil)silil]oximetil]-N-(4-metoxifenil)-2-metil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 142 (550.00 mg, 1.21 mmol, 1.00 eq.), en DCM (10.00 ml), se adicionó TEA (61.36 mg, 606.35 µmol, 84.05 µl, 0.50 eq.) y 1-isocianato-4-metoxi-benceno (180.88 mg, 1.21 mmol, 155.93 µl, 1.00 eq.) a 0 °C. Después de agitar a 20 °C por 3 horas, la reacción se diluyó con agua (10 ml), se extrajo con DCM (20 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 5:1), para proveer el Intermediario 143 (700.00 mg, 1.16 mmol, 95.99% de rendimiento) como un sólido amarillo.

Intermediario 144: (8R,9R,10S)-9-(4-bromofenil)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-2-metil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 143 (690.00 mg, 1.14 mmol, 1.00 eq.), en THF (10.00 ml), se adicionó TBAF (596.13 mg, 2.28 mmol, 2.00 eq.). La mezcla se agitó a 50 °C por 16 horas. La TLC mostró que el reactante 1 se consumió completamente y el producto deseado se observó, se lavó con agua (10 ml x 3), se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM/MeOH = 1/0 a 20:1) para proveer el Intermediario 144 (440.00 mg, 900.86 µmol, 79.02% de rendimiento) como un sólido amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ= ppm 1.09 (d, *J*=6.53 Hz, 3 H) 1.40 (d, *J*=16.56 Hz, 1 H) 1.77 - 1.99 (m, 2 H) 2.72 - 2.90 (m, 2 H) 3.51 (d, *J*=6.02 Hz, 1 H) 3.57 - 3.69 (m, 4 H) 3.71 - 3.80 (m, 4 H) 3.81 - 3.94 (m, 2 H) 6.02 - 6.08 (m, 1 H) 6.79 - 6.87 (m, 2 H) 7.24 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H) 7.36 - 7.43 (m, 2 H) 7.43 - 7.49 (m, 2 H)

Intermediario 145: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-[(1,3-dioxo-3a,7a-dihidroisoindol-2-il)metil]-N-(4-metoxifenil)-2-metil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 144 (420.00 mg, 859.92 µmol, 1.00 eq.), en THF (18.00 ml), se adicionó isoindolin-1,3-diona (189.78 mg, 1.29 mmol, 1.50 eq.), PPh₃ (451.09 mg, 1.72 mmol, 2.00 eq.) y DIAD (347.77 mg, 1.72 mmol, 334.39 µl, 2.00 eq.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas. La LCMS mostró que el reactante 145 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, se lavó con agua (10 ml), se extrajo con acetato de etilo (10 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1 a 1:1), para proveer el Intermediario 145 (800.00 mg, 645.63 µmol, 75.08% de rendimiento, 50% de pureza) como una goma café.

Intermediario 146: (8R,9S,10S)-10-(aminometil)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-2-metil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 145 (750.00 mg, 605.28 µmol, 1.00 eq.), en EtOH (14.00 ml), se adicionó NH₂NH₂·H₂O (30.30 mg, 605.28 µmol, 29.42 µl, 1.00 eq.). La mezcla se agitó a 80 °C por 2 horas. La LCMS mostró que el Intermediario 145 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado (Intermediario 146), se lavó con agua (40 ml), se extrajo con acetato de etilo (30 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM/MeOH = 0/1 a 10:1) para proveer (10S,10aR)-9-amino-10-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-6-metiloctahidropirrol[1,2-a][1,4]diazocin-2(1H)-carboxamida ("R146") (190 mg) (¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ=ppm 0.97 (d, *J*=6.02 Hz, 1 H) 1.14 (d, *J*=8.03 Hz, 2 H) 1.25 - 1.48 (m, 2 H) 1.87 - 2.09 (m, 2 H) 2.72 - 2.84 (m, 1 H) 3.01 (d, *J*=10.04 Hz, 1 H) 3.15 - 3.23 (m, 1 H) 3.28 (d, *J*=6.02 Hz, 1 H) 3.45 (br. s., 1 H) 3.62 - 4.11 (m, 7 H) 6.82 (d, *J*=10.04 Hz, 2 H) 7.18 - 7.25 (m, 2 H) 7.29 (d, *J*=8.03 Hz, 2 H) 7.49 (d, *J*=8.03 Hz, 2 H) como un sólido mixto amarillo, y el Intermediario 146 (40 mg) como un sólido amarillo (¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ=ppm 0.99 - 1.16 (m, 3 H) 1.44 (d, *J*=11.04 Hz, 1 H) 1.87 (br. s., 3 H) 2.66 (br. s., 1 H) 2.80 - 2.91 (m, 1 H) 2.92 - 3.00 (m, 1 H) 3.01 - 3.15 (m, 1 H) 3.38 (br. s., 1 H) 3.59 (d, *J*=12.55 Hz, 2 H) 3.67 - 3.84 (m, 6 H) 6.14 (s, 1 H) 6.81 (d, *J*=8.53 Hz, 2 H) 7.20 (d, *J*=8.53 Hz, 2 H) 7.34 (d, *J*=8.03 Hz, 2 H) 7.46 (d, *J*=8.03 Hz, 2 H)).

Intermediario 147: (8R,9S,10S)-9-(4-bromofenil)-10-((dimetilamino)metil)-N-(4-metoxifenil)-2-metil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida

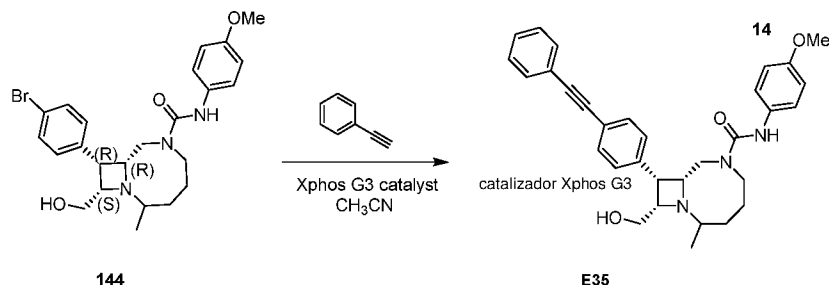
A una solución del Compuesto 146 (15.00 mg, 21.54 µmol, 1.00 eq.), en DCM (3.00 ml), se adicionó HCHO (17.48 mg, 215.42 µmol, 16.04 µl, 37% de pureza, 10.00 eq.) y MgSO₄ (51.86 mg, 430.83 µmol, 20.00 eq.), seguido por NaBH(OAc)₃ (45.66 mg, 215.42 µmol, 10.00 eq.). Después de que la mezcla se agitó a 20 °C por 2 horas, la mezcla

resultante se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , diclorometano:metanol = 20:1) para proveer el compuesto 147 (5.00 mg, 7.76 μmol , 36.02% de rendimiento, 80% de pureza) como un sólido amarillo claro.

Síntesis de E34: (8R,9S,10S)-10-((dimetilamino)metil)-N-(4-metoxifenil)-2-metil-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E34).

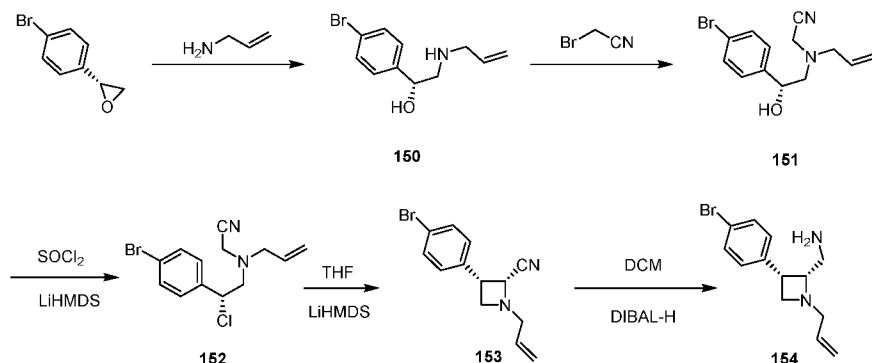
A una solución del Intermediario 147 (5.00 mg, 9.70 μmol , 1.00 eq.), en CH_3CN (500.00 μl), se adicionó etinilbenceno (2.97 mg, 29.10 μmol , 3.19 μl , 3.00 eq.), Cs_2CO_3 (12.64 mg, 38.80 μmol , 4.00 eq.), se desgasificó con N_2 por 3 veces, y luego XPhos Pd G3 (821.04 μg , 0.97 μmol , 0.10 eq.). Después de agitar a 70 °C por 3 h, la reacción se diluyó con agua (3 ml), se extrajo con acetato de etilo (5 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , éter de petróleo/acetato de etilo = 1:1) para proveer el compuesto E34 (5.00 mg, 9.32 μmol , 96.04% de rendimiento) como un sólido amarillo claro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ =ppm 1.16 (d, J =6.17 Hz, 3 H) 1.70 - 1.94 (m, 4 H) 2.01 (br. s., 6 H) 2.42 - 2.66 (m, 3 H) 2.83 - 2.94 (m, 1 H) 3.47 (br. s., 2 H) 3.53 - 3.62 (m, 1 H) 3.65 - 3.82 (m, 6 H) 6.04 (s, 1 H) 6.83 (d, J =8.82 Hz, 2 H) 7.24 (d, J =8.82 Hz, 2 H) 7.33 - 7.39 (m, 3 H) 7.39 - 7.44 (m, 2 H) 7.50 (d, J =7.94 Hz, 2 H) 7.53 - 7.57 (m, 2 H).

