

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 979 128**

⑮ Int. Cl.:

C07D 487/20 (2006.01)

A61K 31/4747 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.08.2017 PCT/US2017/044861**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **08.02.2018 WO18026792**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2017 E 17751917 (0)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2024 EP 3490994**

⑪ Título: **Moduladores del receptor NMDA espirolactama y bis-espirolactama y uso de los mismos**

⑩ Prioridad:

01.08.2016 US 201662369534 P

⑪ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.09.2024

⑬ Titular/es:

TENACIA BIOTECHNOLOGY (HONG KONG) CO., LIMITED (100.0%)
Rm B3,19/F Tung Lee Comm Bldg,
91-97 Jervois St
Sheung Wan, Hong Kong, HK

⑭ Inventor/es:

KHAN, AMIN, M.

⑮ Agente/Representante:

GONZÁLEZ PESES, Gustavo Adolfo

ES 2 979 128 T3

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

DESCRIPCIÓN

Moduladores del receptor NMDA espirolactama y bis-espirolactama y uso de los mismos

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 Un receptor de N-metil-d-aspartato ("NMDA") es un receptor ionotrópico postsináptico que responde, entre otros, a los aminoácidos excitadores glutamato y glicina y al compuesto sintético NMDA. El receptor NMDA controla el flujo de 10 iones monovalentes y divalentes en la célula neural postsináptica a través de un canal asociado al receptor (Foster et al., *Nature* 1987, 329:395-396; Mayer et al., *Trends in Pharmacol. Sci.* 1990, 11:254-260). El receptor NMDA ha estado implicado durante el desarrollo en la especificación de la arquitectura neuronal y la conectividad sináptica, y puede estar involucrado en modificaciones sinápticas dependientes de la experiencia. Además, se cree que los receptores NMDA también están involucrados en la potenciación a largo plazo y en los trastornos del sistema nervioso central.

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

20 El receptor NMDA ha atraído un interés particular ya que parece estar involucrado en un amplio espectro de trastornos de CNS. Por ejemplo, durante la isquemia cerebral causada por un accidente cerebrovascular o una lesión traumática, las neuronas dañadas o privadas de oxígeno liberan cantidades excesivas del aminoácido excitante glutamato. Este exceso de glutamato enlaza a los receptores NMDA que abren sus canales iónicos activados por ligando; a su vez, la entrada de calcio produce un alto nivel de calcio intracelular que activa una cascada bioquímica que resulta en la degradación de proteínas y la muerte celular. Este fenómeno, conocido como excitotoxicidad, también se cree que es responsable del daño neurológico asociado con otros trastornos que van desde la hipoglucemias y el paro cardíaco hasta la epilepsia. Además, hay informes preliminares que indican una participación similar en la neurodegeneración crónica de las afecciones de Huntington, Parkinson y relacionadas con Parkinson, como la discinesia y la discinesia inducida por L-dopa y las enfermedades de Alzheimer. Se ha demostrado que la activación del receptor NMDA es responsable de las convulsiones posteriores al accidente cerebrovascular y, en ciertos modelos de epilepsia, se ha demostrado que la activación del receptor NMDA es necesaria para la generación de convulsiones. La afectación neuropsiquiátrica del receptor NMDA también se ha reconocido ya que el bloqueo del canal Ca^{2+} del receptor NMDA por el anestésico de animales PCP (fenciclidina) produce un estado psicótico en seres humanos similar a la esquizofrenia (revisado en Johnson, K. and Jones, S., 1990). Además, los receptores NMDA también han estado implicados en ciertos tipos de aprendizaje espacial.

35 Se cree que el receptor NMDA consiste de varias cadenas de proteínas incrustadas en la membrana postsináptica. Los primeros dos tipos de subunidades descubiertas hasta ahora forman una gran región extracelular, que probablemente contiene la mayoría de los sitios de enlace alostérico, varias regiones transmembrana en bucle y plegadas para formar un poro o canal, que es permeable a Ca^{++} , y un régión terminal carboxilo. La apertura y cierre del canal está regulado por el enlace de varios ligandos a dominios (sitios alostéricos) de la proteína que reside en la superficie extracelular. Se cree que el enlace de los ligandos afecta un cambio conformacional en la estructura general de la proteína que finalmente se refleja en la apertura del canal, la apertura parcial, el cierre parcial o el cierre.

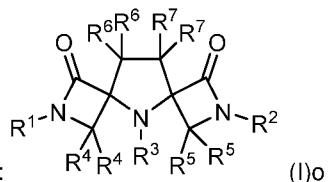
40 Se siguen necesitando en la técnica compuestos novedosos y más específicos y/o potentes que sean capaces de modular los receptores NMDA y que proporcionen beneficios farmacéuticos. Además, se siguen necesitando en las artes médicas formas de administración oral de dichos compuestos.

DOCUMENTOS CITADOS

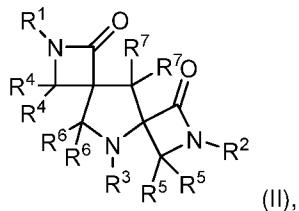
El documento WO2014/120789A1 describe moduladores del receptor NMDA de tipo espirolactama y los usos de los mismos.

45 BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente descripción incluye compuestos que pueden ser moduladores de NMDA. Más específicamente, la presente



descripción proporciona un compuesto que tiene la fórmula: $R^4 R^4 R^5 R^5$ (I) o



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquilo C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;

5 R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilon C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre-C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b,

10 hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre-C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno;

R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente para cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C₁-4, alquenilo C₂-4, -NH-C(O)-alquilo C₁-6, -NH-C(O)-alquilen C₁-6-fenilo, -NH-C(O)-O-alquilo C₁-6, y -NH-C(O)-O-alquilen C₁-6-fenilo; en donde alquilo C₁-4, alquieno C₁-6, alquenilo C₂-4, alcoxi C₁-4, y fenilo están opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de R^P;

20 20 dos R⁵ tomados juntos forman una porción oxo; o

en donde para el compuesto de la fórmula I, R⁶ y R⁷ tomados juntos con los carbonos adyacentes a los cuales están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C₁-C₃, -alcoxi C₁-C₃, -C(O)NR^aR^b, y -NR^aR^b; y

25 25 R^P se selecciona, independientemente para cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁-6, y alquilo C₁-6 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino.

También se proporcionan en el presente documento composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden un compuesto descrito y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden ser adecuadas para la 30 administración a un paciente por vía oral, parenteral, tópica, intravaginal, intrarrectal, sublingual, ocular, transdérmica o nasal.

En algunos aspectos, los compuestos descritos en el presente documento se unen a receptores NMDA que expresan ciertos subtipos de NR2. En algunos aspectos, los compuestos descritos en el presente documento se unen a un subtipo NR2 y no a otro.

35 35 En otro aspecto, se proporciona un compuesto o sal, estereoisómero, N-óxido o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo descrito para su uso en un método de tratamiento de una condición seleccionada del grupo que consiste en autismo, ansiedad, depresión, trastorno bipolar, trastorno por déficit de atención, trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), esquizofrenia, un trastorno psicótico, un síntoma psicótico, aislamiento social, trastorno obsesivo-compulsivo, fobia, síndrome de estrés postraumático, un trastorno de conducta, un trastorno de control de impulsos, un trastorno por abuso de sustancias, un trastorno del sueño, un trastorno de la memoria, un trastorno del aprendizaje, incontinencia urinaria, atrofia de sistemas múltiples, parálisis supra-nuclear progresiva, ataxia de Friedrich, Síndrome de Down, síndrome del cromosoma X frágil, esclerosis tuberosa, atrofia olívico-ponto-cerebelosa, síndrome de Rett, parálisis cerebral, neuritis óptica inducida por fármacos, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, glaucoma, demencia, demencia por SIDA, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, espasticidad, mioclonía, espasmo

40 40 muscular, síndrome de Tourette, epilepsia, isquemia cerebral, accidente cerebrovascular, tumor cerebral, lesión cerebral traumática, paro cardíaco, mielopatía, lesión de la médula espinal, neuropatía periférica, fibromialgia, dolor neuropático agudo y dolor neuropático crónico, en un paciente que lo necesite.

En algunas realizaciones, un compuesto o sal, estereoisómero, N-óxido o hidrato farmacéuticamnente aceptable del mismo descrito puede usarse en un método para tratar la depresión. Por ejemplo, la depresión puede incluir uno o más de trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión psicótica, depresión posparto, trastorno afectivo estacional, trastorno bipolar, trastorno del estado de ánimo o depresión causada por una afección médica crónica. En ciertas 5 realizaciones, un compuesto o sal, estereoisómero, N-óxido o hidrato farmacéuticamnete aceptable del mismo descrito puede usarse en un método para tratar la esquizofrenia. Dicha esquizofrenia puede ser, por ejemplo, esquizofrenia de tipo paranoide, esquizofrenia de tipo desorganizado, esquizofrenia de tipo catatónico, esquizofrenia de tipo no diferenciado, esquizofrenia de tipo residual, depresión post-esquizofrénica o esquizofrenia simple.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

10 La FIGURA 1 consiste en datos de cristal y refinamiento de la estructura para la estructura de rayos X de monocrystal del Compuesto AD.

La FIGURA 2 consiste en datos de cristal y refinamiento de la estructura para la estructura de rayos X de monocrystal del Compuesto AF.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

15 Esta descripción se refiere generalmente a compuestos que son capaces de modular los receptores NMDA, por ejemplo, antagonistas del receptor NMDA, agonistas o agonistas parciales, y los métodos de las composiciones de uso de los compuestos descritos. Debe apreciarse que los compuestos descritos pueden modular otros objetivos proteicos y/o subtipo de receptor NMDA específico.

20 El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, como un grupo de cadena lineal o ramificada de 1-6, 1-4 o 1-3 átomos de carbono, denominado en el presente documento alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₄, y alquilo C₁-C₃, respectivamente. Por ejemplo, "alquilo C₁-C₆" se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene 1-6 átomos de carbono. Los ejemplos de un grupo alquilo C₁-C₆ incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, isopentilo y neopentilo. En otro ejemplo, "alquilo C₁-C₄" se refiere a un hidrocarburo saturado de 25 cadena lineal o ramificada que contiene 1-4 átomos de carbono. Los ejemplos de un grupo alquilo C₁-C₄ incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, butilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo y tert-butilo. Los grupos alquilo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-butilo, 3-metil-1-butilo, 3-metil-2-butilo, 2,2-dimetil-1-propilo, 2-metil-1-pentilo, 3-metil-1-pentilo, 4-metil-1-pentilo, 2-metil-2-pentilo, 30 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 3,3-dimetil-1-butilo, 2-etyl-1-butilo, butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo y hexilo.

El término "alquileno" como se usa en el presente documento se refiere al dirradical de un grupo alquilo.

El término "alquenilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado no saturado que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono, tal como un grupo lineal o ramificado de 2-6 o 3-4 átomos de carbono, denominado en el presente documento, por ejemplo, alquenilo C₂-C₆, y alquenilo C₃-C₄, respectivamente. Los grupos alquenilo ejemplares incluyen, pero no se limitan a, vinilo, alilo, butenilo, pentenilo, etc.

El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido a un átomo de oxígeno (alquil-O-). Los grupos alcoxi pueden tener 1-6 o 2-6 átomos de carbono y se denominan en el presente documento alcoxi C₁-C₆ y alcoxi C₂-C₆, respectivamente. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propiloxi, isopropoxi y tert-butoxi.

40 El término "haloalquilo" como se usa en el presente documento se refiere a un grupo alquilo, en el que uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplazan con uno o más halógenos seleccionados independientemente. Un grupo haloalquilo puede tener de 1 a 10 átomos de carbono (es decir, grupo haloalquilo C₁-C₁₀), por ejemplo, de 1 a 6 átomos de carbono (es decir, grupo haloalquilo C₁-C₆). Los ejemplos de grupos haloalcoxi incluyen -CF₃, -C₂F₅, -CHF₂, -CH₂F, -CCl₃, -CHCl₂, -CH₂Cl, -CH₂CH₂Cl, -CHFC₂Cl, y -C₂Cl₅. Los grupos perhaloalquilo, es decir, grupos alquilo en 45 los que todos los átomos de hidrógeno están reemplazados por átomos de halógeno (por ejemplo, -CF₃ y -C₂F₅), están incluidos dentro de la definición de "haloalquilo".

El término "carbonilo" como se usa en el presente documento, se refiere al radical -C(O)- o C=O.

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

La frase, "anillo carbocíclico", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema anular hidrocarbonado en el que todos los átomos del anillo son carbono. Los ejemplos de anillos carbocíclicos incluyen cicloalquilos y fenilo.

El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema anular hidrocarbonado monocíclico saturado o parcialmente no saturado (carbocíclico), por ejemplo, donde cada anillo está completamente saturado o contiene una o más unidades de insaturación, pero donde ningún anillo es aromático. Un cicloalquilo puede tener 3-6 o 4-6 átomos de carbono en su sistema anular, denominado en el presente documento cicloalquilo C₃-C₆ o

cicloalquilo C₄-C₆, respectivamente. Los grupos cicloalquilo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, ciclohexilo, ciclohexenilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclobutilo y ciclopropilo.

Los términos "halo" y "halógeno", como se usan en el presente documento, se refieren a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br), y/o yodo (I).

5 El término "heteroátomo", como se usa en el presente documento, se refiere a un átomo de cualquier elemento que no sea carbono o hidrógeno e incluye, por ejemplo, nitrógeno (N), oxígeno (O), silicio (Si), azufre (S), fósforo (P), y selenio (Se).

10 El término "heterocicloalquilo", "anillo heterocíclico" o "heterociclo", como se usa en el presente documento, se reconoce en la técnica y se refiere a estructuras anulares de 3 a 8 miembros saturadas o parcialmente insaturadas, cuyo sistema anular incluye uno, dos o tres heteroátomos, tales como nitrógeno, oxígeno, y/o azufre. Un heterocicloalquilo se puede fusionar con uno o más anillos fenilo, parcialmente insaturados o saturados. Los ejemplos de heterocicloalquilos incluyen, pero no se limitan a, pirrolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y piperazinilo.

15 El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema anular aromático monocíclico de 5 a 8 miembros que contiene uno o más heteroátomos, por ejemplo, de uno a tres heteroátomos, como nitrógeno, oxígeno y azufre. Cuando sea posible, un heteroarilo puede ligarse al radical adyacente a través de carbono o nitrógeno. Los ejemplos de heteroarilos incluyen, pero no se limitan a, furano, tiofeno, pirrol, tiazol, oxazol, isotiazol, isoxazol, imidazol, pirazol, triazol, piridina y pirimidina.

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

El término "oxo", como se usa en el presente documento, se refiere al radical = O (oxígeno con doble enlace).

20 El término "aminoácido", como se usa en el presente documento, incluye uno de los siguientes alfa-aminoácidos: isoleucina, alanina, leucina, asparagina, lisina, aspartato, metionina, cisteína, fenilalanina, glutamato, treonina, glutamina, triptófano, glicina, glicina, valina, prolina, arginina, serina, histidina y tirosina. Un aminoácido también puede incluir otros aminoácidos reconocidos en la técnica, tales como los beta aminoácidos.

25 El término "compuesto", como se usa en el presente documento, se refiere al propio compuesto y sus sales, hidratos, ésteres y N-óxidos farmacéuticamente aceptables, incluidos sus diversos estereoisómeros y sus formas marcadas con isótopos, a menos que se entienda lo contrario por el contexto de la descripción o esté expresamente limitado a una forma particular del compuesto, es decir, el propio compuesto, un estereoisómero específico y/o compuesto marcado isotópicamente, o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato, un éster, o un N-óxido del mismo. Debe de entenderse que un compuesto puede referirse a una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato, un ester o un N-óxido de un estereoisómero del compuesto y/o un compuesto marcado isotópicamente.

30 El término "resto", como se usa en el presente documento, se refiere a una porción de un compuesto o una molécula.

35 Los compuestos de la descripción pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por lo tanto, pueden existir como estereoisómeros, tales como isómeros geométricos, y enantiómeros o diastereómeros. El término "estereoisómeros", cuando se usa en el presente documento, consta de todos los isómeros geométricos, enantiómeros y/o diastereómeros del compuesto. Por ejemplo, cuando se muestra un compuesto con uno o más centros quirales específicos, el compuesto representado sin dicha quiralidad en ese y otros centros quirales del compuesto está dentro del alcance de la presente descripción, es decir, el compuesto representado en dos dimensiones con los enlaces "planos" o "rectos" en lugar de en tres dimensiones, por ejemplo, con enlaces de cuña sólidos o discontinuos. Los compuestos estereoespecíficos se pueden designar con los símbolos "R" o "S", según la configuración de los 40 sustituyentes aproximadamente del átomo de carbono estereogénico. La presente descripción abarca todos los diversos estereoisómeros de estos compuestos y mezclas de los mismos. Las mezclas de enantiómeros o diastereómeros se pueden designar como "(±)" en la nomenclatura, pero un experto en la técnica reconocerá que una estructura puede denotar un centro quiral implícitamente. Se entiende que las representaciones gráficas de estructuras químicas, por ejemplo, estructuras químicas genéricas, abarcan todas las formas estereoisoméricas de los compuestos especificados, a menos que se indique lo contrario.

45 Los enantiómeros y diastereoisómeros individuales de los compuestos de la presente descripción se pueden preparar sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles comercialmente que contienen centros asimétricos o estereogénicos, o mediante la preparación de mezclas racémicas seguidas por métodos de resolución bien conocidos por los expertos en la técnica. Estos métodos de resolución se ejemplifican mediante (1) unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, separación de la mezcla resultante de diastereoisómeros por recristalización o cromatografía y liberación del producto ópticamente puro del auxiliar, (2) formación de la sal empleando un agente de resolución ópticamente activo, (3) separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos en columnas cromatográficas líquidas quirales, o (4) resolución cinética usando reactivos químicos o enzimáticos estereoselectivos. Las mezclas racémicas también pueden resolverse en sus enantiómeros componentes mediante métodos bien conocidos, como la cromatografía de gases en fase quiral o la cristalización del compuesto en un disolvente quiral. Las 50 síntesis estereoselectivas, una reacción química o enzimática en la que un solo reactivo forma una mezcla desigual de estereoisómeros durante la creación de un nuevo estereocentro o durante la transformación de uno preexistente, son

bien conocidas en la técnica. Las síntesis estereoselectivas abarcan tanto las transformaciones enantioselectivas como las diastereoselectivas. Véase, por ejemplo, Carreira and Kvaerno, *Classics in Stereoselective Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, 2009.

5 Los isómeros geométricos, resultantes de la disposición de sustituyentes aproximadamente de un doble enlace carbono-carbono o disposición de sustituyentes aproximadamente de un cicloalquilo o heterocicloalquilo, también pueden existir en los compuestos de la presente descripción. El símbolo  denota un enlace que puede ser un enlace simple, doble o triple como se describe en el presente documento. Los sustituyentes aproximadamente de un doble enlace carbono-carbono se designan como que están en la configuración "Z" o "E", donde los términos "Z" y "E" se usan de acuerdo con las normas de la IUPAC. A menos que se especifique lo contrario, las estructuras que representan dobles enlaces 10 abarcan los isómeros "E" y "Z".

15 Los sustituyentes aproximadamente de un doble enlace carbono-carbono pueden denominarse alternativamente "cis" o "trans", donde "cis" representa los sustituyentes en el mismo lado del doble enlace y "trans" representa los sustituyentes en los lados opuestos del doble enlace. La disposición de los sustituyentes aproximadamente de un anillo carbocíclico también se puede designar como "cis" o "trans". El término "cis" representa los sustituyentes en el mismo lado del plano del anillo y el término "trans" representa los sustituyentes en los lados opuestos del plano del anillo. Las mezclas de compuestos en donde los sustituyentes están dispuestos en ambos lados del plano del anillo y del lado opuesto del anillo se designan "cis/trans".

20 La descripción también abarca compuestos marcados con isótopos que son idénticos a los compuestos citados en el presente documento, excepto que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número mísico diferente de la masa atómica o el número mísico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a los compuestos descritos en el presente documento incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H ("D"), ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente. Por ejemplo, en un compuesto descrito en el presente se pueden reemplazar uno o más átomos de H con deuterio.

25 Ciertos compuestos marcados isotópicamente (por ejemplo, aquellos etiquetados con ^3H y ^{14}C) pueden ser útiles en ensayos de distribución de tejido de compuesto y/o sustrato. Los isótopos tritiados (es decir, ^3H) y carbono-14 (es decir, ^{14}C) pueden ser particularmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados como el deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, un aumento de la vida media *in vivo* o menores requisitos de dosificación) y, por lo tanto, puede ser preferible en algunas circunstancias. Los compuestos marcados con isótopos 30 generalmente se pueden preparar siguiendo procedimientos análogos a los descritos en el presente documento, por ejemplo, en la sección de Ejemplos, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos.

35 Las frases "farmacéuticamente aceptable" y "farmacológicamente aceptable", como se usan en el presente documento, se refieren a compuestos, entidades moleculares, composiciones, materiales, y/o formas farmacéuticas que no producen una reacción adversa, alérgica o de otro tipo cuando se administran a un animal o un ser humano, según corresponda. Para la administración a seres humanos, los preparados deben cumplir con los criterios de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza exigidos por las normas de la Oficina de Biológicos de la FDA.

40 Las frases "portador farmacéuticamente aceptable" y "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se usan en el presente documento, se refieren a todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes isotónicos y agentes que retrasan la absorción, y similares, que son compatibles con la administración farmacéutica. Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden incluir solución salina amortiguada con fosfato, agua, emulsiones (por ejemplo, como emulsiones de aceite/agua o agua/aceite) y varios tipos de agentes humectantes. Las composiciones también pueden incluir estabilizantes y conservadores.

45 La frase "composición farmacéutica", como se usa en el presente documento, se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto como se describe en el presente documento formulado junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas también pueden contener otros compuestos activos que proporcionan funciones terapéuticas suplementarias, adicionales o mejoradas.

50 Los términos "individuo", "paciente" y "sujeto", como se usan en el presente documento, se usan indistintamente e incluyen cualquier animal, incluidos los mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos, o primates, y más preferiblemente, seres humanos. Los compuestos descritos en la descripción pueden administrarse a un mamífero, como un ser humano, pero también pueden administrarse a otros mamíferos, como un animal que necesita tratamiento veterinario, por ejemplo, animales domésticos (por ejemplo, perros, gatos y animales), animales de granja (por ejemplo, vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cerdos de guinea y similares). El mamífero tratado en los métodos descritos en la descripción es preferiblemente un mamífero en el que se desea tratar, por ejemplo, dolor o depresión.

55 El término "tratar", como se usa en el presente documento, incluye cualquier efecto, por ejemplo, disminuir, reducir, modular, mejorar o eliminar, que resulte en la mejora de la afección, la enfermedad, el trastorno y similares, incluidos

uno o más síntomas del mismo. El tratamiento puede ser curar, aminorar, o al menos aminorar parcialmente el trastorno.

El término "trastorno" se refiere y se usa de manera intercambiable con los términos "trastorno", "afección" o "enfermedad", a menos que se indique lo contrario.

5 El término "modulación", como se usa en el presente documento, se refiere e incluye antagonismo (por ejemplo, inhibición), agonismo, antagonismo parcial, y/o agonismo parcial.

La frase "cantidad terapéuticamente efectiva", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto (por ejemplo, un compuesto descrito) que provocará la respuesta médica o biológica de un tejido, sistema, animal o humano que está buscando el investigador, veterinario, médico u otro clínico. Los compuestos descritos en la descripción pueden administrarse en cantidades terapéuticamente eficaces para tratar una enfermedad. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto puede ser la cantidad requerida para obtener un efecto profiláctico y/o terapéutico deseado, tal como una cantidad que da como resultado la disminución de un síntoma de una enfermedad como la depresión.

10 15 Como se usa en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal de un grupo ácido o básico que pueda estar presente en un compuesto de la presente descripción, cuya sal es compatible con la administración farmacéutica. Como saben los expertos en la técnica, las "sales" de los compuestos de la presente descripción pueden derivarse de ácidos y bases inorgánicos u orgánicos.

20 25 Los ejemplos de sales incluyen, pero no se limitan a: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato, y similares. Otros ejemplos de sales incluyen aniones de los compuestos de la presente descripción compuestos con un catión adecuado tal como Na^+ , NH_4^+ , y NW^+ (donde W puede ser un grupo alquilo C₁₋₄), y similares.

Para uso terapéutico, las sales de los compuestos de la presente descripción pueden ser farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, las sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables también pueden ser útiles, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable.

30 35 Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que son de naturaleza básica son capaces de formar una amplia variedad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que se pueden usar para preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de tales compuestos básicos son aquellos que forman sales de adición de ácido no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, incluidas, entre otras, sales malato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, ácido fosfato, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, oleato, tanato, pantenato bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)).

Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que son de naturaleza ácida son capaces de formar sales de bases con diversos cationes farmacológicamente aceptables. Los ejemplos de tales sales incluyen sales de metales alcalinos o alcalinotérreos y, particularmente, sales de calcio, magnesio, sodio, litio, zinc, potasio y hierro.

40 45 Los compuestos incluidos en las presentes composiciones que incluyen un resto básico o ácido también pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con diversos aminoácidos. Los compuestos de la descripción pueden contener grupos tanto ácidos como básicos; por ejemplo, un grupo amino y un grupo ácido carboxílico. En tal caso, el compuesto puede existir como una sal de adición de ácido, un zwitterion o una sal de base.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden existir en una forma solvatada así como en una forma no solvatada con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares, y se pretende que la descripción abarque tanto formas solvatadas como no solvatadas.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que se refiere esta descripción.

50 A lo largo de la descripción, cuando las composiciones y los kits se describen como si tuvieran, incluyeran o comprendieran componentes específicos, o cuando los procesos y métodos se describen como si tuvieran, incluyeran o comprendieran pasos específicos, se contempla que, además, existen composiciones y kits de la presente descripción que consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes citados, y que hay procesos y métodos de acuerdo con la presente descripción que consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento citadas.

55 En la solicitud, cuando se dice que un elemento o componente se incluye en y/o es seleccionado de una lista de elementos o componentes enumerados, debe entenderse que el elemento o componente puede ser cualquiera de los elementos o componentes enumerados, o el elemento o componente puede seleccionarse de un grupo que consiste en dos o más de los elementos o componentes enumerados.

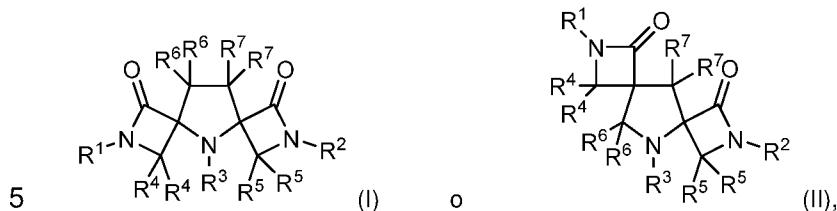
- Además, debe entenderse que los elementos y/o características de una composición o un método descrito en el presente documento pueden combinarse de varias maneras. Por ejemplo, cuando se hace referencia a un compuesto particular, ese compuesto se puede usar en diversas realizaciones de composiciones de la presente descripción y/o en los métodos de la presente descripción, a menos que se entienda lo contrario por el contexto. En otras palabras, dentro de esta solicitud, las realizaciones se han descrito y representado de una manera que permite escribir una aplicación clara y concisa. Por ejemplo, se apreciará que todas las características descritas y representadas en el presente documento pueden ser aplicables a todos los aspectos de las descripciones descritas y representadas en el presente documento.
- Los artículos "un" y "uno/una" se usan en esta descripción para referirse a uno o más de uno (es decir, al menos a uno) del objeto gramatical del artículo, a menos que el contexto sea inapropiado. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.
- El término "y/o" se usa en esta descripción para significar "y" u "o" a menos que se indique lo contrario.
- Debe entenderse que la expresión "al menos uno de" incluye individualmente cada uno de los objetos recitados después de la expresión y las diversas combinaciones de dos o más de los objetos recitados, a menos que se entienda lo contrario por el contexto y el uso. Se debe entender que la expresión "y/o" en relación con tres o más objetos recitados tiene el mismo significado, a menos que se entienda lo contrario por el contexto.
- El uso del término "que incluye", "incluye", "incluido", "tiene", "tiene", "que tiene", "contiene", "contiene", o "que contiene", incluidos sus equivalentes gramaticales, debe entenderse por lo general, como abierto y no limitante, por ejemplo, sin excluir elementos o etapas no reconocidas adicionales, a menos que se especifique lo contrario o se entienda específicamente por el contexto.
- Cuando el uso del término "aproximadamente" está antes de un valor cuantitativo, la presente descripción también incluye el valor cuantitativo específico en sí, a menos que se indique lo contrario. Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a una variación de $\pm 10\%$ del valor nominal, a menos que se indique o se deduzca lo contrario.
- Cuando se proporciona un porcentaje con respecto a una cantidad de un componente o material en una composición, debe entenderse que el porcentaje es un porcentaje basado en el peso, a menos que se indique o se entienda lo contrario por el contexto.
- Cuando se proporciona un peso molecular y no un valor absoluto, por ejemplo, de un polímero, debe entenderse que el peso molecular es un peso molecular promedio, a menos que se indique o se entienda lo contrario por el contexto.
- Debe entenderse que el orden de las etapas u orden para realizar ciertas acciones es irrelevante siempre que la presente descripción permanezca operativa. Además, dos o más etapas o acciones pueden llevarse a cabo simultáneamente.
- En varios lugares de la presente especificación, los sustituyentes se describen en grupos o en intervalos. Se pretende específicamente que la descripción incluya cada subcombinación individual de los miembros de dichos grupos e intervalos. Por ejemplo, el término "alquilo C₁₋₆" se pretende específicamente que describa individualmente alquilo C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C_{1-C₆}, C_{1-C₅}, C_{1-C₄}, C_{1-C₃}, C_{1-C₂}, C_{2-C₆}, C_{2-C₅}, C_{2-C₄}, C_{2-C₃}, C_{3-C₆}, C_{3-C₅}, C_{3-C₄}, C_{4-C₆}, C_{4-C₅}, y C_{5-C₆}. A modo de otros ejemplos, un entero en el intervalo de 0 a 40 se pretende específicamente que describa individualmente 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, y 40, y un entero en el intervalo de 1 a 20 se pretende específicamente que describa individualmente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, y 20. Los ejemplos adicionales incluyen que la frase "opcionalmente sustituido con 1 a 5 sustituyentes" está específicamente destinada a describir individualmente un grupo químico que puede incluir sustituyentes 0, 1, 2, 3, 4, 5, 0-5, 0-4, 0-3, 0-2, 0-1, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 2-5, 2-4, 2-3, 3-5, 3-4, y 4-5.
- El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o el lenguaje ejemplar en el presente documento, por ejemplo, "tal como" o "incluido", tiene la intención de ilustrar mejor la presente descripción y no plantea una limitación en el alcance de la descripción a menos que se indique lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación debe interpretarse como que indica que cualquier elemento no reivindicado es esencial para la práctica de la presente descripción.
- Además, si una variable no está acompañada por una definición, entonces la variable se define como se encuentra en otra parte de la descripción, a menos que se entienda que es diferente del contexto. Además, la definición de cada variable y/o sustituto, por ejemplo, alquilo C_{1-C₆}, R², R^b, w y similares, cuando ocurre más de una vez en cualquier estructura o compuesto, puede ser independiente de su definición en otro lugar en la misma estructura o compuesto.
- Las definiciones de las variables y/o sustituyentes en las fórmulas y/o compuestos en el presente documento abarcan múltiples grupos químicos. La presente descripción incluye realizaciones en las que, por ejemplo, i) la definición de un sustituto y/o variable es un único grupo químico seleccionado de entre los grupos químicos expuestos en el presente documento, ii) la definición es una colección de dos o más de los grupos químicos seleccionado de los establecidos en el presente documento, y iii) el compuesto se define por una combinación de variables y/o sustituyentes en la que las

variables y/o sustituyentes están definidos por (i) o (ii).

Varios aspectos de la descripción se exponen en el presente documento bajo los encabezados y/o en las secciones.

Compuestos

Los compuestos descritos incluyen un compuesto que tiene la fórmula I o fórmula II:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquil o C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³².

10 R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

15 en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno;

R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente para cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

20 R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , $-NH-C(O)-$ alquilo C_{1-6} , $-NH-C(O)-$ alquilen C_{1-6} -fenilo, $-NH-C(O)-O-$ alquilo C_{1-6} , y $-NH-C(O)-O-$ alquilen C_{1-6} -fenilo; en donde alquilo C_{1-4} , alquilen C_{1-6} , alquenilo C_{2-4} , alcoxi C_{1-4} , y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de R^P ;

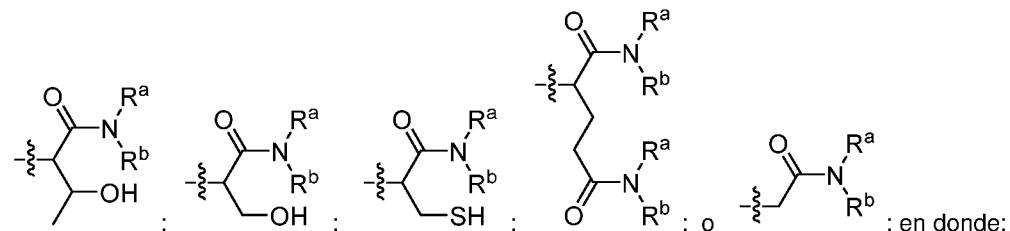
dos R⁵ tomados juntos forman un resto oxo; o

25 en donde para el compuesto de la fórmula I, R^6 y R^7 tomados juntos con los carbonos adyacentes a los cuales están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C_1-C_3 , -alcoxi C_1-C_3 , $-C(O)NR^aR^b$, y $-NR^aR^b$; y

30 R^P se selecciona, independientemente para cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁₋₆, y alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino.

En ciertas realizaciones, R^1 y R^2 pueden ser hidrógeno. En ciertas realizaciones, R^1 y R^2 pueden ser $-O-CH_2$ -fenilo.

35 En ciertas realizaciones, R¹ y R² pueden ser -alquilo C₁-C₆ cada uno independiente y opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en -C(O)NR^aR^b, hidroxilo, -SH, y halógeno. Por ejemplo, R¹ y R² pueden seleccionarse independientemente del grupo que consiste en:



R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C₁-C₃.

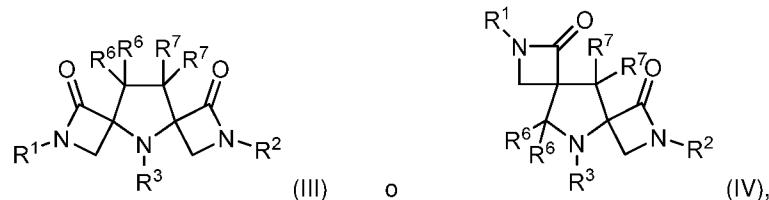
En algunas realizaciones, R³ puede ser hidrógeno. En ciertas realizaciones, R³ puede ser -alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser metilo, isobutilo, o -CH₂-fenilo.

5 En ciertas realizaciones, R³ puede ser -C(O)-alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser -C(O)-isopropilo. En algunas realizaciones, R³ puede ser -C(O)-O-alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser -C(O)-O-tert-butilo.

En algunas realizaciones, R⁴, R⁵, R⁶, y R⁷ pueden ser hidrógeno. En otras realizaciones, uno, dos, tres o cuatro de R⁶ y R⁷, independientemente, pueden ser fluoro.

10 En ciertas realizaciones, R¹, R², y R³ independientemente pueden ser un aminoácido o un derivado de un aminoácido, por ejemplo, una alfa "aminoamida" representada por H₂N-CH(cadena lateral de aminoácidos)-C(O)NH₂. En ciertas realizaciones, el átomo de nitrógeno del grupo amino del aminoácido o derivado de aminoácido es un nitrógeno anular en una fórmula química descrita en el presente documento. En tales realizaciones, el ácido carboxílico del aminoácido o el grupo amida de una aminoamida (derivado de aminoácido) no está dentro de la estructura anular, es decir, no es un átomo anular. En ciertas realizaciones, el grupo ácido carboxílico del aminoácido o el derivado de aminoácido forma un enlace amida con un nitrógeno anular en una fórmula química descrita en el presente documento, de este modo se proporciona una aminoamida, donde el grupo amino de la amino amida no está dentro de la estructura anular, es decir, no es un átomo anular. En ciertas realizaciones, R¹, R² y R³ pueden ser independientemente un alfa aminoácido, un derivado de alfa aminoácido, y/o otro aminoácido o derivado de aminoácido tal como un beta aminoácido o un derivado de beta aminoácido, por ejemplo, una beta aminoamida.

15 20 Por ejemplo, los compuestos descritos pueden incluir un compuesto que tiene la Fórmula III o la Fórmula IV:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquilo C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;

25 R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, puede estar

30 opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre-C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxiC₁-C₃, hidroxilo, y halógeno; y

35 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

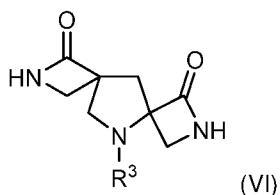
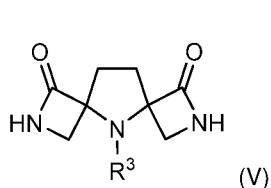
R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C₁-4, alquenilo C₂-4, -NH-C(O)-alquilo C₁-6, -NH-C(O)-alquenilo C₁-6-fenilo, -NH-C(O)-O-alquilo C₁-6, y -NH-C(O)-O-alquenilo C₁-6-fenilo; en donde alquilo C₁-4, alquenilo C₁-6, alquenilo C₂-4, alcoxi C₁-4, y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de R^P; y

40 45 en donde para el compuesto de la fórmula III, R⁶ y R⁷ tomados juntos con los carbonos adyacentes a los cuales están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C₁-C₃, -alcoxi C₁-C₃, -C(O)NR^aR^b, y -NR^aR^b; y

R^P se selecciona, independientemente para cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁-6, y alquilo C₁-6 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino.

En ciertas realizaciones, R⁶ y R⁷ pueden ser hidrógeno. En algunas realizaciones, uno, dos, tres o cuatro de R⁶ y R⁷ pueden ser fluoro.

En ciertas realizaciones, los compuestos descritos pueden incluir un compuesto que tiene la fórmula V o fórmula VI:



- 5 una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

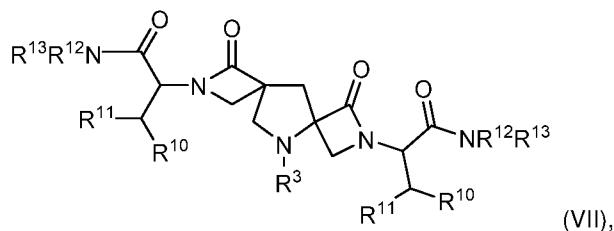
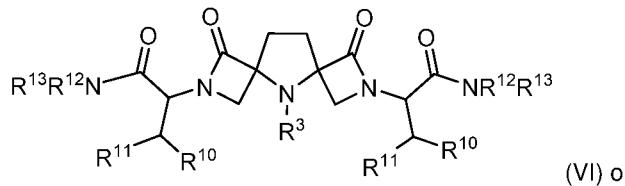
R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

10 en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente en cada cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente de -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno; y

15 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y alquilo-C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros.

Los compuestos descritos incluyen un compuesto que tiene la fórmula VI o fórmula VII:



- 20 una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

25 R¹⁰ y R¹¹ para cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, -OH, -alquilo C₁-C₆, -alcoxi C₁-C₆, -CO₂H, o -NR'R', en donde R' para cada caso se selecciona independientemente entre hidrógeno y, -alquilo C₁-C₆; y

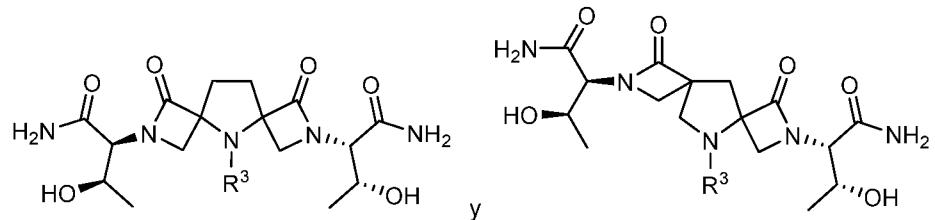
30 R¹² y R¹³ para cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C₁-C₆; o R₁₃ y R₁₂ junto con el nitrógeno al cual están unidos forman un heterociclo de 4-6 miembros; y en donde el alquilo C₁-C₆ está opcionalmente sustituido en cada caso con uno, dos, o tres sustituyentes cada uno seleccionado del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, y amino.

En ciertas realizaciones, R¹² y R¹³ pueden ser hidrógeno.

En algunas realizaciones, R¹¹ puede ser OH.

En algunas realizaciones, R¹⁰ puede ser metilo.

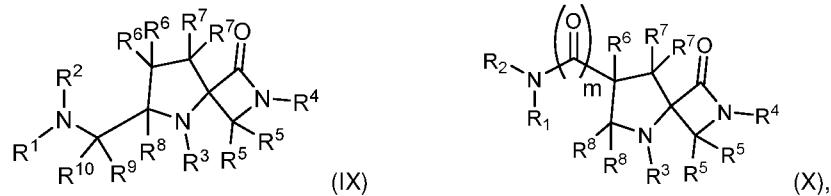
Por ejemplo, un compuesto descrito puede seleccionarse del grupo que consiste en:



- 5 En algunas realizaciones, R³ puede ser hidrógeno. En ciertas realizaciones, R³ puede ser -alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser metilo, isobutilo, o -CH₂-fenilo.

En ciertas realizaciones, R³ puede ser -C(O)-alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser -C(O)-isopropilo. En algunas realizaciones, R³ puede ser -C(O)-O-alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser -C(O)-O-tert-butilo.

Los compuestos descritos pueden incluir un compuesto que tiene la Fórmula IX o la Fórmula X:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, y -C(O)-O-alquilo C₁-C₆; o R¹ y R² tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

- 15 R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquilo C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;

- 20 en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente para cada caso, puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxiC₁-C₃, hidroxilo, y halógeno;

- 25 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

- 30 R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C₁-4, alquenilo C₂-4, -NH-C(O)-alquilo C₁-6, -NH-C(O)-alquileno C₁-6-fenilo, -NH-C(O)-O-alquilo C₁-6, y -NH-C(O)-O-alquileno C₁-6-fenilo; en donde alquilo C₁-4, alcoxi C₁-4, y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de R^P; o

R⁶ y R⁷ tomados juntos con los carbonos adyacentes a los que están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C₁-C₃, -alcoxi C₁-C₃, -C(O)NR^aR^b, y -NR^aR^b; y

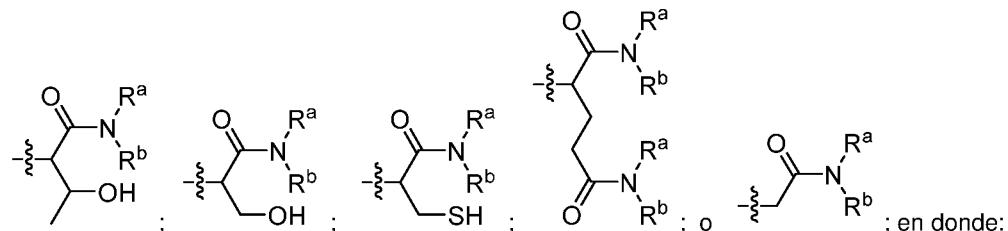
- 35 R^P se selecciona, independientemente en cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁-6, y alquilo C₁-3 opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino;

R^9 y R^{10} se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C₁-C₃, o R^9 y R^{10} tomados juntos forman un resto oxo; y

m es 0 o 1.

En ciertas realizaciones, R^1 y R^2 pueden ser hidrógeno.

- 5 En algunas realizaciones, R¹ puede ser hidrógeno y R² es -alquilo C₁-C₆ puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en -C(O)NR^aR^b, hidroxilo, -SH, y halógeno. Por ejemplo, R² puede seleccionarse del grupo que consiste en:



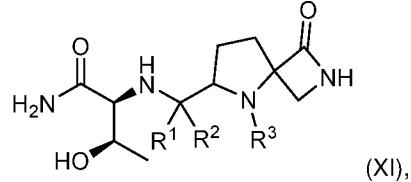
R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo-C₁-C₆.

- 10 En algunas realizaciones, R³ puede ser hidrógeno. En ciertas realizaciones, R³ puede ser -alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R³ puede ser metilo, isobutilo, o -CH₂-fenilo.

En ciertas realizaciones, R^3 puede ser $-C(O)-$ alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R^3 puede ser $-C(O)-$ isopropilo. En algunas realizaciones, R^3 puede ser $-C(O)-O-$ alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R^3 puede ser $-C(O)-O-$ tert-butilo.

- 15 En algunas realizaciones, R^4 , R^5 , R^6 , y R^7 pueden ser hidrógeno. En ciertas realizaciones, uno, dos o tres de R^6 y R^7 , independientemente, pueden ser fluoro.

Por ejemplo, los compuestos descritos pueden incluir un compuesto que tiene la Fórmula XI:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

- 20 R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C₁-C₃, o R¹ y R² tomados juntos forman un resto oxo;

R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

- 25 En donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente puede estar opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno; y

- 30 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros.

En ciertas realizaciones, un compuesto descrito se selecciona de los compuestos presentados en los Ejemplos, e incluye sales farmacéuticamente aceptables, estereoisómeros, y/o N-óxidos de los mismos.

Los compuestos de la presente descripción y sus formulaciones pueden tener una pluralidad de centros quirales. Cada centro quiral puede ser independientemente R, S, o cualquier mezcla de R y S. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un centro quiral puede tener una relación R:S de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 50:50 ("racemato"), entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 75:25, de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 85:15, de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 90:10, de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 95:5,

de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 98:2, de entre aproximadamente 100:0 y aproximadamente 99:1, de entre aproximadamente 0:100 y 50:50, de entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 25:75, de entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 15:85, de entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 10:90, de entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 5:95, de entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 2:98, de entre aproximadamente 0:100 y aproximadamente 1:99, de entre aproximadamente 75:25 y 25:75, y aproximadamente 50:50. Las formulaciones de los compuestos descritos comprenden una relación mayor de uno o más isómeros (es decir, *R* y/o *S*) pueden poseer características terapéuticas mejoradas relativas a las formulaciones racémicas de compuestos descritos o mezcla de compuestos. En algunos ejemplos, las fórmulas químicas contienen el descriptor “-l-” o “-(S)-” que se adjunta más a la cuña sólida o cuña discontinua. Este descriptor se pretende muestre un carbono metanina (CH) que está adjunto a otros tres sustituyentes y tiene indicada ya sea la configuración *R* o *S*.

Los compuestos descritos pueden proporcionar una apertura de canal de cationes eficiente en el receptor NMDA, por ejemplo pueden enlazarse o asociarse con el sitio de glutamato o el sitio de glicina u otro sitio modulador del receptor NMDA para ayudar a abrir el canal de cationes. Los compuestos descritos pueden usarse para regular (activar o desactivar) el receptor NMDA a través de la acción como agonista o antagonista.

15 Los compuestos descritos en el presente documento, en algunos casos, pueden enlazarse a subtipos específicos de receptores NMDA. Por ejemplo, un compuesto descrito puede unirse a un subtipo de NMDA y no a otro. En general, un compuesto descrito puede enlazarse a uno, o más de un subtipo de NMDA, y/o puede tener una actividad de unión sustancialmente menor (o sustancialmente nula) a ciertos otros subtipos de NMDA. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un compuesto descrito (por ejemplo, compuesto A) enlaza a NR2A sin sustancialmente ningún enlace a NR2D. En algunas realizaciones, un compuesto descrito (por ejemplo, compuesto B) se enlaza a NR2B y NR2D con un enlace sustancialmente más bajo a NR2A y NR2C.

25 Los compuestos como se describen en el presente documento pueden enlazarse a receptores NMDA. Un compuesto descrito puede enlazarse al receptor NMDA y dar como resultado una actividad de tipo agonista (facilitación) en un cierto rango posológico y/o puede enlazarse al receptor NMDA y dar como resultado una actividad de tipo antagonista (inhibición) en un cierto rango posológico. En algunas realizaciones, un compuesto descrito puede poseer una potencia que es 10 veces o más la actividad de los moduladores de receptores NMDA existentes.

30 Los compuestos descritos pueden exhibir un alto índice terapéutico. El índice terapéutico, como se usa en el presente documento, se refiere a la proporción de la dosis que produce una toxicidad en el 50 % de la población (es decir, TD_{50}) a la dosis mínima eficaz para 50 % de la población (es decir, ED_{50}). Por tanto, índice terapéutico = $(TD_{50}):(ED_{50})$. En algunas realizaciones, un compuesto descrito puede tener un índice terapéutico de al menos aproximadamente 10:1, al menos aproximadamente 50:1, al menos aproximadamente 100:1, al menos aproximadamente 200:1, al menos aproximadamente 500:1, o al menos aproximadamente 1000:1.

Composiciones

35 En otros aspectos de la descripción, se proporciona una formulación farmacéutica o una composición farmacéutica que incluye un compuesto descrito y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica incluye una mezcla racémica o una mezcla estereoisomérica variada de uno o más de los compuestos descritos.

40 Una formulación puede prepararse en cualquiera de una variedad de formas para su uso, tal como para administrar un agente activo a un paciente, que puede necesitarlo, como se conoce en las técnicas farmacéuticas. Por ejemplo, las 45 composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden formularse para administración en forma sólida o líquida, incluidas las adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, empapados (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos (por ejemplo, aquellos destinados a la absorción yugal, sublingual, sistémica y/o), bolos, polvos, gránulos y pastas para aplicar a la lengua; (2) administración parenteral mediante, por ejemplo, inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o formulación de liberación sostenida; (3) la administración tópica, por ejemplo, como una crema, pomada o un parche o aerosol de liberación controlada aplicado a la piel; (4) administración intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como pesario, crema o espuma; (5) administración sublingual; (6) administración ocular; (7) administración transdérmica; o (8) administración nasal.

50 Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden ser adecuadas para administración al ojo, es decir, ocularmente. Los métodos relacionados pueden incluir administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto descrito o una composición farmacéutica que incluya un compuesto descrito a un paciente que lo necesite, por ejemplo, a un ojo del paciente, donde se administre por vía tópica, subconjuntiva, subtenoniana, intravítreo, retrobulbar, peribulbar, intracomeral, y/o sistémica.

55 Las cantidades de un compuesto descrito como se describe en el presente documento en una formulación pueden variar según factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo. Las pautas posológicas pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se puede administrar un bolo sencillo, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular

5 composiciones parenterales en forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y uniformidad de la dosis. La forma farmacéutica unitaria como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los sujetos mamíferos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las formas farmacéuticas unitarias depende de (a) las características únicas del compuesto seleccionado y el efecto terapéutico particular que se debe lograr, y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de composición de dicho compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

10 Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. El portador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensoactivos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, 15 polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede lograr incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

20 Los compuestos pueden administrarse en una formulación de liberación prolongada, por ejemplo, en una composición que incluye un polímero de liberación lenta. Los compuestos pueden prepararse con portadores que protegerán el compuesto contra la liberación rápida, como una formulación de liberación controlada, incluidos los implantes y los sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables y biocompatibles, como etileno acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, ácido poliláctico y polilácticos, 25 copolímeros poliglicólicos (PLG). Generalmente, los expertos en la técnica conocerán muchos métodos para la preparación de tales formulaciones.

25 Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de una esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los 30 métodos preferidos de preparación son el secado al vacío y la liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución del mismo esterilizada previamente por filtración.

En algunas realizaciones, un compuesto puede ser formulado con uno o más compuestos adicionales que mejoran la solubilidad del compuesto.

Métodos

35 Un compuesto descrito en el presente documento o una composición que incluye dicho compuesto se puede usar en los métodos para tratar una afección en un paciente que lo necesita, que generalmente incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto descrito en el presente documento o una composición que incluye dicho compuesto. En algunas realizaciones, la afección puede ser una afección mental. Por ejemplo, se puede tratar una enfermedad mental. En otro aspecto, se puede tratar una afección del sistema nervioso. Por ejemplo, se puede 40 tratar una afección que afecta el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, y/o el ojo. En algunas realizaciones, se pueden tratar enfermedades neurodegenerativas.