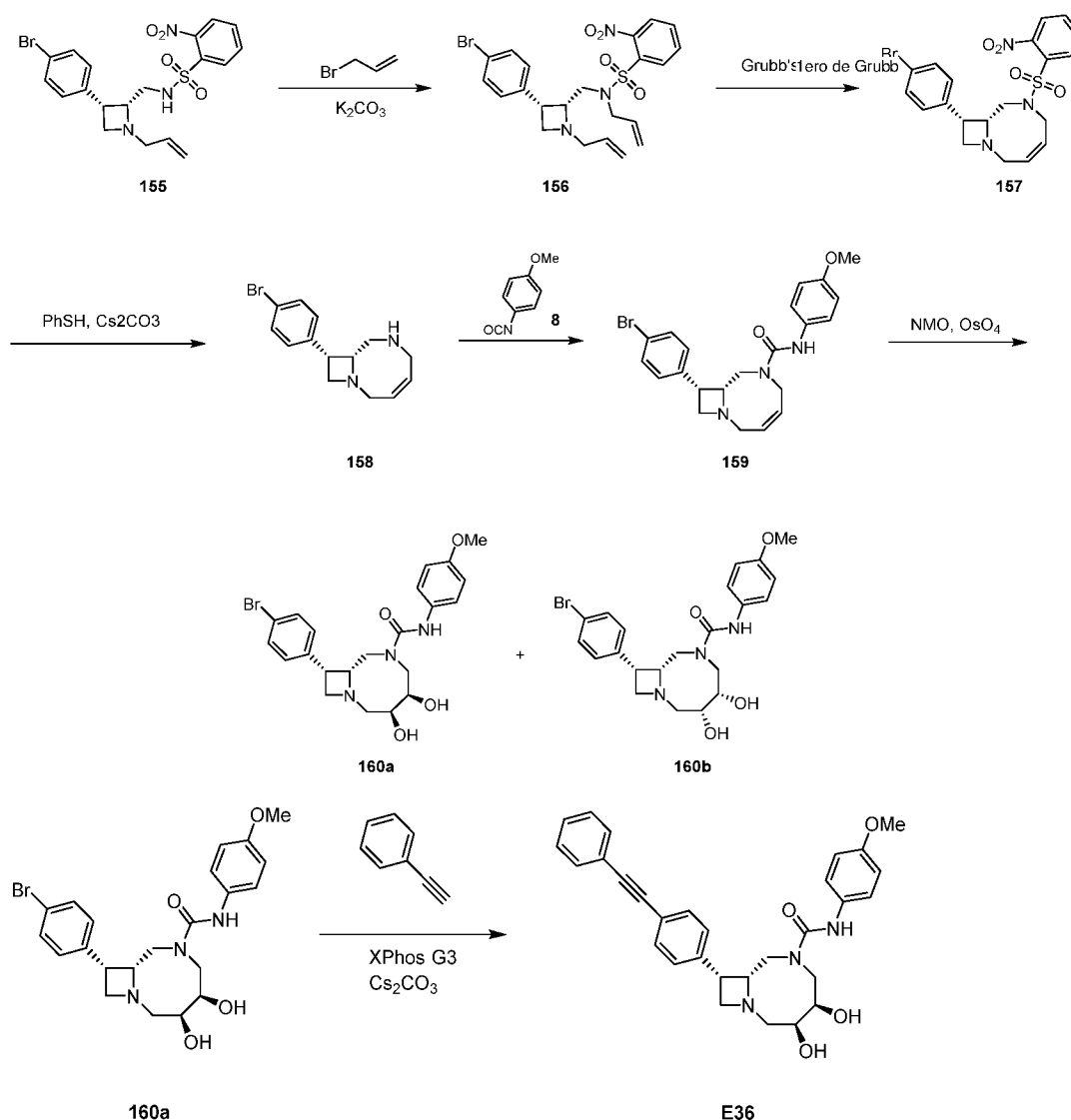
Ejemplo 35: (8R,9R,10S)-10-(hidroximetil)-N-(4-metoxifenil)-2-metil-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E35"), que no forma parte de la presente invención.



A una solución del Intermediario 144 (20.00 mg, 40.95 μmol , 1.00 eq.), en CH_3CN (1.00 ml), se adicionó etinilbenceno (12.55 mg, 122.85 μmol , 13.49 μl , 3.00 eq.) y Cs_2CO_3 (53.37 mg, 163.80 μmol , 4.00 eq.), se desgasificó con N_2 por 3 veces, y luego XPhos Pd G3 (3.47 mg, 4.10 μmol , 0.10 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C por 16 horas. La LCMS mostró que el reactante 144 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, se lavó con agua (10 ml), se extrajo con acetato de etilo (10 ml x 3), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por HPLC preparativa (columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (NH_4HCO_3 10 mM) B: acetonitrilo), para proveer el compuesto E35 (8.30 mg, 16.29 μmol , 39.77% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 1.10 (d, J =6.02 Hz, 3 H) 1.40 (d, J =13.55 Hz, 1 H) 1.76 - 2.01 (m, 3 H) 2.72 - 3.03 (m, 1 H) 2.76 (br. s., 1 H) 3.43 - 3.81 (m, 9 H) 3.82 - 3.96 (m, 2 H) 6.03 - 6.11 (m, 1 H) 6.80 - 6.88 (m, 2 H) 7.24 (d, J =9.03 Hz, 2 H) 7.32 - 7.40 (m, 3 H) 7.48 - 7.56 (m, 6 H).

Ejemplo 36: (3S,4R,8R,9S)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E36")





Intermediario 150: (*R*)-2-(alilamino)-1-(4-bromofenil)etan-1-ol

5 A un matraz que contenía (*R*)-2-bromofeniloxirano (8.0 g, 40.2 mmol) se adicionó alilamina (12.03 ml, 161 mmol). La mezcla se agitó a 55 °C por 20 h. Después de este tiempo, el análisis por LCMS indicó que la reacción estaba completa y la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y el solvente orgánico se evaporó bajo presión reducida. Con la adición de hexano al residuo, un sólido blanco se formó y se filtró y secó bajo alto vacío por 2 horas, para ofrecer el producto deseado (*R*)-2-(alilamino)-1-(4-bromofenil)etan-1-ol (9.66 g, 37.7 mmol, 94% de rendimiento) como un sólido blanco.

10 La reacción se llevó a la siguiente etapa sin mayor purificación. ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.53–7.36 (m, 2H), 7.29–7.13 (m, 2H), 5.96–5.72 (m, 1H), 5.28–5.02 (m, 2H), 4.67 (dd, J = 9.0, 3.6 Hz, 1H), 3.41–3.18 (m, 2H), 2.87 (dd, J = 12.2, 3.6 Hz, 1H), 2.66 (dd, J = 12.2, 8.9 Hz, 1H).

Intermediario 151: (*R*)-2-(alil(2-(4-bromofenil)-2-hidroxietyl)amino)acetonitrilo

15 A una solución de (*R*)-2-(alilamino)-1-(4-bromofenil)etan-1-ol (9.66 g, 37.7 mmol), en acetonitrilo anhidro (60 ml) a temperatura ambiente, se adicionó K_2CO_3 (7.82 g, 56.6 mmol) y 2-bromoacetonitrilo (7.88 ml, 113 mmol). La mezcla heterogénea se agitó a 85 °C bajo una atmósfera de nitrógeno por 18 h. Después de este tiempo, el análisis por LCMS indicó que la reacción estaba completa y la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. El solvente orgánico se evaporó bajo presión reducida, se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo. Los componentes orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , acetato de etilo/hexano = 20 a 30%) para proveer (*R*)-2-(alil(2-(4-bromofenil)-2-hidroxietyl)amino)acetonitrilo (9 g, 30.5 mmol, 81% de rendimiento) como un sólido amarillo pálido.

20 ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.54–7.40 (m, 2H), 7.31–7.16 (m, 2H), 5.91–5.66 (m, 1H), 5.43–5.22 (m, 2H), 4.78–4.65 (m, 1H), 3.79–3.54 (m, 2H), 3.45–3.30 (m, 1H), 3.27–3.11 (m, 2H), 2.86–2.74 (m, 1H), 2.68–2.54 (m, 1H).

Intermediario 152: (R)-2-(alil(2-(4-bromofenil)-2-cloroetil)amino)acetonitrilo

A una solución de piridina (12.1 ml, 151 mmol), en DMF anhidro (100 ml) a 0 °C, se adicionó cloruro de tionilo (4.38 ml, 60.3 mmol) por goteo. La mezcla se agitó a 0 °C durante 15 minutos. A esta solución se adicionó (R)-2-(alil(2-(4-bromofenil)-2-hidroxi-etil)amino)acetonitrilo (8.9 g, 30.2 mmol) en DCM (10 ml) durante 5 minutos. Esta mezcla se agitó a 0 °C por 30 minutos, con lo cual el análisis de TLC indicó que la reacción estaba completa. A la mezcla de reacción se adicionó NaHCO₃ ac. saturado, y la solución resultante se agitó vigorosamente por 10 min antes de transferirse a un embudo de separación. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con DCM, y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua salada, se secaron con MgSO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para ofrecer el producto sin purificar. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, acetato de etilo/hexano = 0 a 20%) para proveer el intermediario deseado (5.00 g, 9.87 mmol, 92% de rendimiento) como un sólido café. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.57 – 7.42 (m, 2H), 7.32 – 7.23 (m, 2H), 5.84 – 5.58 (m, 1H), 5.37 – 5.14 (m, 2H), 4.91 – 4.71 (m, 1H), 3.65 – 3.38 (m, 2H), 3.26 – 2.94 (m, 4H).

Intermediario 153: (2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-carbonitrilo

Un matraz de fondo redondo de 100 ml se cargó con (R)-2-(alil(2-(4-bromofenil)-2-cloroetil)amino)acetonitrilo (0.55 g, 1.754 mmol) y THF anhidro (10 ml), para proveer una solución amarilla pálida. El matraz se sumergió completamente en un baño de hielo seco/acetona y se enfrió a -50 °C. Se adicionó LiHMDS (1 M, solución de THF) por goteo a esta solución enfriada. Después de completar la adición, la reacción se agitó por 1 h a -50 °C. El análisis de LCMS y TLC (20% de EtOAc en hexanos, tinción por KMnO₄) indicó la desaparición completa del material de inicio. La mezcla de reacción se trató con NH₄Cl ac. saturado, y la solución resultante se agitó vigorosamente por 10 min antes de transferirse a un embudo de separación. Las capas se separaron, la fase acuosa se extrajo con EtOAc, y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua salada, se secaron con MgSO₄, y se filtraron y concentraron bajo presión reducida para ofrecer el producto sin purificar. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, acetato de etilo/hexano = 0 a 20%) para proveer dos conjuntos principales de fracciones. El primer conjunto de fracciones (0.16 g, 0.577 mmol, 33% de rendimiento) proveyó el producto secundario (2S,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-carbonitrilo. El segundo conjunto de fracciones (0.17 g, 0.613 mmol, 35% de rendimiento) solidificó con reposo para proveer el producto deseado (2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-carbonitrilo. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.59 – 7.45 (m, 2H), 7.36 – 7.28 (m, 2H), 5.91 – 5.69 (m, 1H), 5.36 – 5.14 (m, 2H), 4.39 – 4.26 (m, 1H), 3.87 – 3.75 (m, 1H), 3.60 – 3.40 (m, 2H), 3.31 – 3.18 (m, 2H).

Intermediario 154: ((2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-il)metanamina

A una solución de (2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-carbonitrilo (0.62 g, 2.25 mmol), en DCM (23 ml) y enfriada a 0 °C con agitación, se adicionó DIBAL-H (2.41 ml, 13.51 mmol) lentamente mediante jeringa. Después de 15 minutos, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 45 min. Después de este tiempo, el análisis por LCMS indicó que la reacción estaba completa, la reacción se enfrió a 0 °C y se adicionó metanol (1.366 ml, 33.8 mmol) lentamente. A esta mezcla se adicionó solución de Rochelle (100 ml) lentamente (cuidado extremo, exotérmica). La fase acuosa se extrajo con DCM y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida para proveer (2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-carbonitrilo como un aceite amarillo que se llevó a la siguiente etapa sin purificación.

Intermediario 155: N-(((2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-il)metil)-2-nitrobencenosulfonamida

A una solución del Intermediario 154 (1.454 g, 5.171 mmol), en DCM (26 ml) y enfriada a 0 °C, se adicionó 2,6-lutidina (1.797 ml, 15.51 mmol) seguida por cloruro de 2-nitrobenceno-1-sulfonilo (1.261 g, 5.69 mmol) en una porción. La solución luego se dejó calentar a temperatura ambiente y agitar por 16 h. A la mezcla de reacción se adicionó agua, y la capa acuosa se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proporcionar el producto sin purificar. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, acetato de etilo/hexano = 0 a 20%) para proveer el Intermediario 155 (2.4 g, 100% de rendimiento).

Intermediario 156: N-alil-N-(((2R,3S)-1-alil-3-(4-bromofenil)azetidín-2-il)metil)-2-nitro-bencenosulfonamida.

A una solución del Intermediario 155 (5.00 g, 10.72 mmol, 1.00 eq.), en DMF (10.00 ml), se adicionó K₂CO₃ (2.22 g, 16.08 mmol, 1.50 eq.) y 3-bromoprop-1-eno (1.95 g, 16.08 mmol, 1.39 ml, 1.50 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C por 16 horas. La LCMS mostró que el reactante 156 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, y la mezcla de reacción se disolvió en agua (100 ml), se extrajo con DCM (20 ml x 3), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1 a 5:1), para proveer el Intermediario 156 (5.00 g, 9.87 mmol, 92.10% de rendimiento) obtenido como un sólido café. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.53 (s, 1 H) 2.90 (dd, *J*=13.80, 6.65 Hz, 1 H) 2.94 - 3.11 (m, 2 H) 3.18 - 3.26 (m, 1 H) 3.33 (dd, *J*=7.34, 2.20 Hz, 1 H) 3.41 (dd, *J*=13.80, 5.14 Hz, 1 H) 3.47 - 3.63 (m, 2 H) 3.65 - 3.75 (m, 1 H) 3.88 (dd, *J*=16.00, 5.96 Hz, 1 H) 4.95 (dd, *J*=17.07, 1.13 Hz, 1 H) 5.03 - 5.14 (m, 2 H) 5.21 (dd, *J*=17.19, 1.51 Hz, 1 H) 5.48 (ddt, *J*=16.89, 10.43, 6.23, 6.23 Hz, 1 H) 5.64 - 5.87 (m, 1 H) 7.35 - 7.40 (m, 2 H) 7.42 - 7.49 (m, 2 H) 7.55 - 7.62 (m, 2 H) 7.64 - 7.72 (m, 2 H)

Intermediario 157: (3Z,8R,9S)-9-(4-bromofenil)-6-(2-nitrofenil)sulfonil-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno.

A una solución del Intermediario 156 (5.00 g, 9.87 mmol, 1.00 eq.), en tolueno (500.00 ml), se adicionó Hoveyda-Grubbs Catalyst 1st Generation (812 mg) bajo atmósfera de N₂. La reacción se agitó a 60 °C en un baño de aceite por

16 h. Se adicionó más Hoveyda-Grubbs Catalyst 1st Generation (1218 mg) y se agitó por 16 h más. La mezcla de reacción se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1 a 0:1), para proveer el Intermediario 157 (1.20 g, 1.25 mmol, 12.71% de rendimiento, 50% de pureza) como un sólido negro junto con SM recuperado (2.2 g). ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.62 (br s, 1 H) 3.15 - 3.31 (m, 2 H) 3.38 (br s, 1 H) 3.52 (br d, *J*=16.98 Hz, 1 H) 3.60 - 3.79 (m, 3 H) 3.82 - 3.95 (m, 1 H) 4.03 (br dd, *J*=14.33, 6.62 Hz, 1 H) 5.58 - 5.67 (m, 1 H) 5.68 - 5.81 (m, 1 H) 7.30 (br d, *J*=7.94 Hz, 2 H) 7.45 (br d, *J*=8.16 Hz, 2 H) 7.56 (br d, *J*=7.28 Hz, 1 H) 7.61 - 7.67 (m, 2 H) 7.83 (br d, *J*=7.50 Hz, 1 H).

Intermediario 158: (3Z,8R,9S)-9-(4-bromofenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno.

A una solución del Intermediario 157 (1.70 g, 1.78 mmol, 1.00 eq.), en CH₃CN (17.00 ml), se adicionó bencenotiol (293.67 mg, 2.67 mmol, 271.92 µl, 1.50 eq.) y Cs₂CO₃ (694.74 mg, 2.13 mmol, 1.20 eq.). Después de agitar a 40 °C por 16 horas, la mezcla de reacción se disolvió en agua (100 ml), se extrajo con DCM (30 ml x 3), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y luego se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1 a diclorometano:metanol = 10:1) para proveer el Intermediario 158 (650.00 mg, 1.55 mmol, 87.18% de rendimiento, 70% de pureza) como un aceite negro. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.42 - 2.50 (m, 1 H) 2.52 - 2.61 (m, 1 H) 2.77 - 3.10 (m, 3 H) 3.22 (br dd, *J*=16.22, 4.38 Hz, 1 H) 3.36 - 3.50 (m, 3 H) 3.53 - 3.69 (m, 3 H) 3.77 (br t, *J*=8.99 Hz, 1 H) 5.67 - 5.86 (m, 2 H) 7.21 - 7.28 (m, 2 H) 7.44 (d, *J*=8.33 Hz, 2 H).

Intermediario 159: (3Z,8R,9S)-9-(4-bromofenil)-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-eno-6-carboxamida.

A una solución del Intermediario 158 (650.00 mg, 1.55 mmol, 1.00 eq.), en DCM (10.00 ml), se adicionó TEA (78.52 mg, 775.92 µmol, 107.56 µl, 0.50 eq.) y luego se adicionó 1-isocianato-4-metoxi-benceno (277.75 mg, 1.86 mmol, 239.44 µl, 1.20 eq.) a 20 °C bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 20 °C por 1 hora. La LCMS mostró que el reactante 158 se consumió completamente y la mayoría era el producto deseado, y la mezcla de reacción se disolvió en agua (10 ml), se extrajo con DCM (5 ml x 3), la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y luego se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1 a 1:1) para proveer el Intermediario 159 (560.00 mg, 1.27 mmol, 81.84% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.37 - 2.56 (m, 1 H) 3.24 - 3.33 (m, 1 H) 3.34 - 3.41 (m, 1 H) 3.42 - 3.53 (m, 1 H) 3.54 - 3.64 (m, 2 H) 3.68 - 3.74 (m, 2 H) 3.77 (s, 3 H) 3.86 (br dd, *J*=15.88, 7.28 Hz, 1 H) 4.17 (br d, *J*=15.44 Hz, 1 H) 5.64 (br d, *J*=11.69 Hz, 1 H) 5.74 - 5.91 (m, 1 H) 6.06 (s, 1 H) 6.82 (d, *J*=8.82 Hz, 2 H) 7.22 (d, *J*=9.04 Hz, 2 H) 7.34 (d, *J*=8.16 Hz, 2 H) 7.48 (d, *J*=8.38 Hz, 2 H).