45 En algunas realizaciones, se puede usar un compuesto para tratar a pacientes que sufren autismo, ansiedad, depresión, trastorno bipolar, trastorno por déficit de atención, trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), esquizofrenia, un trastorno psicótico, un síntoma psicótico, síndrome de abstinencia social, trastorno obsesivo-compulsivo (OCD), fobia, síndrome de estrés postraumático, un trastorno de conducta, un trastorno de control de impulsos, un trastorno por abuso de sustancias (por ejemplo, un síntoma de abstinencia, adicción a los opiáceos, adicción a la nicotina y adicción de etanol), un trastorno del sueño, un trastorno de la memoria (por ejemplo, un déficit, pérdida o capacidad reducida para crear nuevos recuerdos), un trastorno del aprendizaje, incontinencia urinaria, atrofia multisistémica, parálisis supra-nuclear progresiva, ataxia de Friedrich, síndrome de Down, síndrome del cromosoma X frágil, esclerosis tuberosa, atrofia olivio-ponto-cerebelosa, parálisis cerebral, neuritis óptica inducida por fármacos, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, glaucoma, demencia, demencia por SIDA, enfermedad de Alzheimer, corea de Huntington, espasticidad, mioclonía, espasmos musculares, espasmos infantiles, Síndrome de Tourette, epilepsia, isquemia cerebral, accidente cerebrovascular, tumor cerebral, lesión cerebral traumática, paro cardíaco, mielopatía, lesión de la médula espinal, neuropatía periférica, dolor neuropático agudo y dolor neuropático crónico.

55 En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento un trastorno de la memoria asociado con el envejecimiento, esquizofrenia, trastornos especiales del aprendizaje, convulsiones, convulsiones post-derrame cerebral, isquemia cerebral, hipoglucemia, paro cardíaco, epilepsia, demencia con cuerpos de Lewy, migraña, demencia por SIDA, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, etapa temprana, enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Alzheimer.

- En ciertas realizaciones, se proporcionan compuestos y composiciones descritos en el presente documento para su uso en métodos para tratar esquizofrenia. Por ejemplo, la esquizofrenia de tipo paranoide, la esquizofrenia de tipo desorganizado (es decir, la esquizofrenia hebefrénica), la esquizofrenia de tipo catatónico, la esquizofrenia de tipo no diferenciado, la esquizofrenia de tipo residual, la depresión post-esquizofrénica y la esquizofrenia simple pueden tratarse utilizando los métodos y las composiciones descritos en el presente documento. Los trastornos psicóticos tales como trastornos esquizoafectivos, trastornos delirantes, trastornos psicóticos breves, trastornos psicóticos compartidos y trastornos psicóticos con delirios o alucinaciones también pueden tratarse usando las composiciones descritas en el presente documento.
- La esquizofrenia paranoide puede caracterizarse cuando hay delirios o alucinaciones auditivas, pero no el trastorno del pensamiento, el comportamiento desorganizado o el aplanamiento afectivo. Los delirios pueden ser persuasivos y/o grandiosos, pero además de estos, otros temas como los celos, la religiosidad o la somatización también pueden estar presentes. Se puede identificar esquizofrenia de tipo desorganizado cuando están presentes conjuntamente el trastorno del pensamiento y el afecto plano. Se puede identificar esquizofrenia de tipo catatónico cuando el paciente puede estar casi inmóvil o exhibir un movimiento agitado y sin sentido. Los síntomas pueden incluir estupor catatónico y flexibilidad cerosa. Se puede identificar esquizofrenia de tipo indiferenciado cuando hay síntomas psicóticos pero no se han cumplido los criterios para los tipos paranoico, desorganizado o catatónico. Se puede identificar esquizofrenia de tipo residual cuando los síntomas positivos están presentes solo en una intensidad baja. Se puede identificar depresión post-esquizofrénica cuando surge un episodio depresivo como consecuencia de una enfermedad esquizofrénica en la que aún pueden presentarse algunos síntomas esquizofrénicos de bajo nivel. Se puede identificar esquizofrenia simple por un desarrollo gradual y progresivo de síntomas negativos prominentes sin antecedentes de episodios psicóticos.
- En algunas realizaciones, se proporcionan compuestos y composiciones descritos en el presente documento para su uso en métodos para tratar los síntomas psicóticos que pueden estar presentes en otros trastornos mentales, que incluyen, entre otros, el trastorno bipolar, el trastorno límite de la personalidad, la intoxicación por fármacos y la psicosis inducida por fármacos. En algunas realizaciones, se proporcionan compuestos y composiciones descritos en el presente documento para su uso en métodos para tratar delirios (por ejemplo, "no extraños") que pueden estar presentes en, por ejemplo, trastorno delirante.
- En varias realizaciones, se pueden usar los compuestos y composiciones descritos en el presente documento en los métodos para tratar la abstinencia social en condiciones que incluyen, entre otras, el trastorno de ansiedad social, el trastorno de personalidad evitativo y el trastorno de personalidad esquizotípica.
- En algunas realizaciones, la descripción proporciona un compuesto descrito, o una composición farmacéutica que incluye un compuesto descrito para su uso en métodos para tratar un trastorno del desarrollo neurológico relacionado con la disfunción sináptica en un paciente que lo necesite, donde los métodos generalmente incluyen administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito, o una composición farmacéutica que incluye un compuesto descrito. En ciertas realizaciones, el trastorno del desarrollo neurológico relacionado con la disfunción sináptica puede ser el síndrome de Rett, también conocido como hiperamonemia cerebroatrófica, síndrome de duplicación MECP2 (por ejemplo, un trastorno MECP2), síndrome CDKL5, síndrome del cromosoma X frágil (por ejemplo, un trastorno por FMR1), esclerosis tuberosa (por ejemplo, un trastorno TSC1 y/o trastorno TSC2), neurofibromatosis (por ejemplo, un trastorno de NF1), síndrome de Angelman (por ejemplo, un trastorno de UBE3A), el síndrome de tumor de hamartoma PTEN, síndrome de Phelan-McDermid (por ejemplo, un trastorno de SHANK3) o espasmos infantiles. En realizaciones particulares, el trastorno del desarrollo neurológico puede estar causado por mutaciones en la neuroligina (por ejemplo, un trastorno NLGN3 y/o un trastorno NLGN2) y la neurexina (por ejemplo, un trastorno NRXN1).
- En algunas realizaciones, se proporciona compuestos y composiciones descritos en el presente documento para su uso en métodos para tratar el dolor neuropático. El dolor neuropático puede ser agudo o crónico. En algunos casos, el dolor neuropático puede estar asociado con una afección como herpes, VIH, lesión nerviosa traumática, apoplejía, postisquemia, dolor de espalda crónico, neuralgia posherpética, fibromialgia, distrofia simpática refleja, síndrome de dolor regional complejo, lesión de la médula espinal, ciática, dolor del miembro fantasma, neuropatía diabética como la neuropatía periférica diabética (DPN) y dolor neuropático inducido por quimioterapia para el cáncer. En ciertas realizaciones, también se proporcionan compuestos y composiciones descritos en el presente documento para su uso en métodos para mejorar el alivio del dolor y para proporcionar analgesia a un paciente.
- Los compuestos descritos en el presente documento para su uso en métodos adicionales incluyen el uso en un método para tratar el autismo y/o un trastorno del espectro autista en un paciente que lo necesita, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto al paciente. En algunas realizaciones, se puede usar un compuesto descrito en un método para reducir los síntomas del autismo en un paciente que lo necesite que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto descrito al paciente. Por ejemplo, tras la administración, el compuesto puede disminuir la incidencia de uno o más síntomas de autismo, como la evitación de contacto con los ojos, la incapacidad para socializar, el déficit de atención, el mal humor, la hiperactividad, la sensibilidad anómala a sonidos, el habla inapropiada, el sueño interrumpido y la perseveración. Dicha incidencia disminuida puede medirse en relación con la incidencia en el individuo no tratado o en un individuo no tratado.

5 También se proporciona en el presente documento un compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para modular una expresión del gen objetivo del autismo en una célula que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento. La expresión del gen del autismo puede, por ejemplo, seleccionarse entre ABAT, APOE, CHRNA4, GABRA5, GFAP, GRIN2A, PDYN y PENK. En ciertas realizaciones, se proporciona un compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para modular la plasticidad sináptica en un paciente que padece un trastorno relacionado con la plasticidad sináptica, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto.

10 En algunas realizaciones, se describe un compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para tratar la enfermedad de Alzheimer, o por ejemplo, el tratamiento de la pérdida de memoria que, por ejemplo, acompaña a la enfermedad de Alzheimer en etapa temprana, en un paciente que lo necesite, que comprende administrar un compuesto. En el presente documento también se proporciona un compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para modular una proteína amiloide de Alzheimer (por ejemplo, péptido beta amiloide, por ejemplo, la isoforma A β 1-42), *in-vitro* o *in-vivo* (por ejemplo, en una célula) que comprende poner en contacto la proteína con una cantidad eficaz de un compuesto. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un compuesto puede bloquear la capacidad de dicha proteína amiloide para inhibir la potenciación a largo plazo en cortes de hipocampo, así como la muerte de células neuronales apoptóticas. En algunas realizaciones, un compuesto descrito puede proporcionar propiedades neuroprotectoras a un paciente con Alzheimer que lo necesite, por ejemplo, puede proporcionar un efecto terapéutico en la etapa posterior de la muerte de células neuronales asociada con el Alzheimer.

15 20 En ciertas realizaciones, los usos descritos incluyen el tratamiento de una psicosis o un efecto pseudobulbar ("PBA") inducido por otra afección, como un accidente cerebrovascular, esclerosis lateral amiotrófica (ALS o enfermedad de Lou Gehrig), esclerosis múltiple, lesión cerebral traumática, enfermedad de Alzheimer, demencia, y/o enfermedad de Parkinson. Tales métodos, como con otros métodos de la descripción, incluyen la administración de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto descrito a un paciente que lo necesite.

25 30 35 En ciertas realizaciones, un compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para tratar la depresión incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el tratamiento puede aliviar la depresión o un síntoma de la depresión sin afectar el comportamiento o la coordinación motora y sin inducir o promover la actividad convulsiva. Las condiciones de depresión ejemplares que se espera que se traten de acuerdo con este aspecto incluyen, entre otras, trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, depresión psicótica, depresión posparto, síndrome premenstrual, trastorno disfórico premenstrual, trastorno afectivo estacional (SAD), trastorno bipolar (o trastorno depresivo maníaco), trastorno del estado de ánimo y depresiones causadas por afecciones médicas crónicas como cáncer o dolor crónico, quimioterapia, estrés crónico y trastornos de estrés postraumático. Además, los pacientes que sufren cualquier tipo de depresión a menudo experimentan ansiedad. Varios síntomas asociados con la ansiedad incluyen miedo, pánico, palpitaciones del corazón, dificultad para respirar, fatiga, náuseas y dolores de cabeza, entre otros. La ansiedad o cualquiera de sus síntomas pueden tratarse administrando un compuesto como se describe en el presente documento.

40 En el presente documento también se proporcionan compuestos descritos en el presente documento para su uso en métodos para tratar una afección en pacientes resistentes al tratamiento, por ejemplo, pacientes que padecen una afección mental o del sistema nervioso central que no responde y/o no ha respondido a cursos adecuados de al menos uno o al menos dos, otros compuestos o terapéuticos. Por ejemplo, aquí se proporciona un compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para tratar la depresión en un paciente resistente al tratamiento, que comprende a) identificar opcionalmente al paciente como resistente al tratamiento y b) administrar una dosis efectiva de un compuesto a dicho paciente.

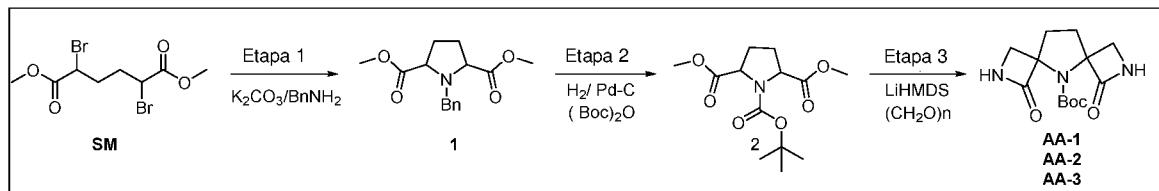
45 En algunas realizaciones, un compuesto descrito en el presente documento puede usarse para el cuidado agudo de un paciente. Por ejemplo, se puede administrar un compuesto a un paciente para tratar un episodio particular (por ejemplo, un episodio grave) de una afección descrita en el presente documento.

50 55 En el presente documento también se proporcionan terapias combinadas que comprenden un compuesto de la descripción en combinación con uno o más de otros agentes activos. Por ejemplo, un compuesto puede combinarse con uno o más antidepresivos, como los antidepresivos tricíclicos, los inhibidores de la captación de MAO-I, los SSRI y los inhibidores de la captación doble y triple y/o los fármacos ansiolíticos. Los fármacos de ejemplo que pueden usarse combinados con un compuesto incluyen Anafranil, Adapin, Aventyl, Elavil, Norpramin, Pamelor, Pertofrane, Sinequan, Surmontil, Tofranil, Vivactil, Parnate, Nardil, Marplan, Celexa, Lexapro, Luvox, Paxil, Prozac, Zoloft, Wellbutrin, Effexor, Remeron, Cymbalta, Desyrel (trazodona), y Ludiomill. En otro ejemplo, un compuesto puede combinarse con un medicamento antipsicótico. Entre los ejemplos no limitantes de antipsicóticos se incluyen butirofenonas, fenotiazinas, tioxantenos, clozapina, olanzapina, risperidona, quetiapina, ziprasidona, amisulprida, asenapina, paliperidona, iloperidona, zotepina, sertindol, lurasidona y aripiprona. Debe entenderse que las combinaciones de un compuesto y una o más de las terapias anteriores se pueden usar para el tratamiento de cualquier afección adecuada y no se limitan a su uso como antidepresivos o antipsicóticos.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines ilustrativos.

Las siguientes abreviaturas se pueden usar en el presente documento y tienen las definiciones indicadas: Ac es acetilo (-C(O)CH₃), SIDA es syndrome de inmunodeficiencia adquirida, Boc y BOC son tert-butoxicarbonil, Boc₂O es carbonato de di-tert-butilo, Bn es bencilo, BOM-Cl es cloruro benciloximetilo, CAN es nitrato de amonio célico, Cbz es carboxibencilo, DCM es diclorometano, DIAD es azodicarboxilato de diisopropilo, DIPEA es N,N-diisopropilatilamina, DMAP es 4-dimetilaminopiridina, DMF es N,N-dimetilformamida, DMSO es sulfóxido de dimetilo, ESI es ionización por electropulverización, EtOAc es acetato de etilo, Gly es glicina, h es hora, HATU es hexafluorofosfato de 2- (7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, VIH es virus de inmunodeficiencia humana, HPLC es cromatografía de líquidos de alta resolución, LCMS es cromatografía de líquidos/espectrometría de masas, LiHMDS es hexametildisilazano de litio, NMDAR es un receptor de N-metil-d-apartato, RMN es resonancia magnética nuclear, Pd/C es paladio sobre carbono, PMB es para-metoxibencilo, RT es temperatura ambiente (por ejemplo, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C), TEA es trimetilamina, TLC es cromatografía de capa fina, TFA es ácido trifluoroacético, THF es tetrahidrofurano, TPP es trifenilfosfina, LDA es diisopropilamida de litio, TBSCl es cloruro de tert-butildimililo, TBAF es fluoruro de tetra-n-butilamonio, TsCl es cloruro de tosilo o cloruro de p-toluenosulfonilo, IBCF es cloroformiato de isobutilo, NMM es N-metilmorfolina y DMP es peryodinano de Dess-Martin.

SÍNTESIS DE COMPUESTOS**Síntesis de AA-1, AA-2 y AA-3:****Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):**

A una solución en agitación de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (SM) (50 g, 0,15 mol) en tolueno: agua (150 ml, 2:1) se añadieron bencilamina (16 ml, 0,15 mol) y K₂CO₃ (24 g, 0,18 mol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo a 110 °C y se agitó durante 4 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ anhídrido y se concentró a presión reducida para obtener la mezcla del compuesto 1 (39 g, 93 %) como líquido. Este material se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con 20 % de EtOAc/n-hexano para proporcionar el compuesto 1-F1 (10 g), compuesto 1-F2 (13 g) y compuesto 1-F1 y F2 como una mezcla (16 g) como líquido. ¹H RMN (500MHz, CDCl₃): δ 7,32-7,17 (m, 5H), 3,89 (s, 2H), 3,55 (s, 6H), 3,45-3,38 (m, 2H), 2,08-1,99 (m, 4H). LCMS (m/z): 278,2 [M⁺+1].

Síntesis de 2,5-dimetil pirrolidona-1,2,5-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) (2):

A una solución en agitación de la mezcla del compuesto 1 (10 g, 0,036 mol) en metanol (100 ml) se le añadió anhídrido de Boc (12,4 ml, 0,054 mol) y 50 % de Pd/C al 10 % húmedo (5 g) a RT en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una capa de celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El material puro se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH al 10 %/DCM para proporcionar una mezcla del compuesto 2 (10 g, 96 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 4,28-4,19 (m, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 2,25-2,13 (m, 2H), 1,96-1,86 (m, 2H), 1,34 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 188,1 [(M⁺+1)-Boc].

Síntesis de tert-butil 1,7-dioxo-2,5,8-triazadiespiro[3.1.36.24]undecano-5-carboxilato (AA):

A una solución en agitación de la mezcla del compuesto 2 (10 g, 0,034 mol) en THF (30 ml) se añadieron paraformaldehído (2 g, 0,069 mol) y LiHMDS (1,0M en THF) (174 ml, 0,174 mol) a -50 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se detuvo con agua con hielo (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml) y MeOH al 10 %/DCM (2 x 50 ml). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ y se concentró para obtener un compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo MeOH al 10 %/DCM para proporcionar AA racémico (2 g, 20 %) como sólido blanco. AA racémico (700 mg) además se purificó por HPLC preparativa para obtener 200 mg de mezcla de enantiómero F1 y 190 mg de AA-3 como sólido blanco. Además, se resolvieron 200 mg de mezcla de enantiómero F1 por purificación mediante HPLC preparativa quiral para obtener 62 mg de AA-1 y 60 mg de AA-2.

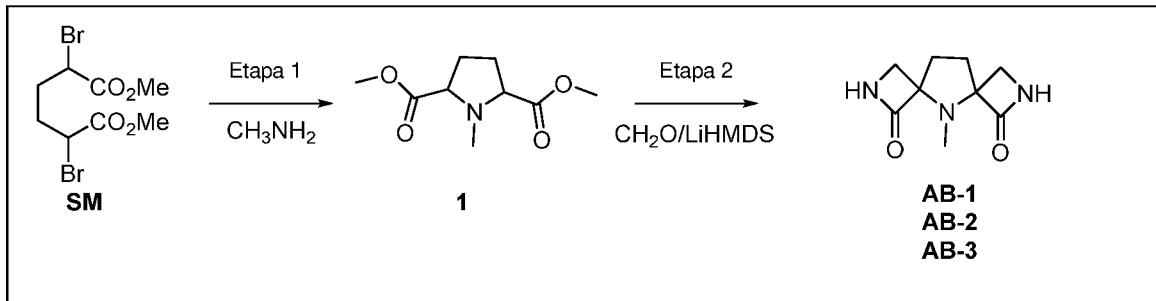
AA-1: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,93 (d a, J = 19,6 Hz, 2H), 3,47-3,34 (m, 2H), 3,19 (dd, J = 4,8, 16,8 Hz, 2H), 2,17-1,96 (m, 4H), 1,38 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 282,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,76 %. HPLC quiral: 99,36 %.

AA-2: ^1H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,93 (d a, J = 19,6 Hz, 2H), 3,46 – 3,34 (m, 2H), 3,19 (dd, J = 4,8, 16,8 Hz, 2H), 2,14-1,99 (m, 4H), 1,38 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 282,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,68 %. HPLC quiral: 100,00 %

AA-3: ^1H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,94-7,82 (m, 2H), 3,58 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 3,41 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 3,17 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 3,11 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 2,18-2,08 (m, 4H), 1,38 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 282,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,69 %.

5 HPLC quiral: 100,00 %.

Síntesis de AB-1, AB-2 y AB-3:



Síntesis de 1-metilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):

A una solución agitada de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (SM) (20 g, 60,2 mmol) en THF (80 ml) se le añadió 10 metilamina (solución 2 M en THF) (90 ml, 180,7 mmol) lentamente a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y después se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se dejó a RT y se continuó agitando durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se evaporó a presión reducida. La mezcla bruta obtenida se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar el compuesto 1 (8 g, 60 %) como jarabe puro. ^1H -RMN: (500 MHz, CDCl_3): δ 3,76 (s, 6H), 3,23 (s a, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,19-2,08 (m, 4H). LCMS (m/z): 202,1 [M⁺+1].

15 Síntesis de 5-metil-2,5,8-triazadiespiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (AB):

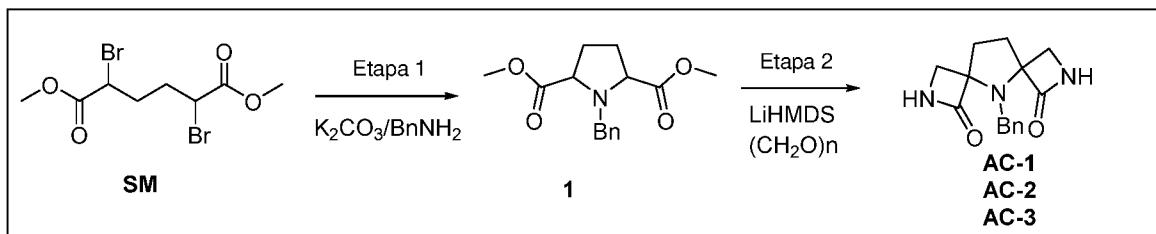
A una solución agitada del compuesto 1 (3 g, 14,9 mmol) en THF (30 ml) se añadió para formaldehído (1 g, 35,7 mmol) y se agitó a RT durante 5 min. La mezcla de reacción se enfrió a -70 °C, se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF) (90 ml, 89,4 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), se detuvo con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml) seguido de una solución de salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró para obtener un compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar AB racémico (1 g, 34 %) como un sólido blanquecino. La mezcla racémica AB (1 g) se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa para obtener 350 mg de mezcla enantiomérica F1 y 115 mg de AB-3 como un sólido blanco. Se resolvieron 20 adicionalmente 350 mg de la mezcla enantiomérica F1 mediante purificación por HPLC preparativa quiral para proporcionar 100 mg de AB-1 y 100 mg de AB-2.

AB-1: ^1H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,87 (s a, 2H), 3,33 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 3,04 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,08-1,99 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 196,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,32 %. HPLC quiral: 99,16 %.

AB-2: ^1H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,87 (s a, 2H), 3,33 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 3,04 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,07-1,99 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 196,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,36 %. HPLC quiral: 99,21 %

AB-3: ^1H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,84 (s a, 2H), 3,32 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 2,98 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,14 -1,99 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 196,2 [M⁺+1]. HPLC: 96,44 %. HPLC quiral: 96,69 %

Síntesis de AC-1, AC-2 y AC-3:



Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):

A una solución en agitación de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (SM) (50 g, 0,15 mol) en tolueno: agua (150 ml, 2:1) se añadieron bencilamina (16 ml, 0,15 mol) y K_2CO_3 (24 g, 0,18 mol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo a 110 °C y se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó con Na_2SO_4 anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener la mezcla del compuesto 1 (39 g, 93 %) como líquido. Este material se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar el compuesto **1-F1** (10 g,), compuesto **1-F2** (13 g,) y compuesto **1-F1 y F2** (16 g) como líquido. 1H RMN (500MHz, $CDCl_3$): δ 7,32-7,17 (m, 5H), 3,89 (s, 2H), 3,55 (s, 6H), 3,45-3,38 (m, 2H), 2,08-1,99 (m, 4H). LCMS (m/z): 278,2 [M⁺+1]

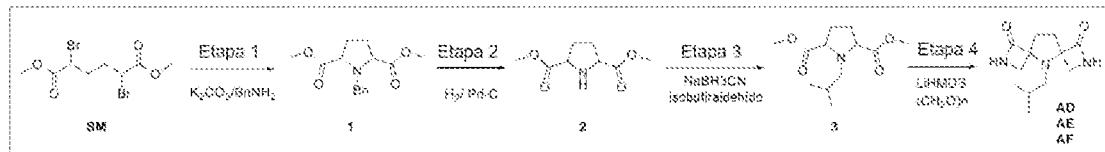
Síntesis de 5-bencil-2,5,8-triazadespiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (AC):

A una solución en agitación del compuesto 1 (10 g, 0,036 mol) en THF (100 ml) se le añadió paraformaldehído (2,16 g, 0,072 mol) y LiHMDS (1,0M en THF) (180 ml, 0,18 mol) a -70 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después de consumir el material de partida (por TLC), la reacción se detuvo con agua con hielo (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml) y MeOH al 10 %/DCM (2 x 50 ml). La capa orgánica combinada se secó con Na_2SO_4 y se concentró para obtener un compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para proporcionar AC como un producto racémico (2 g, 20 %) como un sólido blanco. La AC racémica (1 g) se purificó por HPLC preparativa para obtener 150 mg de la mezcla enantiomérica F1 y 12 mg de AC-3 como un sólido blanco. Se resolvieron adicionalmente 150 mg de la mezcla enantiomérica F1 mediante purificación por HPLC preparativa quirial para proporcionar 50 mg de **AC-1** y 46 mg de **AC-2**.

AC-1: 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,82 (s, 2H), 7,36 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 7,31-7,18 (m, 3H), 3,93-3,72 (m, 2H), 3,06-2,92 (m, 4H), 2,13-2,04 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 271,9 [M⁺+1]. HPLC: 99,18 %. HPLC quirial: 99,83 %.

AC-2: 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,82 (s, 2H), 7,40-7,33 (m, 2H), 7,32-7,18 (m, 3H), 3,93-3,73 (m, 2H), 3,05-2,94 (m, 4H), 2,09 (d a, J = 2,7 Hz, 4H). LCMS (ESI): m/z 271,9 [M⁺+1]. HPLC: 99,55 %. HPLC quirial: 100,00 %.

AC-3: 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,69 (s, 2H), 7,37-7,17 (m, 5H), 3,91 (s, 2H), 3,11-3,01 (m, 4H), 2,24-2,13 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 2H). LCMS (ESI): m/z 271,9 [M⁺+1]. HPLC: 92,75 %. HPLC quirial: 100,00 %.

Síntesis de AD, AE y AF:**Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):**

A una solución en agitación de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (SM) (50 g, 0,15 mol) en tolueno: agua (150 ml, 2:1) se añadieron bencilamina (16 ml, 0,15 mol) y K_2CO_3 (24 g, 0,18 mol) a RT. La mezcla de reacción se calentó a reflujo a 110 °C y se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó con Na_2SO_4 anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener una mezcla del compuesto 1 (39 g, 93 %) como líquido. Este material se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar el compuesto **1-F1** (10 g), compuesto **1-F2** (13 g) y compuesto **1-F1 y F2** (16 g) como una mezcla (16 g) como líquido.

1H RMN (500MHz, $CDCl_3$): δ 7,32-7,17 (m, 5H), 3,89 (s, 2H), 3,55 (s, 6H), 3,45-3,38 (m, 2H), 2,08-1,99 (m, 4H). LCMS (m/z): 278,2 [M⁺+1].

Síntesis de pirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (2):

A una solución en agitación del compuesto 1 (15 g, 0,054 mol, mezcla) en metanol (100 ml) se añadió Pd/C (húmedo 50 %) (6 g) a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h en atmósfera H_2 (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (200 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo se purificó con metanol y éter para proporcionar el compuesto 2 (8 g, 79 %) como un sólido blanco.

1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 9,24-8,86 (m, 1H), 4,32 (s a, 2H), 3,73 (s, 6H), 2,28-2,18 (m, 2H), 2,06-1,96 (m, 2H). LCMS (m/z): 188,1 [M⁺+1].

Síntesis de 1-isobutilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (3):

A una solución en agitación del compuesto 2 (3,9 g, 0,021 mol) en metanol (25 ml) se le añadió isobutiraldehído (2,2 g, 0,031 mol) y cianoborohidruro de sodio (2,6 g, 0,041 mol) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (1 ml) y se concentró a presión reducida. El material crudo se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 25 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para proporcionar un compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo EtOAc al 15 %/n-hexano para obtener el compuesto 3 (3,5 g, 72 %) como líquido.

1H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 3,60 (s, 6H), 3,31 (s, 2H), 2,39 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 2,08-1,99 (m, 2H), 1,95-1,85 (m, 2H), 1,51-1,39 (m, 1H), 0,81 (s, 3H), 0,79 (s, 3H). **LCMS (m/z)**: 244,3 [M⁺+1].

Síntesis de 5-isobutil-2,5,8-triazadiespiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (AD, AE, AF):

A una solución en agitación del compuesto 3 (4,5 g, 0,018 mol) en THF (60 ml) se le añadieron paraformaldehído (1,1 g, 0,037 mol) y LiHMDS (1,0 M en THF) (111 ml, 0,111 mol) a -50 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 1 h. Después, la mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con agua con hielo (25 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ y se concentró para obtener un compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo MeOH al 10 %/DCM para proporcionar un producto racémico (1,6 g). Este producto se purificó adicionalmente mediante HPLC de fase inversa para obtener 470 mg de una fracción (con AD y AF) y 270 mg de otra fracción (AE) como sólidos blancos. La fracción que tiene (470 mg, AD y AF) se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa quiral para obtener 110 mg de **AD** y 130 mg de **AF**.

AD: **1H RMN** (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,83 (s, 2H), 3,26 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,08 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 2,47 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 2,34 (dd, J = 8,5, 13,4 Hz, 1H), 2,08-2,01 (m, 4H), 1,72-1,61 (m, 1H), 0,84 (d, J = 1,8 Hz, 3H), 0,82 (d, J = 1,9 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** m/z 238,0 [M⁺+1]; **HPLC:** 99,41 %. **HPLC quiral:** 99,87 %. **Columna:** CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm), **Fase móvil A:** 0,1 % DEA en MeOH, **Fase móvil B:** DCM:MeOH (50:50); **A:B :: 75:25;** **Tasa de flujo:** 1,0 ml/min; **Tiempo de retención:** 9,344.

AE: **1H RMN** (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,79 (s, 2H), 3,22 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 3,03 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 2,45 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 2,16-2,10 (m, 2H), 2,05-1,97 (m, 2H), 1,68-1,57 (m, 1H), 0,83 (s, 3H), 0,82 (s, 3H). **LCMS (ESI):** m/z 238,3 [M⁺+1]; **HPLC:** 99,15 %. **HPLC quiral:** 100,00 %. **Columna:** CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); **Fase móvil A:** 0,1 % DEA en MeOH; **Fase móvil B:** DCM:MeOH (50:50); **A:B :: 75:25;** **Tasa de flujo:** 1,0 ml/min; **Tiempo de retención:** 11,861.

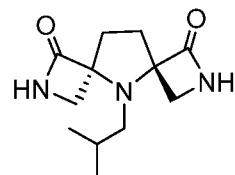
AF: **1H RMN** (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,83 (s, 2H), 3,26 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 3,08 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 2,47 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 2,34 (dd, J = 8,5, 13,3 Hz, 1H), 2,08-2,01 (m, 4H), 1,72-1,61 (m, 1H), 0,84 (d, J = 1,8 Hz, 3H), 0,82 (d, J = 2,0 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** m/z 237,9 [M⁺+1]. **HPLC:** 99,39 %. **HPLC quiral:** 100,00 %. **Columna:** CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); **Fase móvil:** A:0,1 % DEA en MeOH; **Fase móvil:** B:DCM : MeOH (50 : 50); **A:B :: 75:25;** **Tasa de flujo :** 1,0 ml/min; **Tiempo de retención :** 10,005.

Recristalización de AD:

Se colocaron 100 mg de **AD** en un vial de 5 ml y se disolvieron en 1,5 ml de IPA. La solución resultante se dejó a temperatura ambiente para que se evaporara lentamente el disolvente. Después de 48 h, se observó la formación de cristales que se utilizaron para el análisis de rayos X de monocrystal.

Los resultados del análisis de difracción de rayos X de cristal se muestran en la FIGURA 1. La FIGURA 1 muestra datos para la estructura del cristal y muestra que los cristales son ortorrómbicos y tienen un grupo espacial P2₁2₁2₁. El análisis de los datos de difracción de un monocrystal muestra que la configuración absoluta de cada uno de los dos carbonos quirales en los centros espiro de **AD** es (S), según lo determinado por la técnica PLATON (A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.*, **36**, 7-13 (2003)).

Basado en los resultados, la estereoquímica absoluta del Compuesto **AD** se muestra en la siguiente estructura:



45

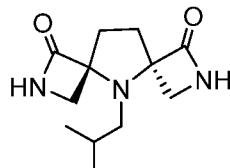
Recristalización de AF:

Se colocaron 50 mg de **AF** en un vial de 5 ml y se disolvieron en 1,5 ml de IPA. La solución resultante se dejó a temperatura ambiente para que se evaporara lentamente el disolvente. Después de 48 h, se observó la formación de cristales que se utilizaron para el análisis de rayos X de monocrystal.

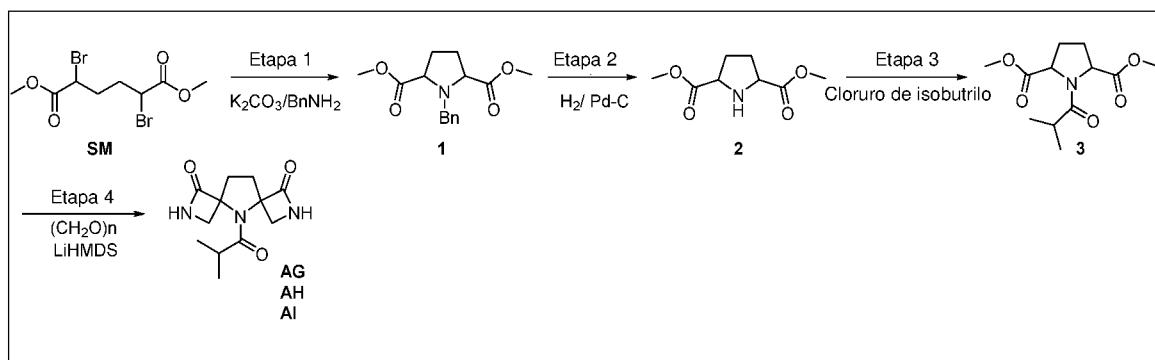
Los resultados del análisis de difracción de rayos X de cristal se muestran en la FIGURA 2. La FIGURA 2 muestra los datos de la estructura del cristal y muestra que los cristales son ortorrómbicos y tienen un grupo espacial $P2_12_12_1$. El análisis de los datos de difracción de monocristal muestra que la configuración absoluta de cada uno de los dos carbonos quirales en los centros espiro de **AF** es (R), según lo determinado por la técnica PLATON (A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.*, **36**, 7-13 (2003)).

5

Basado en los resultados, la estereoquímica absoluta del Compuesto **AF** se muestra en la estructura a continuación:



Síntesis de AG, AH y AI:



Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):

- 10 A una solución en agitación de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (SM) (30 g, 0,091 mol) en tolueno: agua (90 ml, 2: 1) se le añadieron bencilamina (9,8 ml, 0,091 mol) y K_2CO_3 (15 g, 0,108 mol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo a 90 °C y se agitó durante 16 h. Después de consumir el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó con Na_2SO_4 anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el producto crudo que se purificó mediante 15 cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para proporcionar el compuesto **1** (19,6 g, 78 %) como un líquido. 1H RMN (500MHz, $CDCl_3$): δ 7,32-7,17 (m, 5H), 3,89 (s, 2H), 3,55 (s, 6H), 3,45-3,38 (m, 2H), 2,08-1,99 (m, 4H). LCMS (m/z): 278,2 [M⁺+1].

15

Síntesis de pirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (2):

- 20 A una solución en agitación del compuesto **1** (50 g, 0,180 mol) en metanol (500 ml) se le añadió Pd/ C (húmedo 50 % (25 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H_2 (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (500 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo se purificó con metanol y éter para proporcionar el compuesto **2** (30 g, 89 %) como sólido blanco. 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 9,24-8,86 (m, 1H), 4,32 (s a, 2H), 3,73 (s, 6H), 2,28-2,18 (m, 2H), 2,06-1,96 (m, 2H). LCMS (m/z): 188,1 [M⁺+1].

25

Síntesis de 1-isobutirilpirrolidin-2,5-dicarboxilato de dimetilo (3):

- 30 A una solución en agitación del compuesto **2** (15 g, 0,080 mol) en DCM (150 ml) se le agregaron Et_3N (22,3 ml, 0,160 mol) y cloruro de isobutirilo (10 ml, 0,096 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. A continuación, la mezcla de reacción se agitó a RT durante 5 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con DCM (2 x 200 ml). La capa orgánica separada se secó con Na_2SO_4 anhídrico y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo EtOAc al 40 %/n-hexano para obtener el compuesto **3** (13,7 g, 66 %) como un líquido. 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 4,77 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,32-4,26 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,59 (s, 3H), 2,70-2,59 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 3H), 1,84-1,72 (m, 1H), 0,98 (s, 3H), 0,97 (s, 3H). LCMS (m/z): 258,2 [M⁺+1].

Síntesis de 5-isobutiril-2,5,8-triazadispiro[3.1.3.6.24]undecano-1,7-diona (AG, AH, AI):

- 35 A una solución en agitación del compuesto **3** (13,7 g, 0,053 mol) en THF (200 ml) se le añadieron paraformaldehído (3,2 g, 0,106 mol) y LiHMDS (1,0M en THF) (320 ml, 0,319 mol) a -50 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 1 h. Después, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después de consumir el

5

material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con agua con hielo (50 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml) y una mezcla de MeOH al 2 %/DCM (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ y se concentró para obtener un compuesto crudo que se purificó con EtOAc y metanol para proporcionar un producto racémico (2 g). Este producto se purificó adicionalmente mediante HPLC de fase inversa para obtener 305 mg de Fracción-1 y 450 mg de Fracción-2 **AI** como sólidos blancos. Se purificaron adicionalmente 305mg de la Fracción-1 por HPLC preparativa quiral para obtener 85 mg de Fracción-1 **AG** y 75 mg de Fracción-2 **AH**.

AG: ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 8,33 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 3,47 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,40 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 3,27 (s a, 1H), 3,09 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 2,46-2,42 (m, 1H), 2,24-2,10 (m, 2H), 2,07-1,97 (m, 2H), 1,02 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,97 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 252,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,25 %. HPLC quiral: 100 %.

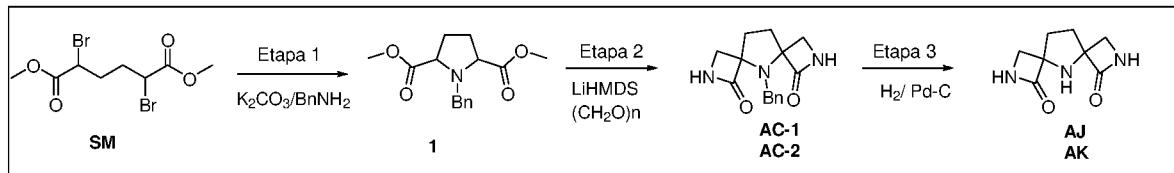
10

AH: ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 8,32 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 3,47 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,40 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 3,27 (s a, 1H), 3,09 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 2,46-2,42 (m, 1H), 2,23-2,11 (m, 2H), 2,07-1,97 (m, 2H), 1,02 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,97 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 252,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,69 %. HPLC quiral: 98,65 %.

15

AI: ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 8,29 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 3,58 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 3,43 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,36 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,05 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 2,48 (s, 1H), 2,26-2,17 (m, 2H), 2,17-2,09 (m, 2H), 1,07 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,97 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 252,2 [M⁺+1]. HPLC: 98,90 %. HPLC quiral: 100 %.

Síntesis de AJ y AK:



Síntesis de 2,5,8-triazadispiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (AJ):

20

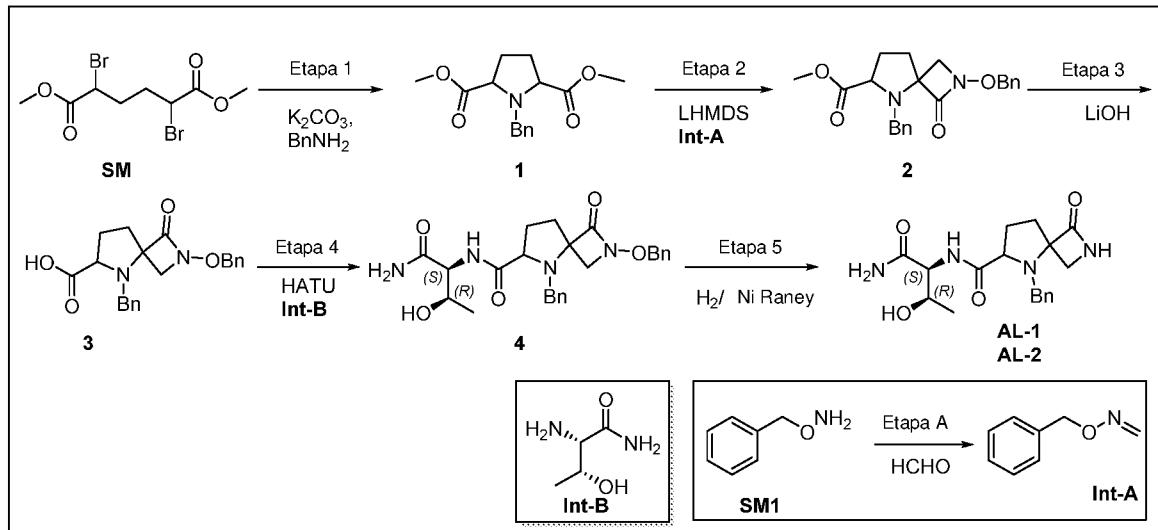
A una solución en agitación del compuesto AC-1 (200 mg, 0,73 mmol) en metanol (20 ml) se añadió Pd (OH) 2 (200 mg) a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h en atmósfera de H₂ (presión del globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo se purificó con metanol y éter para proporcionar **AJ** (135 mg, 66 %) como sólido blanco. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,73 (s a, 2H), 3,94 (s, 1H), 3,20 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,10 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 2,01-1,98 (m, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 182,19 [M⁺+1]. HPLC: 99,51 %. HPLC quiral: 100 %.

25

Síntesis de 2,5,8-triazadispiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (AK):

30

A una solución en agitación del compuesto **AC-2** (300 mg, 1,11 mmol) en metanol (30 ml) se le añadió Pd (OH) 2 (300 mg) a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h en atmósfera de H₂ (presión del globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo se limpió con metanol y acetato de etilo y se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH %/ DCM para obtener **AK** (110 mg, 55 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,73 (s, 2H), 3,94 (s, 1H), 3,20 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 3,10 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 2,03-1,96 (m, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 182,19 [M⁺+1]. HPLC: 99,55 %. HPLC quiral: 100 %.

Síntesis de AL-1 y AL-2:**Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):**

Una mezcla de dimetil 2,5-dibromohexanedioato (**SM**) (20 g, 60,2 mmol), K₂CO₃ (10 g, 72,28 mmol) y bencilamina (6,56 ml, 60,24 mmol) en tolueno:agua (60 ml, 2:1) se calentó a 110 °C y se agitó durante 16 h en atmósfera de nitrógeno.

5 Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a RT, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con hexano (2 x 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/Hexano para obtener el compuesto **1** (12 g, 72 %) como aceite amarillo. ¹H-RMN: (500 MHz, CDCl₃): δ 7,34-7,23 (m, 5H), 3,99 (s, 2H), 3,59 (s, 6H), 3,53-3,51 (m, 2H), 2,10-2,08 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 278,2 [M⁺ + 1].

10

Síntesis de 5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de metilo (2):

A una solución en agitación del compuesto **2** (5 g, 18,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió LiHMDS (1M en THF) (21,6 ml, 21,66 mmol) gota a gota a -70 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió una solución de Int-A (2,44 g, 18,05 mmol) en THF (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h y después se elevó lentamente la temperatura hasta RT durante un período de 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con una solución acuosa de NH₄Cl (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para obtener el compuesto **2** (2,5 g, 36 %) como jarabe espeso. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,51-7,46 (m, 2H), 7,43-7,37 (m, 3H), 7,32-7,26 (m, 5H), 5,11 – 5,02 (m, 2H), 4,01 (dd, J = 11,4, 1,3 Hz, 1H), 3,82 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,55-3,45 (m, 2H), 3,38 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 2,34-2,24 (m, 1H), 2,18-2,08 (m, 1H), 1,97-1,91 (m, 1H), 1,76-1,71 (m, 1H). LCMS (ESI): m/z 381,3 [M⁺ + 1].

15

Síntesis de 5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de metilo (3):

A una solución agitada del compuesto **2** (2,2 g, 5,78 mmol) en MeOH:THF:H₂O (15 ml, 1:1:1) se añadió LiOH.H₂O (364 mg, 8,68 mmol) a 0 °C y después se elevó la temperatura lentamente a RT durante un período de 1 h. La mezcla de reacción se agitó a RT durante 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida para proporcionar el compuesto **3** (2,1 g, 99 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,45-7,29 (m, 5H), 7,28-7,19 (m, 5H), 4,95-4,89 (m, 2H), 4,10 (d, J = 13,5 Hz, 1H), 3,90 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 1H), 3,21-3,16 (m, 1H), 3,05-3,03 (m, 1H), 2,16-2,11 (m, 1H), 1,86-1,80 (m, 1H), 1,68-1,58 (m, 2H). LCMS (ESI): m/z 367,3 [M⁺ + 1].

20

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (4):

A una solución del compuesto **3** (2,1 g, 5,73 mmol) en DMF (20 ml) se añadió HATU (2,6 g, 6,88 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 10 minutos. Después, se añadió Int-B (677 mg, 5,73 mmol) seguido de DIPEA (2,1 ml, 11,47 mmol). La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 8 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de HCl 1N (50 ml), solución de NaHCO₃ saturada (50 ml) y solución de salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para obtener compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/DCM para obtener el compuesto **4** y mezcla de HATU-Urea. De nuevo la mezcla se diluyó en DCM (250 ml) y se lavó con solución

de HCl 1 N (50 ml), solución de NaHCO₃ saturada (50 ml) y solución de salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto puro **4** (1,5 g, 49 %) como sólido blanco. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,58 (d a, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,52-27 (m, 11H), 7,11 (s a, 1H), 5,17-4,96 (m, 3H), 4,25-4,22 (m, 0,5H), 4,11-4,00 (m, 2H), 3,92-3,86 (m, 1,5H), 3,54 (d a, *J* = 11,4 Hz, 1H), 3,24-3,15 (m, 2H), 2,24-1,76 (m, 4H), 1,03 (dd, *J* = 11,4, 6,3 Hz, 3H). LCMS (m/z): 467,4 [M⁺+1].

5

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (AL):

A una solución agitada del compuesto **4** (1 g, 2,14 mmol) en metanol (15 ml) se añadió Ni Raney (1 g) a RT y se agitó durante 4 h en atmósfera H₂. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener **AL** racémico (750 mg, 97 %) como un sólido blanco. Se purificó **AL** racémico (350 mg) por HPLC prep para obtener **AL-1** (130 mg) y **AL-2** (120 mg) como sólidos blancos.

AL-1: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,66 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,48-7,39 (m, 3H), 7,35-7,25 (m, 3H), 7,11 (s a, 1H), 5,06 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,24 (dd, *J* = 8,9, 2,9 Hz, 1H), 4,14-4,05 (m, 2H), 3,57 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,35 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 3,30-3,25 (m, 1H), 3,05 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 2,22-2,06 (m, 2H), 2,05-1,94 (m, 1H), 1,84-1,75 (m, 1H), 1,07 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 361,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,42 %. HPLC quiral: 100 %.

AL-2: ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,65 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,39-7,27 (m, 6H), 7,10 (s, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,14-4,08 (m, 2H), 3,97 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,57 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,42 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,31-3,28 (m, 1H), 3,03 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 2,26-2,20 (m, 1H), 2,07-1,99 (m, 2H), 1,82-1,77 (m, 1H), 1,02 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 361,3 [M⁺+1]. HPLC: 98,43 %. HPLC quiral: 100 %.

20

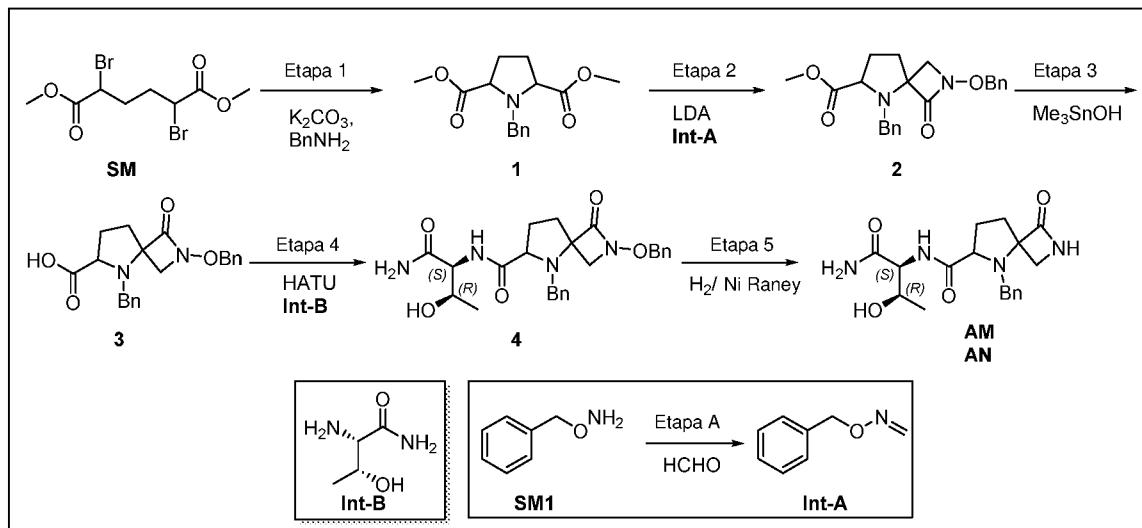
Preparación de Int-A:

Síntesis de formaldehido O-bencílico oxima (Int-A):

A una solución agitada de O-bencilhidroxilamina (**SM1**) (5 g, 40,65 mmol) y solución acuosa de NaOH (1,5 ml) en benceno (25 ml) se añadió una solución al 37 % de formaldehído (3,3 ml, 40,65 mmol) a RT y después se agitó durante 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener **Int-A** (5 g, 91 %) como un líquido amarillo pálido. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,28 (m, 5H), 7,08 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H).

25

Síntesis de AM y AN:



30

Síntesis de dimetil 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato (1):

A una solución de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (**SM**) (100 g, 0,301 mol) en tolueno:agua (300 ml, 2:1) se añadieron K₂CO₃ (50 g, 0,361 mol) y bencilamina (32,23 g, 0,301 mol). La mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C y se agitó durante 16 h en atmósfera de nitrógeno. Después de que finalizara la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a RT, se diluyó con EtOAc (200 ml). Después de agitar durante 10 minutos, la capa orgánica se separó y se lavó con una solución de salmuera. La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/hexano para obtener el compuesto 1 meso (45 g, 54 %) como jarabe marrón. También se aislaron 25 g de compuesto racémico **1**.

¹H RMN (500MHz, CDCl₃): δ 7,36-7,20 (m, 5H), 3,92 (s, 2H), 3,58 (s, 6H), 3,48-3,41 (m, 2H), 2,11-2,02 (m, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 277,9 [M⁺+1].

Síntesis de 5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de metilo (2):

Una solución de compuesto 1 meso (10 g, 36,10 mmol) en THF (80 ml) se añadió a una solución de LDA recién preparada (1,3 eq.) gota a gota a -78 °C en atmósfera de nitrógeno. Después agitarla a -78 °C durante 1 h, se añadió una solución de Int-A (4,87 g, 36,10 mmol) en THF (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 3 h y después se elevó lentamente la temperatura a RT. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución acuosa de NH₄Cl (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/Hexano para obtener el compuesto 2 (2,9 g, Crudo) como jarabe marrón. Se realiza otra reacción con un lote de 10 g para obtener 2,9 g del compuesto 2 como producto. Ambos lotes se combinaron y purificaron por HPLC preparativa de fase inversa para obtener el compuesto-2-F1 (1,6 g) y el compuesto-2-F2 (1 g).

Compuesto-2-F1: ¹H RMN (500MHz, CDCl₃) δ 7,52-7,46 (m, 2H), 7,40 (dd a, *J* = 2,0, 4,6 Hz, 3H), 7,34-7,21 (m, 5H), 5,12-5,00 (m, 2H), 4,01 (d a, *J* = 11,3 Hz, 1H), 3,79 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,54-3,29 (m, 3H), 2,31-2,22 (m, 1H), 2,13-2,07 (m, 1H), 1,97-1,87 (m, 1H), 1,78-1,72 (m, 1H). LCMS (ESI): *m/z* 381,4 [M⁺+1]. HPLC: 99,21 %.

Compuesto-2-F2: ¹H RMN (500MHz, CDCl₃): δ 7,40-7,31 (m, 4H), 7,30-7,19 (m, 6H), 4,96-4,82 (m, 2H), 3,90 (d, *J* = 14,2 Hz, 1H), 3,67 (d, *J* = 14,2 Hz, 1H), 3,51 (s, 3H), 3,49 (dd, *J* = 3,6, 7,4 Hz, 1H), 3,35 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 3,13 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 2,53-2,45 (m, 1H), 2,06-1,88 (m, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 381,4 [M⁺+1]. HPLC: 98,04 %.

Síntesis de ácido 5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (3):

A una solución agitada del compuesto 2-F2 (1,8 g, 4,73 mmol) en dicloroetano (20 ml) se añadió Me₃SnOH (4,26 g, 23,6 mmol) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción resultante se calentó a 90-100 °C y se agitó durante 48 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida para obtener el compuesto 3 (6 g, Crudo) como un jarabe, que se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. LCMS (ESI): *m/z* 367,3 [M⁺+1].

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (4):

A una solución del compuesto 3 (1,5 g, 4,09 mmol) en DMF (15 ml) se añadió HATU (1,86 g, 4,91 mmol) a 0-5 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 5 minutos, se añadió Int-B (532 mg, 4,51 mmol) seguido de DIPEA (1,5 ml, 8,19 mmol). La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3x100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de HCl 1 N y solución de salmuera. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 3 %/DCM para obtener el compuesto 4 (800 mg, 42 %) como un sólido marrón. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,70-7,57 (m, 1H), 7,38-7,29 (m, 6H), 7,27-7,16 (m, 3H), 7,09-7,01 (m, 1H), 6,77 (s, 1H), 4,76-4,65 (m, 1H), 4,06-3,98 (m, 2H), 3,92-3,83 (m, 2H), 3,80-3,67 (m, 3H), 3,50-3,32 (m, 2H), 3,29-3,24 (m, 1H), 2,15-1,92 (m, 3H), 1,79-1,70 (m, 1H), 1,00-0,82 (m, 3H). LCMS (m/z): 467,4 [M⁺+1].

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (AM, AN):

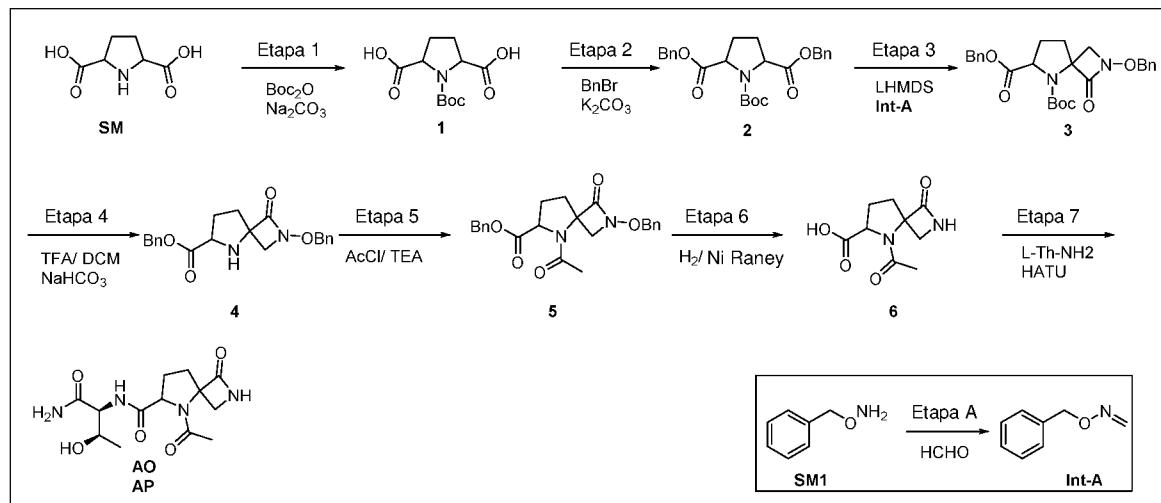
A una solución agitada del compuesto 4 (700 mg, 1,50 mmol) en metanol (10 ml) se añadió Ni Raney (1,4 g) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se desgasificó y después se agitó durante 16 h en atmósfera H₂ (presión de globo). HPLC y LCMS del crudo mostraron la presencia del producto e intermedio (producto N-OH). De nuevo se añadió Ni Raney (1 g) a la mezcla de reacción y se agitó durante 8 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se sometió a purificación por HPLC preparativa (purificación de fase normal e inversa) para obtener AM racémico (100 mg, 18 %) y AN (90 mg, 17 %) como sólido blancos.

AM: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,78 (s, 1H), 7,73 (d a, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,37 (dd, *J* = 1,6, 7,7 Hz, 2H), 7,25-7,16 (m, 3H), 7,03 (s a, 1H), 6,74 (s a, 1H), 4,89 (d a, *J* = 4,5 Hz, 1H), 4,00-3,94 (m, 2H), 3,93-3,80 (m, 2H), 3,61 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 2,5, 9,4 Hz, 1H), 2,99 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 2,23-1,96 (m, 3H), 1,80-1,70 (m, 1H), 0,99 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 361,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,36 %. HPLC quiral: 99,82 %.

AN: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,81 (s, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,38-7,32 (m, 2H), 7,29-7,17 (m, 3H), 7,07 (d a, *J* = 13,6 Hz, 2H), 4,93 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,00 (dd, *J* = 3,3, 8,9 Hz, 1H), 3,93-3,78 (m, 3H), 3,59 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,44 (dd, *J* = 2,9, 8,8 Hz, 1H), 3,03 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 2,22-2,09 (m, 2H), 2,06-1,96 (m, 1H), 1,81-1,75 (m, 1H), 0,87 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 381,4 [M⁺+1]. HPLC: 99,72 %. HPLC quiral: 100,00 %.

Preparación de Int-A:**Síntesis de formaldehído O-bencilogoxima (Int-A):**

A una solución agitada de O-bencilhidroxilamina (SM1) (5 g, 40,65 mmol) y solución de NaOH acuosa (1,5 ml) en benceno (25 ml) se añadió una solución al 37 % de formaldehído (3,3 ml, 40,65 mmol) a RT después se agitó durante 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener **Int-A** (5 g, 91 %) como un líquido amarillo pálido. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,28 (m, 5H), 7,08 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H).

Síntesis de AO y AP:**10 Síntesis de ácido 1-(tert-butoxicarbonil)pirrolidin-2,5-dicarboxílico (1):**

Se diluyó pirrolidin-2, ácido 5-dicarboxílico (**SM**) (20 g, 125,7 mmol) con 1,4-dioxano:H₂O (400 ml, 1:1), y se añadió Boc₂O (41,1 g, 188,67 mmol) y Na₂CO₃ (53,3 g, 503,1 mmol) a 10 °C a 15 °C. La mezcla de reacción se agitó a RT durante 16 horas. Después de que finalizara la reacción, la mezcla de reacción se diluyó con agua (200 ml) y se lavó con Et₂O (200 ml). La capa acuosa se acidificó usando HCl 1 N y se extrajo con EtOAc (200 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **1** (23 g, 70 %) como sólido blanco. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 12,92-12,21 (s a, 2H), 4,24-4,12 (m, 2H), 2,27-2,11 (m, 2H), 1,97-1,84 (m, 2H), 1,36 (s, 9H).

Síntesis de 1-(tert-butil) pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 2,5-dibencílo (2):

A una solución agitada del compuesto **1** (23 g, 88,80 mmol) en acetonitrilo (300 ml) se añadió K₂CO₃ (36,23 g, 266,4 mmol) y bromuro de bencilo (23 ml, 195,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a RT durante 24 horas. Después de que finalizara la reacción según TLC, la mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó el lecho con EtOAc (200 ml). El filtrado claro se concentró para obtener un aceite incoloro que tras la purificación por cromatografía en columna generó el compuesto **2** (37 g, 95 %) como aceite incoloro. ¹H RMN (500MHz, CDCl₃): δ 7,39-7,25 (m, 10H), 5,24 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H), 5,15-5,06 (m, 3H), 4,49 (dd a, *J* = 4,6, 6,9 Hz, 1H), 4,35 (t a, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,28-2,08 (m, 4H), 1,34 (s, 9H). LCMS (m/z): 340,0 [M⁺-Boc].

Síntesis de 5-(tert-butil) 2-(bencilogoxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5,6-dicarboxilato de 6-bencílo (3):

A una solución agitada del compuesto **2** (19 g, 43,28 mmol) en THF (120 ml) se añadió LiHMDS (1 M en THF) (65 ml, 64,92 mmol) gota a gota a -70 °C en atmósfera de nitrógeno. Después agitar durante 30 min, se añadió una solución de Int-A (7,01 g, 51,93 mmol) en THF (70 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C por 2 h y después se elevó lentamente la temperatura a RT durante un periodo de 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución de NH₄Cl acuosa (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/Hexano para obtener el compuesto **3** (11g, 54 %) como jarabe espeso. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,47-7,30 (m, 10H), 5,23-5,12 (m, 2H), 4,95-4,86 (m, 2H), 4,29 (d a, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,10-3,99 (m, 1H), 3,58 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,35-2,18 (m, 2H), 2,16-2,05 (m, 1H), 1,99-1,91 (s, 1H), 1,34 (s, 9H). LCMS (m/z): 467,6 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (4):

A una solución del compuesto **3** (10 g, 21,45 mmol) en DCM (100 ml) se añadió TFA (16,5 ml, 214,59 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a RT durante un periodo de 1 h y después se agitó a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida para obtener 12 g de jarabe marrón del producto crudo. Se realizó otra una reacción con otro lote de 11g para obtener 13 g de jarabe marrón crudo y se combinaron ambos lotes. Se disolvieron 25 g de crudo obtenido de producto de sal TFA en EtOAc (500 ml) y se lavó con solución de NaHCO₃ saturada. La capa acuosa se separó y de nuevo se extrajo con EtOAc (100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 3 %/DCM para obtener el compuesto **4** (15 g, 78 %) como jarabe marrón. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,44 – 7,30 (m, 10H), 5,17 (s, 2H), 4,92-4,85 (m, 2H), 3,64 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 3,60-3,57 (m, 2H), 3,39 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 1,98-1,79 (m, 4H). LCMS (m/z): 367,4 [M⁺+1]. HPLC: 96,27 %.

Síntesis de 5-acetil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (5):

A una solución agitada del compuesto **4** (4 g, 10,9 mmol) en DCM (80 ml) se añadieron TEA (3,83 ml, 27,3 mmol) y cloruro de acetilo (1,28 g, 16,3 mmol) a 0-5 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 5 min. La mezcla de reacción se llevó a RT y después se agitó durante 5 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida. El material crudo se diluyó con EtOAc (300 ml) y se lavó con agua (80 ml), solución de HCl 2 N y solución de salmuera. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo EtOAc al 50 %/Hexano para obtener el compuesto **5** (4 g, 90 %) como jarabe marrón. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,45-7,41 (m, 2H), 7,40-7,31 (m, 8H), 5,19 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H), 5,08-5,03 (m, 1H), 4,96-4,88 (m, 2H), 4,59 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,98 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,49 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,34-2,18 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 2H), 1,99 (s, 3H). LCMS (m/z): 409,1 [M⁺+1]. HPLC: 98,91 %.

Síntesis de ácido 5-acetil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (6):

A una solución agitada del compuesto **5** (4 g, 9,80 mmol) en metanol (100 ml) se añadió Ni Raney (10 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂ (presión de globo). LCMS del crudo mostró la presencia de intermedio hidroxilamina. De nuevo se cambió el globo con la atmósfera H₂ y se siguió agitando durante 24 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH caliente (300 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener un sólido crudo, que se lavó con Et₂O (100 ml) y se secó a vacío para obtener el compuesto **6** (2 g, 96 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400MHz, D₂O): δ 4,61 (d a, *J* = 4,1 Hz, 1H), 3,94 (d a, *J* = 12,2 Hz, 1H), 3,45-3,34 (m, 1H), 2,51 (d a, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,31 (d a, *J* = 12,7 Hz, 2H), 2,19 (s, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 211,0 [M⁺+1].

Síntesis de 5-acetil-N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (AO, AP):

A una solución del compuesto **6** (2 g, 9,43 mmol) en DMF (10 ml) se añadieron HATU (4,3 g, 11,3 mmol) a RT en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 5 minutos. Después, se añadieron L-Th-NH₂ (1,33 g, 11,3 mmol) y DIPEA (2,6 ml, 14,1 mmol) y se siguió agitando a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con hielo (5 g) y se agitó durante 10 minutos. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH 5-8 %/ DCM para obtener dos productos, que además se purificaron por HPLC preparativa de fase quiral para obtener **AO** (550 mg, 19 %) y **AP** (700 mg, 24 %) como sólido blancos.

AO: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,58 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,14 (d a, *J* = 4,5 Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 4,73 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 4,43 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 4,08 (dd, *J* = 3,6, 8,7 Hz, 1H), 4,04-3,95 (m, 1H), 3,68 (d a, *J* = 11,7 Hz, 1H), 3,15-3,08 (m, 1H), 2,41-2,28 (m, 2H), 2,20-2,07 (m, 1H), 2,03 (s, 3H), 2,00-1,94 (m, 1H), 1,03 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 313,2 [M⁺+1]. HPLC: 98,84 %. HPLC quiral: 100,00 %.

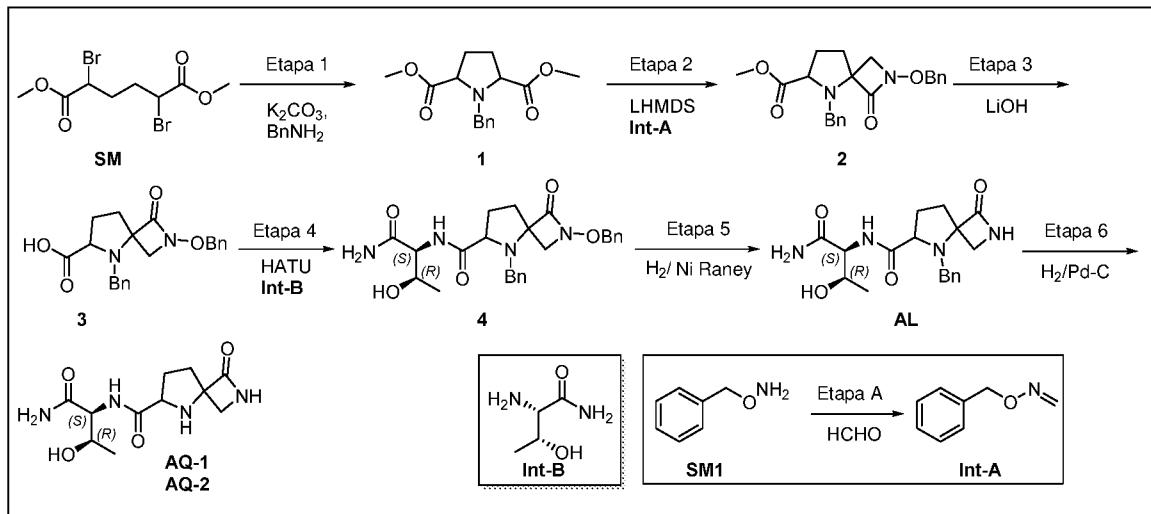
AP: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,63 (s, 1H), 7,32 (d a, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,08 (s a, 1H), 4,81 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,48 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,24 (s a, 1H), 3,97 (d a, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,65 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 3,20-3,11 (m, 1H), 2,46-2,32 (m, 1H), 2,29-2,18 (m, 2H), 2,08 (s, 3H), 2,05-1,99 (m, 1H), 1,06 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 313,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,45 %. HPLC quiral: 98,56 %.

50 Preparación de Int-A:**Síntesis de formaldehído O-benciloxima (Int-A):**

A una solución agitada de O-bencilhidroxilamina (**SM1**) (5 g, 40,65 mmol) y solución de NaOH acuosa (1,5 ml) en benceno (25 ml) se añadió una solución al 37 % de formaldehído (3,3 ml, 40,65 mmol) a RT y después se agitó durante 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener Int-A (5 g, 91 %) como un líquido amarillo pálido. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,28 (m, 5H),

7,08 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H).

Síntesis de AQ-1 y AQ-2:



Síntesis de dimetil 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato (1):

Una mezcla de 2,5-dibromohexanedioato de dimetilo (**SM**) (50 g, 150,6 mmol), K₂CO₃ (24,94 g, 180,7 mmol) y bencilamina (16,11 g, 150,6 mmol) en tolueno: agua (60 ml, 2:1) se calentaron a 110 °C y se agitaron durante 6 h en atmósfera de nitrógeno. Después de que la reacción finalizara, la mezcla de reacción se enfrió a RT, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con hexano (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/Hexano para obtener el compuesto **1** (25 g, 88 %) como aceite amarillo. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,37-7,22 (m, 5H), 4,01 (s, 2H), 3,59 (s, 6H), 3,58-3,54 (m, 2H), 2,14 – 2,07 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 278,2 [M⁺1].

Síntesis de 5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de metilo (2):

A una solución agitada del compuesto **1** (10 g, 36,10 mmol) en THF (50 ml) se añadió LiHMDS (1 M en THF) (44 ml, 43,32 mmol) gota a gota a -70 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 30 min, se añadió una solución de Int-A (4,87 g, 18,05 mmol) en THF (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h y después se elevó lentamente la temperatura a RT durante un periodo de 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución de NH₄Cl acuosa (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/Hexano para obtener el compuesto **2** (7 g, crudo) como jarabe marrón. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,45 – 7,18 (m, 10H), 5,04-4,95 (m, 2H), 4,06 (d a, J = 11,0 Hz, 1H), 3,88 (d, J = 13,3 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,53 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 3,41-3,33 (m, 1H), 3,23-3,17 (m, 1H), 2,21-2,12 (m, 1H), 2,04-1,88 (m, 2H), 1,85-1,77 (m, 1H). LCMS (ESI): m/z 381,3 [M⁺1].

Síntesis de 5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de metilo (3):

A una solución agitada del compuesto **2** (7 g, 18,42 mmol) en MeOH: THF: H₂O (90 ml, 1:1:1) se añadió LiOH.H₂O (1,16 g, 27,63 mmol) a 0 °C y después se elevó lentamente la temperatura a RT durante un periodo de 1 h. La mezcla de reacción se agitó a RT durante 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida para obtener el compuesto **3** (7 g, crudo) como jarabe. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,46-7,34 (m, 5H), 7,30 – 7,18 (m, 5H), 4,97-4,88 (m, 2H), 4,11 (d, J = 13,3 Hz, 1H), 3,89 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 3,37-3,33 (m, 1H), 3,20 (d, J = 13,0 Hz, 1H), 3,04 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 2,17-2,08 (m, 1H), 1,88-1,79 (m, 1H), 1,69 – 1,57 (m, 2H). LCMS (ESI): m/z 367,3 [M⁺1].

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (4):

A una solución del compuesto **3** (7 g, 19,12 mmol) en DMF (50 ml) se añadió HATU (8,72 g, 22,95 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 10 minutos. Después, se añadió Int-B (2,26 mg, 19,12 mmol) seguido de DIPEA (5,3 ml, 28,68 mmol). La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 18 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de HCl 1 N (50 ml), solución de NaHCO₃ saturada (50 ml) y solución de salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 3 %/DCM para

obtener el compuesto **4** (5 g, 56 %) como sólido blanco. ^1H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,58 (d a, J = 8,8 Hz, 1H), 7,52-7,46 (m, 1H), 7,46-7,25 (m, 10H), 7,10 (d a, J = 2,3 Hz, 1H), 5,15-4,96 (m, 3H), 4,26-4,22 (m, 0,5H), 4,13-4,00 (m, 2H), 3,95-3,86 (m, 1,5H), 3,58-3,51 (m, 1H), 3,29 – 3,16 (m, 2H), 2,24-2,07 (m, 1H), 2,05-1,76 (m, 3H), 1,03 (dd, J = 6,3, 11,4 Hz, 3H). LCMS (m/z): 467,5 [M⁺+1].

5 **Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (AL):**

A una solución agitada del compuesto **4** (5 g, 10,73 mmol) en metanol (60 ml) se añadió Ni Raney (3 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂ (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (300 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener **AL**-Racémico (3,6 g, 93 %) como sólido blanco. ^1H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,66 (dd, J = 3,2, 8,7 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,48-7,24 (m, 6H), 7,11 (s, 1H), 5,20-5,02 (m, 1H), 4,24 (dd, J = 2,9, 9,0 Hz, 1H), 4,17-4,04 (m, 2H), 3,58 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 13,0 Hz, 1H), 3,38-3,24 (m, 1H), 3,05 (t a, J = 7,5 Hz, 1H), 2,29 – 1,94 (m, 3H), 1,89-1,74 (m, 1H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 361,3 [M⁺+1].

15 **Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-bencil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (AQ):**

A una solución agitada de **AL**-Racémico (3,6 g, 10 mmol) en metanol (50 ml) se añadió 10 % Pd-C (2 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂ (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH caliente (500 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener **AQ** racémico (2,5 g, 92 %) como sólido blanco. 1 g de compuesto racémico **AQ** se purificó por purificación mediante HPLC prep. de fase inversa que proporcionó 130 mg de **AQ-1** y 120 mg de **AQ-2**.

AQ-1: ^1H RMN (400MHz, D₂O): δ 4,37 (d, J = 4,1 Hz, 1H), 4,32-4,24 (m, 1H), 3,81 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 3,61-3,49 (m, 2H), 2,30-2,09 (m, 4H), 1,26 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

25 LCMS (ESI): m/z 271,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,79 %. HPLC quiral: 100 %.

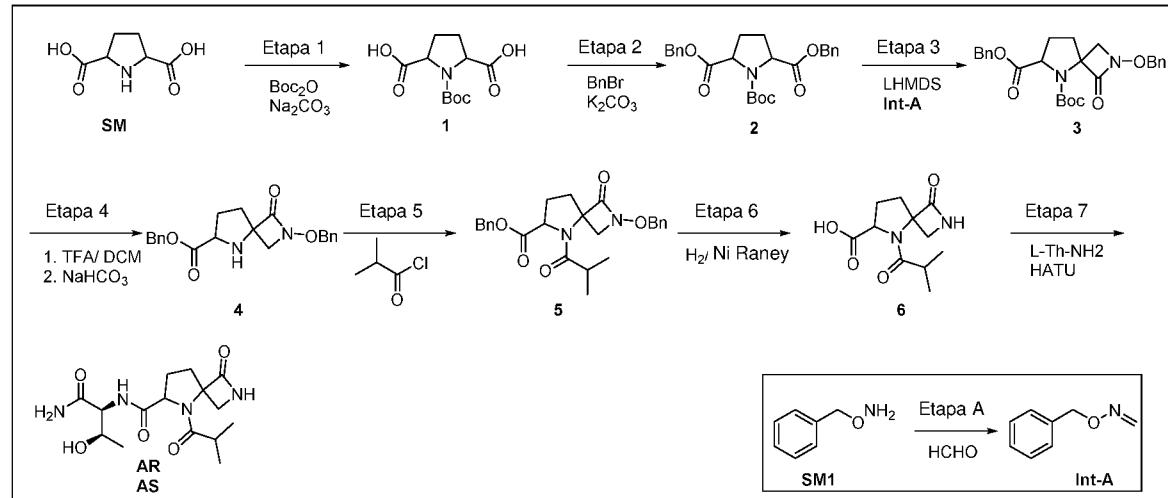
AQ-2: ^1H RMN (400MHz, D₂O): δ 4,40-4,35 (m, 1H), 4,33-4,24 (m, 1H), 3,82 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,61-3,50 (m, 2H), 2,32-2,09 (m, 4H), 1,24 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 271,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,46 %. HPLC quiral: 100 %.

Preparación de Int-A:

Síntesis de formaldehído O-benciloxima (Int-A):

30 A una solución agitada de O-bencilhidroxilamina (**SM1**) (5 g, 40,65 mmol) y solución de NaOH acuosa (1,5 ml) en benceno (25 ml) se añadió una solución al 37 % de formaldehído (3,3 ml, 40,65 mmol) a RT y después se agitó durante 1 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener **Int-A** (5 g, 91 %) como un líquido amarillo pálido. ^1H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,28 (m, 5H), 7,08 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H).

Síntesis de AR y AS:



Síntesis de ácido 1-(tert-butoxicarbonil)pirrolidin-2,5-dicarboxílico (1):

Se diluyó ácido pirrolidin-2,5-dicarboxílico (**SM**) (20 g, 125,7 mmol) en 1,4-dioxano:H₂O (400 ml, 1:1), y se añadieron Boc₂O (41,1 g, 188,67 mmol) y Na₂CO₃(53,3 g, 503,1 mmol) a una temperatura de 10 C to 15 C. La mezcla de reacción se agitó a RT durante 16 horas. Después de que finalizara la reacción, la mezcla de reacción se diluyó con agua (200 ml) y se lavó con Et₂O (200 ml). La capa acuosa se acidificó usando HCl 1 N y se extrajo con EtOAc (200 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **1** (23 g, 70 %) como sólido blanco. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 12,92-12,21 (s a, 2H), 4,24-4,12 (m, 2H), 2,27-2,11 (m, 2H), 1,97-1,84 (m, 2H), 1,36 (s, 9H).

Síntesis de 1-(tert-butil) pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 2,5-dibencilo (2):

10 A una solución agitada del compuesto **1** (23 g, 88,80 mmol) en acetonitrilo (300 ml) se añadió K₂CO₃ (36,23 g, 266,4 mmol) y bromuro de bencilo (23 ml, 195,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a RT durante 24 horas. Después de que finalizara la reacción según TLC, la mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó el lecho con EtOAc (200 ml). El filtrado transparente se concentró para obtener aceite incoloro que tras la purificación por cromatografía en columna proporcionó el compuesto **2** (37 g, 95 %) como aceite incoloro. ¹H RMN (500MHz, CDCl₃): δ 7,39-7,25 (m, 10H), 5,24 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H), 5,15-5,06 (m, 3H), 4,49 (dd a, *J* = 4,6, 6,9 Hz, 1H), 4,35 (t a, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,28-2,08 (m, 4H), 1,34 (s, 9H). LCMS (m/z): 340,0 [M⁺-Boc].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5,6-dicarboxilato de 6-bencilo y 5-(tert-butilo) (3):

20 A una solución agitada del compuesto **2** (19 g, 43,28 mmol) en THF (120 ml) se añadió LiHMDS (1M en THF) (65 ml, 64,92 mmol) gota a gota a -70 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitarla durante 30 min, se añadió una solución de Int-A (7,01 g, 51,93 mmol) en THF (70 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h y después se elevó lentamente la temperatura a RT durante un periodo de 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución de NH₄Cl acuosa (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/Hexano para obtener el compuesto **3** (11 g, 54 %) como jarabe espeso. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,47-7,30 (m, 10H), 5,23-5,12 (m, 2H), 4,95-4,86 (m, 2H), 4,29 (d a, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,10-3,99 (m, 1H), 3,58 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,35-2,18 (m, 2H), 2,16-2,05 (m, 1H), 1,99-1,91 (s, 1H), 1,34 (s, 9H). LCMS (m/z): 467,6 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (4):

30 A una solución del compuesto **3** (10 g, 21,45 mmol) en DCM (100 ml) se añadió TFA (16,5 ml, 214,59 mmol) gota a gota a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a RT durante un periodo de 1 h y después se agitó a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida para obtener 12 g del jarabe marrón crudo del producto. Se llevó a cabo una reacción con otro lote de 11 g para obtener 13 g de jarabe marrón crudo y ambos lotes se combinaron. El crudo obtenido de 25 g de producto de sal TFA se disolvió en EtOAc (500 ml) y se lavó con solución de NaHCO₃ saturada. La capa acuosa se separó y de nuevo se extrajo con EtOAc (100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 3 %/DCM para obtener el compuesto **4** (15 g, 78 %) como jarabe marrón. ¹H RMN (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,44 – 7,30 (m, 10H), 5,17 (s, 2H), 4,92-4,85 (m, 2H), 3,64 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 3,60-3,57 (m, 2H), 3,39 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 1,98-1,79 (m, 4H). LCMS (m/z): 367,4 [M⁺+1]. HPLC: 96,27 %.

40 Síntesis de 2-(benciloxi)-5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (5):

45 A una solución agitada del compuesto **4** (4 g, 10,9 mmol) en DCM (80 ml) se añadieron TEA (4 ml, 27,3 mmol) y cloruro de isobutirilo (1,75 g, 16,3 mmol) a 0-5 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se llevó a RT y después se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se diluyó con EtOAc (300 ml) y agua (100 ml) y se agitó durante 10 minutos. La capa orgánica separada se lavó con solución de HCl 2 N y solución de salmuera. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrico, se filtró y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 40 %/Hexano para obtener el compuesto **5** (4 g, 84 %) como jarabe marrón. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,46-7,29 (m, 10H), 5,18-5,06 (m, 2H), 4,96-4,84 (m, 2H), 4,74 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 4,07-4,01 (m, 1H), 3,53 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,84-2,76 (m, 1H), 2,36-2,17 (m, 2H), 2,14-2,00 (m, 2H), 1,00 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,93 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS (m/z): 437,1 [M⁺+1]. HPLC: 98,28 %.

Síntesis ácido 5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (6):

55 A una solución agitada del compuesto **5** (4 g, 9,17 mmol) en metanol (100 ml) se añadió Ni Raney (10 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂ (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH caliente (300 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **6** (1,8 g, 82 %) como sólido blanco. ¹H RMN (500MHz, D₂O): δ 4,76-4,72 (m, 1H), 3,93 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 3,39 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 2,96-2,84 (m, 1H), 2,55-2,43 (m, 2H), 2,36-2,26 (m, 2H), 1,15 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,06 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 241,2 [M⁺+1].

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (AR, AS):

A una solución del compuesto **6** (1,8 g, 7,50 mmol) en DMF (10 ml) se añadieron HATU (3,42 g, 9,00 mmol) a RT en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 5 minutos. Despues, se añadieron L-Th-NH₂ (1,06 g, 9,00 mmol) y DIPEA (2,07 ml, 11,2 mmol) y se siguió agitando a RT durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con hielo (5 g) y se agitó durante 10 minutos. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 8 %/ DCM para obtener dos productos, que posteriormente se purificaron por HPLC preparativa de fase quiral para obtener **AR** (500 mg, 20 %) and **AS** (450 mg, 18 %) como sólido blancos.

10 AR: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,65 (s, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 4,78 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,63 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,28-4,19 (m, 1H), 3,98 (dd, *J* = 2,4, 8,4 Hz, 1H), 3,67 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 3,15 (dd, *J* = 2,6, 11,8 Hz, 1H), 2,95-2,80 (m, 1H), 2,46-2,35 (m, 1H), 2,29-2,16 (m, 2H), 2,12-1,99 (m, 1H), 1,05 (dd, *J* = 1,6, 6,5 Hz, 6H), 0,94 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 341,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,48 %. HPLC quiral: 97,33 %.

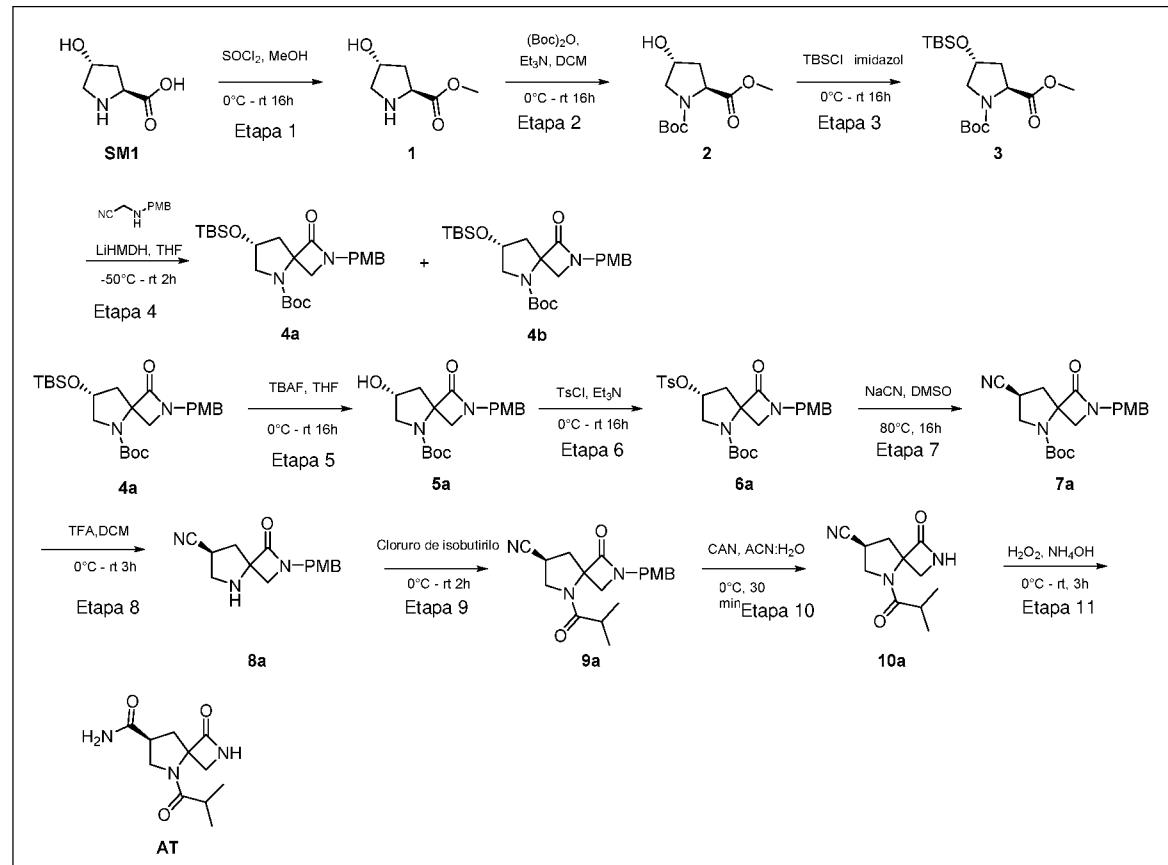
15 AS: ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,59 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,11-7,01 (m, 2H), 4,76 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,05 (dd, *J* = 3,3, 8,7 Hz, 1H), 4,02-3,94 (m, 1H), 3,72 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 3,10 (dd, *J* = 2,6, 11,7 Hz, 1H), 2,81 (dt, *J* = 6,7, 13,4 Hz, 1H), 2,46-2,27 (m, 2H), 2,14-1,96 (m, 2H), 1,04 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,00 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,93 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 341,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,49 %. HPLC quiral: 100,00 %.

Preparación de Int-A:

Síntesis de O-benciloxima de formaldehído (Int-A):

20 A una solución agitada de O-bencilhidroxilamina (**SM1**) (5 g, 40,65 mmol) y solución de NaOH acuosa (1,5 ml) en benceno (25 ml) se añadió una solución al 37 % de formaldehído (3,3 ml, 40,65 mmol) a RT después se agitó durante 1 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener **Int-A** (5 g, 91 %) como un líquido amarillo pálido. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,28 (m, 5H), 7,08 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H).

Síntesis de AT:



Síntesis de (2S,4R)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de metilo (1):

A una solución agitada de ácido (2S,4R)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (75,0 g, 572 mmol) en MeOH (800 ml), se añadió SOCl₂ (75 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con éter dietílico (50 ml x 3) para obtener el compuesto **1** (100,0 g, 96 %) como un sólido incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,56 – 9,30 (s a, 2H), 5,60 (m, 1H), 4,50 – 4,37 (m, 2H), 3,75 – 3,68 (m, 1H), 3,41 – 3,32 (m, 1H), 3,10 – 3,04 (m, 2H), 2,25 – 2,02 (m, 4H).

Síntesis de (2S,4R)-4-hidroxipirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (2):

A una solución agitada del compuesto **1** (100,0 g, 552 mol) en DCM (1 l), se añadió Et₃N (230 ml, 1,65 mol) a 0 °C y se agitó durante 15 min. Se añadió gota a gota Boc₂O (152 ml, 662 mmol) a la mezcla de reacción a 0 °C durante 30 min y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (500 ml) y se extrajo con DCM (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **2** (123,0 g, 91 %) como un sólido incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,09 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,29 – 4,15 (m, 2H), 3,64 (m, 3H), 3,45 – 3,21 (m, 2H), 2,14 – 2,09 (m, 1H), 1,95 – 1,82 (m, 1H), 1,39 – 1,32 (m, 9H).

Síntesis de 1-(tert-butilo) 2-metil (2S,4R)-4-((tert-butildimetsiloxi)oxi)pirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (3):

A una solución agitada del compuesto **2** (18,0 g, 73,4 mmol) en DCM (200 ml), se añadieron imidazol (9,9 g, 146 mmol) y TBDMS-Cl (14,3 g, 95,5 mol) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (250 ml) y se extrajo con DCM (3 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **3** (23,0 g, 87 %) como aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,43 – 4,40 (m, 1H), 4,21 – 4,18 (m, 1H), 3,63 – 3,60 (m, 3H), 3,44 (m, 1H), 3,33 – 3,21 (m, 1H), 2,16 – 2,04 (m, 2H), 2,04 – 1,90 (m, 1H), 1,38 – 1,32 (m, 9H), 0,85 (m, 9H), 0,06 (m, 6H).

Síntesis de (4R,7R)-7-((tert-butildimetsiloxi)oxi)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (4a y 4b):

A una solución agitada del compuesto **3** (40,0 g, 111 mmol) en THF (300 ml), se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF, 334 ml, 334 mmol) a -78°C y se agitó a temperatura ambiente por 30 min. Se añadió 2-(4-metoxibencil)aminoacetonitrilo (39,0 g, 222 mmol) a la mezcla de reacción a -50 °C y se agitó a temperatura ambiente por 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NH₄Cl saturada (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener los diastereómeros compuesto **4a** (29,0 g, 54,7 %) y compuesto **4b** (10,0 g, 18,8 %) como aceite espeso.

Síntesis de (7R)-7-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4] octano-5-carboxilato de tert-butilo (5a):

A una solución del compuesto **4a** (18,5 g, 38,8 mmol) en THF (300 ml), se añadió gota a gota TBAF (solución 1 M en THF, 58,2 ml, 58,2 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (150 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución NaHCO₃ (100 ml) y salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ and se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando MeOH al 5 %/DCM para obtener el compuesto **5a** (13,5 g, 96 %) como aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,26 – 7,13 (m, 2H), 6,91 – 6,85 (m, 2H), 5,09 – 5,03 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 3,94 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H), 3,74 (m, 3H), 3,56 – 3,37 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 2,10 – 1,95 (m, 1H), 1,43 – 1,32 (m, 9H).

Síntesis de (7R)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-7-(tosiloxi)-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (6a):

A una solución del compuesto **5a** (13,5 g, 37,3 mmol) en DCM (200 ml), se añadió Et₃N (7,5 ml, 74,9 mmol) seguido de la adición de cloruro de tosilo (10,6 g, 56 mmol) en porciones a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (250 ml) y se extrajo con DCM (4 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de NaHCO₃ (300 ml) y salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando MeOH al 1 %/DCM para obtener el compuesto **6a** (15,6 g, 81 %) como aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,83 (m, 2H), 7,49 (m, 2H), 7,17 (m, 2H), 6,90 (m, 2H), 5,06 – 4,98 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 4,17 (m, 1H), 3,92 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,57 – 3,38 (m, 3H), 3,12 – 3,06 (m, 1H), 3,02 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,30 – 2,18 (m, 1H), 1,35 (m, 9H).

Síntesis de (7S)-7-ciano-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7a):

A una solución agitada del compuesto **6a** (15,5 g, 30,0 mmol) en DMSO (150 ml), se añadió NaCN (3,5 g, 72 mmol) y

se agitó a 80 °C durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (500 ml) y se extrajo con éter dietílico (4 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando MeOH al 1%/DCM para obtener el compuesto **7a** (8,9 g, 80,2 %) como aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,23 (m, 2H), 6,92 (m, 2H), 4,56 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,63 – 3,42 (m, 4H), 3,32 – 3,22 (m, 3H), 1,42 (m, 9H).

Síntesis de (7*S*)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carbonitrilo (8a):

A una solución agitada del compuesto **7a** (8,3 g, 22,4 mmol) en DCM (200 ml), se añadió TFA (50 ml) a 0 °C y se agitó durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con Et₂O, se filtró y se secó para obtener el compuesto **8a** (7,2 g, crudo).

Síntesis de (7*S*)-5-isobutiril-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carbonitrilo (9a):

A una solución agitada del compuesto **8a** (7,0 g, 25,8 mmol) en DCM (200 ml), se añadieron Et₃N (7,8 ml, 77,5 mmol) y cloruro isobutilo (3,9 ml, 36,1 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente por 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (150 ml) y se extrajo con DCM (2 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando MeOH al 1% /DCM para obtener el compuesto **9a** (7,3 g, 83 %) como aceite espeso. LCMS: 342 (M+1).

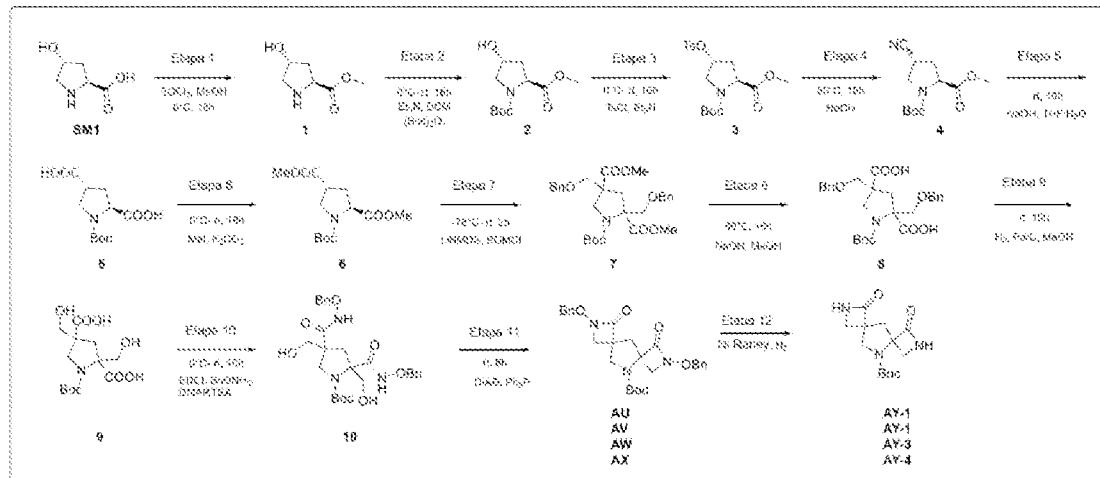
Síntesis de (7*S*)-5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carbonitrilo (10a):

A una solución agitada del compuesto **9a** (2,0 g, 5,83 mmol) en CH₃CN (20 ml), se añadió en porciones nitrato de amonio célico (12,8 g, 23,4 mmol) en agua (20 ml) a 0 °C y se agitó a la misma temperatura durante 30 min. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución NaHCO₃ (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 90-100 % para obtener el compuesto **10a** (0,22 g, 18 %) como aceite espeso. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,97 (s, 1H), 3,89 (dd, *J* = 10,6, 2,8 Hz, 1H), 3,79 (dd, *J* = 10,6, 6,2 Hz, 1H), 3,62 – 3,47 (m, 2H), 3,23 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 2,66 (m, 2H), 2,38 (dd, *J* = 13,3, 6,6 Hz, 1H), 0,99 (m, 6H).

Síntesis de (4*R*,7*S*)-5-isobutiril-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carboxamida (AT):

A una solución agitada del compuesto **10a** (0,5 g, 2,26 mmol) en EtOH (20 ml), se añadió NH₄OH acuoso (20 ml) seguido de la adición de H₂O₂ acuoso (30 %, 0,41 ml) gota a gota a 0 °C y se dejó agitar a temperatura ambiente durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando MeOH al 15-25 %/DCM para obtener **AT** (160 mg, 30 %) como sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,80 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 3,73 – 3,64 (m, 2H), 3,55 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,05 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 2,97 – 2,94 (m, 1H), 2,67 – 2,40 (m, 1H), 2,32 – 2,26 (m, 2H), 1,00 (dd, *J* = 13,9, 6,7 Hz, 6H). LCMS (ESI): *m/z* 240 [M⁺1]. HPLC: 99,5 %.

35 Síntesis de AU, AV, AW y AX y Síntesis de AY-1, AY-2, AY-3 y AY-4:



Síntesis de metil (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (1):

A una solución agitada de ácido (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (75,0 g, 572 mmol) en MeOH (800 ml), se añadió SOCl₂ (75 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se

consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con Et₂O (50 ml x 3), se filtró, se secó para obtener 1 (100,0 g, 96 %) como un sólido incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,56 – 9,30 (s a, 2H), 5,60 (m, 1H), 4,50 – 4,37 (m, 2H), 3,75 – 3,68 (m, 1H), 3,41 – 3,32 (m, 1H), 3,10 – 3,04 (m, 2H), 2,25 – 2,02 (m, 4H).

5 **Síntesis de (2*S,4R*)-4-hidroxipirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (2):**

A una solución agitada del compuesto 1 (100,0 g, 552 mol) en DCM (1 l), se añadió Et₃N (230 ml, 1,65 mol) a 0 °C y se agitó durante 15 min. Se añadió Boc₂O (152 ml, 662 mmol) gota a gota a 0 °C durante un periodo de 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (500 ml) y se extrajo con DCM (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 40-50 %/Hexano para obtener el compuesto 2 (123,0 g, 91 %) como un sólido incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,09 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,29 – 4,15 (m, 2H), 3,64 (m, 3H), 3,45 – 3,21 (m, 2H), 2,14 – 2,09 (m, 1H), 1,95 – 1,82 (m, 1H), 1,39 – 1,32 (m, 9H).

10 **Síntesis de (2*S,4R*)-4-(tosiloxi)pirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (3):**

15 A una solución agitada del compuesto 2 (123,0 g, 502 mmol) en DCM (1 l), se añadió Et₃N (140 ml, 1,00 mol) seguido de la adición de cloruro de tosilo (124,0 g, 652 mmol) en porciones a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (250 ml) y se extrajo con DCM (4 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de NaHCO₃ (300 ml) y salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 10-20 %/Hexano para obtener el compuesto 3 (190,0 g, 95 %) como aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,82 (m, 2H), 7,54 – 7,46 (m, 2H), 5,07 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 4,23 (m, 1H), 3,63 (m, 3H), 3,50 – 3,40 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,20 – 2,04 (m, 1H), 1,99 (s, 1H), 1,33 (m, 9H).

20 **Síntesis de (2*S,4R*)-4-cianopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (4):**

25 A una solución agitada del compuesto 3 (190,0 g, 476 mmol) en DMSO (700 ml), se añadió NaCN (51,3 g, 1,04 mol) y se agitó a 80 °C durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió y se inactivó con agua (500 ml) y después se extrajo con éter dietílico (4 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 15-20 %/Hexano para obtener el compuesto 4 (36,0 g, 30 %) como un aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,36 – 4,22 (m, 1H), 3,82 – 3,62 (m, 3H), 3,48 – 3,40 (m, 3H), 2,68 – 2,40 (m, 1H), 2,12 – 2,04 (m, 1H), 1,40 (m, 9H).

30 **Síntesis de ácido (2*S,4R*)-1-(tert-butoxicarbonil)pirrolidin-2,4-dicarboxílico (5):**

35 A una solución agitada del compuesto 4 (30,0 g, 118 mmol) en THF (150 ml), se añadió NaOH (18,9 g, 472 mmol) en agua (150 ml) y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se neutralizó con solución de HCl 1 N, se acidificó con ácido cítrico a pH- 4-5, y se extrajo con EtOAc (3 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 5 (21,0 g, crudo) como un sólido blanco. El crudo se usó tal cual en la siguiente etapa sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,57 (s, 1H), 4,19 – 3,96 (m, 2H), 3,62 – 3,40 (m, 1H), 3,50 – 3,35 (m, 1H), 3,07 – 3,0 (m, 1H), 2,37 – 2,15 (m, 1H), 2,05 – 2,0 (m, 1H), 1,35 (m, 9H).

40 **Síntesis de (2*S,4R*)-pirrolidin-1,2,4-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,4-dimetilo (6):**

45 A una solución agitada del compuesto 5 (21,0 g, 81,0 mmol) en DMF (200 ml), se añadió K₂CO₃ (44,7 g, 324 mmol) seguido de la adición de CH₃I (17,6 ml, 283 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (250 ml) y se extrajo con éter dietílico (2 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 20 %/Hexano para obtener el compuesto 6 (20,2 g, 87 %) como un aceite. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,31 – 4,17 (m, 1H), 3,66 (m, 6H), 3,48 – 3,40 (m, 1H), 3,22 – 3,15 (m, 1H), 2,40 – 2,35 (m, 1H), 2,11 – 2,08 (m, 1H), 1,36 (m, 9H).

50 **Síntesis de 2,4-bis((benciloxi)metil)pirrolidin-1,2,4-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,4-dimetilo (7):**

55 A una solución agitada del compuesto 6 (24,0 g, 83,6 mmol) en THF (200 ml), se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF, 250 ml, 250 mmol) a -78°C y se calentó a 0 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a -50 °C, se añadió gota a gota cloruro de benciloximetilo (29,1 ml, 209 mmol) a -50 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NH₄Cl saturada (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 15 %/Hexano para obtener el compuesto 7 (21,0 g, 54 %) como aceite espeso.

Síntesis de ácido 2,4-bis((benciloxi) metil)-1-(tert-butoxicarbonil)pirrolidin-2,4-dicarboxílico (8):

A una solución agitada del compuesto **7** (21,0 g, 39,8 mmol) en MeOH (150 ml), se añadió NaOH (6,37 g, 159 mmol) en agua (70 ml) y se agitó a 80 °C durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se neutralizó con solución de HCl 1 N y se acidificó con ácido cítrico a pH 4-5 y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó limpiando con n-pentano para obtener el compuesto **8** (19,0 g, 96 %) como un sólido incoloro.

Síntesis de ácido 1-(tert-butoxicarbonil)-2,4-bis(hidroximetil)pirrolidin-2,4-dicarboxílico (9):

A una solución agitada del compuesto **8** (19,0 g, 38,0 mmol) en MeOH (150 ml), se añadió un 50 % Pd/C al 10 % húmedo (5,0 g) a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera H₂ durante 10 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó limpiando con n-pentano para obtener el compuesto **9** (10,6 g, 87 %) como un sólido incoloro.