Intermediarios 160a y 160b: (3S,4R,8R,9S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (160a);

(3R,4S,8R,9S)-9-(4-bromofenil)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (160b).

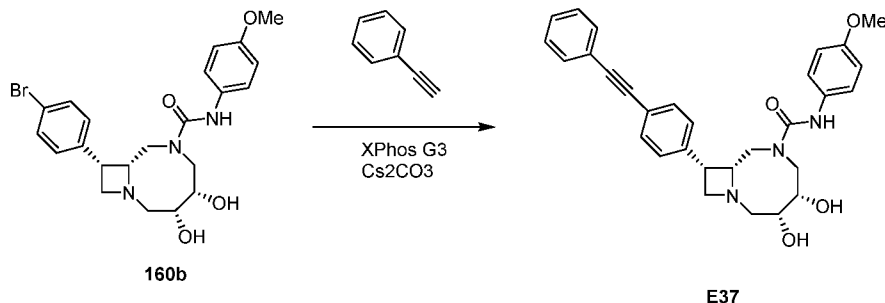
A una solución del Intermediario 159 (500.00 mg, 1.13 mmol, 1.00 eq.), en acetona (5.00 ml) y H₂O (500.00 µl), se adicionó NMO (198.63 mg, 1.69 mmol, 178.95 µl, 1.50 eq.) y OsO₄ (2.87 mg, 11.30 µmol, 0.59 µl, 0.01 eq.) a -78 °C. La mezcla de reacción resultante luego se dejó agitar a 20 °C por 0.5 h. La TLC mostró que el reactante se consumió completamente y se observaron dos productos deseados, y la mezcla de reacción se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo). El Intermediario 160a (100.00 mg, 209.93 µmol, 61.92% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco (¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.17 - 2.37 (m, 1 H) 2.63 (br d, *J*=13.16 Hz, 1 H) 2.90 (br dd, *J*=13.37, 8.55 Hz, 1 H) 3.23 (br d, *J*=15.79 Hz, 1 H) 3.39 - 3.45 (m, 1 H) 3.46 - 3.52 (m, 2 H) 3.58 (br d, *J*=5.26 Hz, 2 H) 3.73 - 3.83 (m, 5 H) 3.95 (br s, 1 H) 4.11 (br dd, *J*=15.57, 5.04 Hz, 1 H) 4.25 (br s, 1 H) 6.81 (d, *J*=8.77 Hz, 2 H) 7.16 (d, *J*=8.77 Hz, 2 H) 7.32 (d, *J*=8.33 Hz, 2 H) 7.44 (d, *J*=8.33 Hz, 2 H) 7.92 (br s, 1 H) y el Intermediario 160b (275.00 mg, 577.29 µmol, 72.98% de rendimiento) como un sólido blanco (¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.27 (br s, 1 H) 2.79 (br d, *J*=14.03 Hz, 1 H) 2.93 - 3.05 (m, 1 H) 3.27 - 3.52 (m, 1 H) 3.45 - 3.52 (m, 3 H) 3.54 - 3.70 (m, 5 H) 3.73 - 3.82 (m, 4 H) 6.79 (d, *J*=9.21 Hz, 2 H) 7.21 (d, *J*=8.77 Hz, 2 H) 7.25 - 7.30 (m, 1 H) 7.27 (d, *J*=6.82 Hz, 1 H) 7.28 - 7.31 (m, 1 H) 7.47 (d, *J*=8.33 Hz, 2 H)).

Síntesis de E36: (3S,4R,8R,9S)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E36).

A una solución del Intermediario 160a (10.00 mg, 20.99 µmol, 1.00 eq.) y etinilbenceno (6.43 mg, 62.97 µmol, 6.91 µl, 3.00 eq.), en CH₃CN (150.00 µl), se adicionó Cs₂CO₃ (27.36 mg, 83.96 µmol, 4.00 eq.) y Xphos Pd G3 (1.78 mg, 2.10 µmol, 0.10 eq.) bajo atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 70 °C por 1 hora. La LCMS mostró que el reactante 1 se consumió completamente, y la mayoría era el producto deseado. La mezcla de reacción se filtró, el residuo de filtro se lavó con DCM (10 ml) y el filtrado se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 1:1), y luego se purificó además por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer el compuesto E36 (4.00 mg, 8.04 µmol, 38.30% de rendimiento) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 2.31 - 2.44 (m, 1 H) 2.73 (br d, *J*=13.45 Hz, 1 H) 2.92 - 2.99 (m, 1 H) 3.33 (br d, *J*=15.66 Hz, 1 H) 3.57 (br t, *J*=7.39 Hz, 2 H) 3.70 (br d, *J*=4.63 Hz, 1 H) 3.75 - 3.85 (m, 4 H) 3.87 - 3.94 (m, 1 H) 4.00 (br s, 1 H) 4.16 (br d, *J*=16.32 Hz, 1 H) 6.83

(br d, $J=8.82$ Hz, 2 H) 7.21 (br d, $J=8.82$ Hz, 2 H) 7.35 (br s, 3 H) 7.44 (br d, $J=7.94$ Hz, 2 H) 7.49 - 7.59 (m, 4 H) 7.82 (br s, 1 H).

Ejemplo 37: (3R,4S,8R,9S)-3,4-dihidroxi-N-(4-metoxifenil)-9-[4-(2-feniletinil)fenil]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida ("E37").



A una solución agitada del Intermediario 160b (10.00 mg, 20.99 μ mol, 1.00 eq.) y etinilbenceno (6.43 mg, 62.98 μ mol, 6.92 μ l, 3.00 eq.), en CH_3CN (150.00 μ l), se adicionó Cs_2CO_3 (27.36 mg, 83.97 μ mol, 4.00 eq.) y Xphos Pd G3 (1.78 mg, 2.10 μ mol, 0.10 eq.) bajo atmósfera de N_2 . La mezcla se agitó a 70 °C por 1 hora. La LCMS mostró que el reactante 160b se consumió completamente, y la mayoría era el producto deseado. La mezcla de reacción se filtró, el residuo de filtro se lavó con DCM (5 ml) y el filtrado se concentró para proveer un residuo. El residuo se purificó por TLC preparativa (SiO_2 , éter de petróleo/acetato de etilo = 1:1), y luego se purificó además por HPLC previa (Columna: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: agua (0.225% de ácido fórmico) B: acetonitrilo) para proveer el compuesto E37 (5.00 mg, 10.05 μ mol, 47.87% de rendimiento) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.32 (br s, 1 H) 2.60 (br s, 2 H) 2.87 (br d, $J=14.11$ Hz, 1 H) 3.06 (dd, $J=14.00, 6.95$ Hz, 1 H) 3.29 - 3.48 (m, 2 H) 3.57 - 3.65 (m, 2 H) 3.71 (br d, $J=5.51$ Hz, 4 H) 3.77 (s, 3 H) 3.80 - 3.84 (m, 1 H) 6.66 (br s, 1 H) 6.82 (d, $J=8.82$ Hz, 2 H) 7.20 - 7.26 (m, 2 H) 7.27 (s, 1 H) 7.33 - 7.43 (m, 5 H) 7.49 - 7.57 (m, 4 H).

Ejemplo 38: (3R,4S,8R,9S,10S)-N-(4-ciclopropoxifenil)-10-((dimetilamino)metil)-3,4-dihidroxi-9-(4-(feniletinil)fenil)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decano-6-carboxamida (E38)

La síntesis del compuesto E38 se realizó en una ruta sintética por lo demás idéntica a la síntesis del compuesto E1, donde el Intermediario 4b se utilizó en lugar del Intermediario 4a. Las mismas etapas de reacciones que se describen arriba se siguieron luego.

Mediciones de actividad biológica

Ejemplo 39: Cultivo y ensayo *in vitro* en fase sanguínea de *P. falciparum*.

Se obtuvieron cepas de *P. falciparum* (Dd2, 3D7, D6, K1, NF54, V1/3, HB3, 7G8, FCB y TM90C2B) del Malaria Research and Reference Reagent Resource Center (MR4). Se mantuvieron aislamientos de *P. falciparum* con sangre humana O positiva en una atmósfera de 93% de N_2 , 4% de CO_2 , 3% de O_2 a 37 °C en medio de cultivo completo (10.4 g/l de RPMI 1640, 5.94 g/l de HEPES, 5 g/l de albumax II, 50 mg/l de hipoxantina, 2.1 g/l de bicarbonato de sodio, 10% de suero humano y 43 mg/l de gentamicina). Los parásitos se cultivaron en el medio hasta que la parasitemia alcanzó 3 a 8%. La parasitemia se determinó al comprobar por lo menos 500 glóbulos rojos de un frotis de sangre teñido con Giemsa. Para el análisis selectivo de compuestos, una dilución de parásitos a 2.0% de parasitemia y 2.0% de hematocrito se creó con el medio. Una cantidad de 25 μ l de medio se distribuyó en placas negras de fondo transparente de 384 pozos, y se transfirieron 100 ml de cada compuesto en DMSO a placas de ensayo junto con el compuesto de control (mefloquina). A continuación, 25 μ l de la suspensión de parásitos en medio se distribuyeron en las placas de ensayo, dando una parasitemia final de 1% y un hematocrito final de 1%. Las placas de ensayo se incubaron por 72 h a 37 °C. Una cantidad de 10 μ l de reactivo de detección, consistente en 10x SYBR Green I (Invitrogen; abastecido en concentración 10,000x) en regulador de lisis (Tris-HCl 20 mM, EDTA 5 mM, 0.16% (p/v) de Saponina, 1.6% (v/v) de Triton X-100), se distribuyó en las placas de ensayo. Para una tinción óptima, las placas de ensayo se dejaron a temperatura ambiente por 24 h en oscuridad. Las placas de ensayo se leyeron con 505 espejos dicróicos con parámetros de excitación a 485 nm y emisión a 530 nm en un Envision (PerkinElmer).