Síntesis de 2,4-bis((benciloxi)carbamoil)-2,4-bis(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de tert-butilo (10):

A una solución agitada del compuesto **9** (4,0 g, 12,5 mmol) en DCM (120 ml), se añadieron clorhidrato de O-bencilhidroxilamina (4,98 g, 31,3 mmol), EDC (5,98 g, 31,3 mmol), DMAP (3,03 g, 25,0 mmol) y Et₃N (5,2 ml, 37,6 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de KH₂PO₄ saturada (150 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ and se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/DCM para obtener el compuesto **10** (4,2 g, 63 %) como aceite espeso. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,2 (s a, 1H), 10,6 (s a, 1H), 7,47 – 7,27 (m, 10H), 5,10 – 5,07 (m, 2H), 4,85 – 4,69 (m, 2H), 4,08 – 3,84 (m, 2H), 3,83 – 3,58 (m, 2H), 3,53 (m, 2H), 3,32 (s, 2H), 2,46 – 2,29 (m, 2H), 1,43 – 1,27 (m, 9H).

Síntesis de 2,8-bis(benciloxi)-1,7-dioxo-2,8,10-triazadiespiro[3.1.36.24]undecano-10-carboxilato de tert-butilo (AU, AV, AW y AX):

A una solución agitada de trifenilfosfina (24,7 g, 94,5 mmol) en THF (100 ml), se añadió DIAD (19,0 g, 94,5 mmol) gota a gota a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 15 minutos. Se añadió una solución del compuesto **10** (10,0 g, 18,9 mmol) en THF (50 ml) gota a gota y se dejó agitar a temperatura ambiente durante 6 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (150 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener la mezcla de **AU**, **AV**, **AW** y **AX** (4,2 g, 63 %) como un sólido incoloro. La mezcla se purificó por HPLC preparativa seguido de HPLC quiral para obtener **AU** (70 mg), **AV** (75 mg), **AW** (145 mg) y **AX** (130 mg).

AU: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,42 – 7,36 (m, J = 2,8 Hz, 10H), 4,92 (d, J = 15,9 Hz, 4H), 3,67 – 3,49 (m, 6H), 2,37 – 2,34 (m, 1H), 2,12 – 2,08 (m, 1H), 1,38 (d, J = 19,3 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 438 [M⁺-Boc+2Na]. HPLC: 99,93 %.

AV: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,42 – 7,36 (m, J = 2,8 Hz, 10H), 4,95 (d, J = 15,9 Hz, 4H), 3,67 – 3,49 (m, 6H), 2,37 – 2,34 (m, 1H), 2,12 – 2,08 (m, 1H), 1,38 (d, J = 19,3 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 438 [M⁺-Boc+2Na]. HPLC: 99,79 %.

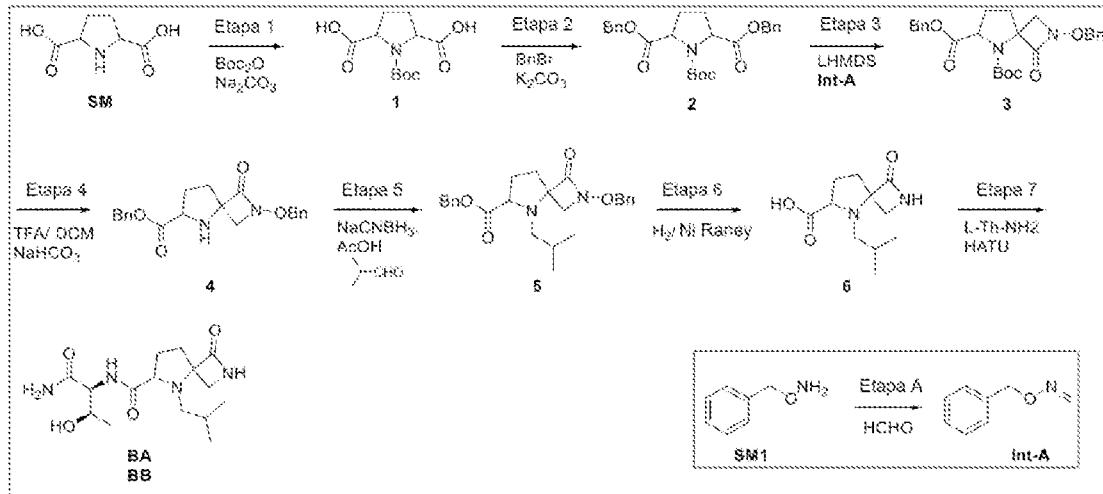
AW: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,47 – 7,36 (m, J = 2,8 Hz, 10H), 4,92 (d, J = 15,9 Hz, 4H), 3,67 – 3,49 (m, 6H), 2,27 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 1,38 (d, J = 19,3 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 438 [M⁺-Boc+2Na]. HPLC: 98,49 %.

AX: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,40 (d, J = 7,5 Hz, 10H), 4,95 – 4,85 (m, 4H), 3,59 – 3,48 (m, 6H), 2,24 (s, 2H), 1,36 (d, J = 18,6 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 438 [M⁺-Boc+2Na]. HPLC: 99,8 %.

AY-2: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,91 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,64 – 3,46 (m, 2H), 3,29 – 3,13 (m, 4H), 2,43 (d, J = 16,4 Hz, 2H), 1,39 (d, J = 10,2 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 226 [M-56]. HPLC: 99,46 %.

AY-3: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,96 (d, J = 19,5 Hz, 2H), 3,68 (dd, J = 11,0, 5,1 Hz, 1H), 3,44 – 3,23 (m, 5H), 2,30 (dd, J = 15,4, 12,9 Hz, 2H), 1,38 (d, J = 9,8 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 226 [M-56]. HPLC: 99,67 %.

AY-4: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,96 (d, J = 19,5 Hz, 2H), 3,68 (dd, J = 11,2, 5,0 Hz, 1H), 3,44 – 3,23 (m, 5H), 2,30 (dd, J = 15,4, 12,9 Hz, 2H), 1,38 (d, J = 9,7 Hz, 9H). LCMS (ESI): m/z 226 [M-56]. HPLC: 99,72 %.

Síntesis de BA y BB:**Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (4):**

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 4 se ha capturado bajo la síntesis de AO y AP (como compuesto 4).

5

Síntesis de 2-(benciloxi)-5-isobutil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (5):

A una solución agitada del compuesto 4 (2 g, 5,46 mmol) en MeOH (20 ml) se añadieron isobutirraldehído (2 ml, 21,8 mmol) y AcOH (3 ml) a RT. Después de agitar durante 1 h, se añadió NaCNBH₃ (1,37 mg, 21,8 mmol) en cuatro lotes con un intervalo de 40 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El jarabe crudo se diluyó con agua con hielo (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se basificó con NaHCO₃ acuoso (20 ml) y se lavó con salmuera (20 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/ *n*-Hexano para obtener el compuesto 5 (1,35 g, 58 %) como jarabe espeso.

10

15 También se realizó otra reacción con otro lote a escala de 1 g y se obtuvieron 450 mg del compuesto 5.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,49-7,31 (m, 10H), 5,22-5,15 (m, 1H), 5,13-5,08 (m, 1H), 4,99-4,89 (m, 2H), 3,89 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 3,49 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,42 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,26-2,09 (m, 3H), 2,08-1,96 (m, 1H), 1,91-1,75 (m, 2H), 1,65-1,58 (m, 1H), 0,75 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H). **LCMS (m/z):** 423,1 [M⁺+1].

Síntesis de ácido 5-isobutil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (6):

20

A una solución agitada del compuesto 5 (1,8 g, 4,26 mmol) en MeOH (20 ml) se añadió Ni Raney (10 g) a RT y se agitó en atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (30 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener el sólido crudo, que se lavó con CH₂Cl₂ al 40 %/Et₂O y se secó a vacío para obtener el compuesto 6 (800 mg, 83 %) como un sólido blanco. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,27 (s a, 1H), 4,63 (s a, 1H), 3,56 (d a, *J* = 11,9 Hz, 1H), 3,28 (s a, 1H), 3,05 (d a, *J* = 11,3 Hz, 1H), 2,44-2,25 (m, 2H), 2,17 (d a, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,08-1,96 (m, 1H), 1,89 (s a, 1H), 1,80-1,60 (m, 2H), 0,85 (dd, *J* = 6,2, 19,1 Hz, 6H). **LCMS (ESI):** m/z 227,1 [M⁺+1].

25

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-isobutil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (BA, BB):

30

A una solución del compuesto 6 (800 mg, 3,53 mmol) en DMF (4 ml) se añadió HATU (1,61 g, 4,24 mmol) a RT en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 10 minutos. Después, se añadieron L-Th-NH₂ (501 mg, 4,24 mmol) y DIPEA (1,0 ml, 5,31 mmol) y se siguió agitando a RT por 8 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (10 ml) y se agitó durante 10 minutos. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH 5-8 %/ CH₂Cl₂ para obtener el producto (1 g), que se purificó posteriormente por HPLC preparativa de fase inversa para obtener **BA** (270 mg) y **BB** (240 mg) como sólido blancos.

35

BA: **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,37 (s, 1H), 7,33-7,23 (m, 2H), 7,04 (s a, 1H), 4,95 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,15 (dd, *J* = 3,2, 8,9 Hz, 1H), 4,09-3,95 (m, 1H), 3,40 (d a, *J* = 12,5 Hz, 2H), 3,17 (dd, *J* = 2,6, 12,4 Hz, 1H), 2,46 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 2,31 (dd, *J* = 4,6, 11,9 Hz, 1H), 2,14-1,99 (m, 3H), 1,89-1,72 (m, 2H), 1,03 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,99 (d, *J* = 6,6 Hz,

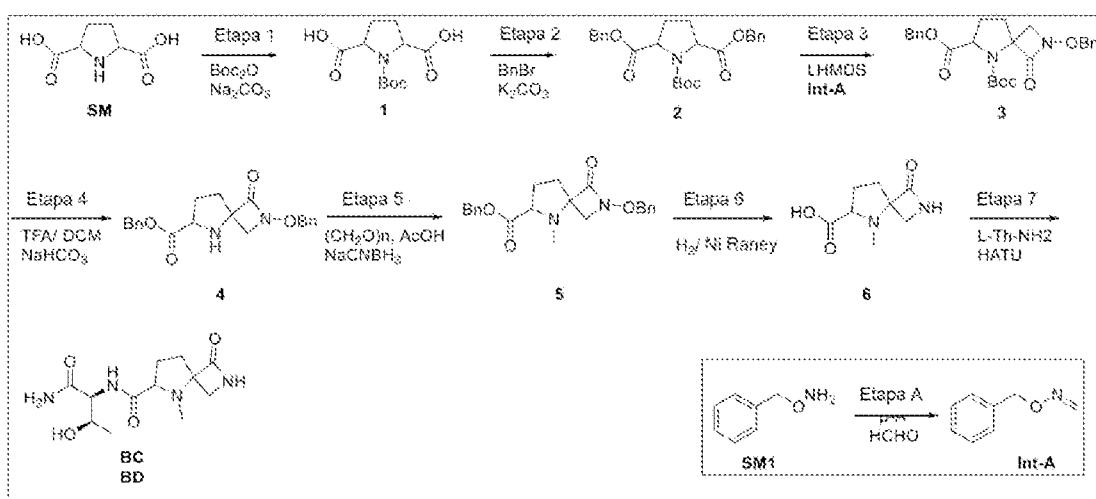
3H), 0,85 (d, J = 6,6 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** m/z 327,2 [M⁺+1]. **HPLC:** 98,89 %. **HPLC quiral:** 95,15 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; tiempo de reacción: 14,041. **SOR:** -27,36 (c = 1 en H₂O).

BB: **1H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,39 (s a, 1H), 7,34-7,24 (m, 2H), 7,06 (s a, 1H), 5,01 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 4,17-4,00 (m, 2H), 3,52-3,36 (m, 2H), 3,22-3,13 (m, 1H), 2,42-2,27 (m, 2H), 2,24-2,02 (m, 2H), 2,01-1,91 (m, 1H), 1,88-1,73 (m, 2H), 1,06 (d, J = 6,1 Hz, 3H), 0,97 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,86 (d, J = 6,6 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** m/z 327,2 [M⁺+1]. **HPLC:** 97,14 %. **HPLC quiral:** 98,24 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 17,837. **SOR:** 34,08 (c = 1 en H₂O).

10 Síntesis de O-benciloxima de formaldehído (Int-A):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Síntesis de BC y BD:



Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (4):

15 El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 4 se ha capturado bajo la síntesis de **AO** y **AP** (como compuesto 4).

Síntesis de 2-(benciloxi)-5-metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de bencilo (5):

A una solución agitada del compuesto 4 (2,5 g, 6,83 mmol) en MeOH (30 ml) se añadieron paraformaldehído (819 mg, 27,32 mmol) y AcOH (2,5 ml) a RT. Después de agitar durante 2 h, se añadió NaCNBH₃ (1,72 g, 27,32 mmol) en tres lotes con un intervalo de 5 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 24 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El jarabe crudo se diluyó con agua con hielo (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con solución de NaHCO₃ (20 ml) y solución de salmuera (20 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se destiló para obtener el compuesto 5 (2,1 g, 81 %) como jarabe espeso.

25 También se realizó otra reacción con otro lote a escala de 500 mg y se obtuvieron 400 mg del compuesto 5.

1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,48-7,29 (m, 10H), 5,25-5,09 (m, 2H), 5,00-4,88 (m, 2H), 3,95 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 3,44 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 3,38 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,17-1,98 (m, 2H), 1,95-1,85 (m, 1H), 1,84-1,75 (m, 1H). **LCMS (m/z):** 381,1 [M⁺+1].

Síntesis de ácido 5-metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (6):

30 A una solución agitada del compuesto 5 (2,5 g, 6,57 mmol) en MeOH (40 ml) se añadió Ni Raney (10 g) a RT y se agitó en atmósfera H₂ (presión de globo) por 24 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH caliente (30 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener sólido crudo, que se lavó con CH₂Cl₂ al 40 %/Et₂O y se secó a vacío para obtener el compuesto 6 (1,1 g, 90 %) como un sólido blanco.

35 **1H RMN** (500 MHz, D₂O) δ 4,06-3,70 (m, 2H), 3,65-3,40 (m, 2H), 3,33-3,10 (m, 1H), 2,55 (s a, 2H), 2,41-1,79 (m, 4H). **LCMS (ESI):** m/z 185,0 [M⁺+1].

Síntesis de N-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-5-metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (BC, BD):

A una solución del compuesto **6** (1,1 g, 5,97 mmol) en DMF (6 ml) se añadió HATU (2,73 g, 7,17 mmol) a RT en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 10 minutos. Después, se añadieron L-Th-NH₂ (846 mg, 7,17 mmol) y DIPEA (1,65 ml, 8,96 mmol) y se siguió agitando a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (10 ml) y se agitó durante 10 minutos. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5-15 % / CH₂Cl₂ para obtener el producto (2 g), que se purificó posteriormente por HPLC preparativa de fase inversa seguido por HPLC preparativa de fase normal para obtener **BC** (180 mg) and **BD** (160 mg) como sólidos blancos.

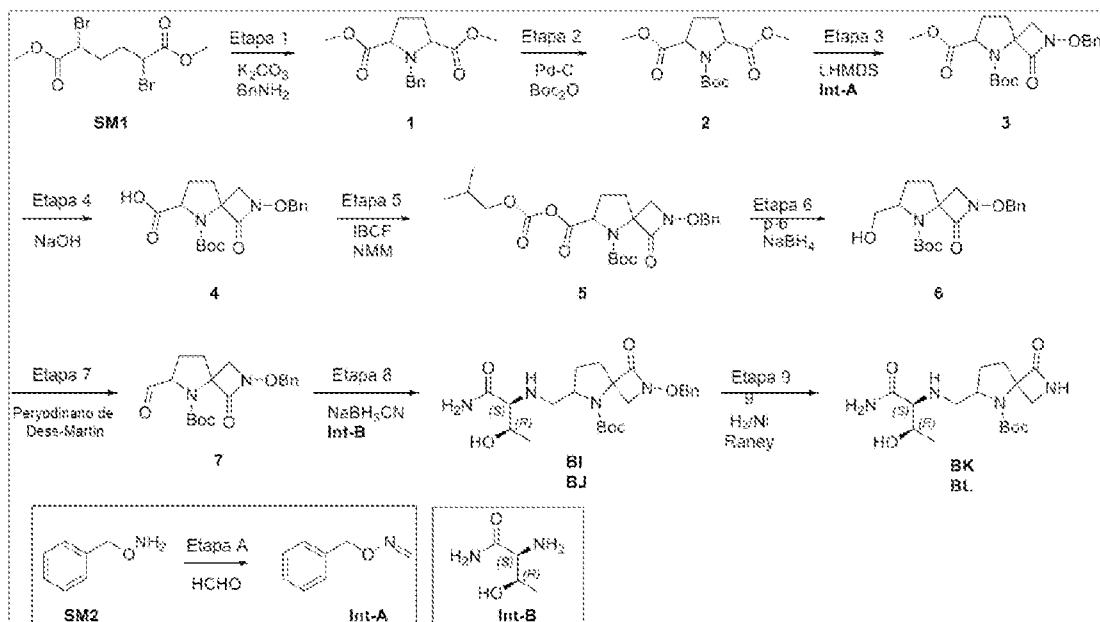
BC: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,44-7,35 (m, 2H), 7,31 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 5,03 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 4,11-3,99 (m, 2H), 3,44 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,29 (s a, 1H), 3,23-3,13 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,20-2,04 (m, 2H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,83-1,75 (m, 1H), 1,06 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 285,2 [M⁺+1]. **HPLC:** 99,58 %. **HPLC quiral:** 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 70:30; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 9,856.

BD: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,48-7,32 (m, 3H), 7,06 (s a, 1H), 4,93 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,17 (dd, *J* = 3,1, 9,0 Hz, 1H), 4,07-4,01 (m, 1H), 3,43 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,29 (s a, 1H), 3,22-3,11 (m, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,19-1,98 (m, 3H), 1,84-1,79 (m, 1H), 1,01 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 285,2 [M⁺+1]. **HPLC:** 99,41 %. **HPLC quiral:** 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 70:30; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 7,072.

Síntesis de O-benciloxima de formaldehído (Int-A):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Síntesis de BI, BJ, BK y BL:



Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):

A una solución de 2,5-dibromohexanodioato de dimetilo (**SM**) (100 g, 0,301 mol) en tolueno y agua (400 ml, 3:1) se añadieron K₂CO₃ (49,88 g, 0,361 mol) y bencilamina (32,23 g, 0,301 mol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 16 h. Después de que terminara la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió EtOAc (200 ml). Después de agitar durante 10 minutos, la capa orgánica se separó y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para obtener el compuesto **1** meso (48 g, 57 %) como un jarabe marrón junto con 13 g de compuesto racémico. ¹H RMN: (400MHz, DMSO-d₆) δ 7,28-7,19 (m, 5H), 3,83 (s, 2H), 3,48 (s, 6H), 3,42-3,36 (m, 2H), 2,09-1,98 (m, 2H), 1,94-1,83 (m, 2H). LCMS (ESI): *m/z* 277,9 [M⁺+1].

Síntesis de pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,5-dimetilo (2):

A una solución de compuesto **1** meso (48 g, 0,173 mol) en MeOH (480 ml) se añadieron Boc₂O (79,5 ml, 0,346 mol) y Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 19,2 g) y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/n-hexano para obtener el compuesto **2** meso (40,5 g, 81 %) como un sólido blanco. **¹H RMN**: (500MHz, DMSO-d₆) δ 4,27-4,18 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 2,25-2,16 (m, 2H), 1,96-1,85 (m, 2H), 1,36 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 288,2 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5,6-dicarboxilato de 5-(tert-butilo) y 6-metilo (3):

- 10 A una solución de compuesto **2** meso (35,5 g, 0,123 mol) en THF (300 ml) se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF, 185,5 ml, 0,185 mol) gota a gota a -78 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 1 h. Una solución de Int-A (20 g, 0,148 mol) en THF (55 ml) se añadió a la mezcla de reacción a -78 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con NH₄Cl acuoso saturado (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/n-Hexano para obtener el compuesto **3** (38 g, 78 %) como un jarabe espeso incoloro. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,48-7,36 (m, 5H), 4,95-4,85 (m, 2H), 4,29 (d a, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,07-3,99 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,55 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,36-2,16 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 1H), 1,98-1,91 (m, 1H), 1,35 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 391,3 [M⁺+1].

Síntesis de ácido 2-(benciloxi)-5-(tert-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (4):

- 20 A una solución del compuesto **3** (32 g, 0,082 mol) en MeOH, THF y agua (480 ml, 1:1:1) se añadió NaOH (9,84 g, 0,246 mol) a 0 °C y después se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (100 ml) y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó con HCl 2 N acuoso (pH ~ 2,0) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **4** (32 g, crudo) como un semisólido amarillo pálido. El crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. **¹H RMN** (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12,89 (s a, 1H), 7,46-7,28 (m, 5H), 4,92-4,84 (m, 2H), 4,26 (d a, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,05-3,96 (m, 1H), 3,45 (d a, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,31-2,15 (m, 2H), 2,06-1,88 (m, 2H), 1,35 (s, 9H). **LCMS (ESI)**: *m/z* 375,1 [M⁺-1].

Síntesis de anhídrido 2-(benciloxi)-5-(tert-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (isobutil carbónico) (5):

- 30 A una solución del compuesto **4** (46 g, 0,122 mol) en THF (460 ml) se añadió N-metilmorfolina (40,3 ml, 0,367 mol) y cloroformiato de isobutilo (20,5 ml, 0,159 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (230 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrido y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **5** (35 g, crudo) como un jarabe espeso incoloro. El crudo fue enviado a la siguiente etapa sin purificación adicional. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,47-7,33 (m, 5H), 4,94-4,84 (m, 2H), 4,27 (d a, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,12-3,96 (m, 1H), 3,86 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,63 – 3,51 (m, 1H), 3,46 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,39-2,36 (m, 1H), 2,28-2,16 (m, 2H), 2,07-1,82 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 0,88 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,82 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H).

Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(hidroximetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (6):

- 40 A una solución del compuesto **5** (35 g, 0,073 mol) en MeOH (350 ml) se añadió borohidruro de sodio (2,79 g, 0,073 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con hielo y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El crudo se diluyó con EtOAc (200 ml) y se lavó con agua seguido de salmuera. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ anhídrido y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/n-Hexano para obtener el compuesto **6** (6,7 g, 25 %) como un jarabe espeso incoloro. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,47-7,35 (m, 5H), 4,96-4,82 (m, 3H), 4,25 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 3,90 (dd, *J* = 5,6, 11,2 Hz, 1H), 3,77-3,66 (m, 2H), 3,34 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,17-2,07 (m, 1H), 2,02-1,91 (m, 1H), 1,83-1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 363,1 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-6-formil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7):

- 50 A una solución del compuesto crudo **6** (6,7 g, 0,018 mol) en CH₂Cl₂ (67 ml) se añadió peryodinano de Dess-Martin (9,42 g, 0,022 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 40 %/n-Hexano para obtener el compuesto **7** (5,8 g, 87 %) como un jarabe espeso incoloro. **¹H RMN** (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9,50 (s, 1H), 7,48-7,35 (m, 5H), 4,96 – 4,84 (m, 2H), 4,30 (s a, 1H), 3,85 (d a, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,59-3,47 (m, 1H), 2,26 (s a, 2H), 2,05-1,98 (m, 1H), 1,82 (s a, 1H), 1,36 (s, 9H).

Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil)-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BI y BJ):

A una solución de compuesto crudo **7** (5,8 g, 0,016 mol) en MeOH (87 ml) se añadió **Int-B** (2,28 g, 0,019 mol) en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaBH₃CN (2,02 g, 0,032 mol) a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (2x100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/ DCM para obtener la mezcla diastereomérica (3,4 g, 46 %) como un sólido blanco.

5 10 Se purificaron 620 mg de la mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa de fase normal para obtener **BI** (170 mg) y **BJ** (180 mg) como un sólido blanco.

BI: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 7,23 (s, 1H), 7,06 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H), 4,91 – 4,83 (m, 2H), 4,54 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 4,24 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,74 – 3,64 (m, 2H), 3,41 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,11 (dd a, *J* = 4,5, 11,9 Hz, 1H), 2,85 (t a, *J* = 10,5 Hz, 1H), 2,79 – 2,73 (m, 1H), 2,30 – 2,20 (m, 1H), 2,10 (d a, *J* = 6,1 Hz, 1H), 2,01 – 1,91 (m, 1H), 1,85 – 1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,06 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 463,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,71 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (80:20); A:B :: 60:40; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 8,383.

15 20 **BJ:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,45 – 7,34 (m, 5H), 7,18 (d a, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,05 (d a, *J* = 1,9 Hz, 1H), 4,91 – 4,81 (m, 3H), 4,23 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,68 – 3,58 (m, 2H), 3,40 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,00 (d a, *J* = 9,8 Hz, 1H), 2,76 – 2,64 (m, 2H), 2,44 – 2,25 (m, 2H), 2,02 – 1,87 (m, 1H), 1,83 – 1,70 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,06 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 463,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,89 %. HPLC quiral: 100,00 %; Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (80:20); A:B :: 60:40; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 9,962.

25 **Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BK y BL):**

A una suspensión de Níquel Raney (1 g) en MeOH (10 ml) se añadió la mezcla diastereomérica **BI y BJ** (1 g, 0,002 mol) MeOH (10 ml) y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (20 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se secó para obtener la mezcla diastereomérica (700 mg, 91 %) como un sólido blanco.

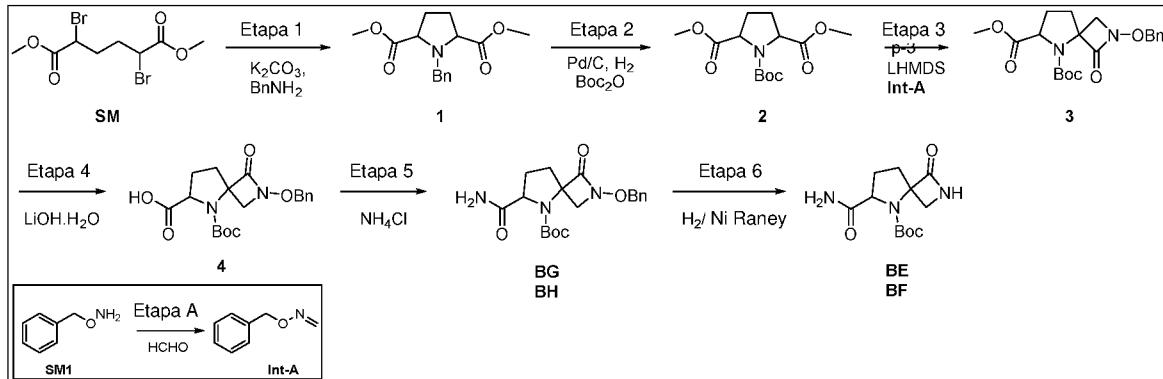
30 Se purificaron 810 mg de la mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **BK** (180 mg) y **BL** (185 mg) como un sólido blanco.

BK: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,43 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,06 (d a, *J* = 1,8 Hz, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,07 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,70 (quin, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,31 – 3,28 (m, 1H), 3,11 (dd, *J* = 5,9, 11,9 Hz, 1H), 3,05 (dd, *J* = 2,8, 11,4 Hz, 1H), 2,86 – 2,72 (m, 2H), 2,36 – 2,23 (m, 1H), 2,18-2,09 (m, 1H), 2,00 – 1,83 (m, 2H), 1,79 – 1,69 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,07 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 357,1 [M⁺+1]. HPLC: 97,87 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (80:20); A:B :: 60:40; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 12,865.

40 **BL:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,43 (s, 1H), 7,18 (d a, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,05 (d a, *J* = 2,1 Hz, 1H), 4,91 (s a, 1H), 4,07 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,62 (quin, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,28 (d a, *J* = 11,5 Hz, 1H), 3,04 – 2,93 (m, 2H), 2,68 (dd a, *J* = 3,1, 7,2 Hz, 2H), 2,47 – 2,37 (m, 1H), 2,31-2,23 (m, 1H), 1,93 – 1,89 (m, 1H), 1,85 – 1,69 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,07 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 357,1 [M⁺+1]. HPLC: 98,39 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (80:20); A:B :: 60:40; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 16,945.

45 **Síntesis de O-benciloxima de formaldehído (Int-A):**

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Síntesis de BE, BF, BG y BH:**Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5,6-dicarboxilato de 5-(tert-butilo) y 6-metilo (3):**

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **3** se ha capturado bajo la síntesis de **BI**, **BJ**, **BK** y **BL** (como compuesto **3**).

5 Síntesis de ácido 2-(benciloxi)-5-(tert-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (4):

A una solución agitada del compuesto **3** (4 g, 10,25 mmol) en THF:H2O (80 ml, 3:1) se añadió LiOH.H2O (4,4 g, 30,75 mmol) al 0 °C y después se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró, se codestiló con tolueno (2 x 60 ml) y se secó para obtener el compuesto **4** (4,5 g, crudo) como un sólido blanquecino. **LCMS (ESI):** *m/z* 375,2 [M⁺-1].

10 Síntesis de 2-(benciloxi)-6-carbamoil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BG and BH):

A una solución de compuesto crudo **4** (4,5 g, 11,77 mmol) en DMF (40 ml) se añadió HATU (6,7 g, 17,66 mmol), NH4Cl (1,27 g, 23,54 mmol) y DIPEA (6,2 ml, 35,31 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con Na2SO4 anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto crudo el cual fue purificado por cromatografía CombiFlash eluyendo con EtOAc al 50 %/Hexano para obtener el producto (1,4 g), que tras purificación preparativa quiral proporcionó **BG** (570 mg) y **BH** (560 mg) como sólido blancos.

BG: **1H RMN** (500MHz, DMSO-d₆): δ 7,47-7,34 (m, 6H), 7,14 (s a, 1H), 4,94-4,81 (m, 2H), 4,25 (d a, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,99 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 3,41 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,26-2,16 (m, 2H), 2,07-1,88 (m, 2H), 1,36 (s, 9H). **LCMS (m/z):** 376,2 [M⁺+1]. **HPLC:** 99,35 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 8,011.

BH: **1H RMN** (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,47-7,35 (m, 6H), 7,14 (s a, 1H), 4,94-4,82 (m, 2H), 4,25 (d a, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,99 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 3,41 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 2,27-2,15 (m, 2H), 2,06-1,88 (m, 2H), 1,36 (s, 9H). **LCMS (m/z):** 376,2 [M⁺+1]. **HPLC:** 99,38 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 11,776.

Síntesis de 2-(benciloxi)-6-carbamoil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BE):

A una solución agitada de **BG** (380 mg, 1,01 mmol) en metanol (10 ml) se añadió Ni Raney (200 mg) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción de desgasificó y después se agitó durante 16 h en atmósfera de H₂ (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida y se secó para obtener **BE** (230 mg, 84 %) como sólido blanco.

BE: **1H RMN** (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,46 (s, 1H), 7,30 (s a, 1H), 7,05 (s a, 1H), 4,08 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,65 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 3,08 (dd, *J* = 2,6, 12,0 Hz, 1H), 2,30-2,06 (m, 3H), 1,92-1,83 (m, 1H), 1,36 (s, 9H). **LCMS (ESI):** *m/z* 270,2 [M⁺+1]. HPLC: 94,58 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % TFA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 75:25; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 9,759.

Síntesis de 2-(benciloxi)-6-carbamoil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BF):

A una solución agitada de **BH** (380 mg, 1,01 mmol) en metanol (10 ml) se añadió Níquel Raney (200 mg) en atmósfera

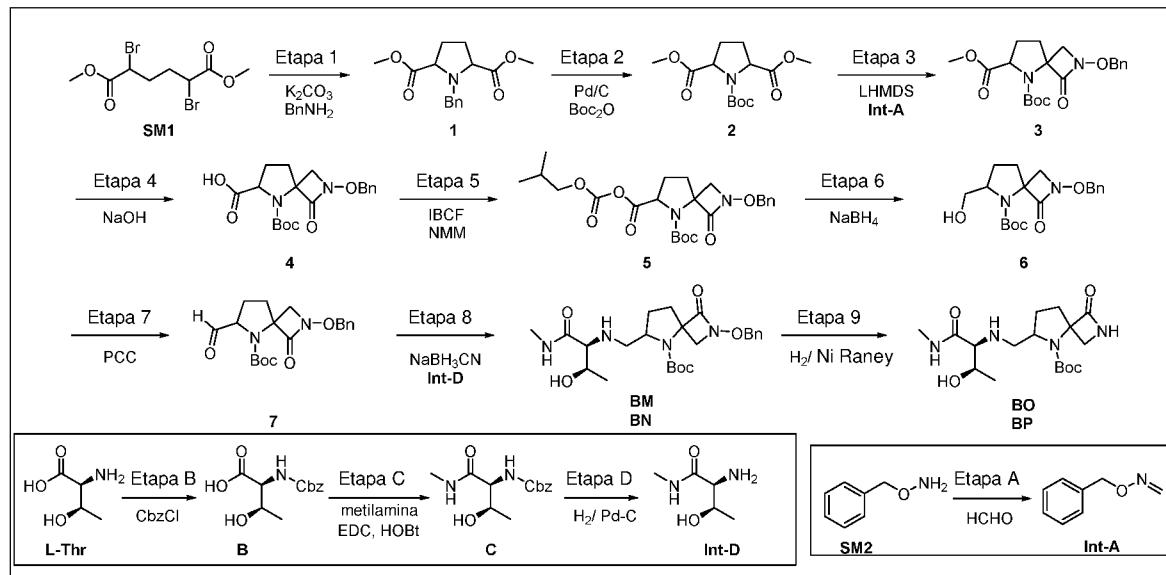
de nitrógeno. La mezcla de reacción se desgasificó y después se agitó durante 16 h en atmósfera H_2 (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida y se secó para obtener **BF** (210 mg, 77 %) como sólido blanco.

- 5 **BF:** 1H RMN (400MHz, DMSO-d₆): δ 7,46 (s, 1H), 7,29 (s a, 1H), 7,05 (s a, 1H), 4,11-4,05 (m, 1H), 3,63 (s, 1H), 3,08 (dd, J = 2,6, 12,0 Hz, 1H), 2,30-2,07 (m, 3H), 1,92-1,83 (m, 1H), 1,36 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 270,5 [M⁺+1]. HPLC: 99,50 %. HPLC quiral: 98,63 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % TFA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 75:25; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 17,406.

Síntesis de formaldehído O-benciloxima de formaldehído (Int-A):

- 10 El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Síntesis de BM, BN, BO y BP:



Síntesis de 2-(benciloxi)-6-formil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7):

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **7** se ha capturado bajo la síntesis de **BI**, **BJ**, **BK** y **BL** (como compuesto **7**).

- 15 **Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-(metilamino)-1-oxobutan-2-il)amino)metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BM y BN):**

A una solución del compuesto **7** (1,7 g, 4,72 mmol) en MeOH (20 ml) se añadieron **Int-D** (623 mg, 4,72 mmol) y AcOH (0,2 ml) en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos. NaBH₃CN (890 mg, 14,16 mmol) se añadió a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ saturado acuoso y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El crudo se diluyó con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó con cromatografía Combi-Flash eluyendo con MeOH al 5 %/EtOAc para obtener la mezcla diastereomérica (1 g, 44 %) como un sólido blanco. Se purificaron 750 mg de la mezcla diastereomérica de nuevo mediante purificación por HPLC preparativa de fase normal para obtener **BM** (300 mg) y **BN** (300 mg) como un sólido blanco.

BM: 1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,76 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 7,45 – 7,33 (m, 5H), 4,91 – 4,82 (m, 2H), 4,55 (s, 1H), 4,23 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 3,68 (d, J = 9,9 Hz, 2H), 3,40 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,05 (dd, J = 6,4, 12,2 Hz, 1H), 2,85 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 2,75 (dd, J = 5,5, 8,4 Hz, 1H), 2,61 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 2,29 – 2,18 (m, 1H), 2,15 – 2,07 (m, 1H), 2,02 – 1,91 (m, 1H), 1,85 – 1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,03 (d, J = 5,8 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,5 [M⁺+1]. HPLC: 98,34 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 17,870.

BN: 1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,71 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 7,46 – 7,34 (m, 5H), 4,91 – 4,81 (m, 2H), 4,23 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 3,67 – 3,56 (m, 2H), 3,43 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,00 (dd, J = 3,8, 11,3 Hz, 1H), 2,72 (dd, J = 2,9, 7,0 Hz, 1H), 2,66 – 2,56 (m, 4H), 2,45 – 2,35 (m, 2H), 2,31 – 2,22 (m, 1H), 2,04 – 1,90 (m, 1H), 1,83 – 1,72 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,03 (d, J = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,5 [M⁺+1]. HPLC: 99,74 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna:

CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 23,561.

Síntesis de 6-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-(metilamino)-1-oxobutan-2-il)amino)metil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BO y BP):

- 5 A una solución de Níquel Raney (3 g) en MeOH (40 ml) se añadió la mezcla diastereomérica (**BM** y **BN**) (1 g, 2,11 mmol) en MeOH (20 ml) y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 6 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo (750 g) se purificó mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **BO** (250 mg) y **BP** (270 mg) como un sólido blanco.
- 10 **BO:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,76 (c, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,44 (s, 1H), 4,56 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 4,07 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,69 (dd, *J* = 5,4, 10,5 Hz, 1H), 3,30 (s, 1H), 3,12 – 3,00 (m, 2H), 2,87 – 2,72 (m, 2H), 2,61 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 2,35 – 2,22 (m, 1H), 2,10 (d a, *J* = 6,1 Hz, 1H), 2,01 – 1,83 (m, 2H), 1,80 – 1,69 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 371,3 [M⁺+1]. HPLC: 98,65 %. HPLC quiral: 99,62 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 12,852.
- 15 **BP:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,68 (c, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,43 (s, 1H), 4,91 (s a, 1H), 4,07 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,62 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 3,26 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 2,99 (dd, *J* = 2,6, 11,4 Hz, 2H), 2,72 (dd, *J* = 3,1, 7,3 Hz, 1H), 2,66-2,63 (m, 1H), 2,60 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 2,43 (s a, 1H), 2,31 – 2,25 (m, 1H), 2,01 – 1,88 (m, 1H), 1,87 – 1,70 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 371,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,00 %. HPLC quiral: 99,14 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 13,831.

Síntesis de O-benciloxima de formaldehido (Int-A):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Preparación de Int-D:

25 **Síntesis de ((benciloxi)carbonil)-L-treonina (B) :**

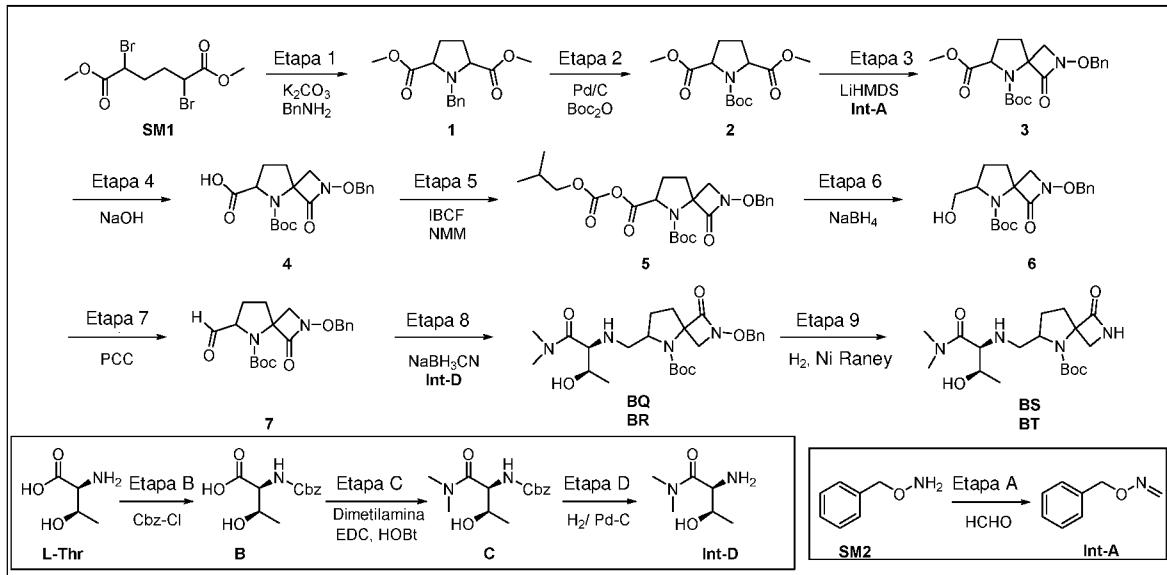
A una solución de *L*-treonina (20 g, 0,17 mol) en 1,4-dioxano y agua (1:1, 200 ml) se añadió NaOH (27,35 g, 0,683 mol) seguido de la adición gota a gota de CbzCl (solución al 50 % en tolueno, 87 ml, 0,256 mol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua fría (100 ml) y se lavó con EtOAc (100 ml). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N acuoso y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **B** (32 g, 75 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,64 (s a, 1H), 7,40 – 7,28 (m, 5H), 6,95 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,62 – 4,53 (m, 1H), 4,12 – 4,00 (m, 1H), 3,98 – 3,93 (m, 1H), 1,09 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 254,1 [M⁺+1].

Síntesis de ((2S,3R)-3-hidroxi-1-(metilamino)-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (C):

- 35 A una solución del compuesto **B** (6 g, 23,71 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) se añadieron HOBr (4,8 g, 35,57 mmol), EDC.HCl (6,83 g, 35,57 mmol), metilamina (2 M en THF) (23,7 ml, 47,43 mmol) y DIPEA (13 ml, 71,14 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (200 ml) y se extrajo con DCM (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con ácido cítrico al 10 % acuoso (100 ml), NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml), salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía Combi-Flash eluyendo con EtOAc al 80 %/n-Hexano para obtener el compuesto **C** (2,5 g, 39 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,77 (d a, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,40 – 7,27 (m, 5H), 6,84 (d a, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,10 – 4,98 (m, 2H), 4,74 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,99 – 3,88 (m, 1H), 3,85 (dd, *J* = 4,2, 8,7 Hz, 1H), 2,59 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 1,03 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 267,1 [M⁺+1].

45 **Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-N-metilbutanamida (Int-D):**

- A una solución del compuesto **C** (2,5 g, 9,39 mmol) en MeOH (30 ml), se añadió Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 1 g) y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) por 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH y H₂O (250 ml, 1:1). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **Int-D** (1,1 g, 88 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,82 (d a, *J* = 2,5 Hz, 1H), 4,56 (s a, 1H), 3,83 – 3,75 (m, 1H), 2,88 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 2,59 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H), 2,34-1,83 (m, 2H), 1,03 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 133,2 [M⁺+1].

Síntesis de BQ, BR, BS y BT:**Síntesis de 2-(benciloxi)-6-formil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7):**

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **7** se ha capturado bajo la síntesis de **BI**, **BJ**, **BK** y **BL** (como compuesto **7**).

5 **Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(((2S,3R)-1-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BQ y BR):**

A una solución del compuesto **7** (1 g, 2,77 mmol) en MeOH (20 ml) se añadieron **Int-D** (487 mg, 3,33 mmol) y AcOH (0,1 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 40 minutos. Se añadió NaBH3CN (525 mg, 8,33 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO3 acuoso saturado y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El crudo se diluyó con NaHCO3 acuoso (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na2SO4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por Cromatografía Combi-Flash eluyendo con MeOH al 5 %/ EtOAc para obtener la mezcla diastereomérica (610 mg, 44 %). Se separaron 610 mg de la mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa de fase normal para obtener **BQ** (270 mg) y **BR** (180 mg) como un sólido blanco.

BQ: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,44 – 7,36 (m, 5H), 4,86 (c, *J* = 9,9 Hz, 2H), 4,40 (d, *J* = 4,1 Hz, 1H), 4,23 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,73 – 3,59 (m, 2H), 3,47 – 3,34 (m, 2H), 3,10 – 3,08 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,85 (s, 3H), 2,74 (s a, 1H), 2,27-2,23 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,09 – 1,90 (m, 2H), 1,83 – 1,71 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,03 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 491,5 [M⁺+1]. HPLC: 97,68 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 16,822.

BR: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,44 – 7,32 (m, 5H), 4,84 (c, *J* = 10,0 Hz, 2H), 4,57 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 4,21 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,73 – 3,62 (m, 2H), 3,43 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,34 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,04 (s, 3H), 2,90-2,84 (m, 2H), 2,82 (s, 3H), 2,33 – 2,11 (m, 2H), 1,93 – 1,89 (m, 1H), 1,83 – 1,68 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 0,99 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 491,5 [M⁺+1]. HPLC: 99,65 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 24,172.

Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BS y BT):

30 A una solución de Níquel Raney (2 g) en MeOH (10 ml) se añadió mezcla diastereomérica de **BQ** y **BR** (1,05 mg, 2,14 mmol) en MeOH (20 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno y se agitó en atmósfera de H₂ (presión de globo) durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener la mezcla diastereomérica (680 mg, 82 %). La mezcla diastereomérica se separó mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **BS** (225 mg) y **BT** (210 mg) como un sólido blanco.

BS: **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,40 (s, 1H), 4,40 (d, *J* = 4,1 Hz, 1H), 4,06 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,74 – 3,63 (m, 1H), 3,43 (s a, 1H), 3,28 (d a, *J* = 11,5 Hz, 1H), 3,12 – 3,00 (m, 5H), 2,85 (s, 3H), 2,77 – 2,65 (m, 1H), 2,36 – 2,24 (m, 1H), 2,06 (s a, 1H), 1,99 – 1,80 (m, 2H), 1,79 – 1,69 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 385,4 [M⁺+1]. **HPLC:** 99,87 %. **HPLC quiral:** 100,00 %. **Columna:** CHIRALPAK IA (250*4 mm, 5μm); **Fase móvil A:** 0,1 % DEA en n-hexano; **Fase móvil B:** DCM:MeOH (50:50); **A:B :: 85:15;** **Tasa de flujo:** 1,0 ml/min. **Tiempo de retención:** 8,926.

BT: **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,41 (s, 1H), 4,62 (s a, 1H), 4,06 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,76 – 3,66 (m, 1H), 3,45 (s a, 1H), 3,28 (s, 1H), 3,08 (s, 3H), 3,01 – 2,88 (m, 3H), 2,84 (s, 3H), 2,35 – 2,26 (m, 1H), 2,17 (s a, 1H), 1,98 – 1,79 (m, 2H), 1,78 – 1,68 (m, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,02 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 385,4 [M⁺+1]. **HPLC:** 98,65 %. **HPLC quiral:** 98,92 %. **Columna:** CHIRALPAK IA (250*4 mm, 5μm); **Fase móvil A:** 0,1 % DEA en n-hexano; **Fase móvil B:** DCM:MeOH (50:50); **A:B :: 85:15;** **Tasa de flujo:** 1,0 ml/min. **Tiempo de retención:** 11,018.

Síntesis de formaldehído O-benciloxima de formaldehído (Int-A):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Preparación de Int-D:

Síntesis de ((benciloxi)carbonil)-*L*-treonina (B) :

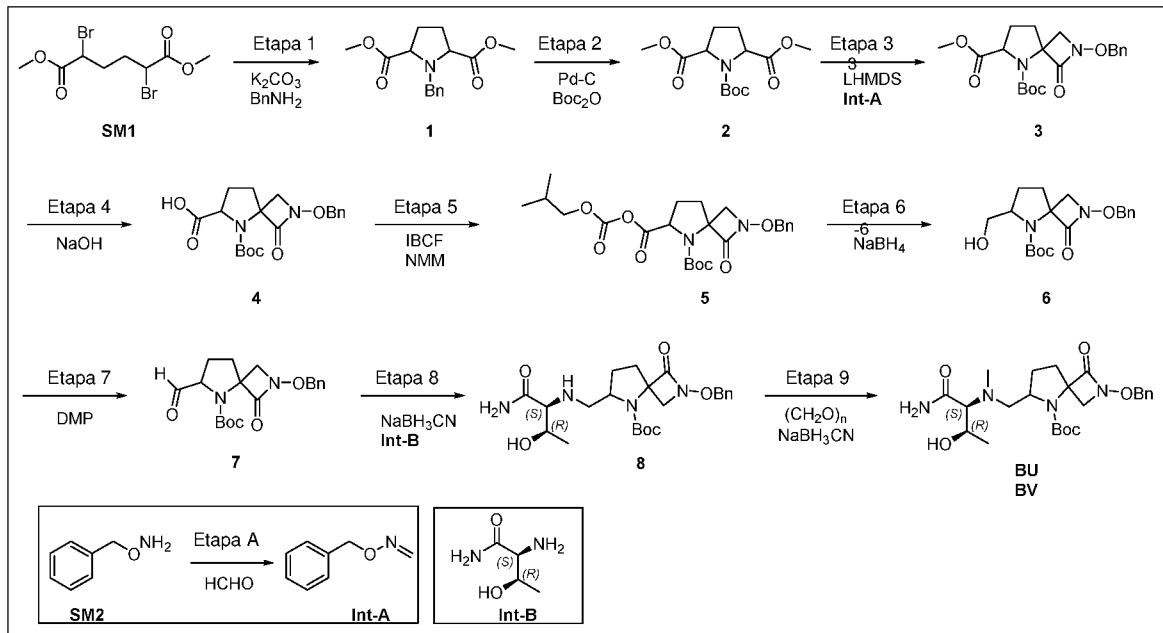
A una solución de *L*-treonina (20 g, 0,17 mol) en 1,4-dioxano y agua (1:1, 200 ml) se añadió NaOH (27,35 g, 0,683 mol) seguido de la adición gota a gota de CbzCl (solución al 50 % en tolueno, 87 ml, 0,256 mol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se diluyó con agua fría (100 ml) y se lavó con EtOAc (100 ml). La capa acuosa se acidificó con solución de HCl 1 N y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con solución de salmuera (100 ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **B** (32 g, 75 %) como un sólido blanco. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,64 (s a, 1H), 7,40 – 7,28 (m, 5H), 6,95 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,62 – 4,53 (m, 1H), 4,12 – 4,00 (m, 1H), 3,98 – 3,93 (m, 1H), 1,09 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 254,1 [M⁺+1].

Síntesis de ((2*S*,3*R*)-1-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (C):

A una solución del compuesto **B** (10 g, 39,52 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) se añadieron HOBr (8 g, 59,23 mmol), EDC.HCl (11,35 g, 59,23 mmol), clorhidrato dimetilamina (6,44 g, 79,05 mmol) y DIPEA (22 ml, 118,5 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (100 ml) y se extrajo con DCM (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄ and se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía Combi-Flash eluyendo con EtOAc al 60 %/n-Hexano para obtener el compuesto **C** (9 g, 81 %) como un sólido blanco. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,40 – 7,27 (m, 5H), 7,04 (d a, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,08 – 4,97 (m, 2H), 4,72 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,41 (dd, *J* = 5,4, 8,4 Hz, 1H), 3,86-3,78 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 2,83 (s, 3H), 1,03 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 281,1 [M⁺+1].

Síntesis de (2*S*,3*R*)-2-amino-3-hidroxi-*N,N*-dimetilbutanamida (Int-D):

A una solución del compuesto **C** (11 g, 39,28 mmol) en MeOH (100 ml), se añadió Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 4 g) a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **Int-D** (5 g, 87 %) como un sólido blanco. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3,57 (quin, *J* = 6,2 Hz, 1H), 3,46 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,03 (s, 3H), 2,83 (s, 3H), 0,99 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 147,0 [M⁺+1].

Síntesis de BU y BV:**Síntesis de 2-(benciloxi)-6-formil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7):**

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **7** se ha capturado bajo la síntesis de **BI**, **BJ**, **BK** y **BL** (como compuesto **7**).

5 **Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (8):**

A una solución del compuesto **7** (5,8 g, 0,016 mol) en MeOH (87 ml) se añadió **Int-B** (2,28 g, 0,019 mol) en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaBH₃CN (2,02 g, 0,032 mol) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para obtener la mezcla diastereomérica (3,4 g, 46 %) como un sólido blanco. **1H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 7,26 – 7,19 (m, 1H), 7,07 – 7,03 (m, 1H), 4,93 – 4,78 (m, 3H), 4,23 – 4,17 (m, 1H), 3,71 – 3,62 (m, 2H), 3,43 – 3,37 (m, 1H), 3,12 – 2,94 (m, 1H), 2,86 – 2,84 (m, 1H), 2,73 – 2,67 (m, 2H), 2,38 – 2,24 (m, 1H), 1,96 – 1,91 (m, 1H), 1,81 – 1,76 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,07 – 1,04 (m, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 463,2 [M⁺+1].

Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)(metil)amino)metil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BU y BV):

A una solución del compuesto **8** (1,8 g, 3,89 mmol) en MeOH (36 ml) se añadieron paraformaldehído (701 mg, 23,3 mmol) y AcOH (0,11 ml, 1,94 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaCNBH₃ (734 mg, 11,6 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó a 60 °C durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), se enfrió a temperatura ambiente y los componentes volátiles se evaporaron. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ and se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/EtOAc para obtener la mezcla diastereomérica de **BU** y **BV** (1,3 g, 70 %) como un sólido blanco.

Se purificaron 1,05 g de la mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa quirial para obtener **BU** (300 mg) y **BV** (235 mg) como un sólido blanco.

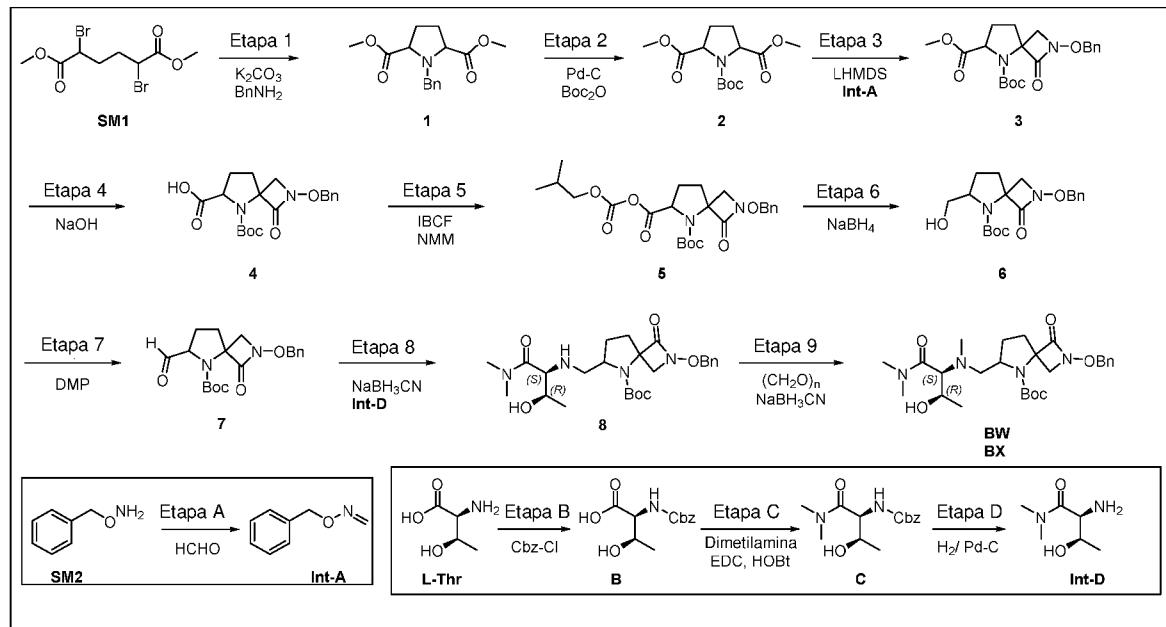
BU: **1H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,48 – 7,36 (m, 5H), 7,32 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 4,92 – 4,80 (m, 2H), 4,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,79 (d, *J* = 10,2 Hz, 2H), 3,48 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,30 – 3,13 (m, 2H), 2,79 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 2,41 (s a, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,04 – 1,72 (m, 3H), 1,38 (s, 9H), 1,00 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,52 %.

BV: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 7,29 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 4,88-4,82 (m, 2H), 4,23 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,84 (dd, *J* = 6,6, 8,3 Hz, 1H), 3,78 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,34-3,27 (m, 2H), 3,13 (d, *J* = 14,4 Hz, 1H), 2,74 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 2,46-2,42 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,02 – 1,91 (m, 1H), 1,82 – 1,72 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,02 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,39 %.

5 **Síntesis de O-benciloxima de paraformaldehído (Int-A):**

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Síntesis de BW y BX:



Síntesis de 2-(benciloxi)-6-formil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7):

10 El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **7** se ha capturado bajo la síntesis de **BI**, **BJ**, **BK** y **BL** (como compuesto **7**).

Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(((2S,3R)-1-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (8):

15 A una solución del compuesto **7** (1 g, 2,77 mmol) en MeOH (20 ml) se añadieron **Int-D** (487 mg, 3,33 mmol) y AcOH (0,1 ml) en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos. Se añadió NaBH₃CN (525 mg, 8,33 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ and se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía Combi-Flash eluyendo con MeOH al 5 %/ EtOAc para obtener la mezcla diastereomérica **8** (610 mg, 44 %) como un semisólido blanco. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,44 – 7,36 (m, 5H), 4,89 – 4,78 (m, 2H), 4,38- 4,36 (m, 1H), 4,23-4,18 (m, 1H), 3,73 – 3,59 (m, 2H), 3,43 – 3,31 (m, 2H), 3,14 – 3,08 (m, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,84 (s, 3H), 2,74-2,68 (m, 1H), 2,27-2,23 m, 1H), 1,96 – 1,90 (m, 2H), 1,79 – 1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,05 – 1,01 (m, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 491,5 [M⁺+1].

20 **Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(((2S,3R)-1-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)(metil)amino)metil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BW y BX):**

25 A una solución del compuesto **8** (900 mg, 1,83 mmol) en MeOH (18 ml) se añadieron paraformaldehído (330 mg, 11,01 mmol) y AcOH (0,05 ml, 0,91 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaCNBH₃ (461 mg, 7,34 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó a 60 °C durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), se enfrió a temperatura ambiente y los componentes volátiles se evaporaron. El residuo se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/EtOAc para obtener mezcla diastereomérica de **BW** y **BX** (850 mg, 91 %) como un sólido blanco.

Otro lote de 100 mg de **SM** proporcionó una mezcla diastereomérica de **BW** y **BX** (50 mg) como un sólido blanco.

Se purificaron 900 mg de mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa quirial para obtener **BX** (303 mg) and **BW** (358 mg) como un sólido blanco.

BW: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,46 – 7,36 (m, 5H), 4,86 (c, *J* = 10,1 Hz, 2H), 4,27 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 4,21 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,96 (ddd, *J* = 4,8, 6,0, 9,1 Hz, 1H), 3,75 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,35 (s, 1H), 3,31 – 3,20 (m, 3H), 3,03 (s, 3H), 2,81 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,39 – 2,30 (m, 1H), 2,02 – 1,87 (m, 1H), 1,82 – 1,67 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 0,94 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 505,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,53 %. HPLC quirial: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 90:10; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 7,764.

BX: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 4,92 – 4,78 (m, 2H), 4,38 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H), 4,21 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,12 – 4,00 (m, 1H), 3,62 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,35 (s, 1H), 3,28 – 3,14 (m, 3H), 3,01 (s, 3H), 2,78 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,36 – 2,25 (m, 1H), 2,02 – 1,89 (m, 1H), 1,84 – 1,73 (m, 1H), 1,72 – 1,62 (m, 1H), 1,39 (s, 9H), 0,95 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 505,2 [M⁺+1]. HPLC: 96,52 %. HPLC quirial: 96,89 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 90:10; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 9,390.

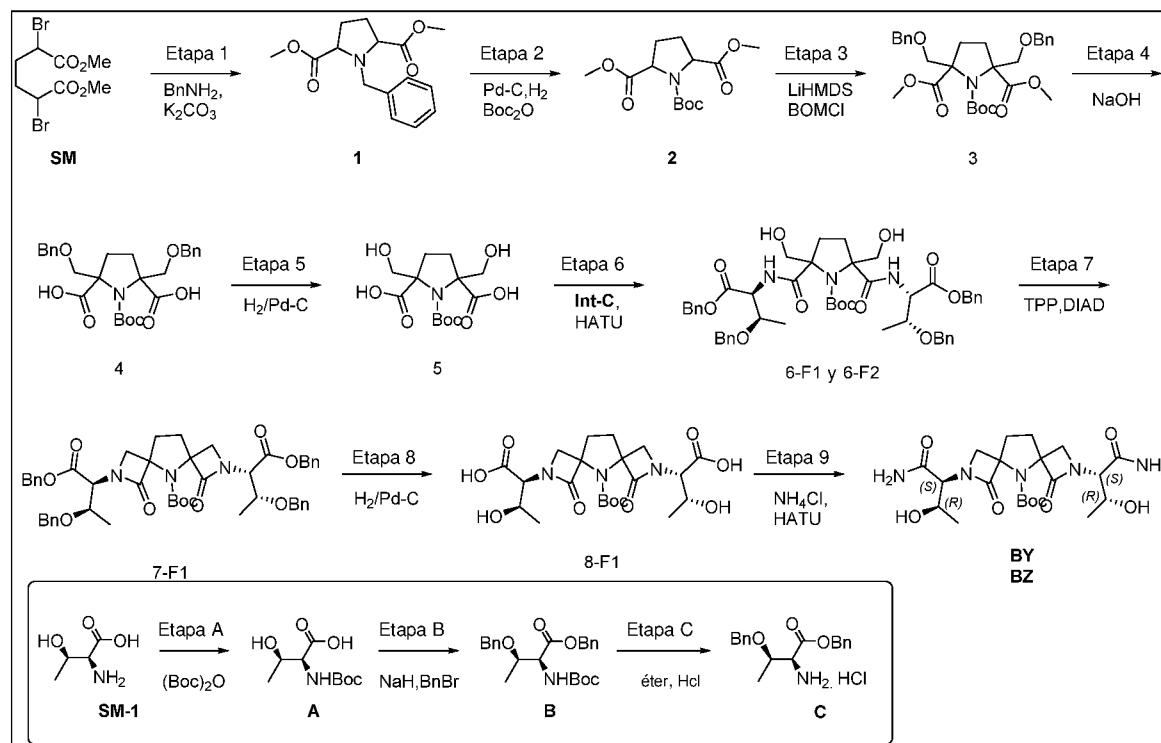
15 Síntesis de O-benciloxima de formaldehído (Int-A):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-A** se ha capturado bajo **AL-1** y **AL-2** (como **Int-A**).

Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-N,N-dimetilbutanamida (Int-D):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-D** se ha capturado bajo **BQ**, **BR**, **BS** y **BT** (como **Int-D**).

Síntesis de **BY**:



20 Síntesis de pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,5-dimetilo (2):

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **2** se ha capturado bajo la síntesis de **BI**, **BJ**, **BK** y **BL** (como compound **2**).

Síntesis de 2,5-bis((benciloxi)metil)pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,5-dimetilo (3):

A una solución agitada de la mezcla isomérica del compuesto **2** (10 g, 0,034 mol) en THF (100 ml) se añadió LiHMDS (1,0M en THF) (139 ml, 0,139 mol) a -10 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitación durante 1 h, BOM-Cl (16,2 g, 0,104 mol) se añadió a -10 °C. La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución de NH₄Cl (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 500 ml). La capa orgánica separada se secó con Na₂SO₄ and se concentró para obtener el compuesto crudo el cual fue purificado por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/Hexano para obtener la mezcla

isomérica del compuesto **3** (10,4 g, 56 %) como sólido blanco. **¹H RMN** (400MHz, CDCl₃): δ 7,40-7,21 (m, 10H), 4,69-4,55 (m, 4H), 4,16 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,08 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,01 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,85 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,63 (d, *J* = 15,3 Hz, 6H), 2,47-2,15 (m, 4H), 1,35 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 428,1 [M⁺+1-Boc]; HPLC: 95,74 %.

Síntesis de ácido 2,5-bis((benciloxi)metil)-1-(tert-butoxicarbonil)pirrolidin-2,5-dicarboxílico (4):

- 5 A una solución de la mezcla isomérica del compuesto **3** (10,4 g, 0,0197 mol) en MeOH:THF:H₂O (90 ml, 1:1:1) se añadió NaOH (4,7 g, 0,118 mol) a RT y se agitó 10 minutos. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se llevó a RT, los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se diluyó con agua (100 ml). La capa acuosa se acidificó usando solución de HCl 2 N (pH~2) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron para obtener la mezcla isomérica del compuesto **4** (6,4 g, 65 %) como sólido blanco. **LCMS (ESI):** *m/z* 500,2 [M⁺+1].
- 10

Síntesis de ácido 1-(tert-butoxicarbonil)-2,5-bis(hydroximetil)pirrolidin-2,5-dicarboxílico (5):

- 15 A una solución agitada de la mezcla isomérica del compuesto **4** (6,4 g, 0,128 mol) en metanol (100 ml) se añadió Pd-C al 10 % húmedo 50 % (32 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera de H₂. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con Et₂O. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener la mezcla isomérica del compuesto **5** (3,4 g, 83 %) como un sólido blanco. **LCMS (ESI):** *m/z* 219,9 [M⁺+1-Boc].

Síntesis de 2,2'-(1-(tert-butoxicarbonil)-2,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2,5-dicarbonil)bis(azanediil))(2S,2'S,3R,3'R)-bis(3-(benciloxi)butanoato) de dibencilo (6):

- 20 A una solución agitada de la mezcla isomérica del compuesto **5** (4,4 g, 0,013 mol) en DCM (50 ml) se añadieron DIPEA (14,6 ml, 0,082 mol), HATU (15,7 g, 0,041 mol) e Int **C** (8,2 g, 0,027 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con DCM (2x 200 ml). La capa orgánica se lavó con solución de NH₄Cl y solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto crudo que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30-40 %/n-hexano seguido de cromatografía en columna MPLC para obtener el compuesto **6-F1** (4,4 g, 36 %) y el compuesto **6-F2** (2 g, 16 %) como un jarabe espeso.
- 25

- 30 Compuesto **6-F1:** **¹H RMN** (400MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,51 (dd, *J* = 8,2, 15,5 Hz, 2H), 7,36-7,20 (m, 20H), 5,76-5,68 (m, 2H), 5,07 (s, 4H), 4,55-4,31 (m, 8H), 4,27-3,94 (m, 2H), 3,88-3,61 (m, 2H), 2,23 (d a, *J* = 5,0 Hz, 2H), 1,99-1,85 (m, 2H), 1,29 (s, 9H), 1,21-1,06 (m, 6H). **LCMS (m/z):** 782,3 [M⁺+1-Boc].

Síntesis de 2,2'-(5-(tert-butoxicarbonil)-1,7-dioxo-2,5,8-triazadiespiro[3.1.36.24]undecane-2,8-diil)(2S,2'S,3R,3'R)-bis(3-(benciloxi)butanoato) de dibencilo (7-F1):

- 35 A una mezcla de TPP (11,8 g, 0,045 mol) y DIAD (10,5 g, 0,045 mol) en THF (25 ml) se añadió el compuesto **6-F1** (4 g, 0,045 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), se inactivó con hielo y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 10 %/Hexano para obtener el compuesto **7-F1** (1,3 g, 34 %) como un jarabe espeso. **¹H RMN** (500MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,43-7,18 (m, 20H), 5,22 – 5,07 (m, 4H), 4,59-4,48 (m, 4H), 4,30 (d, *J* = 11,9 Hz, 2H), 4,10-4,00 (m, 2H), 3,96-3,80 (m, 2H), 3,61-3,41 (m, 2H), 2,13 (s a, 2H), 2,02-1,93 (m, 2H), 1,25 (s, 9H), 1,13 (s a, 6H). LCMS (ESI): *m/z* 790,6 [M⁺+1-56].

- 40 **Síntesis de (2S,2'S,3R,3'R)-2,2'-(5-(tert-butoxicarbonil)-1,7-dioxo-2,5,8-triazadiespiro[3.1.36.24]undecano-2,8-diil)bis(ácido 3-hidroxibutanoico) (8-F1):**

- 45 A una solución del compuesto **7-F1** (1,3 g, 1,53 mmol) en metanol (25 ml) se añadió Pd-C al 10 % húmedo 50 % (1,3 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con Et₂O. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida y se lavó con Et₂O para obtener el compuesto **8-F1** (750 mg, crudo) como un sólido blanco. **¹H RMN** (400MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,99-12,78 (m, 2H), 5,14 – 4,91 (m, 2H), 4,11-4,04 (m, 3H), 3,86-3,81 (m, 2H), 3,71-3,47 (m, 3H), 2,15 (s a, 4H), 1,32 (s, 9H), 1,14-1,03 (m, 6H). **LCMS (ESI):** *m/z* 430 [M⁺+1-56].

- 50 **Síntesis de 2,8-bis((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)-1,7-dioxo-2,5,8-triazadiespiro[3.1.36.24]undecano-5-carboxilato de tert-butilo (BY):**

- A una solución agitada de compuesto crudo **8-F1** (750 mg, 1,54 mmol) en DCM (25 ml) se añadieron DIPEA (1,61 ml, 9,27 mmol), HATU (1,7 g, 4,62 mmol) y NH₄Cl (412 mg, 7,73 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en

columna eluyendo con MeOH al 2 %/ DCM y después se limpió con éter para obtener **BY** (90 mg, 8 %) como un sólido blanco. **1H RMN** (400MHz, DMSO- d_6): δ 7,63 (s a, 1H), 7,47-7,30 (m, 2H), 7,08 (s a, 1H), 4,91 (dd, J = 5,6, 17,4 Hz, 2H), 4,26 (dd, J = 5,1, 10,0 Hz, 1H), 4,01 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 3,95 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 3,87-3,76 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,53 (s, 1H), 2,21-2,10 (m, 4H), 1,34 (s, 9H), 1,10-1,04 (m, 6H). **LCMS (ESI)**: m/z 483,5 [M $^+$ +1]. **HPLC quiral**: 100,00 %.
 5 Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % TFA en n-hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 70:30; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 10,840.

Preparación de Int-C:

Síntesis de ácido (2S)-2-((tert-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxibutanoico (A)

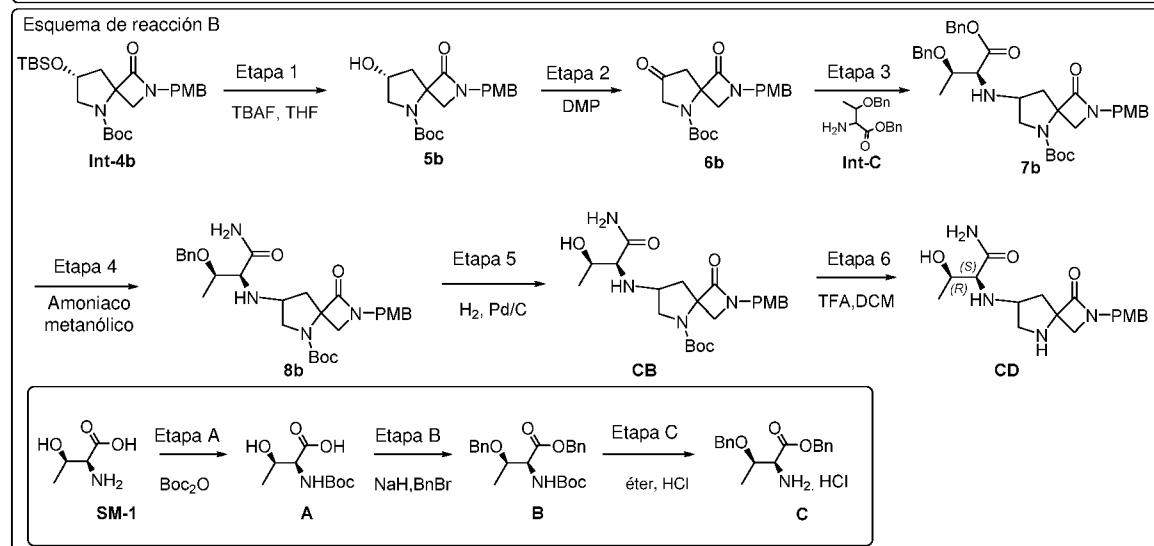
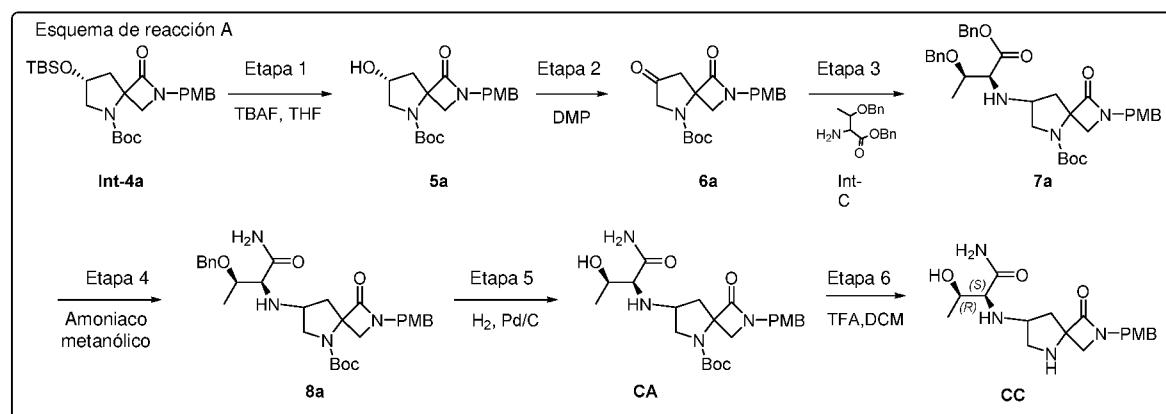
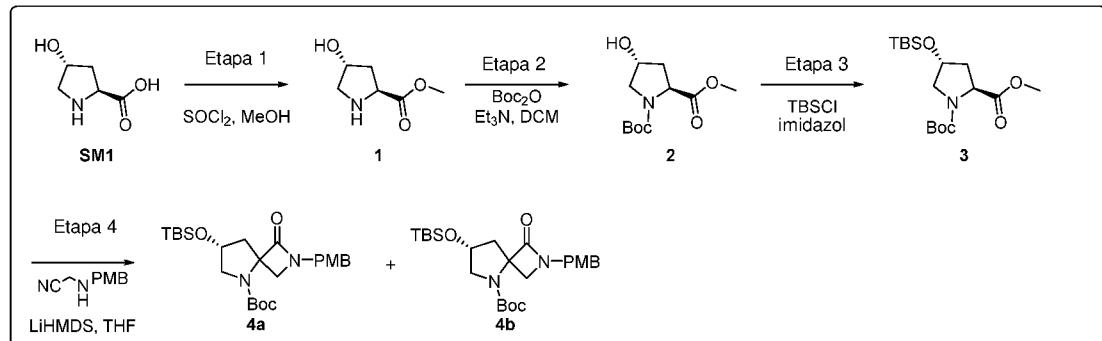
A una solución de **SM-1** (100 g, 456 mmol) en 1, 4 dioxano (450 ml) y H₂O (400 ml) se añadieron NaOH (36,5 g, 913 mmol), Boc₂O (119 g, 547 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl 2 N acuoso (pH~4) y se extrajo con EtOAc (5 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron con Na₂SO₄ anhídrico y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto **A** (55 g, 55 %) como un jarabe amarillo. **1H RMN** (400 MHz, δ 6,29 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,04-3,98 (m, 1H), 3,87-3,84 (m, 1H), 1,30 (s, 9H), 1,05 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

15 Síntesis de (2S)-3-(benciloxi)-2-((tert-butoxicarbonil) amino)butanoato de bencilo (B):

A una solución del compuesto **A** (50 g, 156 mmol) en DMF (200 ml) se añadió NaH (60 %) (7,52 g, 313 mmol) a -15°C y se agitó durante 2 h. Se añadió bromuro de bencilo (32,0 g, 188 mmol) lentamente a la mezcla de reacción resultante. La temperatura de mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 12 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua fría (200 ml) y se extrajo con éter dietílico (4 x 250 ml). La capa acuosa se acidificó con ácido cítrico (pH~4) y se extrajo con EtOAc (4 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 250 ml). Los extractos orgánicos se secaron con Na₂SO₄ anhídrico, se filtraron y concentraron a presión reducida para obtener el compuesto **B** (20 g, 31,2 %) como un jarabe marrón. **LCMS (ESI)**: m/z 300,15 [M $^+$ -Boc].

Síntesis de bencil clorhidrato de (2S)-2-amino-3-(benciloxi) butanoato de bencilo I (Int-C):

25 A una solución del compuesto **B** (20,0 g, 48,8 mmol) en HCl en éter (20 ml) se añadió a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El precipitado obtenido se filtró y limpió con éter dietílico (2 x 100 ml) y hexano (2 x 200 ml). El compuesto filtrado se secó a vacío para obtener el **Int-C** (14,0 g, 96,4 %) como un sólido blanco. **1H RMN** (400 MHz, δ 8,68 (s, 3H), 7,50-7,25 (m, 10H), 5,24-5,13 (m, 2H), 4,53 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,35 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,23 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 4,11-4,07 (m, 1H), 1,27 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

Síntesis de CA, CB, CC y CD:**Síntesis de (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de metilo (1):**

A una solución de ácido (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (75,0 g, 572 mmol) en MeOH (800 ml), se añadió SOCl₂ (75 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con éter dietílico (50 ml x 3) para obtener el compuesto 1 (100,0 g, 96 %) como un sólido incoloro. ¹H RMN: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,56–9,30 (s a, 2H), 5,60 (m, 1H), 4,50–4,37 (m, 2H), 3,75–3,68 (m, 1H), 3,41–3,32 (m, 1H), 3,10–3,04 (m, 2H), 2,25–2,02 (m, 4H).

Síntesis de (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (2):

5 A una solución del compuesto 1 (100,0 g, 552 mol) en CH₂Cl₂ (1 l), se añadió Et₃N (230 ml, 1,65 mol) a 0 °C y se agitó durante 15 min. Se añadió Boc₂O (152 ml, 662 mmol) gota a gota a la mezcla de reacción a 0 °C, durante 30 min y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (500 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por

cromatografía en columna para obtener el compuesto **2** (123,0 g, 91 %) como un sólido incoloro. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5,09 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,29–4,15 (m, 2H), 3,64 (m, 3H), 3,45–3,21 (m, 2H), 2,14–2,09 (m, 1H), 1,95–1,82 (m, 1H), 1,39–1,32 (m, 9H).

Síntesis de (2*S,4R*)-4-((tert-butildimetilsilil)oxi)pirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (3):

- 5 A una solución del compuesto **2** (18,0 g, 73,4 mmol) en DCM (200 ml), se añadieron imidazol (9,9 g, 146 mmol) y TBDMSCl (14,3 g, 95,5 mol) y se agitó a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (250 ml) y se extrajo con DCM (3 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **3** (23,0 g, 87 %) como un aceite amarillo. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,43–4,40 (m, 1H), 4,21–4,18 (m, 1H), 3,63 – 3,60 (m, 3H), 3,44 (m, 1H), 3,33–3,21 (m, 1H), 2,16–2,04 (m, 2H), 2,04–1,90 (m, 1H), 1,38–1,32 (m, 9H), 0,85 (m, 9H), 0,06 (m, 6H).

Síntesis de (4*R,7R*)-7-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (4a y 4b):

- 15 A una solución del compuesto **3** (40,0 g, 111 mmol) en THF (300 ml), se añadió LiHMDS (solución 1M en THF, 334 ml, 334 mmol) a -78°C y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió 2-((4-metoxibencil) amino) acetonitrilo (39,0 g, 222 mmol) a la mezcla de reacción a -50 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NH₄Cl saturada (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ and se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener los diastereoisómeros compuesto **4a** (29,0 g, 54,7 %) y compuesto **4b** (10,0 g, 18,8 %) como un aceite espeso.

Esquema A

Síntesis de (7*R*)-7-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4] octano-5-carboxilato de tert-butilo (5a):

- 25 A una solución del compuesto **4a** (28,0 g, 58,8 mmol) en THF (200 ml), se añadió TBAF (solución 1 M en THF, 88,2 ml, 88,2 mmol) gota a gota a 0 °C y se agitó a 50 °C durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (150 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (150 ml) y salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 50 %/Hexano para obtener el compuesto **5a** (20,0 g, 94,3 %) como un aceite amarillo. **LCMS (ESI)** : *m/z* 307 [M⁺-55].

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1,7-dioxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (6a):

- 30 A una solución del compuesto **5a** (20,0 g, 55,2 mmol) en CH₂Cl₂ (300 ml), se añadió peryodinano de Dess-martin (46,8 g, 110 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se diluyó con agua (250 ml) y se extrajo con EtOAc (4 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (300 ml) y salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 25 %/Hexano para obtener el compuesto **6a** (12,0 g, 60 %) como un sólido blanco. **LCMS (ESI)**: *m/z* 359 [M⁺-1].

Síntesis de 7-((2*S,3R*)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7a):

- 40 A una solución del compuesto **6a** (7,0 g, 19,4 mmol), se añadió **Int-C** (6,3 g, 21,3 mmol) en MeOH (200 ml) y AcOH (2,5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (3,7 g, 58,3 mmol) a 0 °C en porciones durante un periodo de 10 minutos y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **7a** (7,0 g, 56 %) como un aceite espeso. **LCMS (ESI)**: *m/z* 644 [M⁺+1].

Síntesis de 7-((2*S,3R*)-1-amino-3-(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (8a):

- 50 A una solución del compuesto **7a** (7,0 g, 10,8 mmol) en MeOH (10 ml), se añadió amoniaco metanólico (50 ml) a 0 °C y se agitó a la misma temperatura durante 4,5h. Después del consumo del material de partida (por TLC), se evaporó la RM para obtener el residuo. El residuo se purificó por cromatografía SFC para obtener el compuesto **8a** (1,4 g, 23 %). **LCMS (ESI)**: *m/z* 553 [M⁺+1].

Síntesis de 7-((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (CA):

A una solución del compuesto **8a** (1,3 g, 2,35 mmol) en MeOH (30 ml), se añadió Pd/C al 10 % (400 mg) a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 12 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **CA** (0,9 g, 90 %). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 7,52 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,18 (dd, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 6,91 (dd, *J* = 8,4, 6,1 Hz, 2H), 4,57 (dd, *J* = 9,2, 5,0 Hz, 2H), 4,45–4,33 (m, 1H), 3,94 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,71–3,62 (m, 1H), 3,42–3,40 (m, 2H), 3,24–3,03 (m, 3H), 2,76 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H), 2,27 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,11–1,02 (m, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 463 [M⁺1].

HPLC: 99,6 %.

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-((4S)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-7-il)amino)butanamida (CC):

A una solución agitada de **CA** (0,58 g, 1,25 mmol) en DCM (15 ml), se añadió TFA (10 ml) a 0 °C y se agitó a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de flash para obtener **CC** (0,16 g, 36 %) como un sólido pegajoso. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 7,44 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,04 (s, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,61 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,24 (s, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,67 – 3,54 (m, 1H), 3,32 – 3,0 (m, 2H), 3,06 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H) 2,95 – 2,91 (m, 1H), 2,71 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,65 – 2,63 (m, 1H), 2,14 – 2,07 (m, 2H), 1,76–1,76 (m, 1H), 1,05 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 363 [M⁺1]⁺. HPLC: 95,6 %. HPLC quiral: >99 %.

20 Esquema de reacción B

Síntesis de (7*R*)-7-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (5b):

A una solución del compuesto **4b** (16,0 g, 33,6 mmol) en THF (100 ml), se añadió TBAF (solución 1 M en THF, 50,4 ml, 50,4 mmol) gota a gota a 0 °C y se agitó a 50 °C durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (150 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (150 ml) y salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 50 %/Hexano para obtener el compuesto **5b** (10,0 g, 82 %) como un aceite amarillo. LCMS (ESI): *m/z* 361 [M⁺1]⁺.

Síntesis de 2-(4-metoxibencil)-1,7-dioxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (6b):

A una solución del compuesto **5b** (10,0 g, 27,6 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml), se añadió peryodinano de Dess-martin (23,0 g, 55,2 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de celite. El filtrado se diluyó con agua (250 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (300 ml) y salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 25 %/hexano para obtener **6b** (6,0 g, 60 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): *m/z* 305,05 [M⁺55].

Síntesis de 7-((1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil) -1-oxo-2,5-diazaespiro [3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7b):

A una solución del compuesto **6b** (6,0 g, 16,6 mmol), se añadieron **Int C** (5,4 g, 18,3 mmol) in AcOH (4 ml), MeOH (200 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. A la mezcla de reacción resultante, se añadió cianoborohidruro de sodio (3,2 g, 49,9 mmol) a 0 °C en porciones durante un periodo de 10 minutos y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **7b** (4,5 g, 42 %) como un aceite espeso. LCMS (ESI): *m/z* 644 [M⁺1].

Síntesis de 7-((1-amino-3-(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (8b):

A una solución del compuesto **7b** (4,5 g, 6,90 mmol) en MeOH (50 ml), se añadió amoniaco metanólico (50 ml) a 0 °C y se agitó a la misma temperatura durante 4 días. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **8b** (1,2 g, 31 %). LCMS (ESI): *m/z* 551 [M⁺1].

Síntesis de 7-((1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (CD):

A una solución del compuesto **8b** (1,2 g, 2,17 mmol) en MeOH (60 ml), se añadió Pd/C al 10 % (500 mg) a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 12 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **CB** (0,9 g, 90 %). **1H RMN** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,37 (s, 1H), 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,91 (m, 2H), 4,56–4,54 (m, 2H), 4,37–4,19 (m, 1H), 3,94 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,69–3,36 (m, 3H), 3,24–3,08 (m, 2H), 3,08–2,96 (m, 1H), 2,74 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 2,21 (dd, *J* = 12,3, 5,5 Hz, 1H), 1,99 (m, 1H), 1,38 (d, *J* = 24,7 Hz, 9H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). **LCMS (ESI)**: *m/z* 463 [M+1]⁺. **HPLC**: 97,0 %.

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-((2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-7-il)amino)butanamida (CD):

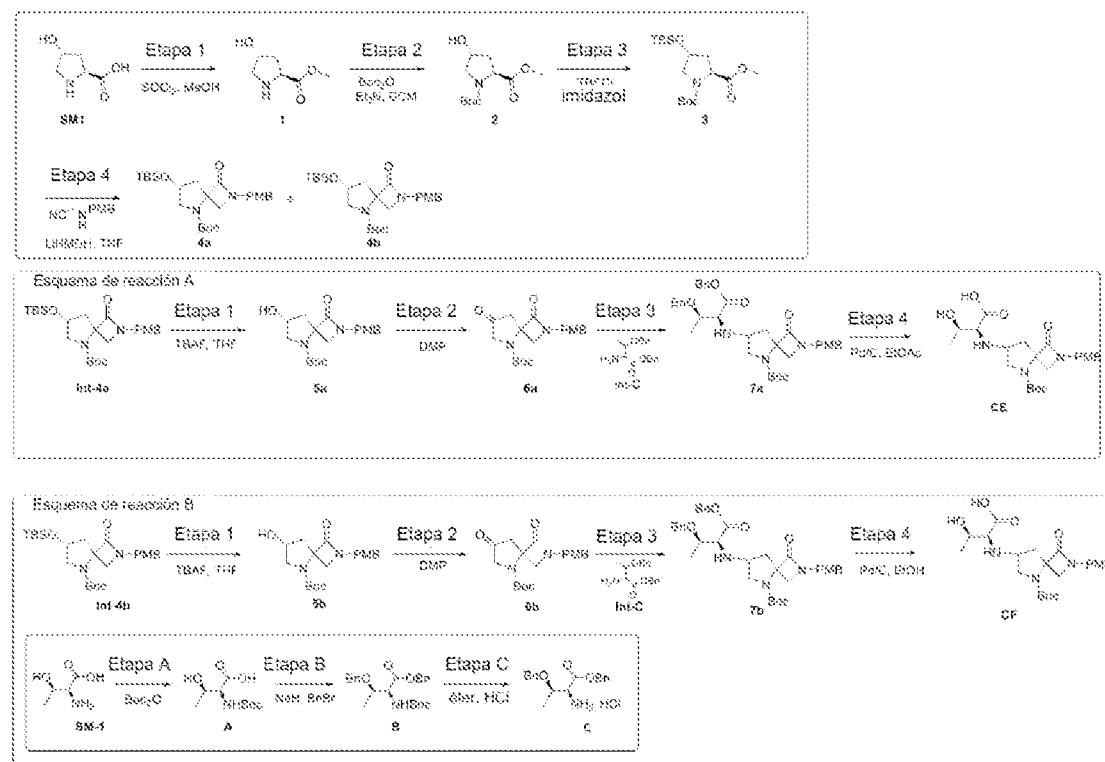
A una solución de **CB** (0,6 g, 1,29 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml), se añadió TFA (10 ml) 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se basificó con NaHCO₃ acuoso saturado y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener **CD** (0,25 g, 53 %) como un sólido pegajoso amarillo.

CD: **1H RMN** (400 MHz, δ 7,35 (s a, 1H), 7,19–7,11 (m, 2H), 7,05 (s, 1H), 6,92–6,90 (m, 2H), 4,58 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 4,30–4,17 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,59–3,57 (m, 1H), 3,11 (m, 3H), 3,05–2,91 (m, 3H), 2,71 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 2,64–2,62 (m, 1H), 2,14–2,04 (m, 1H), 1,77 (dd, *J* = 12,9, 6,7 Hz, 1H), 1,04 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). **LCMS (ESI)**: *m/z* 363 [M+1]⁺. **HPLC**: 96,5 %.

Síntesis de clorhidrato de O-bencil-L-treoninato de bencilo (Int-C):

El procedimiento experimental para la síntesis del **Int-C** se ha capturado bajo **BY** (como **Int-C**).

Síntesis de CE y CF:



Síntesis de (7R)-7-((tert-butildimethylsilyloxi)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (4a y 4b):

El procedimiento experimental para la síntesis de los compuestos **4a** y **4b** se ha capturado bajo la síntesis de **CB** y **CD** (como compuestos **4a** y **4b**).

Síntesis de 7-(((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (Int-7a y Int-7b):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-7a** y **Int-7b** se ha capturado bajo **CB** y **CD** (como **Int-7a** y **Int-7b**).

Esquema de reacción A:

Síntesis de (5-(*tert*-butoxicarbonil)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-7-il)-L-treonina (CE):

A una solución del compuesto **7a** (0,6 g, 0,93 mmol) en EtOAc (50 ml), se añadió Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 250 mg) a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 12 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **CE** (0,25 g, 58 %).

CE: **1H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,23-7,15 (m, 2H), 6,92-6,90 (m, 2H), 4,56 (d, *J* = 15,1 Hz, 1H), 4,20 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H), 3,95 (d, *J* = 15,1 Hz, 1H), 3,81 (s a, 1H), 3,62-3,42 (m, 5H), 3,38-3,11 (m, 3H), 3,05 (s, 1H), 2,24 (s, 1H), 2,04 (s, 1H), 1,34 (s, 9H), 1,26-1,15 (m, 3H). **LCMS (ESI):** *m/z* 464,10 [M+1]⁺. **HPLC:** 99,03 %.

Esquema de reacción B:

Síntesis de (5-(*tert*-butoxicarbonil)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-7-il)-L-treonina (CF):

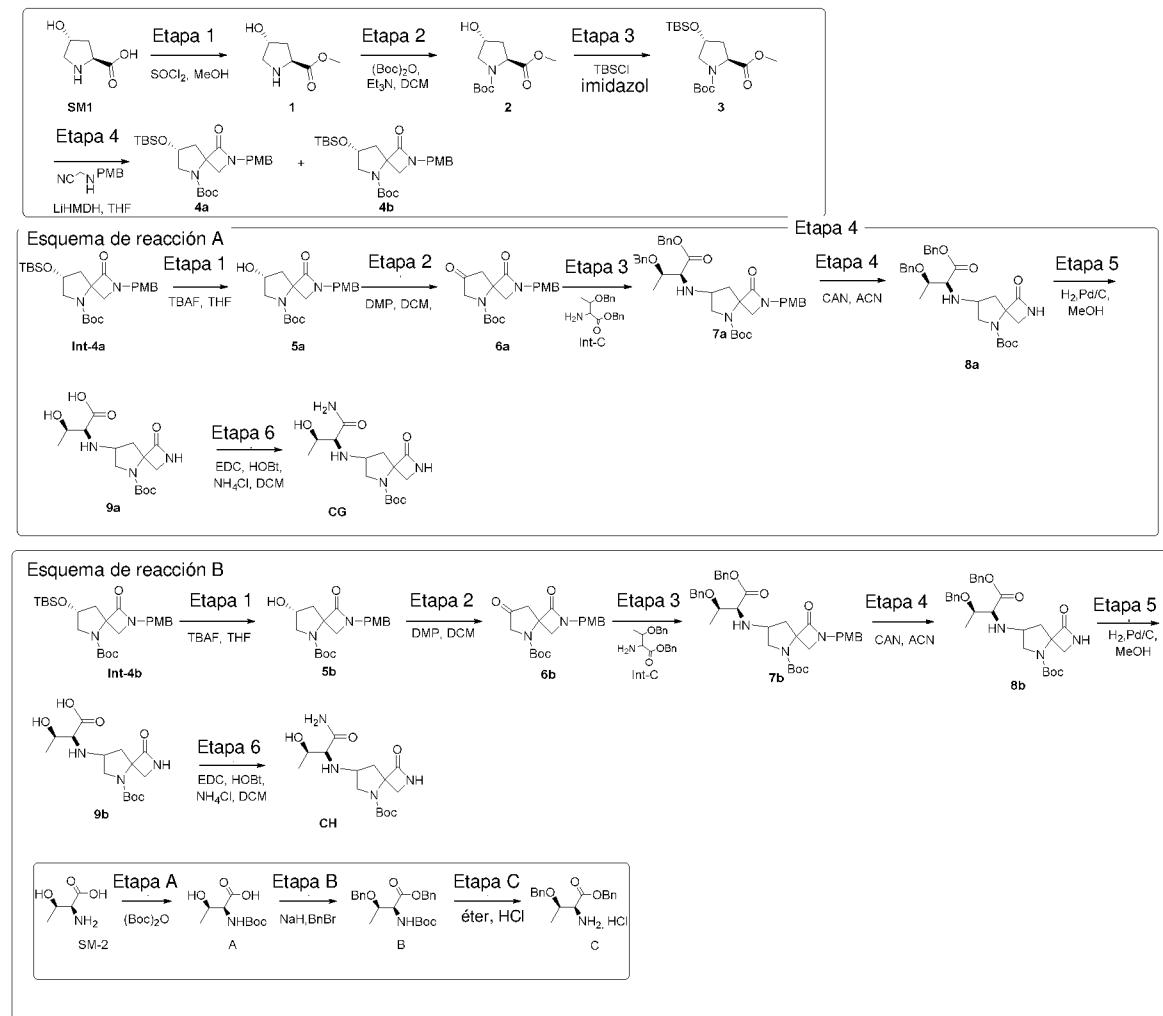
A una solución del compuesto **7b** (1,0 g, 1,55 mmol) en EtOH (60 ml), se añadió Pd/C al 10 % (500 mg) a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 12 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **CF** (0,4 g, 57 %).

CF: **1H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,15 (dd, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,92-6,88 (m, 2H), 4,56 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H), 4,35 (d, *J* = 15,3 Hz, 1H), 4,21 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H), 3,95 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,67 (s, 1H), 3,44-3,37 (m, 2H), 3,24 (s, 1H), 3,12-3-05 (m, 2H), 2,98 (s, 1H), 2,32-2,24 (m, 1H), 2,02 (s, 1H), 1,87 (s, 1H), 1,37 (d, 9H), 1,05 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H).

LCMS (ESI): *m/z* 464,20 [M+1]⁺. **HPLC:** 99,22 %.

Síntesis de clorhidrato de O-bencil-L-treoninato de bencilo (Int-C):

El procedimiento experimental para la síntesis de **Int-C** se ha capturado bajo **BY** (como **Int-C**).

Síntesis de CG y CH:**Síntesis de (7R)-7-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (4a y 4b):**

El procedimiento experimental para la síntesis de los compuestos **4a** y **4b** se ha capturado bajo la síntesis de **CB** y **CD** (como compuestos **4a** y **4b**).

Síntesis de 7-((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7a y 7b):

El procedimiento experimental para la síntesis de los compuestos **7a** y **7b** se ha capturado bajo la síntesis de **CB** y **CD** (como compuestos **7a** y **7b**).

10 Esquema de reacción A:**Síntesis de 7-((2S,3R)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (8a):**

A una solución agitada del compuesto **7a** (5,5 g, 8,54 mmol) en acetonitrilo (50 ml), se añadió nitrato de amonio cérico (9,36 g, 17,0 mmol) en H_2O (50 ml) gota a gota a -10 °C y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. La mezcla de reacción se agitó a RT durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla se inactivó con solución de NaHCO_3 saturada (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 75 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 20-40 %/Hexano para obtener el compuesto **8a** (1,5 g, 34 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): m/z 524,0 [$\text{M}^{+}+1$]

Síntesis de (5-(*tert*-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-7-il)-L-treonina (9a):

A una solución agitada del compuesto **8a** (3,0 g, 5,72 mmol) en MeOH (60 ml), se añadió Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 1,0 g) a RT y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 12 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **9a** (1,6 g, 81 %) como un sólido blanquecino.

Síntesis de 7-((2*S,3R*)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (CG):

A una solución agitada del compuesto **9a** (0,45 g, 1,31 mmol) en DCM (30 ml), se añadieron EDCI.HCl (0,37 g, 1,96 mmol), HOBT (0,30 g, 1,96 mmol), DIPEA (0,68 ml, 3,93 mmol), y NH₄Cl (0,20 g, 3,93 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (30 ml) y se extrajo con DCM (3 x 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa para obtener **CG** (0,13 g, 29 %) como un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,89 – 7,85 (s a, 1H), 7,51 – 7,50 (s a, 1H), 7,03 (s, 1H), 4,59 – 4,58 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,67 – 3,64 (m, 1H), 3,46 – 3,40 (m, 2H), 3,18 – 3,17, (s a, 1H), 3,12 – 3,03 (m, 2H), 2,77 – 2,74 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 2,50 – 2,26 (m, 2H), 2,0 – 1,93 (m, 1H), 1,39 – 1,36 (d, *J* = 6,4 Hz, 9H), 1,06 – 1,05 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). ELSD (ESI): *m/z* 343,0 [M⁺+1]. HPLC: 98,33 %.

Esquema de reacción B:

Síntesis de 7-((2*S,3R*)-1,3-bis(benciloxi)-1-oxobutan-2-il)amino)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (8b):

A una solución agitada del compuesto **7b** (4,2 g, 6,52 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se añadió nitrato de amonio cérico (7,15 g, 13,0 mmol) en H₂O (50 ml) gota a gota a -10 °C, la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h y después a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NaHCO₃ saturada (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 75 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 20-50 %/Hexano para obtener el compuesto **8b** (1,5 g, 45 %) como un sólido blanco.

Síntesis de (5-(*tert*-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-7-il)-L-treonina (9b):

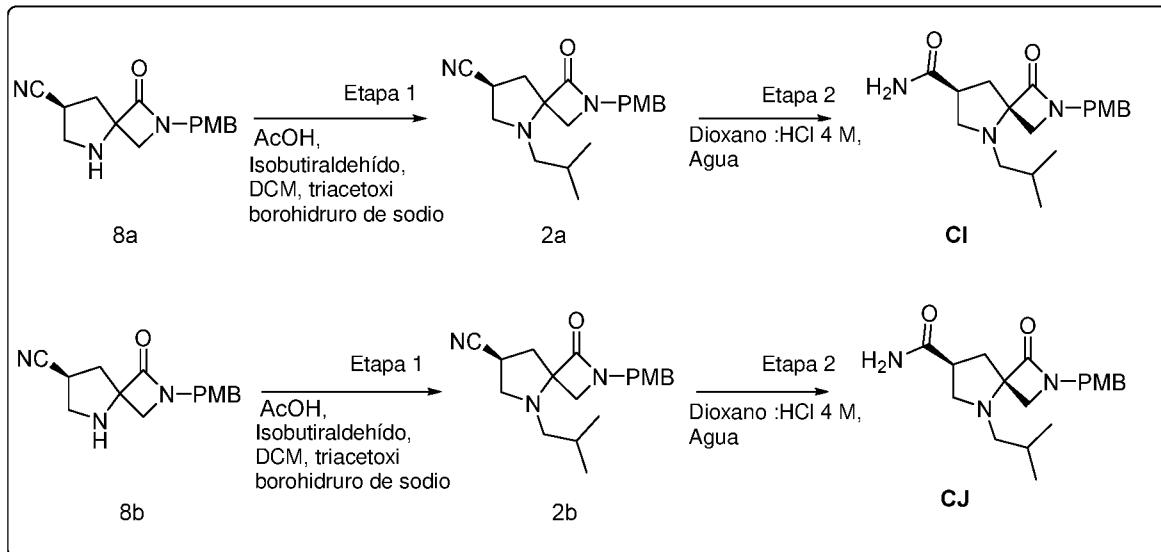
A una solución agitada del compuesto **8b** (2,3 g, 2,86 mmol) en MeOH (50 ml), se añadió Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 1,0 g) a RT y se agitó en atmósfera de H₂ (globo) durante 12 h. Después del consumo de material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **9b** (1,2 g, 80 %) como un sólido blanquecino. ELSD (ESI): *m/z* 344,0 [M⁺+1].

Síntesis de 7-((2*S,3R*)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de *tert*-butilo (CH):

A una solución agitada del compuesto **9b** (0,6 g, 1,74 mmol) en DCM (30 ml), se añadieron EDCI.HCl (0,5 g, 2,62 mmol), HOBT (0,4 g, 2,62 mmol), DIPEA (0,6 ml, 3,48 mmol), NH₄Cl (0,18 g, 3,48 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (30 ml) y se extrajo con DCM (3 x 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa para obtener **CH** (0,13 g, 22 %) como un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,89 – 7,84 (s a, 1H), 7,38 (s a, 1H), 7,06 (s a, 1H), 4,59 – 4,55 (s, 1H), 3,61 (m, 1H), 3,53 – 3,48 (m, 1H), 3,41 – 3,39 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,17 (m, 1H), 3,12 – 3,10 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,08 – 3,06 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,0 – 2,96 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 2,75 – 2,73 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,26 – 2,23 (m, 1H), 1,99-1,93 (m, 1H), 1,39 – 1,36 (d, *J* = 6,4 Hz, 9H), 1,05 – 1,03 (d, *J* = 6 Hz, 3H). ELSD (ESI): *m/z* 343,0 [M⁺+1]. HPLC: 98,46 %.

Síntesis de clorhidrato de O-bencil-L-treoninato de bencilo (Int-C):

El procedimiento experimental para la síntesis **Int-C** se ha capturado bajo **BY** (como **Int-C**).

Síntesis de Cl y CJ:**Síntesis de (7S)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carbonitrilo (8a):**

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **8a** se ha capturado bajo la síntesis de **AT** (como compuesto **8a**).

5 Síntesis de (7S)-5-isobutil-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carbonitrilo (2a):

A una solución agitada de (7S)-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carbonitrilo (compuesto **8a**) (2,2 g, 9,40mmol) en DCM (25 ml), se añadieron AcOH (2,5 ml), isobutiraldehído (0,6 ml, 9,0 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (3,89 g, 18,4 mmol) a 0 °C en porciones durante un periodo de 10 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (100 ml) y se extrajo con DCM (3 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener el compuesto **2a** (2,1 g, 69 %) como un semisólido incoloro. **Datos analíticos para 2a:** LCMS: 328(M⁺+1).