Al seguir el protocolo arriba descrito, la concentración efectiva al 50% (EC_{50}) para los compuestos E1 a E38 (de los cuales E3, E4, E24 y de E30 a E35 no forman parte de la presente invención) se midió contra *P. falciparum* Dd2, y los resultados se muestran en la Tabla 4 a continuación como +++ para una EC_{50} menor a 50 nM, ++ para una EC_{50} de 50 nM a 250 nM y + para una EC_{50} >250 nM.

Tabla 4

Ejemplo	Pf Dd2 (nM)						
E1	+++	E1 1	++	E21	+	E31	+
E2	+++	E1 2	++	E22	+	E32	+
E3	+	E1 3	+++	E23	++	E33	+++
E4	+++	E1 4	+++	E24	+	E34	+++
E5	+++	E1 5	+++	E25	++	E35	+++
E6	+++	E1 6	+	E26	+++	E36	++
E7	+++	E1 7	+++	E27	+++	E37	++
E8	++	E1 8	+	E28	++	E38	+++
E9	+++	E1 9	++	E29	++		
E10	+++	E2 0	+	E30	+		

Ejemplo 40: Ensayo *in vitro* en fase hepática de *P. berghei*.

Células HepG2 (ATCC) se mantuvieron en DMEM, 10% (v/v) de FBS (Sigma) y 1% (v/v) de antibiótico–antimicótico en una incubadora de cultivo de tejidos estándar (37 °C, 5% de CO₂). Mosquitos *A. stephensi* infectados con *P. berghei* (ANKA GFP–luc) se obtuvieron del New York University Langone Medical Center Insectary. Para los ensayos, ~17,500 células HepG2 por pozo se adicionaron a una placa de microtitulación de 384 pozos por duplicado. Después de 18 a 24 h a 37 °C el medio se intercambié y los compuestos se adicionaron. Después de 1 h, los parásitos obtenidos a partir de mosquitos recién disecados se adicionaron a las placas (4,000 parásitos por pozo), las placas se centrifugaron por 10 min a 1,000 r.p.m. y luego se incubaron a 37 °C. El volumen de ensayo final fue de 30 µl. Después de una incubación de 48 h a 37 °C, se adicionó Bright-Glo (Promega) a la placa de parásitos para medir la luminiscencia relativa. La intensidad de señal relativa de cada placa se evaluó con un sistema EnVision (PerkinElmer).

Ejemplo 41: Ensayo *in vitro* en fase hepática de *P. falciparum*.

El cocultivo micromodelado (MPCC) es un sistema de cocultivo *in vitro* de hepatocitos humanos primarios organizados en colonias y rodeados de células de estroma de soporte. Los hepatocitos en este formato mantienen un fenotipo funcional durante hasta 4 a 6 semanas sin proliferación, según lo evaluado por las principales funciones específicas del hígado y la expresión génica. En resumen, se recubrieron placas de 96 pozos en forma homogénea con colágena tipo I de cola de rata (50 µg/ml) y se sometieron a técnicas de litografía blanda para modelar la colágena en microdominios de islas de 500 µm que median la adhesión selectiva de hepatocitos. Para crear los MPCC, se sedimentaron hepatocitos humanos primarios criopreservados (BioreclamationIVT) por centrifugación a 100 g durante 6 minutos a 4 °C, se evaluó la viabilidad al utilizar exclusión de azul de tripano (típicamente 70 a 90%) y se cultivaron en placas de colágena micromodeladas (cada pozo con ~10,000 hepatocitos organizados en colonias de 500 µm) en DMEM libre de suero con penicilina-estreptomicina al 1%. Las células se lavaron con DMEM libre de suero con penicilina-estreptomicina al 1% 2 a 3 h después, y se reemplazó con medio de cultivo de hepatocitos humanos 48. Se cultivaron fibroblastos embrionarios de ratón 3T3-J2 (7,000 células por pozo) 24 h después del cultivo de hepatocitos.

Los MPCC se infectaron con 75,000 esporozoitos (NF54) (Johns Hopkins University) 1 día después de cultivar los hepatocitos. Después de la incubación a 37 °C y 5% de CO₂ por 3 h, los pozos se lavaron una vez con PBS y se adicionaron los compuestos respectivos. Los cultivos se dosificaron diariamente. Las muestras se fijaron en el día 3.5 después de la infección. Para la tinción de inmunofluorescencia, los MPCC se fijaron con metanol a -20 °C por 10 min a 4 °C, se lavaron dos veces con PBS, se bloquearon con BSA al 2% en PBS y se incubaron con anticuerpos de ratón anti-*P. falciparum* Hsp70 (clon 4C9, 2 µg/ml) por 1 h a temperatura ambiente. Las muestras se lavaron con PBS y

luego se incubaron con anticuerpo de cabra secundario anti-ratón conjugado con Alexa 488 por 1 h a temperatura ambiente. Las muestras se lavaron con PBS, se contratiñeron con el colorante de DNA Hoechst 33258 (Invitrogen; 1:1,000) y se montaron en portaobjetos de vidrio con fluoromount G (Southern Biotech). Las imágenes se capturaron en un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse Ti. Se midieron los diámetros de los parásitos en fase hepática en desarrollo y se utilizaron para calcular el área correspondiente.

Ejemplo 42: Ensayo bioquímico de PheRS citoplásmica de *P. falciparum*.

Las secuencias de proteínas de las subunidades α (PF3D7_0109800) y β (PF3D7_1104000) de PheRS citoplásmica de *P. falciparum* se obtuvieron de PlasmoDB (<http://plasmodb.org/plasmo/>). Las secuencias génicas de las subunidades α y β de longitud completa, optimizadas para su expresión en *E. coli*, se clonaron en los vectores de expresión pETM11 (resistencia a kanamicina) y pETM20 (resistencia a ampicilina) al utilizar los sitios Nco1 y Kpn1, y se cotransformaron en células de *E. coli* B834. La expresión de proteínas se indujo por la adición de isopropil β -D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) 0.5 mM, y las células se hicieron crecer hasta que se alcanzó una OD₆₀₀ de 0.6 a 0.8 a 37 °C. Luego se dejaron crecer a 18 °C durante 20 h después de la inducción. Las células se separaron por centrifugación a 5,000 g por 20 min y los sedimentos bacterianos se suspendieron en un regulador consistente en Tris-HCl 50 mM (pH 7.5), NaCl 200 mM, β -mercaptoetanol 4 mM, 15% (v/v) de glicerol, 0.1 mg/ml de lisozima y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) 1 mM. Las células se lisaron por sonicación y se aclararon por centrifugación a 20,000 g por 1 h. El sobrenadante se aplicó a una columna de NiNTA preempaquetada (GE Healthcare), y las proteínas unidas se eluyeron por mezclado de gradientes con regulador de elución (Tris-HCl 50 mM (pH 7.5), NaCl 80 mM, β -mercaptoetanol 4 mM, 15% (v/v) de glicerol, imidazol 1 M). Las fracciones puras se acumularon y se cargaron en una columna de heparina para su purificación posterior. Nuevamente, las proteínas unidas se eluyeron al utilizar un gradiente de regulador de elución en heparina Tris-HCl 50 mM (pH 7.5), NaCl 1 M, β -mercaptoetanol 4 mM, glicerol al 15% (v/v). Las fracciones puras se acumularon nuevamente y se dializaron durante la noche en un regulador que contenía Tris-HCl 50 mM (pH 7.5), NaCl 200 mM, β -mercaptoetanol 4 mM, DTT 1 mM y EDTA 0.5 mM. La proteasa TEV (relación proporcional 1:50 de proteasa:proteína) se adicionó a la muestra de proteína y se incubó a 20 °C por 24 h para retirar la etiqueta de polihistidina. La proteína se purificó además mediante cromatografía de filtración en gel en una columna GE HiLoad 60/600 Superdex en Tris-HCl 50 mM (pH 7.5), NaCl 200 mM, β -mercaptoetanol 4 mM, MgCl₂ 1 mM. La proteína eluida (un heterodímero de cPheRS de *P. falciparum*) se recolectó, se evaluó su pureza mediante SDS-PAGE y se almacenó a -80 °C.

El tRNAPhe codificado nuclear de *P. falciparum* se sintetizó al utilizar un método de transcripción *in vitro*, como se describe en *Nature* 538, 344–349 (20 October 2016) doi:10.1038/nature19804. Los ensayos de aminoacilación e inhibición enzimática para PheRS citosólica de *P. falciparum* se realizaron como se describe en *Biochem. J.* 465, 459–469 (2015). Los ensayos enzimáticos se realizaron en regulador que contenía HEPES 30 mM (pH 7.5), NaCl 150 mM, KCl 30 mM, MgCl₂ 50 mM, DTT 1 mM, ATP 100 μ M, L-fenilalanina 100 μ M, tRNAPhe de *P. falciparum* 15 μ M, 2 U/ml de pirofosfatasa inorgánica (NEB) de *E. coli* y PheRS recombinante de *P. falciparum* 500 nM a 3 °C. Las reacciones en diferentes puntos en el tiempo se detuvieron por la adición de EDTA 40 mM y la subsecuente transferencia a hielo. La proteína de unión a maltosa recombinante se utilizó como control negativo. Los ensayos de inhibición de cPheRS se realizaron al utilizar concentraciones de inhibidor de 0.01 nM, 0.1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 μ M, 5 μ M y 10 μ M para porciones de unión fuertes y 1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M y 500 μ M para porciones de unión más débiles en el regulador de ensayo. Los experimentos enzimáticos y de inhibición se realizaron dos veces por triplicado.