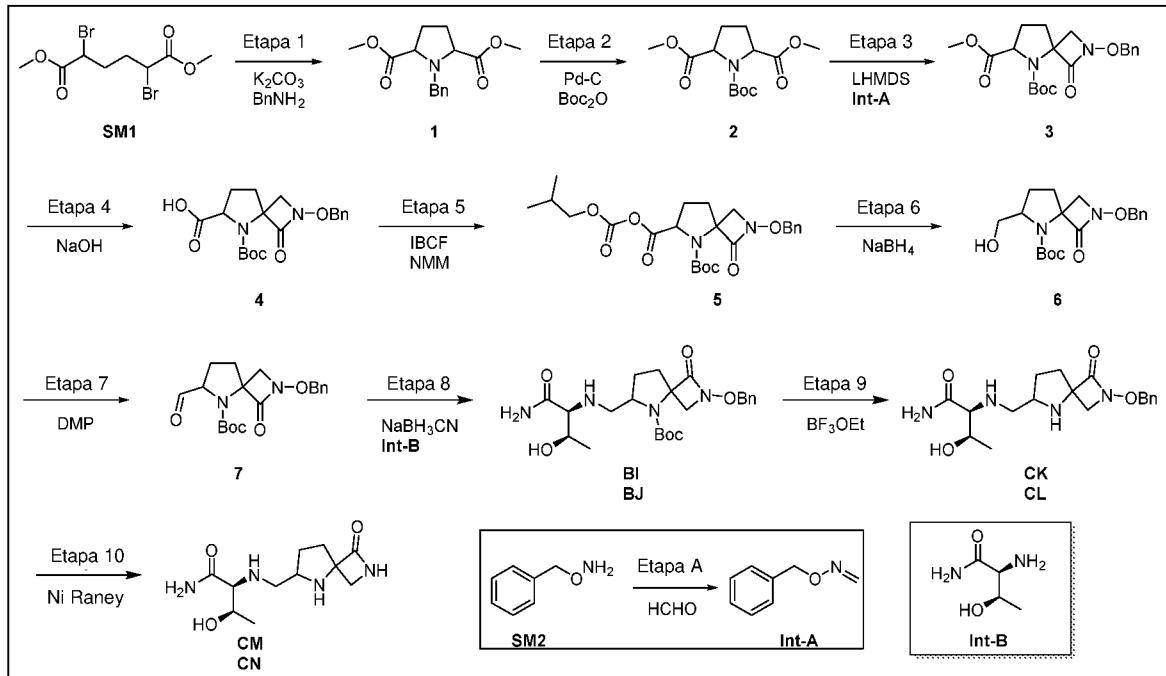
El compuesto **2b** se preparó usando el compuesto **8b** siguiendo un procedimiento similar al indicado para la síntesis del compuesto **2a** con un 63 % de rendimiento como un sólido blanco. **Datos analíticos para 2b:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,26-7,19 (m, 2H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,56 (d, J = 15 Hz, 1H), 4,39-4,23 (m, 1H), 4,01 (d, J = 15 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,58-3,56 (m, 2H), 3,54-3,52 (m, 1H), 3,48-3,46 (m, 1H), 3,27-3,24 (m, 4H), 1,36 (s, 6H).

Síntesis de (4S,7S)-5-isobutil-2-(4-metoxibencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-7-carboxamida (Cl):

A una solución agitada del compuesto **2a** (1,6 g, 4,60 mmol) en dioxano (15 ml), se añadió HCl 4 M en dioxano (10 ml) seguido de la adición de agua (0,5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener **Cl** (0,25g, 15,6 %) como un sólido blanco.

Cl: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,22 (s a, 1H), 7,20 – 7,12 (m, 2H), 6,96 – 6,84 (m, 2H), 6,83(s a, 1H), 4,31 (d, J = 14,9 Hz, 1H), 4,18 (d, J = 14,9 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,05 (c, J = 5,7 Hz, 2H), 3,00-2,85 (m, 2H), 2,6 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 2,35 – 2,21 (m, 2H), 2,12 – 2,06 (m, 2H), 1,58 – 1,50 (m, 1H), 0,78 (dd, J = 13,6, 6,5 Hz, 6H). LCMS (ESI): m/z 346 [M⁺+1]. HPLC: 99,14 %.

CJ: Este se preparó usando **2b** (1,2 g, 2,9 mmol) y siguiendo un procedimiento similar al indicado para la síntesis de **Cl** con un 31 % de rendimiento como sólido blanco. **Datos analíticos para CJ:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,32 (s, 1H), 7,20 – 7,11 (m, 2H), 6,96 – 6,88 (m, 2H), 6,81 (s a, 1H), 4,32 – 4,15 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,13-3,04 (m, 2H), 3,04 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 2,81 – 2,77 (m, 1H), 2,40 – 2,05 (m, 4H), 1,61 – 1,58(m, 1H), 0,79 (dd, J = 8,7, 6,5 Hz, 6H). LCMS (ESI): m/z 346 [M⁺+1]. HPLC: 95,72 %.

Síntesis de CK, CL, CM y CN:**Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1) :**

A una solución de 2,5-dibromohexanodioato de dimetilo (**SM**) (100 g, 0,301 mol) en tolueno y agua (400 ml, 3:1) se añadieron K_2CO_3 (49,88 g, 0,361 mol) y bencilamina (32,23 g, 0,301 mol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 16 h. Después de que finalizara la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió EtOAc (200 ml). Después de agitar durante 10 minutos, la capa orgánica se separó y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 anhídrido y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/n-hexano para obtener el compuesto **1** meso (48 g, 57 %) como un jarabe marrón junto con 13 g del compuesto racémico. 1H RMN (400MHz, DMSO- d_6) δ 7,28-7,19 (m, 5H), 3,83 (s, 2H), 3,48 (s, 6H), 3,42-3,36 (m, 2H), 2,09-1,98 (m, 2H), 1,94-1,83 (m, 2H). LCMS (ESI): m/z 277,9 [M $^{+}$ +1].

Síntesis de pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,5-dimetilo (2):

A una solución del compuesto **1** meso (48 g, 0,173 mol) en MeOH (480 ml) se añadieron Boc_2O (79,5 ml, 0,346 mol) y Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 19,2 g) y se agitó en atmósfera H_2 (globo) durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/n-hexano para obtener el compuesto **2** meso (40,5 g, 81 %) como un sólido blanco. 1H RMN (500MHz, DMSO- d_6) δ 4,27-4,18 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 2,25-2,16 (m, 2H), 1,96-1,85 (m, 2H), 1,36 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 288,2 [M $^{+}$ +1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5,6-dicarboxilato de 5-(tert-butilo) y 6-metilo (3):

A una solución del compuesto **2** meso (35,5 g, 0,123 mol) en THF (300 ml) se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF, 185,5 ml, 0,185 mol) gota a gota a -78 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 1 h. Se añadió una solución de Int-A (20 g, 0,148 mol) en THF (55 ml) a la mezcla de reacción a -78 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). La capa orgánica separada se secó con Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/n-Hexano para obtener el compuesto **3** (38 g, 78 %) como un jarabe espeso incoloro. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,48-7,36 (m, 5H), 4,95-4,85 (m, 2H), 4,29 (d a, J = 6,4 Hz, 1H), 4,07-3,99 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,55 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 2,36-2,16 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 1H), 1,98-1,91 (m, 1H), 1,35 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 391,3 [M $^{+}$ +1]

Síntesis de ácido 2-(benciloxi)-5-(tert-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (4):

A una solución del compuesto **3** (32 g, 0,082 mol) en MeOH, THF y agua (480 ml, 1:1:1) se añadió NaOH (9,84 g, 0,246 mol) a 0 °C y después se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (100 ml) y se lavó con EtOAc. La capa acuosa se acidificó con HCl 2 N acuoso (pH ~ 2,0) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto

4 (32 g, crudo) como un semisólido amarillo pálido. El crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,89 (s a, 1H), 7,46-7,28 (m, 5H), 4,92-4,84 (m, 2H), 4,26 (d a, J = 7,0 Hz, 1H), 4,05-3,96 (m, 1H), 3,45 (d a, J = 11,0 Hz, 1H), 2,31-2,15 (m, 2H), 2,06-1,88 (m, 2H), 1,35 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 375,1 [M^+ +1].

5 **Síntesis de anhídrido 2-(benciloxi)-5-(tert-butoxicarbonil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxílico (isobutil carbónico) (5):**

A una solución del compuesto 4 (46 g, 0,122 mol) en THF (460 ml) se añadieron N-metilmorfolina (40,3 ml, 0,367 mol) y cloroformiato de isobutilo (20,5 ml, 0,159 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (230 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto 5 (35 g, crudo) como un jarabe espeso incoloro. El crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,47-7,33 (m, 5H), 4,94-4,84 (m, 2H), 4,27 (d a, J = 6,7 Hz, 1H), 4,12-3,96 (m, 1H), 3,86 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 3,63 – 3,51 (m, 1H), 3,46 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 2,39-2,36 (m, 1H), 2,28-2,16 (m, 2H), 2,07-1,82 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 0,88 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,82 (d, J = 6,7 Hz, 3H).

10 15 **Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(hydroximetil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (6):**

A una solución del compuesto 5 (35 g, 0,073 mol) en MeOH (350 ml) se añadió borohidrato de sodio (2,79 g, 0,073 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con hielo y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El crudo se diluyó con EtOAc (200 ml) y se lavó con agua seguido de salmuera. La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 anhídrico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/n-Hexano para obtener el compuesto 6 (6,7 g, 25 %) como un jarabe espeso incoloro. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,47-7,35 (m, 5H), 4,96-4,82 (m, 3H), 4,25 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 3,90 (dd, J = 5,6, 11,2 Hz, 1H), 3,77-3,66 (m, 2H), 3,34 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,17-2,07 (m, 1H), 2,02-1,91 (m, 1H), 1,83-1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H). LCMS (ESI): m/z 363,1 [M^+ +1].

20 25 **Síntesis de 2-(benciloxi)-6-formil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (7):**

A una solución de compuesto crudo 6 (6,7 g, 0,018 mol) en CH_2Cl_2 (67 ml) se añadió peryodinano de Dess-Martin (9,42 g, 0,022 mol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO_3 acuoso saturado. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc %/n-Hexano para obtener el compuesto 7 (5,8 g, 87 %) como un jarabe espeso incoloro. ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,50 (s, 1H), 7,48-7,35 (m, 5H), 4,96 – 4,84 (m, 2H), 4,30 (s a, 1H), 3,85 (d a, J = 10,4 Hz, 1H), 3,59-3,47 (m, 1H), 2,26 (s a, 2H), 2,05-1,98 (m, 1H), 1,82 (s a, 1H), 1,36 (s, 9H).

30 35 **Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BI y BJ):**

40 45 A una solución de compuesto crudo 7 (5,8 g, 0,016 mol) en MeOH (87 ml) se añadió **Int-B** (2,28 g, 0,019 mol) en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaBH_3CN (2,02 g, 0,032 mol) a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (2x100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/DCM para obtener la mezcla diastereomérica (3,4 g, 46 %) como un sólido blanco.

50 55 **BI:** ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 7,23 (s, 1H), 7,06 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 4,91 – 4,83 (m, 2H), 4,54 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 4,24 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 3,74 – 3,64 (m, 2H), 3,41 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 3,11 (dd a, J = 4,5, 11,9 Hz, 1H), 2,85 (t a, J = 10,5 Hz, 1H), 2,79 – 2,73 (m, 1H), 2,30 – 2,20 (m, 1H), 2,10 (d a, J = 6,1 Hz, 1H), 2,01 – 1,91 (m, 1H), 1,85 – 1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,06 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 463,2 [M^+ +1]. HPLC: 99,71 %. HPLC quiral: 100,00 %.

BJ: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,45 – 7,34 (m, 5H), 7,18 (d a, J = 2,4 Hz, 1H), 7,05 (d a, J = 1,9 Hz, 1H), 4,91 – 4,81 (m, 3H), 4,23 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 3,68 – 3,58 (m, 2H), 3,40 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,00 (d a, J = 9,8 Hz, 1H), 2,76 – 2,64 (m, 2H), 2,44 – 2,25 (m, 2H), 2,02 – 1,87 (m, 1H), 1,83 – 1,70 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,06 (d, J = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 463,2 [M^+ +1]. HPLC: 99,89 %. HPLC quiral: 100,00 %.

55 **Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)-3-hidroxibutanamida (CK):**

A una solución agitada de **BI** (1 g, 2,16 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) se añadieron tamices moleculares (1 g) y BF_3OEt_2 (49 %) (614 mg, 4,32 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para eliminar las sales de eterato dietílico de trifluoruro de boro y obtener **CK** (270 mg, 34 %) como un sólido pegajoso blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ

7,54-7,36 (m, 5H), 7,28 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,04 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 4,93-4,76 (m, 2H), 4,58 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 3,71-3,61 (m, 1H), 3,55-3,44 (m, 2H), 3,18 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 3,07 (s a, 1H), 2,72 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 2,68-2,60 (m, 1H), 2,55-2,50 (m, 1H), 2,09 (s, 1H), 1,92-1,75 (m, 2H), 1,70-1,48 (m, 2H), 1,06 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 363,1 [M^+ +1]. HPLC: 99,41 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 70:30; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 13,769.

Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil) amino)-3-hidroxibutanamida (CL):

A una solución agitada de **BJ** (1 g, 2,16 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) se añadieron tamices moleculares (1 g) y $\text{BF}_3\text{.OEt}_2$ (49 %) (614 mg, 4,32 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para eliminar las sales de eterato dietilico de trifluoruro de boro y obtener **CL** (300 mg, 38 %) como sólido pegajoso blanco.

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,46-7,31 (m, 5H), 7,23 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 4,96-4,83 (m, 2H), 4,62 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 3,70-3,59 (m, 1H), 3,53-3,40 (m, 2H), 3,19 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,08 (s a, 1H), 2,71-2,58 (m, 3H), 2,14 (s a, 1H), 1,92-1,73 (m, 2H), 1,71-1,64 (m, 1H), 1,55-1,45 (m, 1H), 1,05 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 363,1 [M^+ +1]. HPLC: 99,89 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 70:30; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 9,497.

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(((1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)butanamida (CM y CN):

A una mezcla agitada de **CK** y **CL** (900 mg, 2,40 mmol) en MeOH (100 ml) se añadió Ni Raney (1 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H_2 . Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener la mezcla de **CM** y **CN** (390 mg) como un sólido pegajoso, que se purificó mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **CM** (90 mg) como un sólido blanco higroscópico y **CN** (85 mg) como un sólido blanco higroscópico.

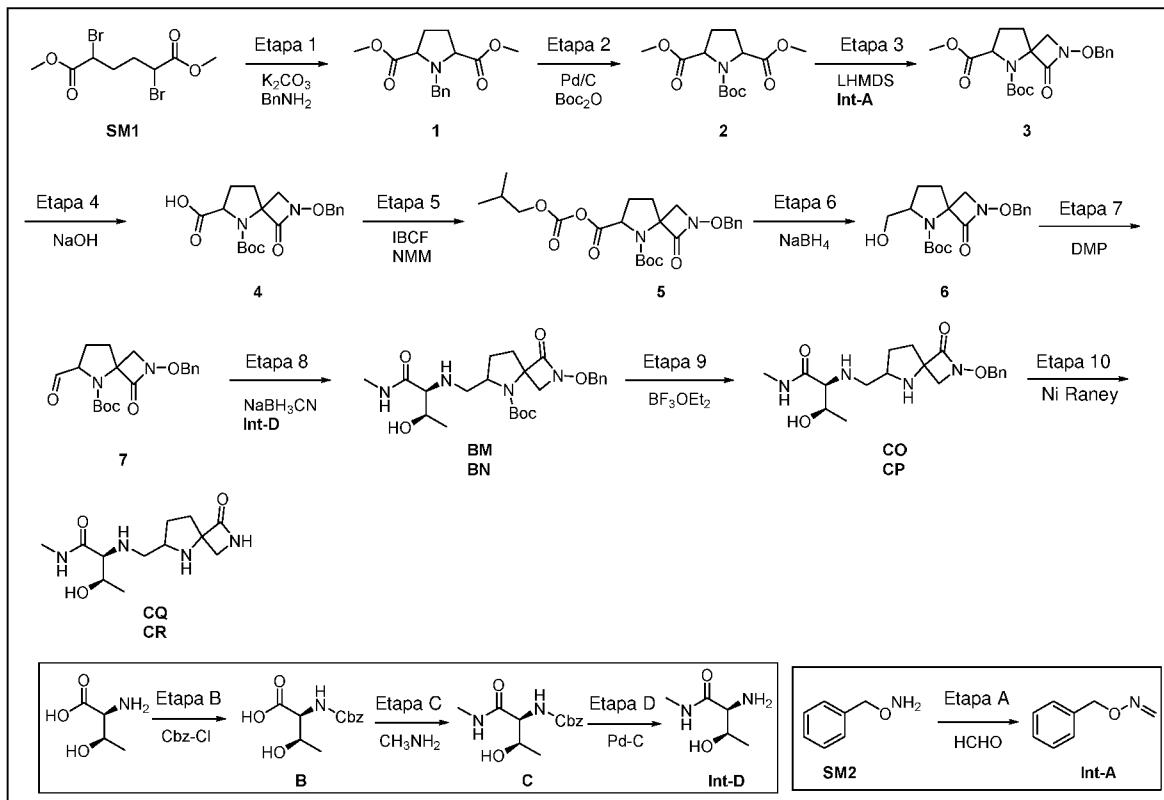
CM: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,24 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 4,65 (d, J = 3,76 Hz, 1H), 3,69-3,57 (m, 1H), 3,33-3,31 (m, 1H), 3,15 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 2,90 (dd, J = 10,9, 2,6 Hz, 1H), 2,80 (s, 1H), 2,65-2,59 (m, 2H), 2,53-2,46 (m, 1H), 2,19-2,17 (m, 1H), 1,92-1,68 (m, 3H), 1,66-1,57 (m, 1H), 1,06 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 257,1 [M^+ +1]. HPLC: 99,78 %. HPLC quiral: 99,96 %. Columna: CHIRALCEL OX-H (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil: Hexanos/ EtOH/MeOH/DEA (50/20/30/0,1); Diluyente: Fase móvil; Tasa de flujo: 0,7 ml/min. Tiempo de retención: 10,25.

CN: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,27 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 4,60 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 3,71-3,61 (m, 1H), 3,33-3,31 (m, 1H), 3,17 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 2,89 (dd, J = 10,9, 2,6 Hz, 1H), 2,76 (s, 1H), 2,72 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 2,65-2,59 (m, 1H), 2,53 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 2,34-2,32 (m, 1H), 1,91-1,76 (m, 2H), 1,73-1,58 (m, 2H), 1,06 (d, J = 6,3 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 257,0 [M^+ +1]. HPLC: 97,24 %. HPLC quiral: 98,13 %. Columna: CHIRALCEL OX-H (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil: Hexanos/EtOH/MeOH/ DEA (50/ 20/ 30/ 0,1); Diluyente: Fase móvil; Tasa de flujo: 0,7 ml/min. Tiempo de retención: 10,18.

Preparación de Int-A:

Síntesis de O-benciloxima de formaldehido (Int-A):

A una solución agitada de O-bencilhidroxilamina (**SM1**) (200 g, 1,62 mol) y NaOH (13 g en 50 ml H_2O , 0,325 mol) en tolueno (1 L) se añadió una solución al 37 % de formaldehido (158 ml, 1,951 mol) a RT y después se agitó durante 2 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 500 ml). La capa orgánica separada se lavó con solución de salmuera, se secó con Na_2SO_4 y se concentró a presión reducida para obtener **Int-A** (180 g, 82 %) un líquido incoloro. ^1H RMN (400MHz, CDCl_3): δ 7,38-7,28 (m, 5H), 7,08 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,12 (s, 2H).

Síntesis de CO y CP, CO y CR:

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto **1** en el compuesto **7** e **Int-A** se capturan bajo la síntesis de **CK** y **CL**.

5 **Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-(metilamino)-1-oxobutan-2-il)amino)metil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BM y BN):**

10 A una solución de compuesto crudo **7** (6 g, 16,6 mmol) en MeOH (70 ml) se añadieron **Int-D** (2,6 g, 19,9 mmol) y AcOH (0,47 ml) a RT en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió NaBH₃CN (3,1 g, 49,9 mmol) en porciones y se dejó agitar a RT durante 16h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NaHCO₃ acuosa y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se diluyó con solución de NaHCO₃ (500 ml). La mezcla de reacción se diluyó con agua (500 ml) y se extrajo con EtOAc (3x500 ml). La capa orgánica se lavó con solución de salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 3 %/CH₂Cl₂ para obtener la mezcla diastereomérica (5 g, 63 %) como sólido blanco. Se separaron 2 g de la mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa de fase normal para obtener **BM** (750 mg) y **BN** (740 mg) como sólido blancos.

15 **BM:** ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,76 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 7,45 – 7,33 (m, 5H), 4,91 – 4,82 (m, 2H), 4,55 (s, 1H), 4,23 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 3,68 (d, *J* = 9,9 Hz, 2H), 3,40 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,05 (dd, *J* = 6,4, 12,2 Hz, 1H), 2,85 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 2,75 (dd, *J* = 5,5, 8,4 Hz, 1H), 2,61 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H), 2,29 – 2,18 (m, 1H), 2,15 – 2,07 (m, 1H), 2,02 – 1,91 (m, 1H), 1,85 – 1,73 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,03 (d, *J* = 5,8 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,5 [M⁺1]. HPLC: 94,17 %. HPLC quiral: 93,40 %.

20 **BN:** ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,71 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 7,46 – 7,34 (m, 5H), 4,91 – 4,81 (m, 2H), 4,23 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,67 – 3,56 (m, 2H), 3,43 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,00 (dd, *J* = 3,8, 11,3 Hz, 1H), 2,72 (dd, *J* = 2,9, 7,0 Hz, 1H), 2,66 – 2,56 (m, 4H), 2,45 – 2,35 (m, 2H), 2,31 – 2,22 (m, 1H), 2,04 – 1,90 (m, 1H), 1,83 – 1,72 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,03 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,5 [M⁺1]. HPLC: 96,40 %. HPLC quiral: 98,00 %.

25 **Síntesis de (2S,3R)-2-((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)-3-hidroxi-N-metilbutanamida (CO):**

30 A una solución agitada de **BN** (740 mg, 1,55 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadieron tamices moleculares (740 mg) y BF₃·OEt₂ (49 %) (441 mg, 3,11 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se lavó con Et₂O y *n*-pentano y se purificó por HPLC de fase inversa para obtener

CO (266 mg) como sólido blanco higroscópico.

CO: ^1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,76 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 7,41-7,32 (m, 5H), 4,92-4,81 (m, 2H), 4,59 (s, 1H), 3,66-6,63 (m, 1H), 3,52-3,44 (m, 2H), 3,19 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,13 (s, 1H), 2,71 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 2,63-2,41 (m, 6H), 1,93-1,79 (m, 2H), 1,62-1,44 (m, 2H), 1,01 (d, J = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 377,3 [M⁺+1]. HPLC: 98,83 %. HPLC quiral:

5 100,00 %; Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA in n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 60:40; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 11,245.

Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)-3-hidroxi-N-metilbutanamida (CP):

A una solución agitada de **BM** (720 mg, 1,55 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadieron tamices moleculares (740 mg) y BF₃.OEt₂ (49 %) (429 mg, 3,01 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se lavó con Et₂O y n-pentano y se secó a vacío para obtener **CP** (236 mg) como sólido blanco higroscópico. ^1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆): δ 7,73 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 7,45-7,32 (m, 5H), 4,98-4,76 (m, 2H), 4,63 (s, 1H), 3,65 (s, 1H), 3,48 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 3,19 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,10 (s, 1H), 2,71 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 2,60 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 2,58-2,51 (m, 3H), 1,92-1,77 (m, 2H), 1,73-1,62 (m, 1H), 1,53-1,46 (m, 1H), 1,03 (d, J = 6,2 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 377,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,84 %. HPLC quiral: 98,26 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 60:40; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 8,090.

Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-N-metil-2-(((1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)butanamida (CQ y CR):

20 A una mezcla agitada de **CO** y **CP** (2,8 g, 7,44 mmol) en MeOH (30 ml) se añadió Ni Raney (9 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener mezcla de **CQ** y **CR** (2 g) como un semisólido. La mezcla de **CQ** y **CR** (1 g) se purificó por purificación quiral HPLC de fase normal para obtener **CQ** (264 mg) como un sólido blanco higroscópico and **CR** (265 mg) como un sólido blanco higroscópico.

CQ: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,76-7,72 (m, 1H), 7,13 (s, 1H), 4,66 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 3,71-3,63 (m, 1H), 3,33-3,31 (m, 1H), 3,13 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 2,89 (dd, J = 10,9, 2,6 Hz, 1H), 2,80 (s, 1H), 2,72 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 2,60 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,57-2,55 (m, 2H), 2,15 (s, 1H), 1,92-1,70 (m, 3H), 1,65-1,55 (m, 1H), 1,04 (d, J = 6,3 Hz, 3H); LCMS (ESI): m/z 271,1 [M⁺+1]. HPLC: 99,69 %. HPLC quiral: 99,92 %. Columna: CHIRALPAK IG (250*4,6 mm, 5 μ m). Fase móvil: 25 Hexanos/EtOH/MeOH (50/20/30); Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 0,7 ml/min; Tiempo de retención: 8,94.

CR: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,79-7,76 (m, 1H), 7,13 (s, 1H), 4,61 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 3,75-3,56 (m, 1H), 3,33-3,31 (m, 1H), 3,18 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 2,88 (dd, J = 10,9, 2,6 Hz, 1H), 2,75 (d, J = 10,2 Hz, 2H), 2,60 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,56 (s, 2H), 2,08 (s, 1H), 1,90-1,76 (m, 2H), 1,70-1,59 (m, 2H), 1,04 (d, J = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 271,1 [M⁺+1]. HPLC: 98,63 %. HPLC quiral: 99,66 %. Columna: CHIRALPAK IG (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil: 30 Hexanos/EtOH/MeOH (50/20/30); Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 0,7 ml/min; Tiempo de retención: 9,03.

Preparación de Int-D:

Síntesis de ((benciloxi)carbonil)-L-treonina (B) :

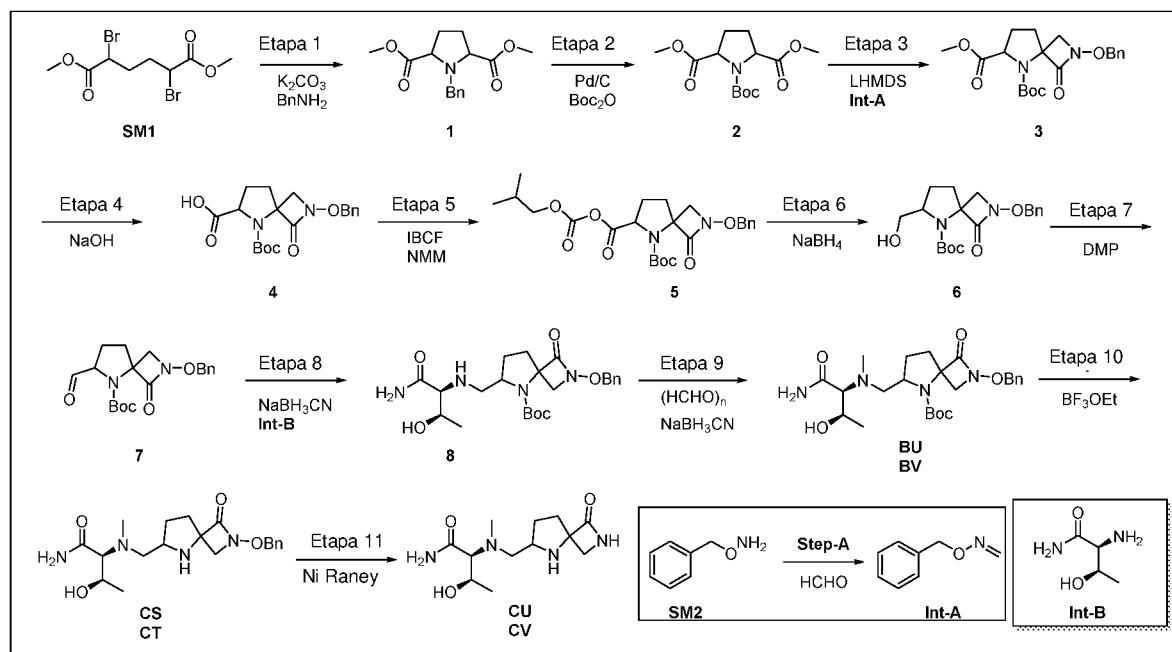
A una solución agitada de L-treonina (20 g, 0,17 mol) en 1,4-dioxano:agua (1:1, 200 ml) se añadió NaOH (27,35 g, 0,683 mol) seguido de la adición gota a gota de Cbz-Cl (solución al 50 % en tolueno, 87 ml, 0,256 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. La reacción se diluyó con agua fría (100 ml) y se lavó con EtOAc (100 ml). La capa acuosa se acidificó con solución de HCl 1 N y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con solución de salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **B** (32 g, 75 %) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,64 (s a, 1H), 7,40 – 7,28 (m, 5H), 6,95 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,62 – 4,53 (m, 1H), 4,12 – 4,00 (m, 1H), 3,98 – 3,93 (m, 1H), 1,09 (d, J = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 254,1 [M⁺+1].

Síntesis de ((2S,3R)-3-hidroxi-1-(metilamino)-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo (C):

A una solución agitada del compuesto **B** (6 g, 23,71 mmol) en DCM (100 ml), se añadieron HOEt (4,8 g, 35,57 mmol), EDC.HCl (6,83 g, 35,57 mmol), metilamina (2 M en THF) (23,7 ml, 47,43 mmol) y DIPEA (13 ml, 71,14 mmol) a 0 °C en atmósfera de nitrógeno y se agitaron a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (200 ml) y se extrajo con DCM (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución al 10 % de ácido cítrico (100 ml), solución de NaHCO₃ saturada (100 ml), salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía Combi-Flash eluyendo con EtOAc al 80 %/Hexano para obtener el compuesto **C** (2,5 g, 39 %) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,77 (d a, J = 4,4 Hz, 1H), 7,40 – 7,27 (m, 5H), 6,84 (d a, J = 8,8 Hz, 1H), 5,10 – 4,98 (m, 2H), 4,74 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,99 – 3,88 (m, 1H), 3,85 (dd, J = 4,2, 8,7 Hz, 1H), 2,59 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 1,03 (d, J = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 267,1 [M⁺+1].

Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-N-metilbutanamida (Int-D):

A una solución agitada de **C** (2,5 g, 9,39 mmol) en MeOH (30 ml), se añadió Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 1 g) a RT y se agitó en atmósfera H₂ (globo) durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con MeOH:H₂O (250 ml, 1:1). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener **Int-D** (1,1 g, 88 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,82 (d a, J = 2,5 Hz, 1H), 4,56 (s a, 1H), 3,83 – 3,75 (m, 1H), 2,88 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 2,59 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,34-1,83 (m, 2H), 1,03 (d, J = 6,4 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 133,2 [M⁺+1].

Síntesis de CS, CT, CD y CV:

10 El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 1 al compuesto 7 se captura bajo la síntesis de **CK** y **CL**.

Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)amino)metil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (8):

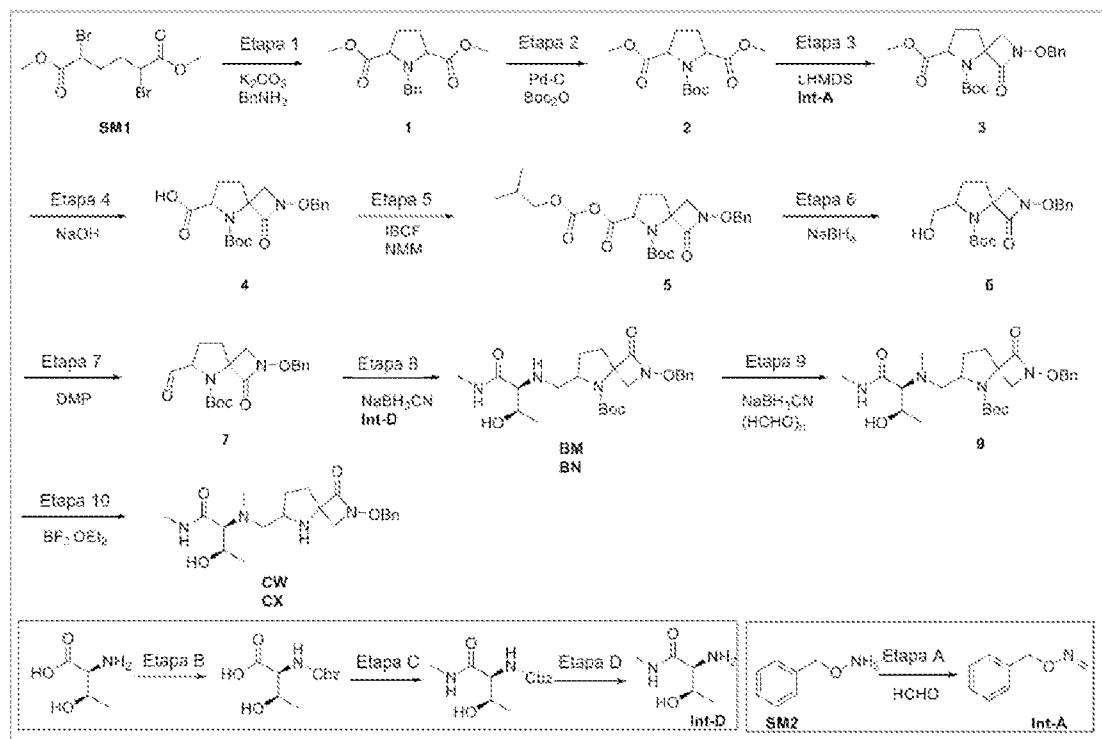
A una solución del compuesto 7 (5,8 g, 0,016 mol) en MeOH (87 ml) se añadió Int-B (2,28 g, 0,019 mol) en atmósfera de nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaBH₃CN (2,02 g, 0,032 mol) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 2 %/CH₂Cl₂ para obtener la mezcla diastereomérica 8 (3,4 g, 46 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 7,26 – 7,19 (m, 1H), 7,07 – 7,03 (m, 1H), 4,93 – 4,78 (m, 3H), 4,23 – 4,17 (m, 1H), 3,71 – 3,62 (m, 2H), 3,43 – 3,37 (m, 1H), 3,12 – 2,94 (m, 1H), 2,86 – 2,84 (m, 1H), 2,73 – 2,67 (m, 2H), 2,38 – 2,24 (m, 1H), 1,96 – 1,91 (m, 1H), 1,81 – 1,76 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,07 – 1,04 (m, 3H). LCMS (ESI): m/z 463,2 [M⁺+1].

Síntesis de 6-(((2S,3R)-1-amino-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)(metil)amino)metil-2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (BU y BV):

25 A una solución del compuesto 8 (1,8 g, 3,89 mmol) en MeOH (36 ml) se añadieron paraformaldehído (701 mg, 23,3 mmol) y AcOH (0,11 ml, 1,94 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió NaCNBH₃ (734 mg, 11,6 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó a 60 °C durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), se enfrió a temperatura ambiente y los componentes volátiles se evaporaron. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 4 %/EtOAc para obtener mezcla diastereomérica **BU** y **BV** (1,3 g, 70 %) como un sólido blanco.

Se purificaron 1,05 g de la mezcla diastereomérica mediante purificación por HPLC preparativa quirial para obtener **BU** (300 mg) y **BV** (235 mg) como un sólido blanco.

- BU:** ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,48 – 7,36 (m, 5H), 7,32 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 4,92 – 4,80 (m, 2H), 4,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,79 (d, *J* = 10,2 Hz, 2H), 3,48 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,30 – 3,13 (m, 2H), 2,79 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 2,41 (s a, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,04 – 1,72 (m, 3H), 1,38 (s, 9H), 1,00 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,52 %. HPLC quiral: 100,00 %.
- 5 **BV:** ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,45 – 7,36 (m, 5H), 7,29 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 4,88-4,82 (m, 2H), 4,23 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,84 (dd, *J* = 6,6, 8,3 Hz, 1H), 3,78 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,34-3,27 (m, 2H), 3,13 (d, *J* = 14,4 Hz, 1H), 2,74 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 2,46-2,42 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,02 – 1,91 (m, 1H), 1,82 – 1,72 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,02 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 477,2 [M⁺+1]. HPLC: 99,39 %. HPLC quiral: 100,00 %.
- 10 **Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)(metil)amino)-3-hidroxibutanamida (CS):**
- A una solución agitada de **BU** (800 mg, 1,68 mmol) en CH₂Cl₂ (16 ml) se añadieron tamices moleculares (800 mg) y BF₃.OEt₂ (49 %) (477 mg, 3,36 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para eliminar las sales de eterato dietilico de trifluoruro de boro y obtener **CS** (170 mg, 27 %) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,50-7,33 (m, 6H), 6,94 (s, 1H), 4,94-4,76 (m, 2H), 4,23 (s, 1H), 3,82-3,70 (m, 1H), 3,66 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 3,45 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,24 (s, 1H), 3,07 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 2,75-2,63 (m, 3H), 2,34 (s, 3H), 1,95-1,74 (m, 2H), 1,52-1,48 (m, 2H), 0,99 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 377,1 [M⁺+1]. HPLC: 99,79 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: DIOL (150*4,6 mm, 3μm); Fase móvil A: n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención : 11,412.
- 15 **Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)(metil)amino)-3-hidroxibutanamida (CT):**
- A una solución agitada de **BV** (700 mg, 1,47 mmol) en CH₂Cl₂ (14 ml) se añadieron tamices moleculares (700 mg) y BF₃.OEt₂ (49 %) (417 mg, 2,94 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para eliminar las sales de eterato dietilico de trifluoruro de boro y obtener **CT** (235 mg, 42 %) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,50-7,27 (m, 6H), 6,94 (s, 1H), 4,94-4,77 (m, 2H), 4,79-4,70 (m, 1H), 3,80-3,71 (m, 1H), 3,50-3,42 (m, 2H), 3,20-3,03 (m, 2H), 2,72 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 2,41 (d, *J* = 14,7 Hz, 1H), 2,35 (s, 3H), 1,94-1,65 (m, 3H), 1,49-1,43 (m, 1H), 1,00 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 377,1 [M⁺+1]. HPLC: 96,47 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: DIOL (150*4,6 mm, 3μm); Fase móvil A: n-Hexano; Fase móvil B: DCM : MeOH (50 : 50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 10,995.
- 20 **Síntesis de (2S,3R)-3-hidroxi-2-(metil((1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)butanamida (CU y CV):**
- A una mezcla agitada de **CS** y **CT** (1,2 g, 3,19 mmol) en MeOH (24 ml) se añadió Ni Raney (1,2 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H₂. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida para obtener una mezcla de **CU** y **CV** (800 mg, 92 %) como un sólido blanco, que se purificó mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **CU** (210 mg) como un sólido blanco higroscópico y **CV** (190 mg) como un sólido blanco higroscópico.
- 25 **CU:** ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,40 (s a, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 5,02 (s, 1H), 3,80-3,68 (m, 1H), 3,28 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,14-3,06 (m, 3H), 2,82 (dd, *J* = 11,1, 2,6 Hz, 1H), 2,72 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,37-2,33 (m, 1H), 1,92-1,74 (m, 3H), 1,63-1,51 (m, 1H), 0,99 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 271,1 [M⁺+1]. HPLC: 99,25 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*20 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA in n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (90:10); A:B :: 25:75; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención : 19,841.
- 30 **CV:** ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,36 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 4,28 (s, 1H), 3,84-3,67 (m, 1H), 3,38-3,27 (m, 2H), 2,95 (s, 1H), 2,83-2,65 (m, 4H), 2,37 (s, 3H), 1,94-1,74 (m, 2H), 1,69-1,52 (m, 2H), 0,99 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 271,1 [M⁺+1]. HPLC: 99,69 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*20 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA in n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (90:10); A:B :: 25:75; Tasa de flujo: 1,0 ml/min; Tiempo de retención: 23,713.

Síntesis de CW y CX:

El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 1 para **BM** y **BN**, y **Int-D** se captura bajo la síntesis de **CO** y **CP**, mientras que el procedimiento experimental para la síntesis de **Int-A** se captura bajo **CK** y **CL**.

5 Síntesis de 2-(benciloxi)-6-(((2S,3R)-3-hidroxi-1-(metilamino)-1-oxobutan-2-il)(metil)amino)metil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-carboxilato de tert-butilo (9):

A una solución agitada de la mezcla de **BM** y **BN** (2,5 g, 5,25 mmol) en MeOH (50 ml) se añadió paraformaldehído (945 mg, 31,5 mmol) y ácido acético (0,2 ml, 2,62 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 1 h, se añadió cianoborohidruro de sodio (989 mg, 15,7 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 3 %/CH₂Cl₂ para obtener la mezcla diastereomérica (2,3 g, 92 %) como un sólido blanquecino, que se separó mediante purificación por HPLC preparativa de fase normal para obtener **9-F1** (800 mg) y **9-F2** (750 mg) como sólido blancos.

15 9-F1: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,83 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 7,45-7,33 (m, 5H), 4,90-4,84 (m, 2H), 4,22 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,05 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 3,83-3,82 (m, 1H), 3,78 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,48 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,29 (s, 1H), 3,14 (d, *J* = 14,3 Hz, 1H), 2,76 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 2,59 (d, *J* = 4,3 Hz, 3H), 2,43-2,36 (m, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,00-1,74 (m, 3H), 1,38 (s, 9H), 0,96 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 491,1 [M⁺1].

20 9-F2: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,80-7,77 (m, 1H), 7,44-7,34 (m, 5H), 4,95-4,77 (m, 2H), 4,22 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,12 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 3,88-3,85 (m, 1H), 3,77 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,32 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,27-3,21 (m, 1H), 3,12 (d, *J* = 14,3 Hz, 1H), 2,70 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 2,57 (d, *J* = 4,5 Hz, 3H), 2,50-2,48 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,02-1,91 (m, 1H), 1,82-1,72 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 0,97 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 491,1 [M⁺1].

Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)amino)-3-hidroxi-N-metilbutanamida (CW):

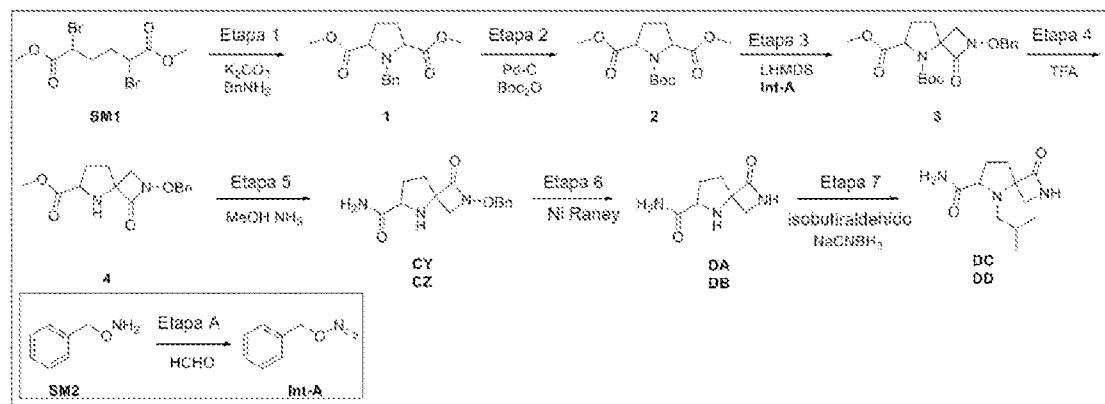
25 A una solución agitada de **9-F1** (800 mg, 1,63 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadieron tamices moleculares (800 mg) y BF₃·OEt₂ (49 %) (463 mg, 3,26 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se lavó con Et₂O y *n*-pentano y se purificó por HPLC de fase inversa para obtener **CW** (410 mg) como un sólido blanco higroscópico. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,84 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 7,44-7,35 (m, 5H), 4,94-4,81 (m, 2H), 4,26 (s, 1H), 3,83-3,74 (m, 1H), 3,65 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 3,45 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,23 (s a, 1H), 3,06 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 2,74-2,61 (m, 4H), 2,57 (d, *J* = 4,5 Hz, 3H), 2,34 (s, 2H), 1,90-1,73 (m, 2H), 1,51-1,47 (m, 2H), 0,94 (d, *J* = 5,9 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 391,3 [M⁺1]. HPLC: 99,86 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna:

CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH:MeOH (10:90); A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 8,665.

Síntesis de (2S,3R)-2-(((2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octan-6-il)metil)(metil)amino)-3-hidroxi-N-metilbutanamida (CX):

- 5 A una solución agitada de **9-F2** (740 mg, 1,51 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadieron tamices moleculares (740 mg) y BF₃.OEt₂ (49 %) (428 mg, 3,02 mmol) gota a gota a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se lavó con Et₂O y *n*-pentano y se secó a vacío para obtener obtener **CX** (210 mg) como un sólido blanco higroscópico. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,89 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 7,47-7,33 (m, 5H), 4,90-4,84 (m, 2H), 4,80 (s, 1H), 3,78-3,75 (m, 1H), 3,48-3,41 (m, 2H), 3,12 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 3,06 (d, *J* = 14,6 Hz, 1H), 2,69 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 2,57 (d, *J* = 4,2 Hz, 3H), 2,37 (d, *J* = 14,5 Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 1,92-1,68 (m, 3H), 1,50-1,41 (m, 1H), 0,95 (d, *J* = 5,9 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 391,3 [M⁺+1]. HPLC: 99,59 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IA (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH:MeOH (10:90); A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 12,566.
- 10

15 **Síntesis de CY, CZ, DA, DB, DC y DD:**



Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):

- A una solución de 2,5-dibromohexanodioato de dimetilo (SM) (200 g, 0,602 mol) en tolueno y agua (800 ml, 3:1) se añadieron K₂CO₃ (100 g, 0,72 mol) y bencilamina (64,45 g, 0,602 mol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y se agitó durante 20 h en atmósfera de nitrógeno. Después de que finalizara la reacción, la mezcla de reacción se enfrió a RT y se diluyó con EtOAc (1 l). Después de agitar durante 10 minutos, la capa orgánica se separó y se lavó con solución de salmuera. La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ anhídrico y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20 %/Hexano para obtener el compuesto **1** meso (111 g, 66 %) como un jarabe marrón. ¹H RMN (400MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,28-7,19 (m, 5H), 3,83 (s, 2H), 3,48 (s, 6H), 3,42-3,36 (m, 2H), 2,09-1,98 (m, 2H), 1,94-1,83 (m, 2H). LCMS (ESI): *m/z* 277,9 [M⁺+1].

25 **Síntesis de pirrolidin-1,2,5-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,5-dimetilo (2):**

- A una solución agitada de compuesto **1** meso (111 g, 0,40 mol) en metanol (1 l) se añadieron Boc₂O (175 g, 0,80 mol) y Pd/C al 10 % (húmedo 50 %, 40 g) a RT en atmósfera de nitrógeno y se agitó durante 48 h en atmósfera de H₂ (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 30 %/Hexano para obtener el compuesto **2** (90 g, 78 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (500MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,27-4,18 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 2,25-2,16 (m, 2H), 1,96-1,85 (m, 2H), 1,36 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 288,2 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-5-(tert-butilo) y 6-metilo (3):

- 35 A una solución del compuesto **2** (90 g, 0,313 mol) en THF (800 ml) se añadió a una solución de LiHMDS (solución 1 M en THF) (470 ml, 0,47 mol) gota a gota a -78 °C en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar a -78°C durante 1h, se añadió una solución de Int-A (50,8 g, 0,376 mol) en THF (100 ml). La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con solución de NH₄Cl acuosa (500 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 500 ml). La capa orgánica separada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El material crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 30 %/Hexano para obtener el compuesto **3** (84 g, 68 %) como un jarabe espeso marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,48-7,36 (m, 5H), 4,95-4,85 (m, 2H), 4,29 (d a, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,07-3,99 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,55 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,36-2,16 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 1H), 1,98-1,91 (m, 1H), 1,35 (s, 9H). LCMS (ESI): *m/z* 391,3 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxilato de metilo (4):

A una solución agitada del compuesto **3** (37 g, 0,094 mol) en CH₂Cl₂ (370 ml) se añadió TFA (77,3 ml, 0,948 mol) a 0 °C y después se agitó a RT durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material crudo se diluyó con CH₂Cl₂ (500 ml) y se ajustó el pH a 10-11 con NaHCO₃ saturado acuoso. La capa orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 500 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **4** (27 g, 98 %) como un jarabe espeso. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,46-7,25 (m, 5H), 4,96-4,75 (m, 2H), 3,67 (s, 3H), 3,65-3,50 (m, 3H), 3,36 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 1,97-1,74 (m, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 290,9 [M⁺+1].

Síntesis de 2-(benciloxi)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (CY y CZ):

10 A una solución del compuesto **4** (27 g, 0,093 mol) en MeOH (270 ml) se añadió amoniaco metanólico (7,0 N) (270 ml) a -20 °C en un tubo sellado en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El crudo se limpió con Et₂O y se secó a vacío para obtener una mezcla de **CY** y **CZ** (20 g, 79 %) como sólido blanco. 800 mg de mezcla **CY** y **CZ** se separaron mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **CY** (180 mg) como sólido blanco y **CZ** (220 mg) como un sólido blanco.

CY: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,46-7,35 (m, 5H), 7,23-7,11 (m, 2H), 4,96-4,76 (m, 2H), 3,73 (s, 1H), 3,56 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,53-3,43 (m, 2H), 1,99-1,89 (m, 1H), 1,85-1,67 (m, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 275,9 [M⁺+1]. HPLC: 99,57 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*20 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 50:50; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 6,412.

20 **CZ:** ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,46-7,34 (m, 5H), 7,21-7,14 (m, 2H), 4,97-4,81 (m, 2H), 3,72 (s, 1H), 3,56 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,53-3,42 (m, 2H), 1,99-1,90 (m, 1H), 1,86-1,68 (m, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 275,9 [M⁺+1]. HPLC: 98,82 %. HPLC quiral: 99,23 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*20 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: DCM:MeOH (50:50); A:B :: 50:50; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 6,868.

Síntesis de 1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (DA y DB):

25 A una solución agitada de Níquel Raney (16 g) en MeOH (150 ml) se añadió una mezcla de **CY** y **CZ** (16 g, 0,058 mol) MeOH (50 ml) a RT en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 16 h en atmósfera H₂ (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (10 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo se limpió con Et₂O y *n*-Pentano y se secó a vacío para obtener una mezcla de **DA** y **DB** (9,4 g, 95 %) como sólido blanco. Se separaron 800 mg de la mezcla de **DA** y **DB** mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **DA** (230 mg) como un sólido blanco y **DB** (200 mg) como sólidos blancos.

DA: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,25 (s a, 1H), 7,14 (d, *J* = 3,3 Hz, 2H), 3,44-3,39 (m, 2H), 3,22 (d, *J* = 1,8 Hz, 2H), 1,97-1,81 (m, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 169,9 [M⁺+1]. HPLC: 98,47 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: DCM; Fase móvil B: IPA; A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 12,505.

DB: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,24 (s a, 1H), 7,14 (d, *J* = 3,1 Hz, 2H), 3,43-3,39 (m, 2H), 3,21 (d, *J* = 1,8 Hz, 2H), 1,98-1,79 (m, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 169,9 [M⁺+1]. HPLC: 98,89 %. HPLC quiral: 99,10 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: DCM; Fase móvil B: IPA; A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 16,052.