Ejemplo 43: Ensayos de citotoxicidad en células de mamífero.

Se obtuvieron células de mamífero (HepG2, A549 y HEK293) de la ATCC y se cultivaron rutinariamente en DMEM con 10% de FBS y 1% (v/v) de antibiótico-antimicótico. Para ensayos de citotoxicidad, 1×10^6 células se cultivaron en placas de 384 pozos 1 día antes del tratamiento con compuestos. Las células se trataron con dosis ascendentes de compuesto durante 72 h, y la viabilidad se midió al utilizar Cell-Titer Glo (Promega). Todas las líneas celulares se analizaron para detectar contaminación por *Mycoplasma* al utilizar el Universal mycoplasma Detection Kit (ATCC).

Ejemplo 44: Ensayos ADME/PK y de seguridad *in vitro*.

Los ensayos de caracterización *in vitro* (unión a proteínas, estabilidad microsómica, estabilidad de hepatocitos, inhibición de citocromo P450 (CYP) y solubilidad acuosa) se realizaron de acuerdo con técnicas estándar en la industria. Los estudios de inhibición de canales iónicos se realizaron al utilizar el sistema Q-Patch, utilizando técnicas estándar.

Ejemplo 45: Ensayo *in vivo* en fase sanguínea de *P. berghei*.

Ratones CD-1 (n = 4 por grupo experimental; hembras; 6 a 7 semanas de edad; 20 a 24 g, Charles River) se inocularon por vía intravenosa con aproximadamente 1×10^5 parásitos *P. berghei* (ANKA GFP-luc) en fase sanguínea 24 h antes del tratamiento, y los compuestos se administraron por vía oral (a 0 h). La parasitemia se monitoreó por un sistema de obtención de imágenes *in vivo* (IVIS SpectrumCT, PerkinElmer) para adquirir la señal de bioluminiscencia (se inyectaron 150 mg kg⁻¹ de luciferina por vía intraperitoneal aproximadamente 10 minutos antes de la obtención de imágenes). Además, se obtuvieron muestras de frotis sanguíneos de cada ratón periódicamente, se tiñeron con Giemsa y se observaron con un microscopio para la detección visual de la parasitemia. Los animales con parasitemia

que excedía 25% se sacrificaron humanitariamente.

Ejemplo 46: Ensayo *in vivo* de profilaxis causal de *P. berghei*.

Ratones CD-1 (n = 4 por grupo experimental; hembras; 6 a 7 semanas de edad; 20 a 24 g, Charles River) se inocularon por vía intravenosa con aproximadamente 1×10^5 esporozoitos de *P. berghei* (ANKA GFP-luc) recién disecados de mosquitos *A. stephensi*. Inmediatamente después de la infección, los ratones se trataron con dosis orales únicas de Compuesto, y la infección se monitoreó como se describe para el ensayo de fase eritrocítica de *P. berghei*. Para los experimentos a lo largo del tiempo, el tiempo de tratamiento con compuestos (dosis oral única de 10 mg kg⁻¹) varió desde 5 días antes de la infección hasta 2 días después de la infección.

Ejemplo 47: Ensayo *in vivo* en fase de transmisión de *P. berghei*.

Ratones CD-1 (n = 3 por grupo experimental; hembras; 6 a 7 semanas de edad; 21 a 24 g, Charles River) se infectaron con *P. berghei* (ANKA GFP-luc) por 96 h antes del tratamiento con vehículo o compuesto (día 0). En el día 2, se dejó que los mosquitos *A. stephensi* hembra se alimentaran de los ratones por 20 min. Después de 1 semana (día 9), los intestinos medios de los mosquitos se disecaron y los oocistos se contaron microscópicamente (aumento de 12.5x).

Ejemplo 48: Ensayo *in vivo* en fase sanguínea de *P. falciparum*.

P. falciparum adaptados *in vivo* (3D7HLH/BRD) se seleccionaron como se describe en *PLoS One* 3, e2252 (2008). En resumen, ratones NSG (n = 2 por grupo experimental; hembras; 4 a 5 semanas de edad; 19 a 21 g; The Jackson Laboratory) se inyectaron por vía intraperitoneal con 1 ml de eritrocitos humanos (O positivos, hematocrito al 50%, 50% de RPMI 1640 con 5% de albumax) diariamente para generar ratones con eritrocitos circulantes humanizados (huRBC NSG). Con aproximadamente 2×10^7 *P. falciparum* 3D7HLH/BRD en fase sanguínea (*FASEB J.* 25, 3583–3593 (2011)) se infectaron por vía intravenosa ratones huRBC NSG y >1% de parasitemia se logró 5 semanas después de la infección. Después de tres pases *in vivo*, los parásitos se congelaron y utilizaron experimentalmente. Aproximadamente 48 h después de la infección con 1×10^7 *P. falciparum* 3D7HLH/BRD en fase sanguínea, la parasitemia media fue de aproximadamente 0.4%. Los ratones huRBC NSG se trataron por vía oral con una sola dosis de compuesto, y la parasitemia se monitoreó durante 30 días por IVIS para adquirir la señal de bioluminiscencia (150 mg kg⁻¹ de luciferina se inyectaron por vía intraperitoneal aproximadamente 10 minutos antes de la obtención de imágenes).

Ejemplo 49: Ensayo *in vivo* en fase de transmisión de *P. falciparum*.

Ratones huRBCNSG (n = 2 por grupo experimental; hembras; 4 a 5 semanas de edad; 18 a 20 g; Jackson Laboratory) se infectaron con *P. falciparum* 3D7HLH/BRD en fase sanguínea durante 2 semanas para permitir el desarrollo de gametocitos maduros. Posteriormente, los ratones se trataron con una sola dosis oral de compuesto. Se recolectaron muestras de sangre durante 11 días. Para la detección molecular de las fases parasitarias, se obtuvieron 40 µl de sangre a partir de ratones control y tratados. En resumen, se aisló RNA total a partir de las muestras de sangre al utilizar el RNeasy Plus Kit con columnas de eliminación de DNA genómico (Qiagen). La síntesis de cDNA de primera hebra se realizó a partir de RNA extraído al utilizar el SuperScript III First- Strand Synthesis System (Life Technologies). Las fases parasitarias se cuantificaron al utilizar un ensayo qRT-PCR específico de fase, como se describe en *Sci. Transl. Med.* 6, 244re5 (2014). Se diseñaron iniciadores para medir los niveles de transcripción de PF3D7_0501300 (parásitos en fase de anillo), PF3D7_1477700 (gametocitos inmaduros) y PF3D7_1031000 (gametocitos maduros). Se utilizaron iniciadores para transcritos de PF3D7_1120200 (*P. falciparum* UCE) como marcador parasitario expresado constitutivamente. El ensayo se realizó al utilizar cDNA en un volumen de reacción total de 20 µl, que contenía iniciadores para cada gen a una concentración final de 250 nM. La amplificación se realizó en una máquina Viia7 qRT-PCR (Life Technologies) al utilizar SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems) con las siguientes condiciones de reacción: 1 ciclo x 10 min a 95 °C y 40 ciclos x 1 s a 95 °C y 20 s a 60 °C. Cada muestra de cDNA se procesó por triplicado y el valor medio de Ct se utilizó para el análisis. Los valores de Ct obtenidos arriba del corte (control negativo) para cada marcador se consideraron negativos para la presencia de transcritos específicos. Las muestras sanguíneas de cada ratón, antes de la inoculación parasitaria, también se analizaron para detectar 'ruido de fondo' al utilizar los mismos conjuntos de iniciadores. No se detectó amplificación de ninguna muestra.

Ejemplo 50: Ensayo *in vivo* en fase hepática de *P. falciparum*.

Ratones C57BL/6 con inactivación de FRG (repoblaciones humanas, >70%) (inactivación huHep FRG; n = 2 por grupo experimental; hembras; 5.5 a 6 meses de edad; 19 a 21 g; Yecuris) se inocularon por vía intravenosa con aproximadamente 1×10^5 esporozoitos de *P. falciparum* (NF54HT-GFP-luc) y el compuesto se administró en una sola dosis oral de 10 mg kg⁻¹ un día después de la inoculación. La infección se monitoreó a diario por IVIS. El injerto diario de eritrocitos humanos (0.4 ml, O positivos, 50% de hematocrito, 50% de RPMI 1640 con 5% de albumax) se inició 5 días después de la inoculación. Para análisis de qPCR, se recolectaron muestras de sangre (40 µl) 7 días después de la inoculación. Para la detección molecular del parásito en fase sanguínea, se obtuvieron 40 µl de sangre a partir de ratones control y tratados. En resumen, se aisló RNA total a partir de las muestras de sangre al utilizar el RNeasy Plus Kit con columnas de eliminación de DNA genómico (Qiagen). La síntesis de cDNA de primera hebra se realizó a partir de RNA extraído al utilizar el SuperScript III First- Strand Synthesis System (Life Technologies). La presencia de los parásitos en fase sanguínea se cuantificó al utilizar un ensayo qRT-PCR altamente específico de fases, como se

describe en *PLOS Comput. Biol.* 9, e1003392 (2013). Se diseñaron iniciadores para medir los niveles del transcrito de PF3D7_1120200 (*P. falciparum* UCE). El ensayo se realizó al utilizar cDNA en un volumen de reacción total de 20 µl, que contenía iniciadores para cada gen a una concentración final de 250 nM. La amplificación se realizó en una máquina Vii7 qRT-PCR (Life Technologies) al utilizar SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems), y las condiciones de reacción fueron de la siguiente manera: 1 ciclo x 10 min a 95 °C y 40 ciclos x 1 s a 95 °C y 20 s a 60 °C. Cada muestra de cDNA se procesó por triplicado y el valor medio de Ct se utilizó para el análisis. Los valores de Ct obtenidos arriba del corte (control negativo) para cada marcador se consideraron negativos para la presencia de transcritos específicos. Las muestras sanguíneas de cada ratón también se analizaron para detectar 'ruido de fondo', al utilizar los mismos conjuntos de iniciadores antes de la inoculación parasitaria. No se detectó amplificación de ninguna muestra.