Síntesis de 5-isobutil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (DC y DD):

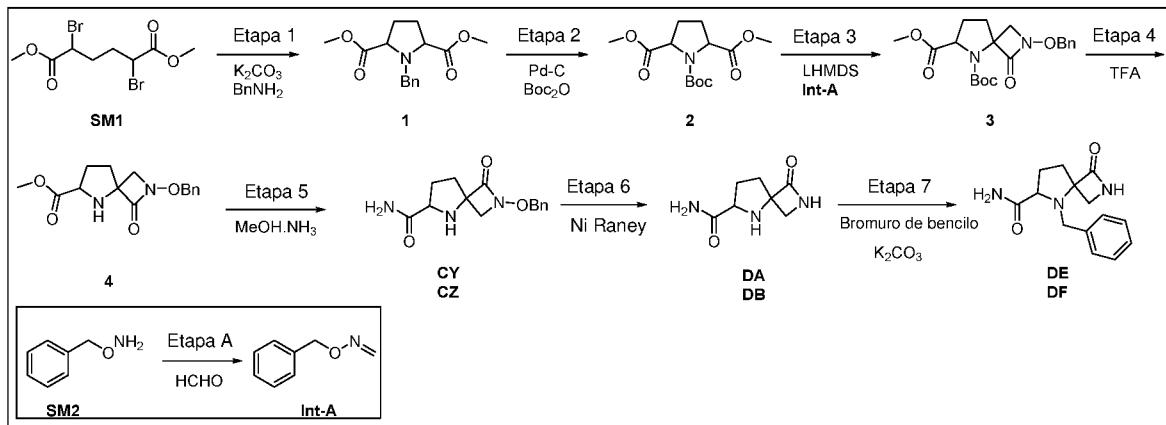
40 A una mezcla de **DA** y **DB** (3 g, 17,7 mmol) en MeOH (30 ml) se añadieron isobutiraldehído (1,917 g, 26,6 mmol) y AcOH (0,31 ml) a RT en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 45 minutos, se añadió NaBH₃CN (3,35 g, 53,1 mmol) se añadió y se dejó en agitación a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con una solución de NaHCO₃ acuosa y los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH al 5 %/CH₂Cl₂ para obtener la mezcla de **DC** y **DD** (200 mg) como un sólido blanco, que se separó mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **DC** (50 mg) como un sólido blanco y **DD** (52 mg) como un sólido blanco.

50 **DC:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,40-7,23 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 3,44 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,37-3,35 (m, 1H), 3,09 (dd, *J* = 12,5, 2,6 Hz, 1H), 2,38-2,32 (m, 1H), 2,20-2,15 (m, 2H), 2,13-2,03 (m, 1H), 2,03-1,88 (m, 1H), 1,85-1,78 (m, 1H), 1,77-1,71 (m, 1H), 0,93 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,86 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). LCMS (ESI): *m/z* 226,0 [M⁺+1]. HPLC: 96,76 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5μm); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH:MeOH (50:50); A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 20,917.

55 **DD:** ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,42-7,22 (m, 2H), 6,83 (s a, 1H), 3,43 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,38-3,33 (m, 1H), 3,09 (dd, *J* = 12,5, 2,6 Hz, 1H), 2,37-2,30 (m, 1H), 2,19-2,14 (m, 1H), 2,12-2,02 (m, 2H), 2,01-1,90 (m, 1H), 1,84-1,78 (m, 1H),

1,77-1,69 (m, 1H), 0,92 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,84 (d, J = 6,7 Hz, 3H). LCMS (ESI): m/z 226,0 [M⁺1]. HPLC: 95,23 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH:MeOH (50:50). A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 24,402.

Síntesis de DE y DF:



5 El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 1 a DA y DB se captura bajo la síntesis de DE y DF.

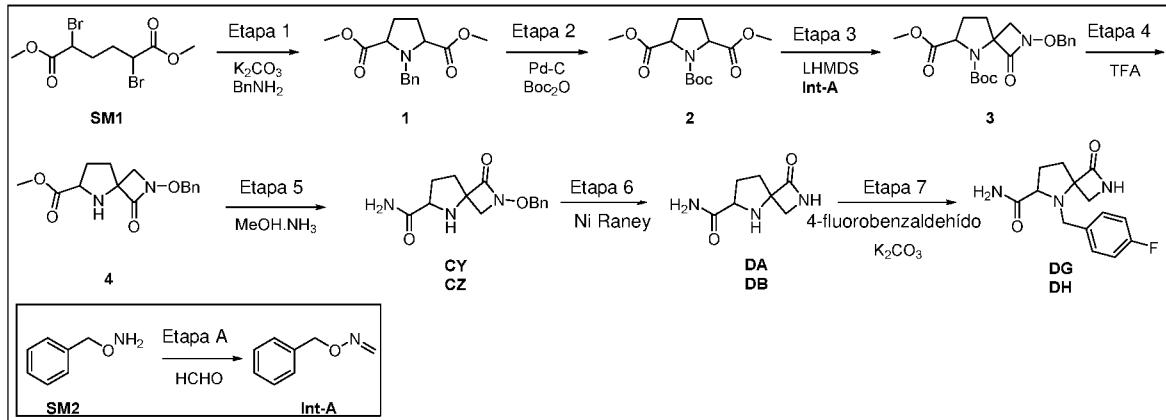
Síntesis de 5-bencil-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (DE y DF):

A una mezcla de DA y DB (2 g, 11,8 mmol) en DMF (20 ml) se añadieron K₂CO₃ (4,89 g, 35,4 mmol) y bromuro de bencílo (2,1 ml, 17,7 mmol) a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH al 5 %/ CH₂Cl₂ para obtener la mezcla DE y DF (2,1 g, 68 %) como un sólido blanco. Se separaron 800 mg de la mezcla DE y DF mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener DE (230 mg) como un sólido blanco y DF (240 mg) como un sólido blanco.

10 DE: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,49 (s, 1H), 7,41-7,22 (m, 7H), 3,87 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,58 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,21 (dd, J = 12,5, 2,6 Hz, 1H), 3,02 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 2,20-2,11 (m, 1H), 2,09-1,96 (m, 2H), 1,84-1,71 (m, 1H). LCMS (ESI): m/z 260,0 [M⁺1]. HPLC: 98,97 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*20 mm, 5 μ m). Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano:THF (80:20); Fase móvil B: DCM:MeOH (80:20); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 15,237.

15 DF: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,48 (s, 1H), 7,40-7,25 (m, 7H), 3,87 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,58 (d, J = 12,7 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,21 (dd, J = 12,7, 2,6 Hz, 1H), 3,02 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 2,21-2,09 (m, 1H), 2,08-1,98 (m, 2H), 1,87-1,75 (m, 1H). LCMS (ESI): m/z 259,9 [M⁺1]. HPLC: 99,67 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*20 mm, 5 μ m). Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano:THF (80:20); Fase móvil B: DCM:MeOH (80:20); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 17,347.

Síntesis de DG y DH:



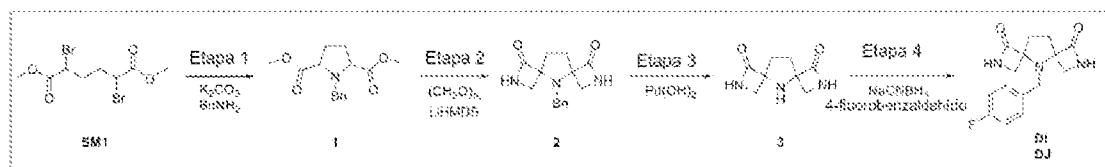
El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 1 en DA y DB se captura bajo la síntesis de DE y DF.

Síntesis de 5-(4-fluorobencil)-1-oxo-2,5-diazaespiro[3.4]octano-6-carboxamida (DG y DH):

A una mezcla de **DA** y **DB** (2,2 g, 13,0 mmol) en DMF (15 ml) se añadieron K_2CO_3 (5,38 g, 39,0 mmol) y 4-fluorobenzaldehído (2,1 ml, 19,5 mmol) a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por 5 chromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH al 6 %/ CH_2Cl_2 para proporcionar la mezcla de **DG** y **DH** (2,2 g, 75 %) como un sólido blanco. Se separaron 600 mg de la mezcla mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **DG** (117 mg) como un sólido blanco y **DH** (153 mg) como sólido blancos.

DG: 1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,48 (s, 1H), 7,42 (dd, J = 8,5, 5,7 Hz, 2H), 7,32 (s, 2H), 7,15 (t, J = 8,9 Hz, 2H), 3,83 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,57 (d, J = 12,7 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,21 (dd, J = 12,6, 2,6 Hz, 1H), 3,00 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 2,22-2,10 (m, 1H), 2,08-1,98 (m, 2H), 1,84-1,73 (m, 1H). LCMS (ESI): m/z 277,9 [M^++1]. HPLC: 99,85 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m). Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 16,606.

DH: 1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,48 (s, 1H), 7,42 (dd, J = 8,4, 5,8 Hz, 2H), 7,32 (s, 2H), 7,15 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,83 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,57 (d, J = 12,7 Hz, 1H), 3,43 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,21 (dd, J = 12,5, 2,5 Hz, 1H), 3,00 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 2,23-2,09 (m, 1H), 2,09-1,98 (m, 2H), 1,83-1,75 (m, 1H). LCMS (ESI): m/z 277,9 [M^++1]. HPLC: 99,68 %. HPLC quiral: 98,33 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH:MeOH (50:50); A:B :: 80:20; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 18,520.

Síntesis de DI y DJ:**Síntesis de 1-bencilpirrolidona-2,5-dicarboxilato de dimetilo (1):**

A una solución agitada de 2,5-dibromohexanodioato de dimetilo (**SM**) (50 g, 0,15 mol) en tolueno: agua (150 ml, 2:1) se añadieron bencilamina (16 ml, 0,15 mol) y K_2CO_3 (24 g, 0,18 mol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a refluo a 110 °C y se agitó durante 4 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). La capa orgánica separada se secó con Na_2SO_4 anhídrido y se concentró a presión reducida para obtener la mezcla del compuesto **1** (39 g, 93 %) como un líquido. Este material se purificó por chromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 20 %/n-Hexano para obtener el compuesto **1-F1** (10 g,), compuesto **1-F2** (13 g) y compuesto **1-F1 y F2** (16 g) como un líquido. 1H RMN (500MHz, $CDCl_3$): δ 7,32-7,17 (m, 5H), 3,89 (s, 2H), 3,55 (s, 6H), 3,45-3,38 (m, 2H), 2,08-1,99 (m, 4H). LCMS (m/z): 278,2 [M^++1].

Síntesis de 5-bencil-2,5,8-triazadespiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (2):

A una solución agitada del compuesto **1** (20 g, 0,069 mol) en THF (100 ml) se añadieron paraformaldehído (4,1 g, 0,139 mol) y LiHMDS (1,0 M en THF) (348 ml, 0,348 mol) a -78°C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se llevó a RT y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la reacción se inactivó con agua con hielo (500 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 500 ml) y MeOH al 10 %/ CH_2Cl_2 (2 x 500 ml). La capa orgánica combinada se secó con Na_2SO_4 y se concentró para obtener compuesto crudo que se purificó mediante chromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 %/ CH_2Cl_2 para obtener el compuesto **2** (2 g, 10 %) como un sólido blanco. 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,69 (s, 2H), 7,37-7,17 (m, 5H), 3,91 (s, 2H), 3,11-3,01 (m, 4H), 2,24-2,13 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 2H). LCMS (ESI): m/z 271,9 [M^++1].

Síntesis de 2,5,8-triazadespiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (3):

A una solución agitada del compuesto **2** (2 g, 7,38 mmol) en metanol (30 ml) se añadió $Pd(OH)_2$ (2 g) a RT y se agitó durante 16 h en atmósfera H_2 (presión de globo). Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite y la almohadilla se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida. El material crudo se limpió con Et_2O y se secó a vacío para obtener el compuesto **3** (1,1 g, 84 %) como un sólido blanquecino. 1H RMN (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,73 (s a, 2H), 3,94 (s, 1H), 3,20 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 3,10 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 2,01-1,98 (m, 4H). LCMS (ESI): m/z 182,19 [M^++1].

Síntesis de 5-(4-fluorobencil)-2,5,8-triazadespiro[3.1.36.24]undecano-1,7-diona (DI y DJ):

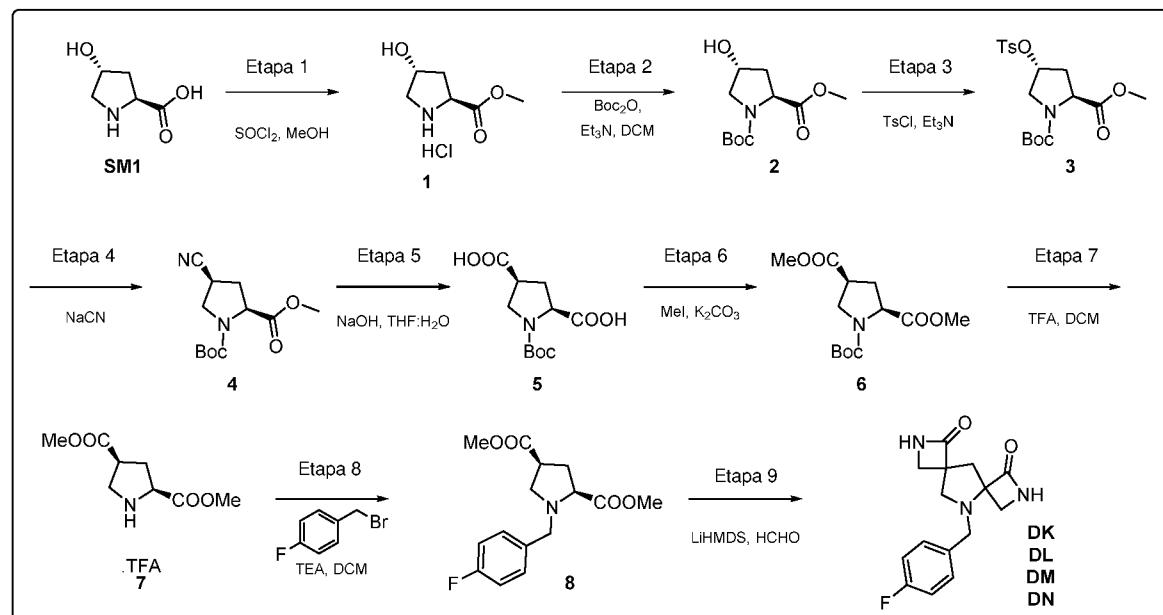
A una solución del compuesto **3** (1 g, 5,52 mmol) en MeOH (10 ml) se añadieron 4-fluorobenzaldehído (1,37 g, 11,04 mmol) y AcOH (0,1 ml) a RT en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió $NaBH_3CN$ (996 mg, 16,5 mmol) se añadió en porciones y se dejó agitar a RT por 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El material crudo se purificó por

cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH al 5 %/ EtOAc para obtener la mezcla de **DI** y **DJ** (500 mg, 31 %) como un sólido blanco, que se separó mediante purificación por HPLC preparativa quiral para obtener **DI** (114 mg) como un sólido blanco y **DJ** (120 mg) como un sólido blanco.

DI: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,83 (s, 2H), 7,43-7,32 (m, 2H), 7,10 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H), 3,87-3,76 (m, 2H), 3,08-2,95 (m, 4H), 2,09 (s, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 289,9 [M⁺+1]. HPLC: 99,80 %. HPLC quiral: 100,00 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH; A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 13,635.

DJ: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,83 (s, 2H), 7,42-7,32 (m, 2H), 7,10 (t, *J* = 8,9 Hz, 2H), 3,87-3,76 (m, 2H), 3,05-2,98 (m, 4H), 2,09 (s, 4H). LCMS (ESI): *m/z* 289,8 [M⁺+1]. HPLC: 97,71 %. HPLC quiral: 99,08 %. Columna: CHIRALPAK IC (250*4,6 mm, 5 μ m); Fase móvil A: 0,1 % DEA en n-Hexano; Fase móvil B: EtOH; A:B :: 85:15; Tasa de flujo: 1,0 ml/min. Tiempo de retención: 15,419.

Síntesis de **DK**, **DL**, **DM** y **DN**:



Síntesis de metil (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (1):

A una solución agitada de ácido (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (75,0 g, 572 mmol) en MeOH (800 ml), se añadió SOCl₂ (75 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con Et₂O (500 ml x 2), se filtró, y se secó para obtener el compuesto **1** (100,0 g, 96 %) como un sólido blanco como una sal de HCl del compuesto **1**. LCMS (ESI): *m/z* 146,0 [M⁺+1].

Síntesis de (2*S*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (2):

A una solución agitada del compuesto **1** (100,0 g, 552 mmol) en DCM (1 l), se añadió Et₃N (230 ml, 1657 mmol) a 0 °C y se agitó durante 15 min. Se añadió Boc₂O (152 ml, 662 mmol) gota a gota a 0 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (500 ml) y se extrajo con DCM (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (500 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con hexano (500 ml x 2), se filtró, y se secó para obtener el compuesto **2** (123,0 g, 91 %) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5,09 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,29 – 4,15 (m, 2H), 3,64 (m, 3H), 3,45 – 3,21 (m, 2H), 2,14 – 2,09 (m, 1H), 1,95 – 1,82 (m, 1H), 1,39 – 1,32 (m, 9H).

Síntesis de (2*S*,4*R*)-4-(tosiloxi)pirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (3):

A una solución agitada del compuesto **2** (123,0 g, 502 mmol) en DCM (1 l), se añadió Et₃N (140 ml, 1004 mmol), DMAP (catalítico). A la mezcla de reacción (RM) se añadió cloruro de tosilo en porciones (124,0 g, 652 mmol) a 0 °C y se agitó la RM a temperatura ambiente durante 16 h. Despues de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua con hielo (500 ml) y se extrajo con DCM (2 x 500 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución de NaHCO₃ (500 ml) y salmuera (500 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se limpió con hexano (1000 ml), se filtró, se secó para obtener el compuesto **3** (190,0 g, 95 %) como sólido marrón claro. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,82 (m, 2H), 7,54 – 7,46 (m, 2H), 5,07 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 4,23 (m, 1H),

3,63 (m, 3H), 3,50 – 3,40 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,20 – 2,04 (m, 1H), 1,99 (s, 1H), 1,33 (m, 9H).

Síntesis de (2*S,4S*)-4-cianopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2-metilo (4):

A una solución agitada del compuesto **3** (190,0 g, 476 mmol) en DMSO (700 ml), se añadió NaCN (46,6 g, 952 mmol) y se agitó a 80 °C durante 6 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se enfrió y se inactivó con agua (500 ml) y después se extrajo con éter dietílico (3 x 500 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (500 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 15-20 %/Hexano para obtener el compuesto **4** (50,0 g, 41,33 %) como un aceite amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,36 – 4,22 (m, 1H), 3,82 – 3,62 (m, 3H), 3,48 – 3,40 (m, 3H), 2,68 – 2,40 (m, 1H), 2,12 – 2,04 (m, 1H), 1,40 (m, 9H).

10 Síntesis de ácido (2*S,4S*)-1-(tert-butoxicarbonil)pirrolidin-2,4-dicarboxílico (5):

A una solución agitada del compuesto **4** (30,0 g, 118 mmol) en THF (150 ml), se añadió NaOH (18,9 g, 472 mmol) en agua (150 ml) y se agitó durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se neutralizó con solución de HCl 1 N, se acidificó con ácido cítrico a pH-4-5 y se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (300 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **5** (21,0 g, crudo) como un sólido blanco. El crudo se usó tal cual para la siguiente etapa sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,57 (s a, 2H), 4,19 – 3,96 (m, 1H), 3,62 – 3,40 (m, 1H), 3,50 – 3,35 (m, 1H), 3,07 – 3,0 (m, 1H), 2,37 – 2,15 (m, 1H), 2,05 – 2,0 (m, 1H), 1,35 (m, 9H).

Síntesis de (2*S,4S*)-pirrolidin-1,2,4-tricarboxilato de 1-(tert-butilo) y 2,4-dimetilo (6):

A una solución agitada del compuesto **5** (21,0 g, 81,0 mmol) en DMF (200 ml), se añadió K₂CO₃ (44,7 g, 324 mmol) seguido de la adición de CH₃I (17,6 ml, 283 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (250 ml) y se extrajo con éter dietílico (2 x 250 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (250 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 20 %/Hexano para obtener el compuesto **6** (20,2 g, 87 %) como un aceite. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4,31 – 4,17 (m, 1H), 3,66 (m, 7H), 3,48 – 3,40 (m, 1H), 3,22 – 3,15 (m, 1H), 2,40 – 2,35 (m, 1H), 2,11 – 2,08 (m, 1H), 1,36 (m, 9H).

Síntesis de (2*S,4S*)-pirrolidin-2,4-dicarboxilato de dimetilo (7):

A una solución agitada del compuesto **6** (150 g, 522,08 mmol) en DCM (750 ml) se añadió TFA (399,4 ml, 5220,8 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **7** (150 g, 95 %) en forma de aceite como una sal de TFA del compuesto **7**. LCMS (ESI): *m/z* 188,0 [M⁺+1].

Síntesis de (2*S,4S*)-1-(4-fluorobencil)pirrolidin-2,4-dicarboxilato de dimetilo (8):

A una solución agitada del compuesto **7** (40,0 g, 132,8 mmol) en DCM (200 ml), se añadió Et₃N (93,1 ml, 664,4 mmol) a 0 °C gota a gota y se agitó durante 30 min. Se añadió 1-(bromometil)-4-fluorobenceno (24,8 ml, 199,3 mmol) a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo con DCM (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (300 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 15 %/Hexano para obtener el compuesto **8** (35,0 g, 89,2 %) como un aceite incoloro. LCMS (ESI): *m/z* 296,35 [M⁺+1].

40 Síntesis de 10-(4-fluorobencil)-2,8,10-triazadiespiro[3.1.3⁶.2⁴]undecano-1,7-diona (DK, DL, DM y DN):

A una solución agitada del compuesto **8** (25,0 g, 84,7 mmol) en THF (200 ml), se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF, 423,7 ml, 423,7 mmol) a -78 °C y se agitó durante 30 min, se añadió paraformaldehído (6,35 g, 211,8 mmol) a la mezcla de reacción a -78 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NH₄Cl saturada (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener una mezcla de diastereoisómeros (3,3 g). La mezcla se purificó por HPLC SFC quiral para obtener **DK** (120 mg), **DL** (220 mg), **DM** (120 mg), y **DN** (120 mg) como un sólido blanquecino.

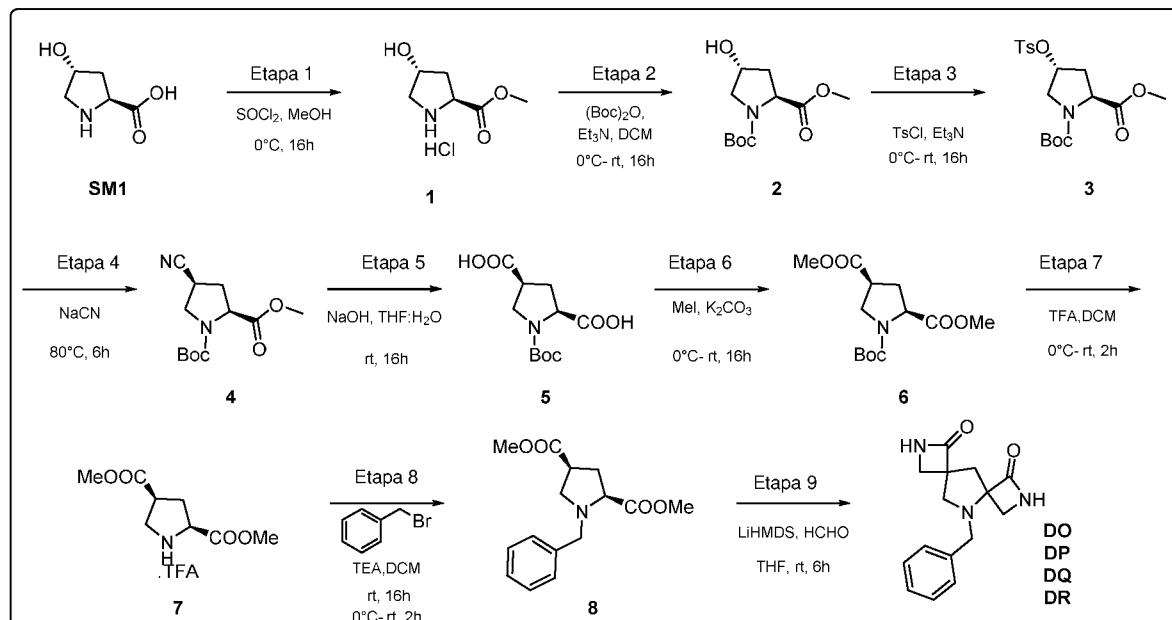
DK: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,95 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,36 – 7,33 (m, 2H), 7,15 – 7,11 (m, 2H), 3,77 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,56 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,39 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,23 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 3,17-3,16 (m, 2H), 2,93 – 2,85 (m, 2H), 2,39 (s, 2H). LCMS (ESI): *m/z* 290,1 [M⁺+1]. HPLC: 97,78 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5 μ). Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) 0,1 % NH₃ + metanol isocráctico: 25 % B, Diluyente: Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 5,01.

DL: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,95 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,36 – 7,33 (m, 2H), 7,15 – 7,10 (m, 2H), 3,77 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 3,56 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,39 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 3,23 (d, J = 6 Hz, 1H), 3,17-3,16 (m, 2H), 2,93 – 2,85 (m, 2H), 2,39 (s, 2H). LCMS (ESI): m/z 290,15 [M $^+$ +1]. HPLC: 99,14 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u). Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) 0,1 % NH₃ + Metanol isocrático: 25 % B; Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 6,15.

DM: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,93 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,35 – 7,32 (m, 2H), 7,15 – 7,10 (m, 2H), 3,77 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 3,62 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 3,26 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 3,21 (d, J = 6 Hz, 1H), 3,08 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 2,89 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 2,76 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 2,43 (s, 2H). LCMS (ESI): m/z 290,1 [M $^+$ +1]. HPLC: 98,87 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u). Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) 0,1 % NH₃ + Metanol isocrático: 25 % B, Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 7,60.

DN: ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,94 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,35 – 7,32 (m, 2H), 7,15 – 7,10 (m, 2H), 3,77 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,62 (d, J = 14, Hz, 1H), 3,26 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 3,21 (d, J = 6 Hz, 1H), 3,08 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 2,89 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 2,76 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 2,43 (s, 2H). LCMS (ESI): m/z 290,1 [M $^+$ +1]. HPLC: 99,52 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u); Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) 0,1 % NH₃ + Metanol isocrático: 25 % B, Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo : 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención : 9,05.

Síntesis de DO, DP, DO y DR:



El procedimiento experimental para la síntesis del compuesto 1 en el compuesto 7 se captura bajo la síntesis de **DK**, **DL**, **DM** y **DN**.

Síntesis de (2S,4S)-1-bencilpirrolidona-2,4-dicarboxilato de dimetilo (8):

A una solución agitada del compuesto 7 (40,0 g, 132,8 mmol) en DCM (200 ml), se añadió Et₃N (93,1 ml, 664,4 mmol) a 0 °C gota a gota y se agitó durante 30 min. Se añadió bromuro de bencilo (22,8 ml, 199,3 mmol) a 0 °C y se agitó a RT durante 16 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con DCM (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (300 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando EtOAc al 15 %/Hexano para obtener el compuesto 8 (22,0 g, 60 %) como un sólido blanco.

LCMS (ESI): m/z 278,30 [M $^+$ +1]

Síntesis de 10-bencil-2,8,10-triazadiespiro[3.1.3⁶.2⁴]undecano-1,7-diona (DO, DP, DQ y DR):

A una solución agitada del compuesto 8 (22,0 g, 79,4 mmol) en THF (250 ml), se añadió LiHMDS (solución 1 M en THF, 397,1 ml, 397,1 mmol) a -78°C y se agitó durante 30 min. Se añadió paraformaldehído (5,96 g, 198,8 mmol) a la mezcla de reacción a -78 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Después de que se consumiera el material de partida (por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con solución de NH₄Cl saturada (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener la mezcla de diastereoisómeros (2,4 g). La

mezcla de los diastereoisómeros se purificó por SFC seguido de HPLC quiral para obtener **DO** (90 mg), **DP** (120 mg), **DQ** (42 mg), y **DR** (44 mg) como un sólido blanquecinos.

DO: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,95 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,32 – 7,22 (m, 5H), 3,79 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,58 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,39 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 3,23 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,18 – 3,16 (m, 2H), 2,93 – 2,87 (m, 2H), 2,40 (s, 2H).

5 LCMS (ESI): *m/z* 272,1 [M⁺+1]. HPLC: 98,13 %. HPLC quiral: 98,95 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u); Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) Metanol, Isocrático: 30 % B; Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 4,72.

DP: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,95 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,33 – 7,22 (m, 5H), 3,79 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,58 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,39 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,23 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 3,18 – 3,16 (m, 2H), 2,93 – 2,87 (m, 2H), 2,40 (s, 2H).

10 LCMS (ESI): *m/z* 272,15 [M⁺+1]. HPLC: 99,12 %. HPLC quiral: 97,82 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u); Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) Metanol, Isocrático: 30 % B; Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 6,49.

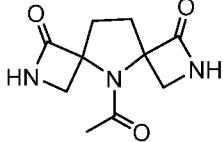
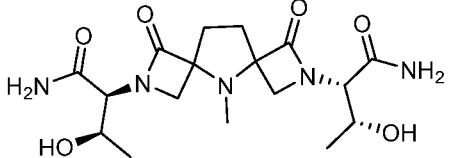
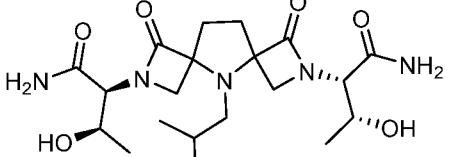
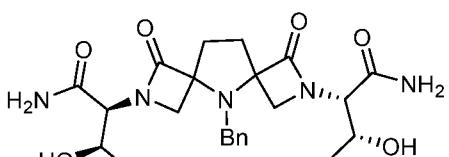
DQ: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,94 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,34 – 7,24 (m, 5H), 3,78 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,63 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,29 – 3,22 (m, 3H), 3,07 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 2,90 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 2,76 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 2,44 (s, 2H).

15 LCMS (ESI): *m/z* 272,0 [M⁺+1]. HPLC: 99,06 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u); Condiciones HPLC Fase móvil: A) CO₂ B) Etanol, Isocrático: 30 % B; Diluyente:Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 9,0.

DR: ^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,94 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,30 – 7,24 (m, 5H), 3,78 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,63 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H), 3,26 – 3,22 (m, 3H), 3,07 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 2,90 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 2,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 2,44 (s, 2H).

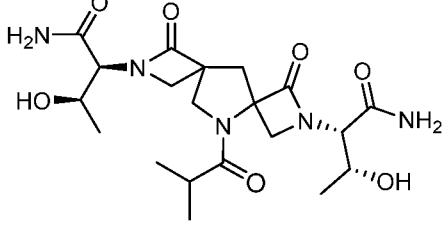
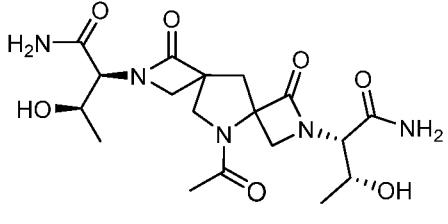
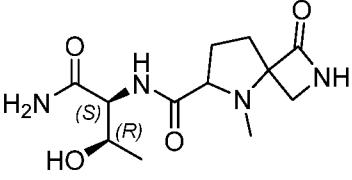
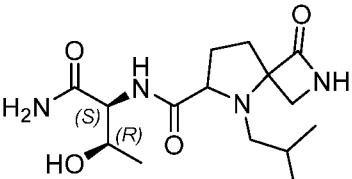
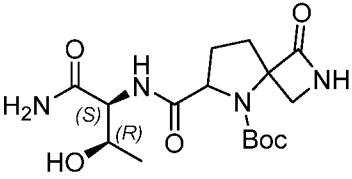
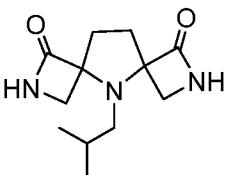
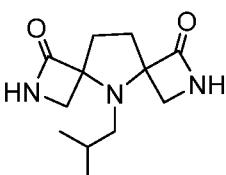
20 LCMS (ESI): *m/z* 272,0 [M⁺+1]. HPLC: 99,84 %. HPLC quiral: 100 %. Columna: CHIRALPAK IC (250x4,6 mm, 5u); Condiciones HPLC Fase móvil Fase móvil: A) CO₂ B) Etanol, Isocrático: 30 % B, Diluyente: Fase móvil; Tasa de flujo: 3 ml/min; Longitud de onda: 210-400 nm; Tiempo de retención: 9,87.

Siguiendo los procedimientos anteriores, se prepararon o se preparan los siguientes compuestos y estereoisómeros de los mismos:

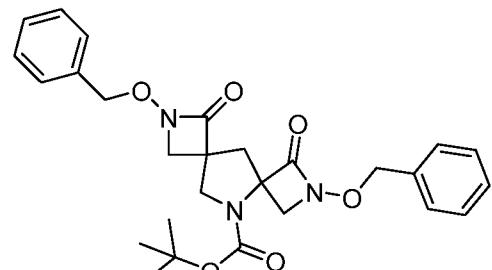
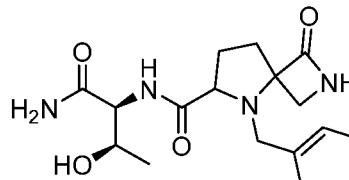
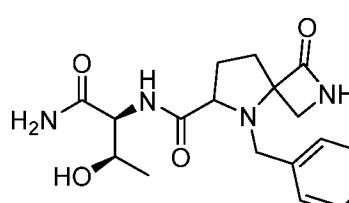
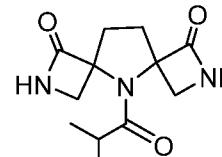
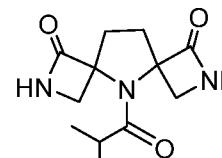
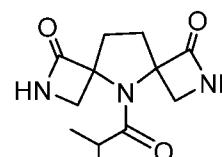
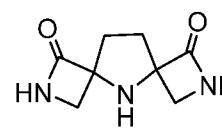
Compuesto	Estructura
UA	
UB	
UC	
UD	

Compuesto	Estructura
UE	
UF	
UG	
UH	
UI	
UJ	
UK	

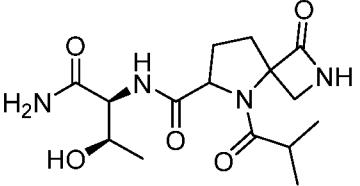
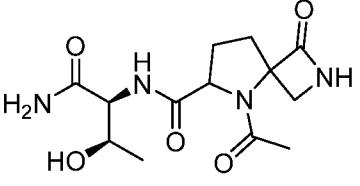
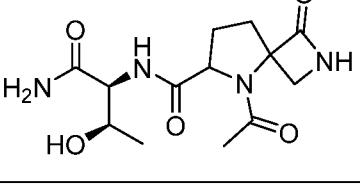
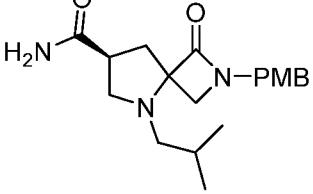
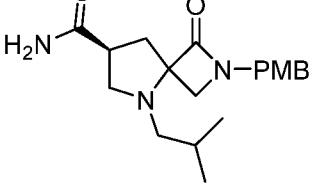
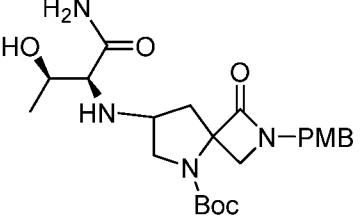
Compuesto	Estructura
UL	
UM	
UN	
UO	
UP	
UQ	

Compuesto	Estructura
UR	
US	
UT	
UV	
UW	
AD	
AE	

Compuesto	Estructura
AF	
AT	
AU	
AV	
AW	

Compuesto	Estructura
AX	
AM	
AN	
AG	
AH	
AI	
AJ	

Compuesto	Estructura
AK	
BE	
BF	
BG	
BH	
AR	

Compuesto	Estructura
AS	
AO	
AP	
CI	
CJ	
CA	

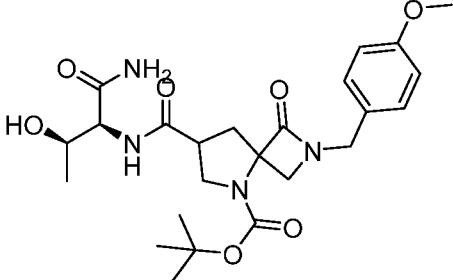
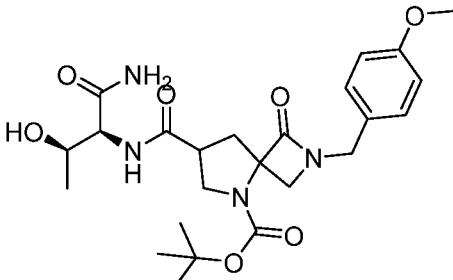
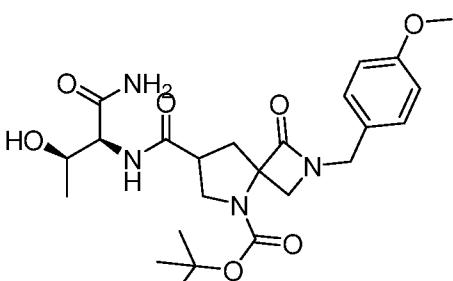
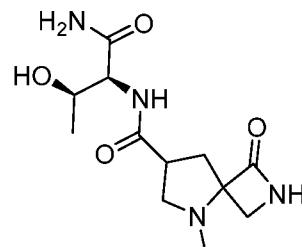
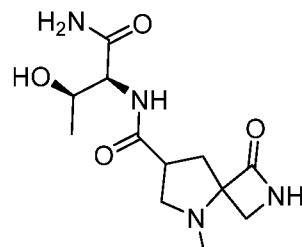
Compuesto	Estructura
BJ	
BK	
BL	
BQ	
BR	
BS	
BT	

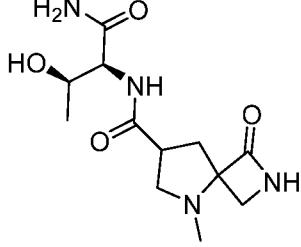
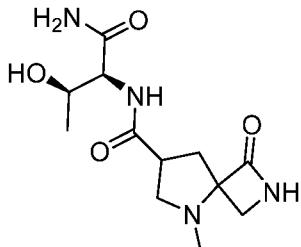
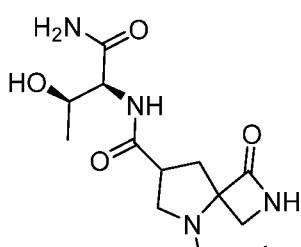
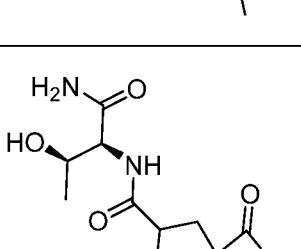
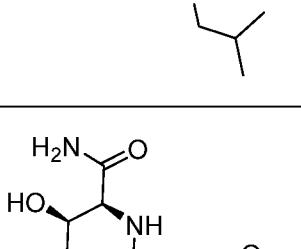
Compuesto	Estructura
BM	
BN	
BO	
BP	
BU	
BV	
BW	

Compuesto	Estructura
BX	
BX-2	
AA-1	
AA-2	
AA-3	
AB-1	
AB-2	
AB-3	

Compuesto	Estructura
AC-1	
AC-2	
AC-3	
AL-1	
AL-2	
AQ-1	
AQ-2	

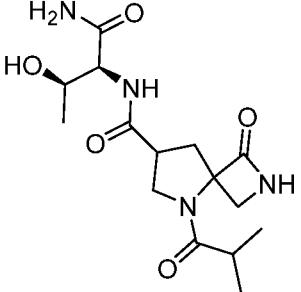
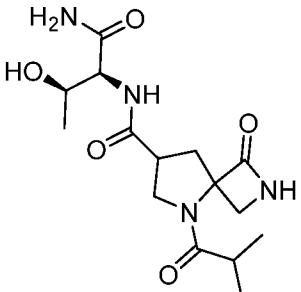
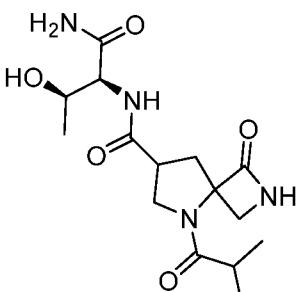
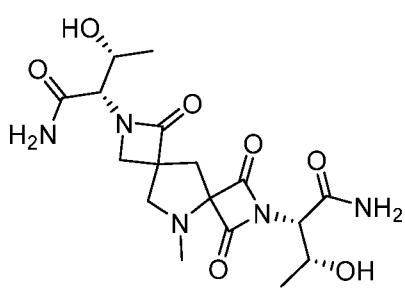
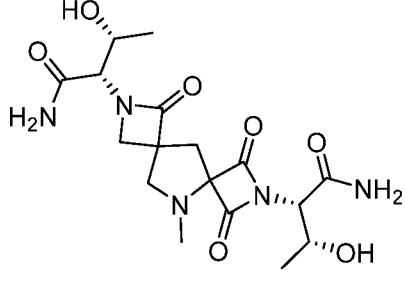
Compuesto	Estructura
DS	
AZ-1	
AZ-2	
AZ-3	
AZ-4	
DT	

Compuesto	Estructura
DU	
DV	
DW	
DX	
DY	

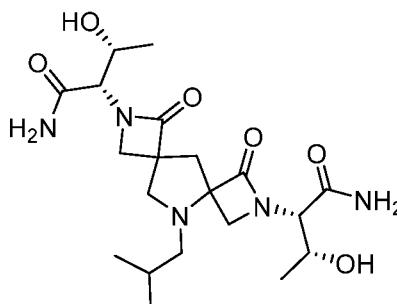
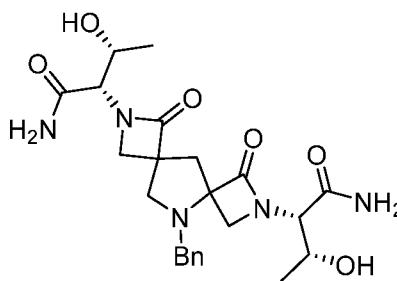
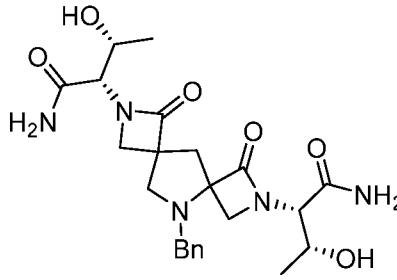
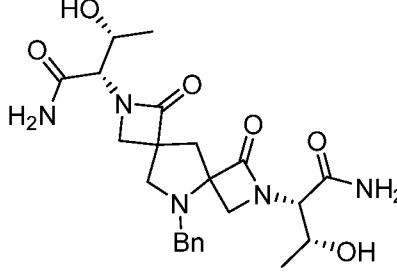
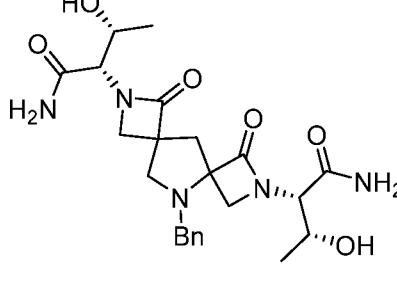
Compuesto	Estructura
DZ	
EA	
EB	
EC	
ED	

Compuesto	Estructura
EE	
EF	
EG	
EH	
EI	

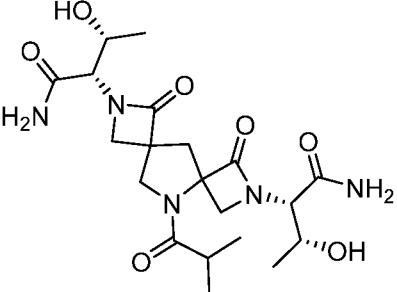
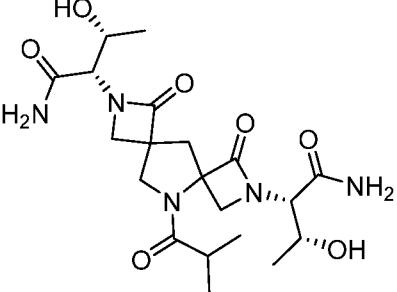
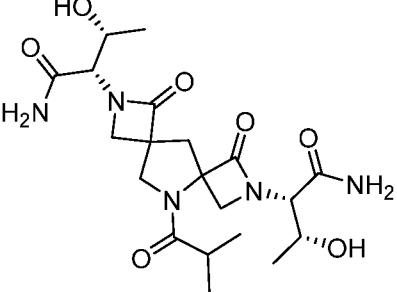
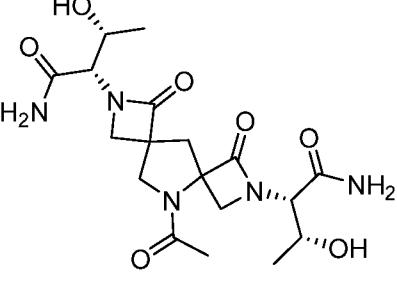
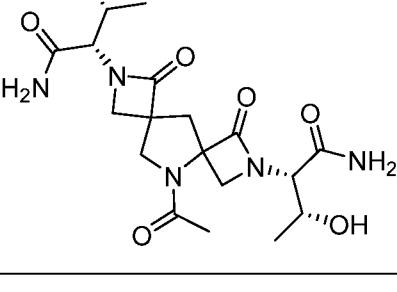
Compuesto	Estructura
EJ	
EK	
EL	
EM	
EN	

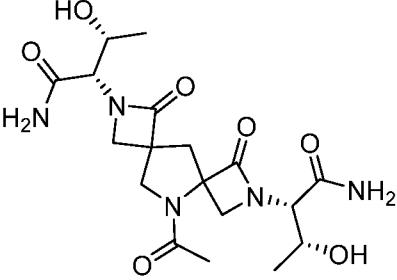
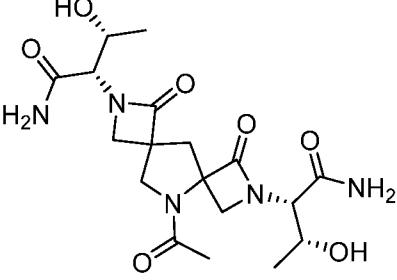
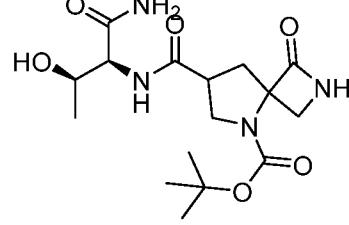
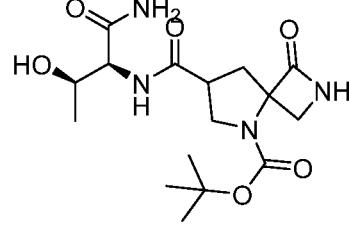
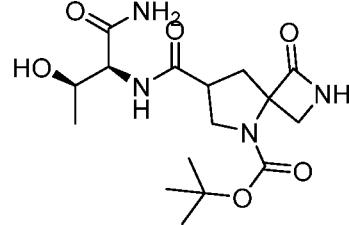
Compuesto	Estructura
EO	
EP	
EQ	
ER	
ES	

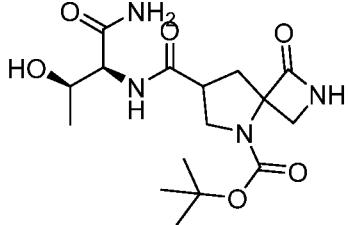
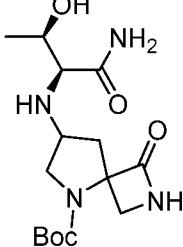
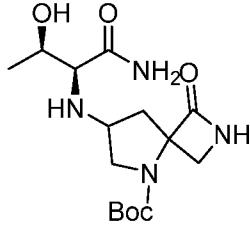
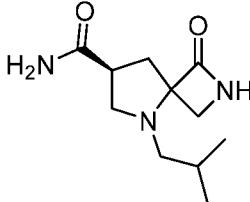
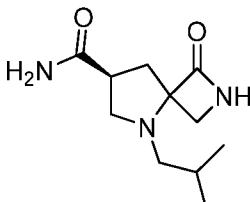
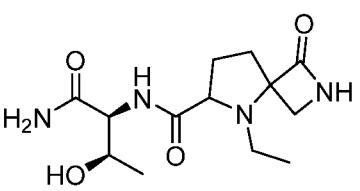
Compuesto	Estructura
ET	
EU	
EV	
EW	
EX	

Compuesto	Estructura
EY	
EZ	
FA	
FB	
FC	

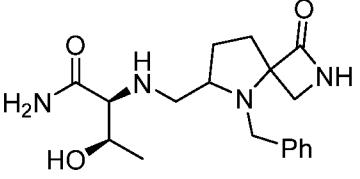
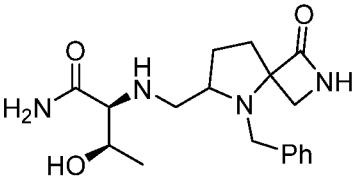
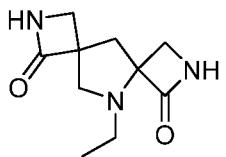
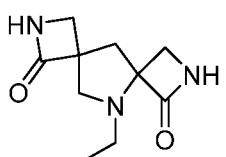
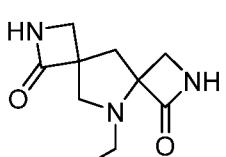
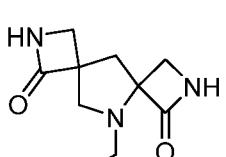
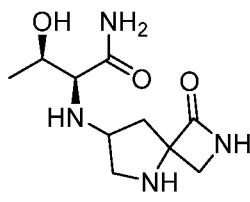
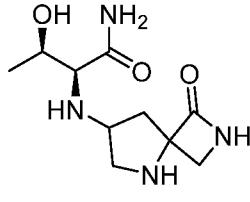
Compuesto	Estructura
FD	
FE	
FF	
FG	
FH	

Compuesto	Estructura
FI	
FJ	
FK	
FL	
FM	

Compuesto	Estructura
FN	
FO	
FP	
FQ	
FR	

Compuesto	Estructura
FS	
CG	
CH	
FT	
FU	
FV	

Compuesto	Estructura
FW	
FX	
FY	
FZ	
GA	
GB	
GC	

Compuesto	Estructura
GD	
GE	
GF	
GG	
GH	
GI	
GJ	
GK	

B. PRUEBA DE APRENDIZAJE EMOCIONAL POSITIVO (PEL)

Este ejemplo demuestra la prueba de aprendizaje emocional positivo (PEL, por sus siglas en inglés). Los experimentos se llevaron a cabo como se describe en Burgdorf et al., "The effect of selective breeding for differential rates of 50-kHz ultrasonic vocalizations on emotional behavior in rats," *Devel. Psychobiol.*, 51:34-46 (2009). La vocalización ultrasónica

5 de las ratas a 50 kHz (USV hedónicos) es un modelo validado para el estudio del estado afectivo positivo y se obtiene mejor mediante el juego brusco. Se ha demostrado previamente que las vocalizaciones ultrasónicas de 50 kHz están correlacionadas positivamente con la recompensa y el comportamiento social apetitivo en ratas, y reflejan un estado afectivo positivo.

10 El ensayo PEL mide la adquisición de vocalizaciones ultrasónicas (hedónicas) de 50 kHz (USV, por sus siglas en inglés) positivas frente a un estímulo social, estimulación heterospecífica de juego brusco. La mano derecha del experimentador administró la estimulación de juego brusco y heteroespecífica. Una hora después de la administración del compuesto de prueba o del control negativo del vehículo (0,5 % de carboximetil celulosa sódica en 0,9 % de solución salina estéril), los animales recibieron 3 minutos de juego brusco y heterospecífico que consistió en bloques alternos de 15 15 segundos de juego heterospecífico y 15 segundos sin estimulación. Las vocalizaciones ultrasónicas de alta frecuencia (USV) se registraron y analizaron por sonograma con Avasoft SASlab Pro (Alemania) como se describió anteriormente en Burgdorf et al., "Positive emotional learning is regulated in the medial prefrontal cortex by GluN2B-containing NMDA receptors," *Neuroscience*, 192:515-523 (2011). Las USV de 50 kHz con frecuencia modulada que ocurrieron durante cada uno de los períodos sin estimulación se cuantificaron para medir el PEL. Los animales no estaban acostumbrados a la estimulación mediante el juego antes de la prueba. El aprendizaje emocional positivo se 20 midió durante los ensayos de estímulo condicionado (CS, por sus siglas en inglés) que precedieron a los ensayos de estímulo no condicionado de cosquilleo (UCS). Los animales recibieron 15 segundos ensayos que consistían en 6 ensayos CS y 6 ensayos UCS cada uno (3 min en total).