Ejemplo 51: Ensayo *in vivo* de *C. parvum*.

El modelo de ratones gamma NOD SCID de infección crónica asintomática por *C. parvum* se utilizó para evaluar la eficacia de compuestos *in vivo*. Ratones gamma NOD SCID se infectaron con $\sim 1 \times 10^5$ oocistos de *C. parvum* por sonda orogástrica 5 a 7 días después del destete. Los animales infectados comienzan a arrojar oocistos en las heces 1 semana después de la infección, lo cual se mide por PCR cuantitativa (qPCR). Con base en la experiencia con el compuesto de control positivo paromomicina, se requieren cuatro ratones por grupo experimental para lograr una potencia de 80% para detectar una reducción porcentual de 80% en la eliminación de parásitos después de cuatro días de compuesto farmacológico. Además de los grupos experimentales en régimen farmacológico, en cada experimento se incluyen grupos adicionales de control negativo (sonda gástrica con acarreador de DMSO/metilcelulosa) y positivo (paromomicina 2000 mg/kg una vez al día). Los ratones se infectan 5 a 7 días después del destete (día -6), la infección se confirma 1 semana después (día 0), y los compuestos experimentales se dosifican por sonda orogástrica en los días 1 a 4. La frecuencia de dosificación fue como se indica. La eficacia del tratamiento se evaluó por la medición de la eliminación de oocistos fecales por qPCR en el día 5.

Ejemplo 52: Ensayo *in vitro* de EC₅₀ de *C. parvum*.

Se obtuvieron células de adenocarcinoma ileocecal humano (HCT-8) de la ATCC y se mantuvieron en matraces de cultivo de tejidos T-75 con medio RPMI 1640 con HEPES, piruvato de sodio (1 mM) y L-glutamina (ATCC), complementado con suero equino al 10% (ATCC), 120 U/ml de penicilina y 120 µg/ml de estreptomycin. Las células se colocaron en placas de 384 micropozos de fondo transparente y paredes negras, tratadas para cultivo de tejidos (BD Falcon), a una densidad de 8,850 células/pozo, y se dejaron crecer hasta confluencia. Luego se inocularon con 5.5×10^3 oocistos de *C. parvum* sensibilizados (Bunchgrass Farms, Deary, ID) suspendidos en medio de inoculación (RPMI 1640 sin suero equino). Los oocistos se sensibilizaron para exquistación al seguir un protocolo descrito previamente (J. Eukaryot. Microbiol. 46:56S–57S). Brevemente, los oocistos se trataron por 10 min con HCl 10 mM a 37 °C, se centrifugaron y se trataron con una solución 2 mM de taurocolato de sodio (Sigma-Aldrich) en solución salina regulada con fosfatos (PBS) con Ca²⁺ y Mg²⁺. La suspensión se incubó por 10 min a 16 °C, luego se diluyó en medio de inoculación y se adicionó a cada pozo. Las células infectadas se incubaron a 37 °C por 3 h, punto en el cual un volumen igual de medio de crecimiento que contenía 20% de suero equino (concentración total de suero de 10%). Los compuestos se diluyeron y analizaron en dosis fijas de 0.12, 0.37, 1.1, 3.3 y 10 µM (cada concentración, n = 14) para la generación de curvas de EC₅₀. En el caso de curvas finales de EC₅₀, se dejaron tres pozos sin infectar pero se trataron con cada una de las concentraciones correspondientes del compuesto para evaluar la tinción de fondo. Todas las curvas se generaron al utilizar la ecuación log [inhibidor] versus respuesta _ pendiente variable en GraphPad Prism (ecuación 3), con el ajuste de restricciones inferiores igual a 0.

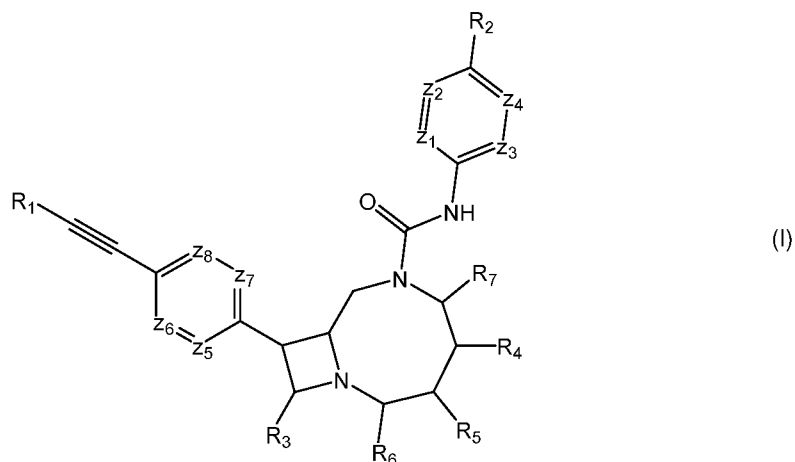
Al seguir el protocolo arriba descrito, la concentración efectiva al 50% (EC₅₀) para varios compuestos que tenían la estructura de la fórmula (I) se midió contra *C. parvum*, y los resultados se muestran en la Tabla **Tabla 5** a continuación.

Tabla 5

Compuesto	EC ₅₀ (nM)
E26	98
E27	134
E15	33
E36	6
E6	95
E4	68

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura de la fórmula (I):



R₁ es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

R₂ es alcoxi, cicloalcoxi o heterociclilo opcionalmente sustituido;

5 R₃ es hidrógeno o -CH₂-X;

R₄ es hidrógeno, -X o -CH₂-X;

R₅ es -X o -CH₂-X;

R₄ y R₅ pueden formar en conjunto un fusionado anillo de cinco o seis miembros;

R₆ y R₇ son independientemente hidrógeno o R; y

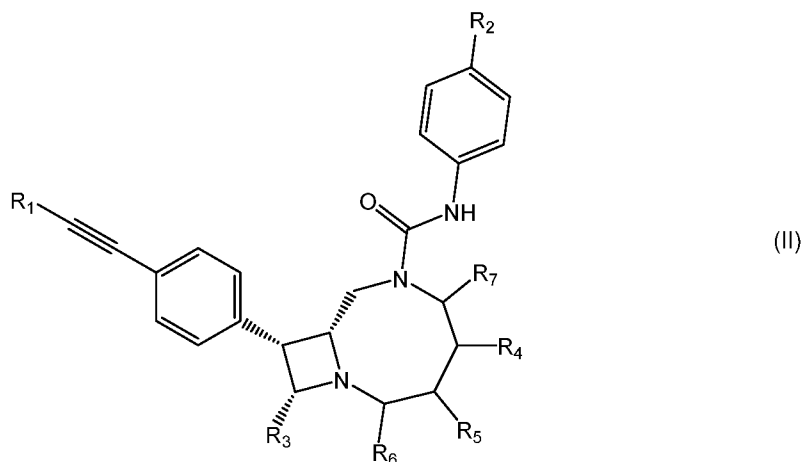
10 z₁ a z₈ se seleccionan independientemente en cada caso de entre CH o N; donde

-X se selecciona independientemente en cada caso de entre -OH, -OR, -S(O)R, -S(O)₂R, -N(R)-S(O)₂R, -S(O)₂-N(R)(R), -S(O)₂-NHR, -N(R)-C(O)-R o -N(R)(R); y

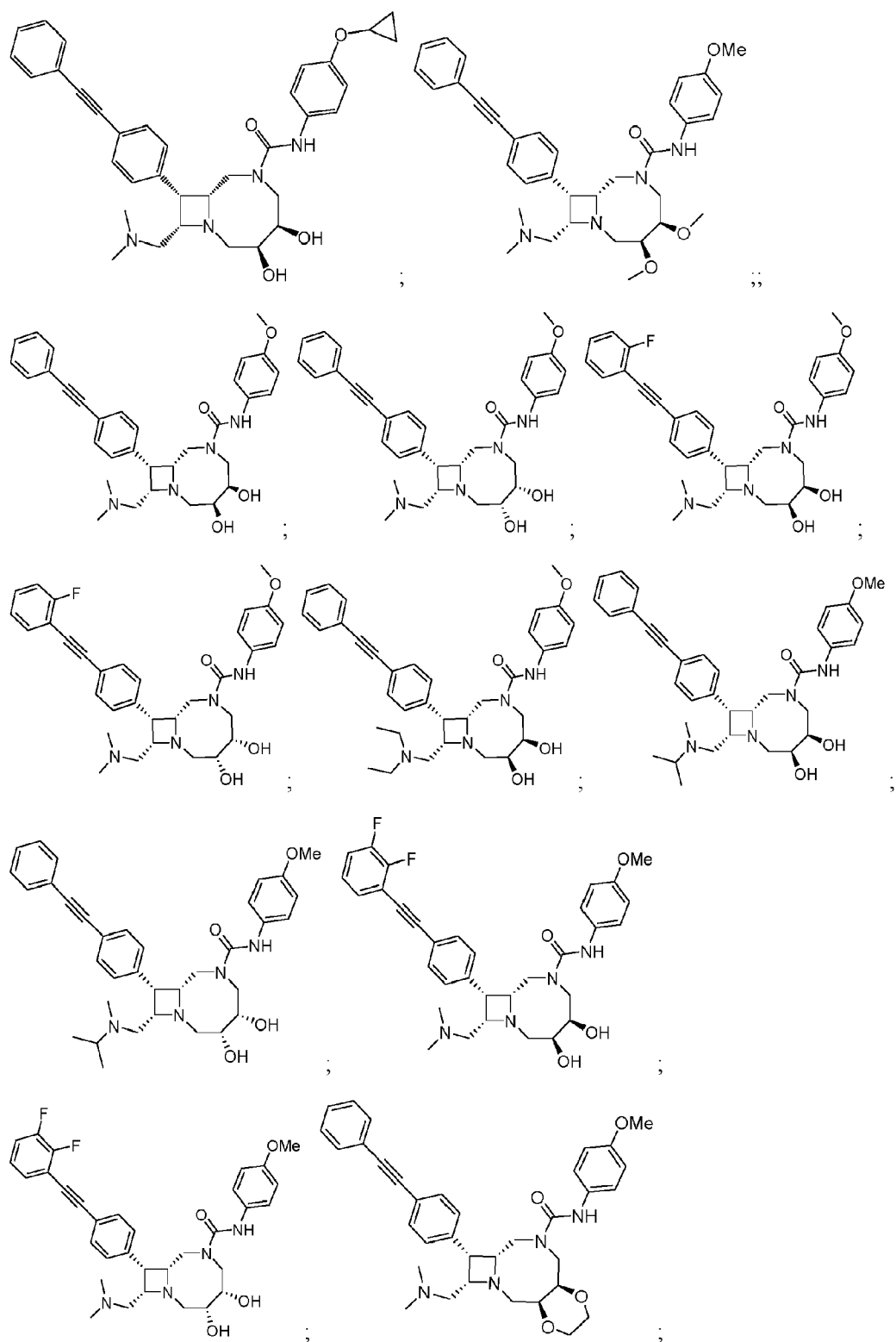
R es independientemente en cada caso un alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido;

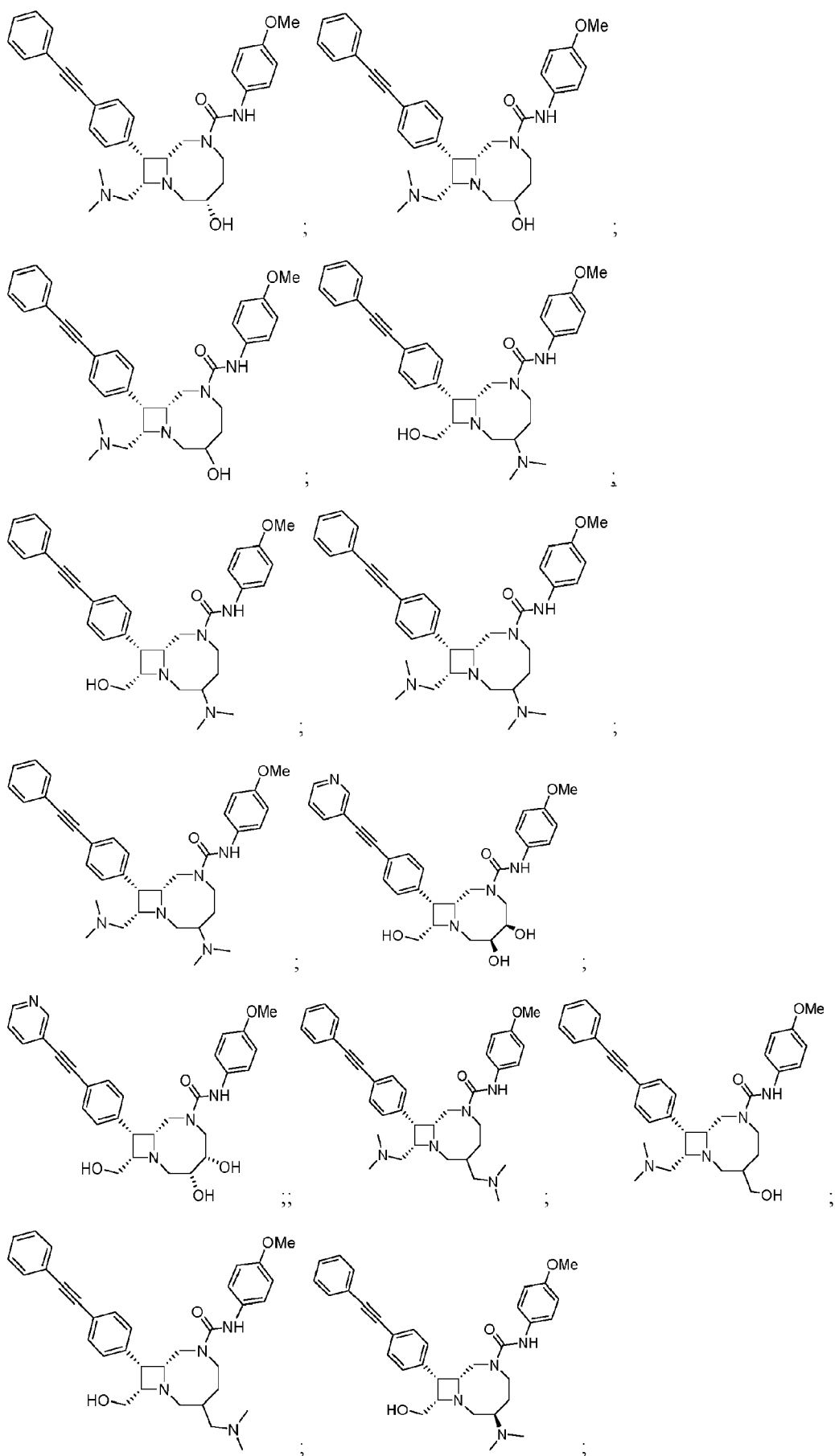
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

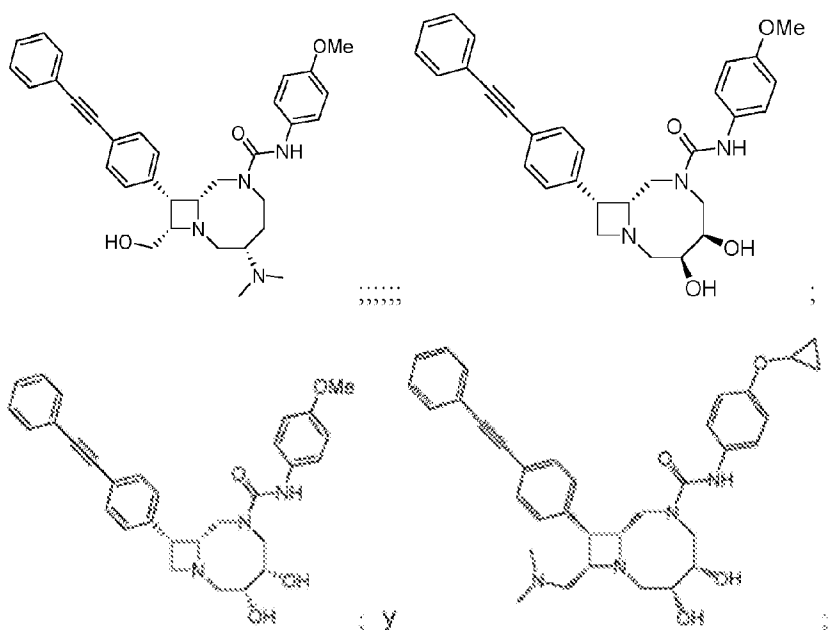
15 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la estructura de la fórmula (II):



3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en compuestos que tienen la estructura

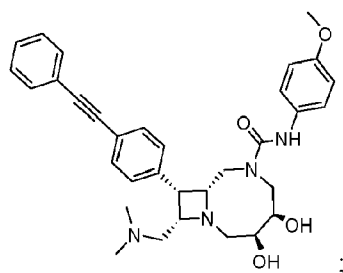






o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

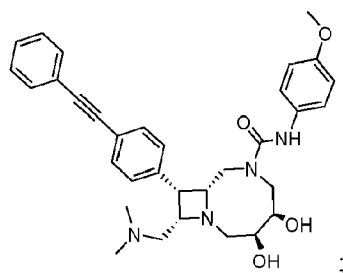
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

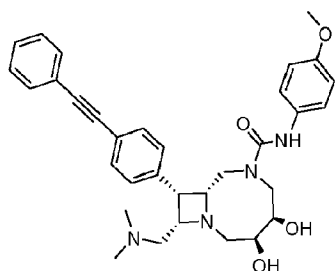
5. Una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el compuesto tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el compuesto tiene la estructura:



8. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, formulada como una composición veterinaria.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en donde dicho compuesto está presente en una cantidad eficaz para tratar la malaria.
10. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en donde dicho compuesto está presente en una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar una enfermedad provocada por un parásito del género *Cryptosporidium*, preferentemente en donde dicha enfermedad es una criptosporidiosis.
11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o la composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10 para su uso en medicina.
12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o la composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12 para su uso en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad parasitaria en un sujeto.
13. El compuesto o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicha enfermedad parasitaria es malaria o malaria resistente a fármacos.
14. El compuesto o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicha malaria se transporta en una especie de mosquito seleccionada de entre *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei* o *P. yoelii*.
15. El compuesto o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicha enfermedad parasitaria es una criptosporidiosis.