25 Los resultados se muestran en la siguiente tabla. Como cada experimento incluye su propio grupo de vehículos, se muestra un ejemplo de puntuación (típica) del vehículo. El efecto máximo (número promedio de USV de 50 kHz por 15 segundos) se presenta como ^: < 6,0; *: 6-10,9; **: 11-16,9; ***: 17-22.

Compuesto	Vía	Dosis (mg/kg)	Efecto máximo
Vehículo	PO	N/A	^
AB-2	PO	0,001 – 1	**
AC-1	PO	0,001 – 1	*
AC-2	PO	0,001 – 1	*
AQ-1	PO	0,1	**
AQ-2	PO	0,1	*
AD	PO	0,001 – 1	**
AF	PO	0,001 – 1	**
AW	PO	0,1	**
AM	PO	0,1	*
AN	PO	0,1	*
AH	PO	0,1	**
AJ	PO	0,1	**
BY	PO	0,1	**
BH	PO	0,1	**
AS	PO	0,1	**
AO	PO	0,1	**

C. ESTABILIDAD MICROSÓMICA

Se investigó la estabilidad microsómica de los compuestos descritos. La siguiente tabla indica el porcentaje de compuesto presente después de 60 minutos.

Compuesto	Microsómico (Humano)	Microsómico (Rata)
AB-2	72 %	78 %
AC-1	95 %	100 %
AC-2	98 %	100 %
AC-3	77 %	83 %
AQ-1	100 %	84 %
AQ-2	100 %	100 %
AD	100 %	100 %
AF	92 %	87 %
AW	2 %	0 %
AM	95 %	99 %
AN	88 %	87 %
AH	100 %	100 %
AJ	100 %	100 %
BY	100 %	81 %
BH	100 %	100 %
AS	84 %	100 %
AO	100 %	100 %

D. ESTABILIDAD EN PLASMA

- 5 Se investigó la estabilidad en plasma de los compuestos descritos. La siguiente tabla indica el porcentaje de compuesto presente después de 60 minutos.

Compuesto	Plasma (Humano)	Plasma (Rata)
AB-2	86 %	83 %
AC-1	100 %	100 %
AC-2	94 %	94 %
AC-3	92 %	85 %
AQ-1	100 %	100 %
AQ-2	100 %	95 %
AD	83 %	88 %
AF	99 %	90 %
AW	90 %	0 %

Compuesto	Plasma (Humano)	Plasma (Rata)
AM	88 %	87 %
AN	88 %	87 %
AH	95 %	100 %
AJ	90 %	68 %
BY	81 %	82 %
BH	90 %	95 %
AS	100 %	100 %
AO	100 %	93 %

E. ENSAYOS AGONISTAS NMDAR

Los ensayos se condujeron como se describe en Moskal et al., "GLYX-13: a monoclonal antibody-derived peptide that acts as an N-metil-D-aspartate receptor modulator," *Neuropharmacology*, 49, 1077-87, 2005. Estos estudios fueron diseñados para determinar si los compuestos de prueba actúan para facilitar la activación de NMDAR en membranas de células HEK que expresan NMDAR2A, NMDAR2B, NMDAR2C o NMDAR2D según se mide en función de los incrementos en la unión de [³H]MK-801.

En el ensayo, se preincubaron 300 µg de proteína de extracto de membrana de células HEK que expresaba NMDAR durante 15 minutos a 25 °C en presencia de concentraciones saturadas de glutamato (50 µM) y concentraciones variables del compuesto de prueba (1×10^{-15} M – 1×10^{-7} M), o glicina 1 mM. Tras la adición de 0,3 µCi de [³H]MK-801 (22,5 Ci/mmol), las reacciones se incubaron de nuevo durante 15 minutos a 25 °C (condiciones de no equilibrio). Se separaron [³H]MK-801 enlazado y libre por medio de filtración rápida usando un aparato Brandel.

En el análisis de los datos, las DPM (desintegraciones por minuto) de [³H]MK-801 que permanecen en el filtro se midieron para cada concentración del compuesto prueba o para glicina 1 mM. Se promediaron los valores de DPM para cada concentración de un ligando (N = 2). El valor de la línea de base se determinó a partir de la curva de mejor ajuste de los valores de DPM modelados con el programa GraphPad y el algoritmo de log(agonista) vs. respuesta(tres parámetros) se restó a continuación de todos los puntos del conjunto de datos. El % máximo de unión de [³H]MK-801 se calculó a continuación respecto al de glicina 1 mM: todos los valores de DPM con sustracción de la línea de base se dividieron por el valor promedio de glicina 1 mM. La EC₅₀ y el % de actividad máxima se obtuvieron a continuación de la curva de mejor ajuste de los datos de % de unión de [³H]MK-801 máxima modelados usando el programa GraphPad y el algoritmo log(agonista) vs. respuesta(tres parámetros).

Las tablas a continuación resumen los resultados para los agonistas de tipo natural NMDAR NMDAR2A, NMDAR2B, NMDAR2C y NMDAR2D, y si el compuesto no es un agonista (-), es un agonista (+), o es un agonista fuerte (++) donde la columna A se basa en el % máximo de unión de [³H]MK-801 respecto a glicina 1 mM (- = 0; < 100 % = +; y > 100 % = ++); y la columna B se basa en los valores log EC₅₀ (0 = -; $\geq 1 \times 10^{-9}$ M (por ejemplo, -8) = +; y < 1×10^{-9} M (por ejemplo, -10) = ++).

Compuesto	NMDAR2A		NMDAR2B	
	A	B	A	B
AA-1	-	-	-	-
AA-2	+	+	-	-
AA-3	-	-	-	-
AB-1	+	++	-	-
AB-2	-	-	+	++
AB-3	-	-	-	-
AC-1	+	+	+	++

Compuesto	NMDAR2A		NMDAR2B	
	A	B	A	B
AC-2	+	++	+	++
AC-3	+	++	+	++
AL-1	+	++	-	-
AL-2	+	+	-	-
AQ-1	+	++	+	++
AQ-2	+	++	+	++
AD	+	++	+	++
AE	-	-	-	-
AF	+	++	+	++
AT	+	+	-	-
AW	+	++	++	+
AX	+	++	-	-
AM	+	++	+	++
AN	+	++	+	++
AG	+	++	-	-
AH	+	++	+	++
AI	+	++	-	-
AJ	+	++	+	++
AK	-	-	-	-
AR	-	-	-	-
AS	+	++	+	++
AO	-	-	+	++
AP	-	-	+	++
AV	-	-	+	++
BY	-	-	++	++
BE	+	+	-	-
BF	+	++	+	++
BG	+	++	+	+
BH	-	-	+	++
BC	+	+	++	++
BD	+	++	+	++
BA	+	++	-	-
BB	+	+	+	++

Compuesto	NMDAR2A		NMDAR2B	
	A	B	A	B
AY-1	-	-	+	++
AY-2	-	-	+	++
AY-3	+	++	+	++
AY-4	+	++	+	+
CI	+	+	+	++
CJ	+	+	+	+
CA	-	-	-	-
CB	-	-	-	-
CC	+	+	-	-
CD	+	++	-	-
CE	-	-	++	++
CF	-	-	+	++
BI	-	-	-	-
BJ	-	-	-	-
BK	-	-	+	+
BL	-	-	+	++
BQ	-	-	+	++
BR	+	++	++	+
BM	-	-	-	-
BN	-	-	-	-
BO	+	+	++	++
BP	-	-	-	-
BS	-	-	+	++
BT	+	++	-	-
BU	+	++	+	++
BV	++	+	+	++
BW	+	++	++	++
BX	-	-	+	++
CG	+	++	-	-
CH	-	-	-	-
DO	+	++	-	-
DP	+	++	++	++
DQ	-	-	+	++

Compuesto	NMDAR2A		NMDAR2B	
	A	B	A	B
DR	+	++	+	++
CG	+	++	-	-
CH	-	-	-	-
DK	+	++	+	++
DL	-	-	+	++
DM	+	++	+	++
DN	+	++	+	++
DI	+	+	+	++
DJ	+	++	+	++
DC	+	++	++	++
DD	+	++	+	++
DE	+	++	+	++
DF	+	++	+	++
DG	+	++	+	+
DH	+	++	++	++
CY	+	++	+	++
CZ	+	++	+	+
DA	+	++	+	++
DB	+	+	+	++
CK	-	-	+	++
CL	+	++	+	++
CO	+	++	+	++
CP	+	++	+	++
CS	-	-	+	++
CT	+	++	+	++
CW	+	++	+	++
CX	+	++	++	++
CM	+	++	+	++
CN	++	++	+	++
CQ	-	-	++	++
CR	+	++	++	++
CU	-	-	++	+
CV	+	++	++	++

Compuesto	NMDAR2A		NMDAR2B	
	A	B	A	B
AB-2	+	++	+	+
AC-1	+	+	+	+
AC-2	+	++	+	++
AC-3	+	+	-	-
AQ-1	+	+	+	++
AD	+	++	-	-
AF	++	+	+	+
AW	+	++	+	++
AM	-	-	+	++
AN	+	++	+	++
AH	+	++	+	++
AJ	+	++	+	++
BY	+	++	-	-
BE	NR	NR	+	++
BH	++	++	NR	NR
BA	NR	NR	+	++
AY-1	+	++	+	++
AY-3	-	-	+	++

F. ENSAYOS FARMACOCINÉTICOS

Las ratas Sprague Dawley recibieron por vía intravenosa una formulación salina normal que contenía 2 mg/kg de los compuestos identificados en la siguiente tabla. La siguiente tabla resume los resultados de la farmacocinética IV.

Compuesto	C ₀ (ng/ml)	AUC _{final} (h*ng/ml)	T _{1/2} (h)	Cl (ml/min/kg)	V _{ss} (L/kg)
AQ-1	6817,22	3334,15	0,36	9,84	0,28
AQ-2	5143,2	2601,7	0,59	12,82	0,36
AD	2797,1	4709	2,27	7,01	0,92
AF	3902,8	6446,2	4,99	5,2	0,59
AM	3460,5	1004,02	2,38	33,32	1,21
AN	3209,4	727,7	4,67	45,98	2,45
AH	3870,5	3022,33	3,68	10,9	1,1
AJ	4862,9	2091,9	0,44	15,42	0,47
BY	10156,1	5963,3	0,64	5,6	0,15

Compuesto	C ₀ (ng/ml)	AUC _{final} (h*ng/ml)	T _{1/2} (h)	Cl (ml/min/kg)	V _{ss} (L/kg)
BH	2387	655,54	0,34	50,53	0,82
AS	2233	2802	3,17	11,83	0,61
AO	11900	4432	2,17	7,59	0,22
AY-3	3159,4	3552,4	6,11	9,4	1,03

En otro experimento, las ratas Sprague Dawley recibieron por vía oral una formulación salina normal que contenía 10 mg/kg de los compuestos identificados en la siguiente tabla. Las muestras de plasma, cerebro y CSF se analizaron en varios puntos temporales durante un período de 24 horas. La siguiente tabla resume los resultados de la farmacocinética oral.

Compuesto	T _{máx} (hr)	C _{máx} (ng/ml)	AUC _{final} (h*ng/ml)	C _{máx} CSF (ng/ml)	C _{máx} Cerebral (ng/ml)	%F
AQ-1	0,83	132,9	349,73	0	0	2
AQ-2	1,08	144,2	599,6	0	0	5
AD	0,33	8558,4	19310,9	1965,2	1143,2	82
AF	0,42	7253,4	16096,3	2781	1313,8	82
AM	0,33	34,22	97,64	0	0	2
AN	0,42	38,9	126,32	0	0	3
AH	1,67	655	2567,2	123	45,8	17
AJ	0,5	1163	2055,1	71,9	0	20
BY	0,83	155,9	486,3	0	0	2
BH	0,25	859,42	613,77	36,66	0	18
AS	0,83	75,37	366,75	0	0	3
AO	2,67	247,08	1316,03	17,89	0	6
AY-3	0,83	2716	8863,3	277	125,3	50

5 G. ENSAYO DE LESIÓN DEL NERVIO BENNETT

El modelo de Bennett de analgesia mecánica se usa para evaluar los efectos analgésicos de los compuestos medidos según el umbral de retirada de la pata. Bennett GJ, Xie YK, "A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man," Pain 33:87-107, 1988. La cirugía de lesión del nervio con constricción crónica del nervio ciático se realiza en animales estudiándose la respuesta analgésica una vez que los animales se han recuperado de la cirugía pero aún muestran un umbral bajo de retirada de la pata después de la aplicación de los filamentos de von Frey. Los animales del vehículo reciben la cirugía y después reciben el vehículo en lugar del compuesto de prueba. Los animales se analizaron 1 h, 24 h y 1 semana después de la prueba del compuesto o la administración del vehículo.

Se utilizaron ratas Sprague Dawley macho de 2-3 meses de edad. Harlan fue el proveedor de todos los estudios. Las ratas se alojaron en jaulas Lucite con lecho de astillas de álamo, mantenidas en un ciclo de luz: oscuridad 12:12 (luces encendidas a las 5 AM), y se les dio acceso ad libitum a Purina Lab Chow (E.U.A.) y agua del grifo durante todo el estudio.

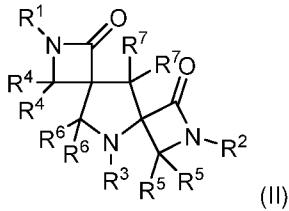
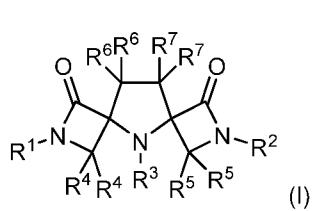
Las ratas se anestesiaron utilizando isoflurano inhalado (2,5 %). La cirugía de lesión del nervio con constrictión crónica del nervio ciático se realizó como se ha descrito anteriormente (Bennett y Xie, 1988). Se realizó una incisión (~ 1,5 cm de longitud) con una navaja de bisturí dorsalmente a través de la piel en la extremidad trasera derecha, paralela y posterior al fémur. Usando pequeñas pinzas hemostáticas puntiagudas, se separaron los músculos bíceps femoral y glúteo superficial. Usando fórceps romos curvos, se aisló y se expuso el nervio ciático común. Para los estudios de analgesia mecánica, se ligó todo el nervio ciático. Usando pinzas hemostáticas/fórceps y cátgut crómico (5-0), se ligó ligeramente el nervio con un nudo cuadrado; se colocaron 3 ligaduras, separadas 1 mm en el nervio. Las ligaduras se apretaron hasta el punto de que la sutura no se deslizó hacia arriba o hacia abajo del nervio. Este protocolo dio lugar a una pérdida parcial de la función del nervio. Las pruebas se realizaron aproximadamente 2 semanas después de la cirugía.

Durante la prueba, las ratas se aclimataron a la superficie de una rejilla de malla de alambre suspendida (1 cm X 1 cm, teniendo el cable 0,3 cm de diámetro) durante 15-20 min. Comenzando con el más pequeño, cada filamento de Von Frey se presionó perpendicularmente a la superficie plantar de la pata trasera afectada (ipsilateral) hasta que se dobló ligeramente y después se mantuvo durante 6 segundos. Si no se observó una retirada obvia de la pata trasera o un comportamiento de encogimiento inmediatamente después de la extracción del filamento, se usó el siguiente filamento más grande de la misma manera. En caso de respuesta, se utilizó un filamento inferior. Esto se repitió hasta que se recopilaron seis respuestas.

Para todos los estudios, se realizó una corrección de los animales respecto a la línea base antes del inicio del estudio para detectar alodinia (definida como un umbral de retirada de la pata inferior a 5). Se estudió un subconjunto de animales con gabapentina (150 mg/kg, vía oral) para asegurar al menos un 50 % de analgesia. Una vez que se confirmó que los animales estaban listos para el inicio del estudio, los animales se equilibraron entre los grupos. Todos los investigadores del estudio desconocían las condiciones de tratamiento. A los animales se les administraron dosis de 0,1, 1 o 10 mg/kg de compuesto de prueba mediante sonda oral (vía oral), a los grupos de control de los animales se les administró gabapentina (150 mg/kg, vía oral) o vehículo (0,5 % de Na-CMC en solución salina estéril al 0,9 % estéril, vía oral). Las pruebas se realizaron 1 hora después de la administración y se volvieron a analizar los animales a las 24 horas y 1 semana después de la administración. Los cálculos de porcentaje de analgesia para cada animal se realizaron mediante la siguiente ecuación: % de analgesia = $[(\log(x) - y)/(\log(z) - y)] * 100$, donde x = el umbral de retirada de la pata para el animal tratado con el fármaco en gramos, y = el promedio de los valores log (x) para el grupo tratado con el vehículo, y z = el umbral de retirada de la pata para animales no sometidos anteriormente a procedimientos de ensayo en gramos (usado un valor histórico de 15). Los resultados para el Compuesto AD, donde el porcentaje de analgesia se mide a 1 hora, 24 horas y 1 semana después de la administración del compuesto son los siguientes: para dosis de 0,1 mg/kg: 37,8 % a 1 h, 29,7 % a 24 h, y 63,1 % a 1 semana; para dosis de 1 mg/kg: 48,8 % a 1 h, 20,6 % a 24 h y 19,8 % a 1 semana; y para dosis de 10 mg/kg: 70,3 % a 1 h, 38,8 % a 24 h y 11,3 % a 1 semana. El estudio tuvo un grupo de control con gabapentina, donde los valores de control de gabapentina (típicos) para dosis de 150 mg/kg son 72 % a 1 h, 16 % a 24 h y 0 % a 1 semana. Para el estudio, la gabapentina se confirmó como efectiva (demostrando al menos un 50 % de analgesia 1 h después de la administración). La gabapentina no fue diferente del vehículo y no produjo analgesia (<5 %) 24 horas y 1 semana después de la administración.

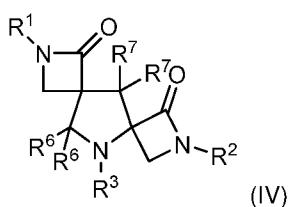
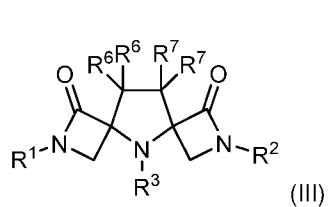
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la Fórmula I o Fórmula II:



o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

- 5 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquilo C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;
- R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;
- R^{31} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;
- R^{32} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;
- 10 10 en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno; o
- 15 15 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;
- 20 20 R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C₁-4, alquenilo C₂-4, -NH-C(O)-alquilo C₁-6, -NH-C(O)-alquilen C₁-6-fenilo, -NH-C(O)-O-alquilo C₁-6, y -NH-C(O)-O-alquilen C₁-6-fenilo; en donde alquilo C₁-4, alquenilo C₁-6, alquenilo C₂-4, alcoxi C₁-4, y fenilo están opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de R^p ;
- dos R^5 tomados juntos forman un resto oxo; o
- en donde para el compuesto de la fórmula I, R^6 y R^7 tomados juntos con los carbonos adyacentes a los que están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C₁-C₃, -alcoxi C₁-C₃, -C(O)NR^aR^b, y -NR^aR^b; y
- 25 25 R^p se selecciona, independientemente en cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁-6, y alquilo C₁-6 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino.
- 30 30 2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:
- a) R^1 y R^2 son hidrógeno; o
- b) R^1 y R^2 son -O-CH₂-fenilo; o
- c) R^1 y R^2 son -alquilo C₁-C₆ cada uno sustituido independiente y opcionalmente con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en -C(O)NR^aR^b, hidroxilo, -SH, y halógeno.
- 35 35 3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto está representado por la Fórmula III o Fórmula IV:



o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquilo C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

5 R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente en

10 cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno;

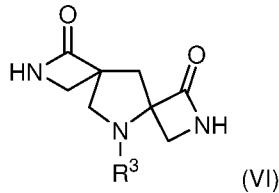
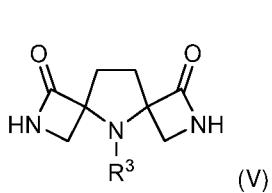
R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

15 R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C₁-4, alquenilo C₂-4, -NH-C(O)-alquilo C₁-6, -NH-C(O)-alquilen C₁-6-fenilo, -NH-C(O)-O-alquilo C₁-6, y -NH-C(O)-O-alquilen C₁-6-fenilo; en donde alquilo C₁-4, alquieno C₁-6, alquenilo C₂-4, alcoxi C₁-4, y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de R^p; o

20 en donde para el compuesto de la fórmula III, R⁶ y R⁷ tomados juntos con los carbonos adyacentes a los que están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C₁-C₃, -alcoxi C₁-C₃, -C(O)NR^aR^b, y -NR^aR^b; y

25 R^p se selecciona, independientemente en cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁-6, y alquilo C₁-6 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto está representado por la Fórmula V o Fórmula VI:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

30 R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

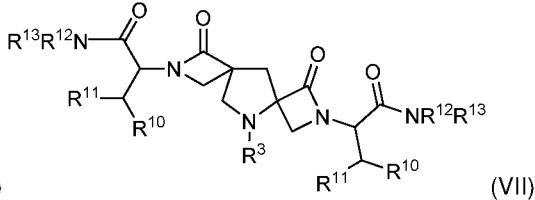
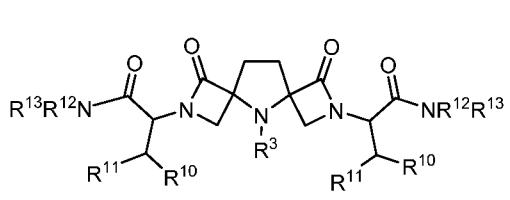
R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente en

35 cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno; y

R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros.

40 5. Un compuesto representado por la fórmula VI o Fórmula VII:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

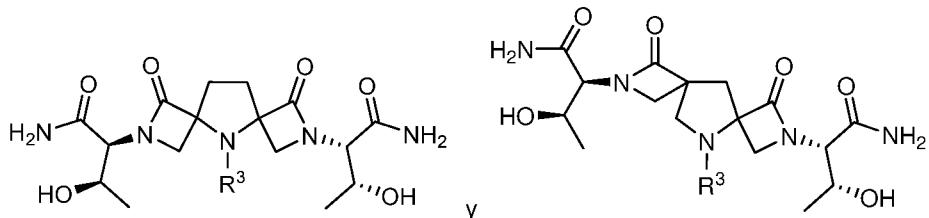
R^{31} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

5 R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

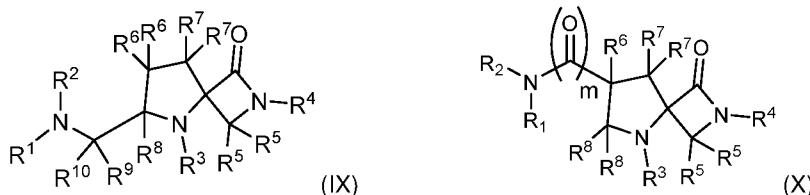
R¹⁰ y R¹¹ en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, -OH, -alquilo C₁-C₆, -alcoxi C₁-C₆, -CO₂H, o -NR'R', en donde R' en cada caso se selecciona independientemente de hidrógeno y, -alquilo C₁-C₆; y

10 R¹² y R¹³ en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno -alquilo C₁-C₆; o R₁₃ y R₁₂ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un heterociclo de 4-6 miembros; y en donde alquilo C₁-C₆ está opcionalmente en cada caso sustituido con uno, dos, o tres sustituyentes cada uno seleccionados del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, y amino.

6. El compuesto de la reivindicación 5, en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:



15 7. Un compuesto representado por la fórmula IX o Fórmula X:



una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, y -C(O)-O-alquilo C₁-C₆; o R¹ y R² tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros;

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³².

R^{31} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R^{32} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; haloalquilo-C₁-C₆, cicloalquilo-C₃-C₆, y fenilo;

25 R⁴ seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-alquilo C₁-C₆, -C(O)-O-alquilo C₁-C₆, y -O-CH₂-fenilo;

en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno;

R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-

6 miembros;

R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, fenilo, amido, amino, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, -NH-C(O)-alquilo C₁₋₆, -NH-C(O)-alquilen C₁₋₆-fenilo, -NH-C(O)-O-alquilo C₁₋₆, y -NH-C(O)-O-alquilen C₁₋₆-fenilo; en donde alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, y fenilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados de R^P; o

R⁶ y R⁷ tomados juntos con los carbonos adyacentes a los que están unidos forman un anillo carbocíclico de 3 miembros que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, -alquilo C_{1-C₃}, -alcoxi C_{1-C₃}, -C(O)NR^aR^b, y -NR^aR^b;

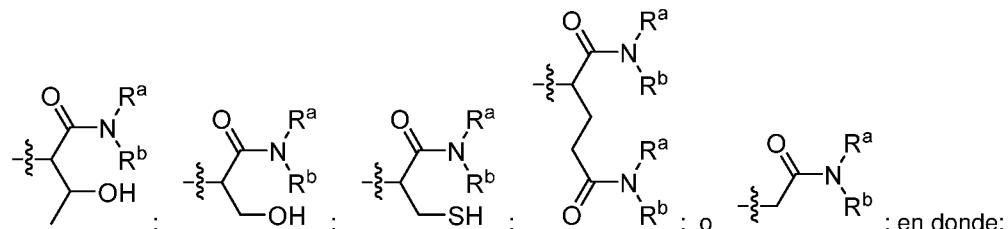
R^P se selecciona, independientemente en cada caso, del grupo que consiste en carboxi, hidroxilo, halógeno, amino, fenilo, alcoxi C₁₋₆, y alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo y amino;

R⁹ y R¹⁰ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C_{1-C₃}, o R⁹ y R¹⁰ tomados juntos forman un resto oxo; y

m es 0 o 1.

15 8. El compuesto de la reivindicación 7, en donde R¹ y R² son hidrógeno o R¹ es hidrógeno y R² es -alquilo C_{1-C₆} opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en -C(O)NR^aR^b, hidroxilo, -SH, y halógeno.

9. El compuesto de la reivindicación 2 u 8, en donde R² se selecciona del grupo que consiste en:



20 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C_{1-C₆}.

10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 7-9, en donde

a) R⁴ y R⁵, cuando están presentes, son hidrógeno, y R⁶ y R⁷ son hidrógeno; o

b) uno, dos o tres o cuatro de R⁶ y R⁷, independientemente, son fluoro.

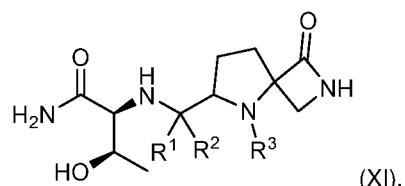
25 11. El compuesto de cualquier reivindicación anterior, en donde:

R³ es hidrógeno, -alquilo C_{1-C₆}, -C(O)-alquilo C_{1-C₆}, -C(O)-O-alquilo C_{1-C₆};

en donde cualquier alquilo C_{1-C₆} mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, -SH, fenilo, -O-CH₂-fenilo y halógeno; y cada fenilo mencionado anteriormente, independientemente en cada caso, está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C_{1-C₃}, hidroxilo y halógeno; opcionalmente en donde

R³ es metilo, isobutilo, -CH₂-fenilo, -C(O)-isopropilo o -C(O)-O-tert-butilo.

12. El compuesto de la reivindicación 7, en donde el compuesto está representado por la fórmula XI:



35 una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, y/o un N-óxido del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y -alquilo C_{1-C₃}, o R¹ y R²

tomados juntos forman un resto oxo;

R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆, -C(O)-R³¹, y -C(O)-O-R³²;

R³¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

R³² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, -alquilo C₁-C₆; -haloalquilo C₁-C₆, -cicloalquilo C₃-C₆, y fenilo;

5 en donde cualquier alquilo C₁-C₆ mencionado anteriormente está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, hidroxilo, fenilo, y halógeno; y cualquier fenilo mencionado anteriormente está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente entre -C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -alcoxi C₁-C₃, hidroxilo, y halógeno; y

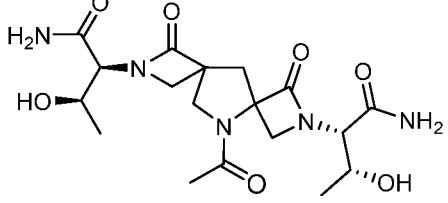
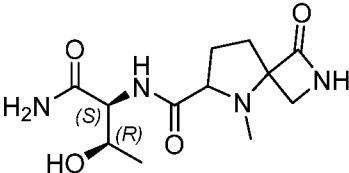
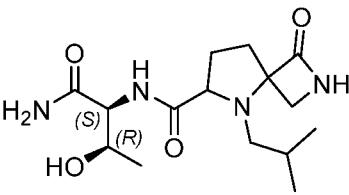
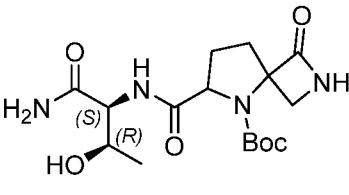
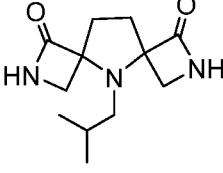
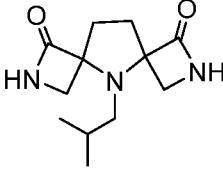
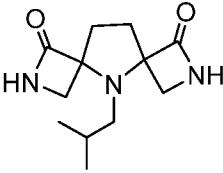
10 R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente en cada caso del grupo que consiste en hidrógeno, -C(O)-O-CH₂-fenilo, y -alquilo C₁-C₃; o R^a y R^b tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4-6 miembros.

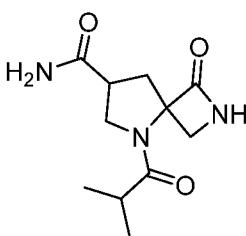
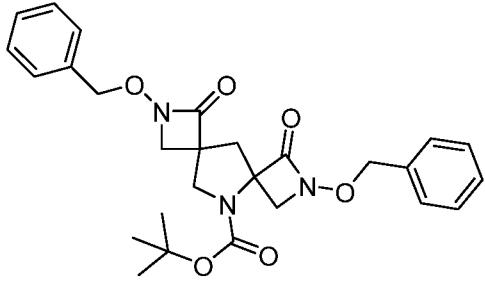
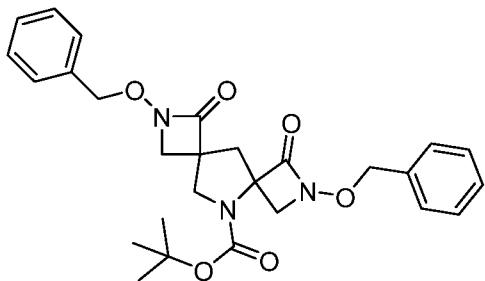
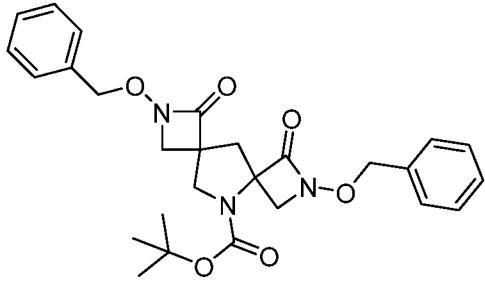
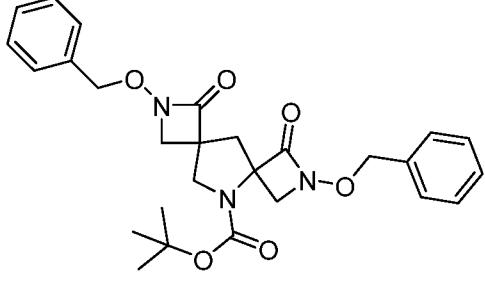
13. El compuesto de la reivindicación 1 o 7, en donde el compuesto se selecciona entre:

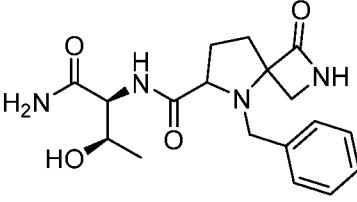
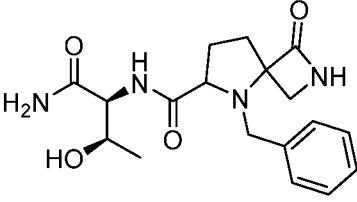
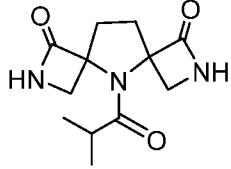
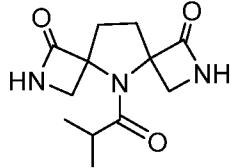
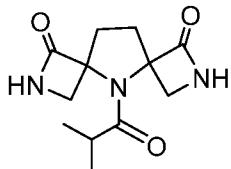
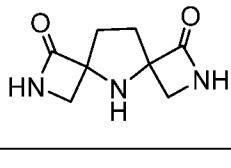
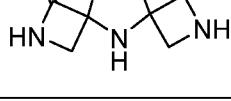
Compuesto	Estructura
UA	
UB	
UC	
UD	
UE	

Compuesto	Estructura
UF	
UG	
UH	
UI	
UJ	
UK	
UL	

Compuesto	Estructura
UM	
UN	
UO	
UP	
UQ	
UR	

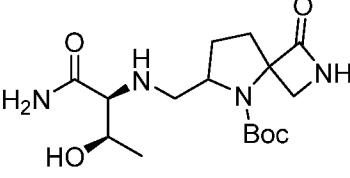
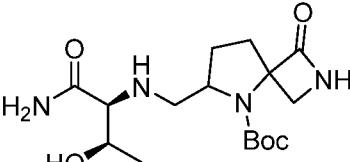
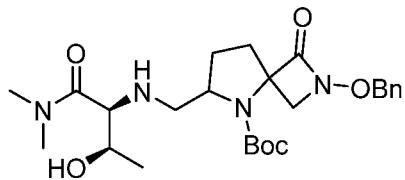
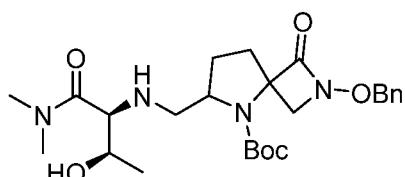
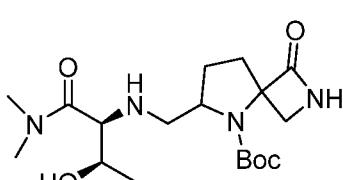
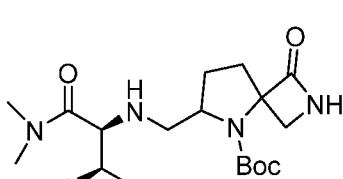
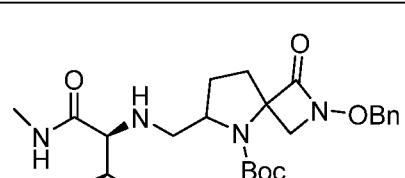
Compuesto	Estructura
US	
UT	
UV	
UW	
AD	
AE	
AF	

Compuesto	Estructura
AT	
AU	
AV	
AW	
AX	

Compuesto	Estructura
AM	
AN	
AG	
AH	
AI	
AJ	
AK	

Compuesto	Estructura
BE	
BF	
BG	
BH	
AR	
AS	

Compuesto	Estructura
AO	
AP	
CI	
CJ	
CA	
CB	

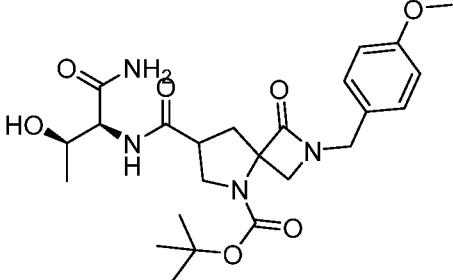
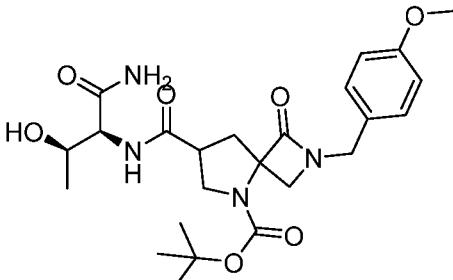
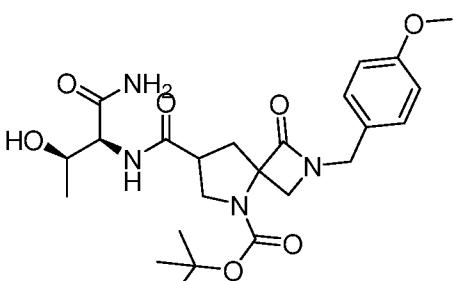
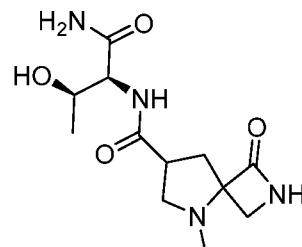
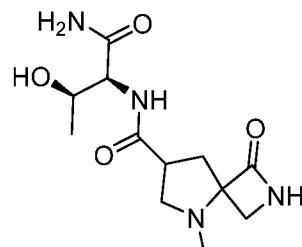
Compuesto	Estructura
BK	
BL	
BQ	
BR	
BS	
BT	
BM	

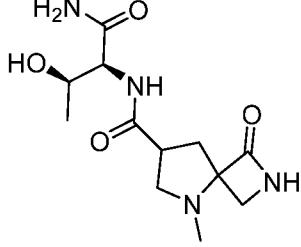
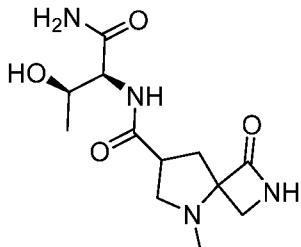
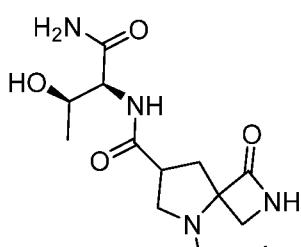
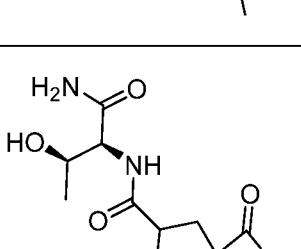
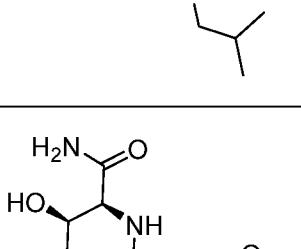
Compuesto	Estructura
BN	
BO	
BP	
BU	
BV	
BW	
BX	

Compuesto	Estructura
BX-2	
AA-1	
AA-2	
AA-3	
AB-1	
AB-2	
AB-3	

Compuesto	Estructura
AC-1	
AC-2	
AC-3	
AL-1	
AL-2	
AQ-1	
AQ-2	

Compuesto	Estructura
DS	
AZ-1	
AZ-2	
AZ-3	
AZ-4	
DT	

Compuesto	Estructura
DU	
DV	
DW	
DX	
DY	

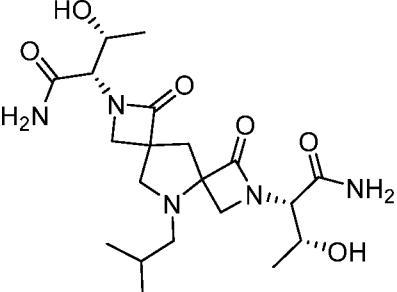
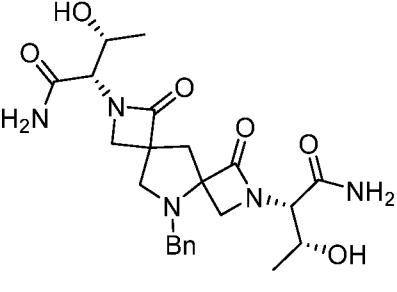
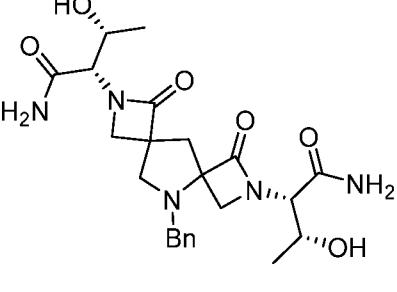
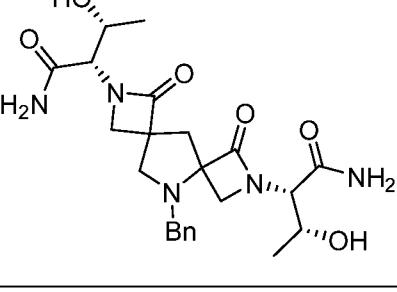
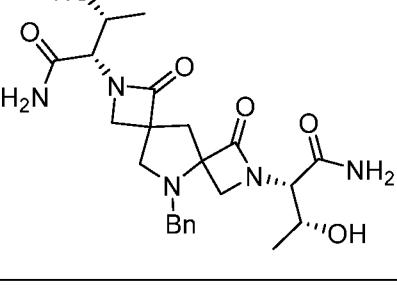
Compuesto	Estructura
DZ	
EA	
EB	
EC	
ED	

Compuesto	Estructura
EE	
EF	
EG	
EH	
EI	

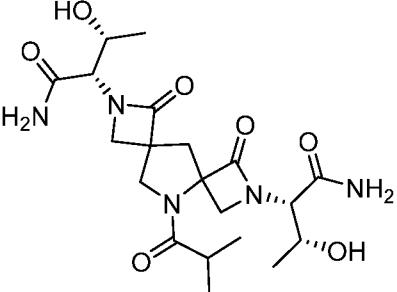
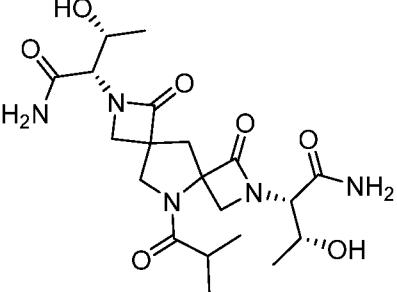
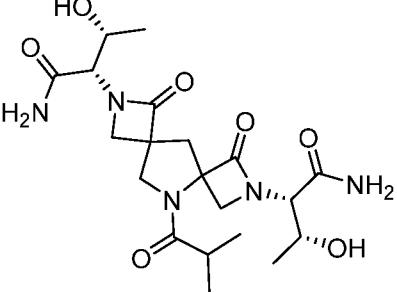
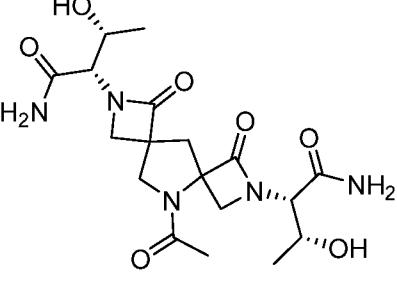
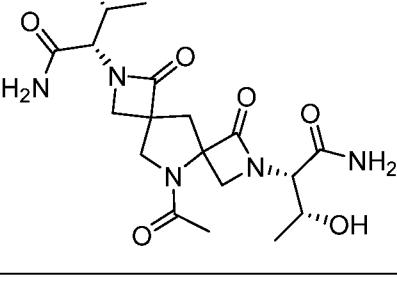
Compuesto	Estructura
EJ	
EK	
EL	
EM	
EN	

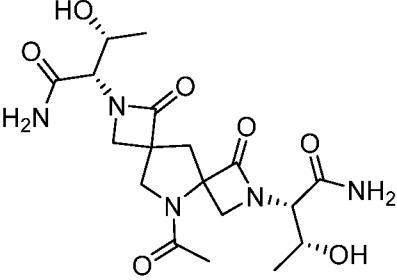
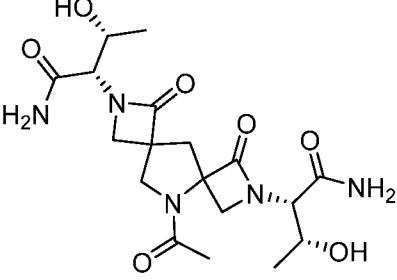
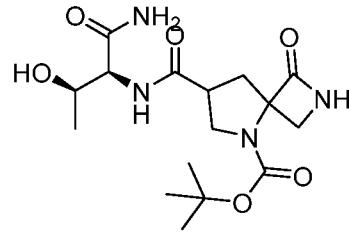
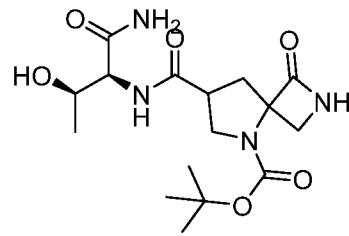
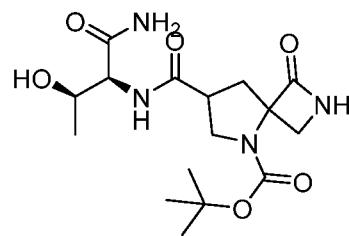
Compuesto	Estructura
EO	
EP	
EQ	
ER	
ES	

Compuesto	Estructura
ET	
EU	
EV	
EW	
EX	

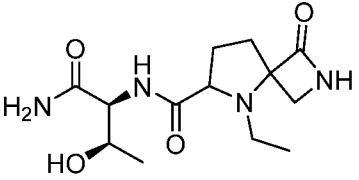
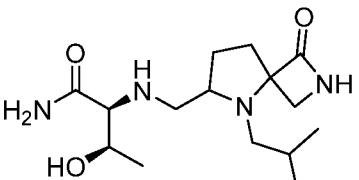
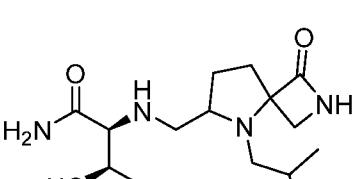
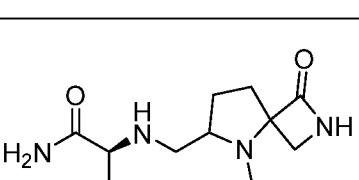
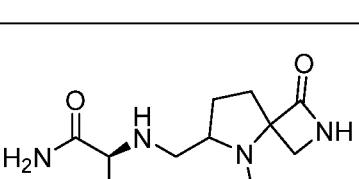
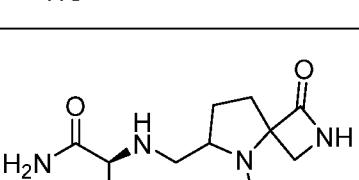
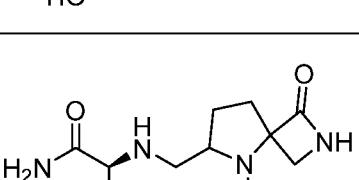
Compuesto	Estructura
EY	
EZ	
FA	
FB	
FC	

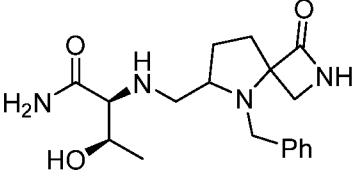
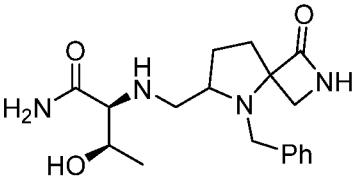
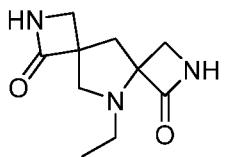
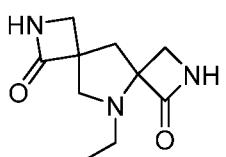
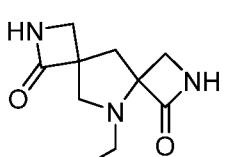
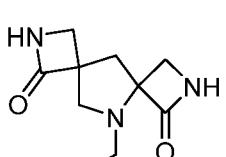
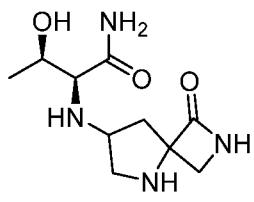
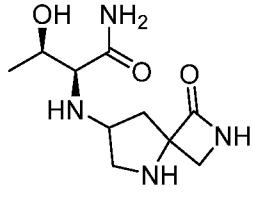
Compuesto	Estructura
FD	
FE	
FF	
FG	
FH	

Compuesto	Estructura
FI	
FJ	
FK	
FL	
FM	

Compuesto	Estructura
FN	
FO	
FP	
FQ	
FR	

Compuesto	Estructura
FS	
CG	
CH	
FT	
FU	
FV	

Compuesto	Estructura
FW	
FX	
FY	
FZ	
GA	
GB	
GC	

Compuesto	Estructura
GD	
GE	
GF	
GG	
GH	
GI	
GJ	
GK	

y sales, estereoisómeros, y/o un N-óxido de los mismos farmacéuticamente aceptables.

14. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde opcionalmente la composición farmacéutica es idónea para administración oral, administración parenteral, administración tópica, administración intravaginal, administración intrarrectal, administración sublingual, administración ocular, administración transdérmica o administración nasal.

5 15. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, o una composición farmacéutica de la reivindicación 14 para su uso en un método para tratar la depresión, la enfermedad de Alzheimer, el trastorno por déficit de atención, la esquizofrenia, la ansiedad, una migraña, dolor neuropático, lesión cerebral traumática o un trastorno del desarrollo neurológico relacionado con la disfunción sináptica.

Fórmula empírica	<chem>C12H19N3O2</chem>	
Peso de la formula	237,30	
Temperatura	294(2) K	
Longitud de onda	0,71073 Å	
Sistema cristalino	Ortorrómbico	
Grupo espacial	$P2_12_12_1$	
Dimensiones de la celda unitaria	$a=8,6170(5)$ Å	$\alpha=90^\circ$
	$b=11,0510(16)$ Å	$\beta=90^\circ$
	$c=27,4310(6)$ Å	$\gamma=90^\circ$
Volumen	2612,2(4) Å ³	
Z	8	
Densidad (calculada)	1,207 Mg/m ³	
Coeficiente de absorción	0,084 mm ⁻¹	
F(000)	1024	
Tamaño del cristal	0,420 x 0,300 x 0,230 mm ³	
Intervalo θ para recolección de datos	2,367 a 28,295°	
Intervalos de índice	-11≤h≤11-14≤k≤14, -36≤l≤36	
Reflexiones recolectadas	30540	
Reflexiones independientes	6343 [R(int)=0,0445]	
Totalidad en $\theta= 25,242^\circ$	99,9 %	
Método de refinamiento	Matriz completa mínimos cuadrados en F ²	
Datos/limitantes/parámetros	6343/0/327	
Bondad de ajuste en F ²	1,070	
Indices R finales [1>2σ(l)]	R1=0,0611 wR2=0,1583	
Indices R (todos los datos)	R1=0,0700, wR2=0,1648	
Parámetro de estructura absoluta	0,2(4)	
Dif. más grande del pico y agujero	0,424 y -0,227 e.Å ⁻³	
Medición	Difractómetro CCD Bruker Smart Apex	
Software usado	SHELXTL-PLUS	

FIGURA 1

Fórmula empírica	<chem>C12H19N3O2</chem>		
Peso de la formula	237,30		
Temperatura	294(2) K		
Longitud de onda	0,71073 Å		
Sistema cristalino	Ortorrómbico		
Grupo espacial	$P2_12_12_1$		
Dimensiones de la celda unitaria	$a=8,6170(5)$ Å	$\alpha=90^\circ$	
	$b=11,0510(16)$ Å	$\beta=90^\circ$	
	$c=27,4310(6)$ Å	$\gamma=90^\circ$	
Volumen	2612,2(4) Å ³		
Z	8		
Densidad (calculada)	1,207 Mg/m ³		
Coeficiente de absorción	0,084 mm ⁻¹		
F(000)	1024		
Tamaño del cristal	0,400 x 0,300 x 0,280 mm ³		
Intervalo θ para recolección de datos	2,367 a 28,332°		
Intervalos de índice	-11≤h≤11, -14≤k≤14, -35≤l≤35		
Reflexiones recolectadas	30944		
Reflexiones independientes	6350 [R(int)=0,0280]		
Totalidad en θ= 25,242°	99,9 %		
Método de refinamiento	Matriz completa mínimos cuadrados en F ²		
Datos/limitantes/parámetros	6350/0/327		
Bondad de ajuste en F ²	1,080		
Indices R finales [1>2σ(l)]	R1=0,0655 wR2=0,1666		
Indices R (todos los datos)	R1=0,0748, wR2=0,1737		
Parámetro de estructura absoluta	0,3(3)		
Dif. más grande del pico y agujero	0,457 y -0,243 e.Å ⁻³		
Medición	Difractómetro CCD Bruker Smart Apex		
Software usado	SHELXTL-PLUS		

FIGURA 2