

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 905**

51 Int. Cl.:

C07D 265/30 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/553 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2011 E 11806295 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2013 EP 2483255**

54 Título: **Derivados de oxazina y su uso en el tratamiento de trastornos neurológicos**

30 Prioridad:

21.01.2011 US 201161435088 P

12.01.2011 US 201161432058 P

23.07.2010 WO PCT/EP2010/060718

13.07.2010 US 201061363702 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.02.2014

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

BADIGER, SANGAMESH;

CHEBROLU, MURALI;

FREDERIKSEN, MATHIAS;

HOLZER, PHILIPP;

HURTH, KONSTANZE;

LI, LEI;

LIU, HUI;

LUEOEND, RAINER MARTIN;

MACHAUER, RAINER;

MOEBITZ, HENRIK;

NEUMANN, ULF;

RAMOS, RITA;

RUEEGER, HEINRICH;

SCHAEFER, MICHAEL;

TINTELNOT-BLOMLEY, MARINA;

VEENSTRA, SIEM JACOB;

VOEGTLE, MARKUS y

XIONG, XIN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 442 905 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

Derivados de oxazina y su uso en el tratamiento de trastornos neurológicos

La Enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo devastador. Sus formas esporádicas afectan la población mayor (incremento agudo en la incidencia a > 75 años de edad), adicionalmente, existen varias formas familiares con un ataque de la enfermedad en la cuarta o quinta década de la vida. Patológicamente, este se caracteriza por la presencia de placas extracelulares seniles, y enmarañamientos neurofibrilares intracelulares en el cerebro del paciente. El constituyente central de las placas seniles son pequeños péptidos amiloides de 4 kDa. Ellos se generan por el procesamiento proteolítico de una gran proteína trans-membrana, la proteína precursora amiloide (APP). La disociación del APP mediante la beta-secretasa (BACE-1) libera el fragmento de APP-beta soluble, mientras que el terminal C con una longitud de 99 aminoácidos permanece anclado a la membrana. Este fragmento del terminal C es posteriormente procesado proteolíticamente por la gama-secretasa (una membrana del complejo multienzima) para generar péptidos amiloides de varia longitud, predominantemente 40 y 42 aminoácidos de largo, (Hardy J. Selkoe DJ (2002) Science; 297 (5580): 353-356.

Si, bajo las condiciones patológicas, la generación de estos péptidos ocurre a una tasa creciente, o si su remoción del cerebro se afecta, las concentraciones crecientes de péptido amiloide en el cerebro conducen a la formación de oligómeros, fibrilas y eventualmente placas (Farris W, et al (2007) Am. J. Pathol; 171 (1). 241-251). Se ha mostrado, que la deposición de péptidos amiloides y placas en el cerebro es el primer evento medible en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer, y que es la que dispara la pérdida de sinapsis, contactos sinápticos, y neuronas (Grimmer T. et al (2009) Neurobiology of Aging; 30 (12): 1902- 1909). La atrofia del cerebro causada por la pérdida masiva de neuronas es seguida por daños en la cognición, memoria, orientación y capacidad de efectuar tareas de la vida diaria, es decir, demencia clínicamente manifiesta. (Okello A, et al (2009) Neurology; 73 (10): 754- 760).

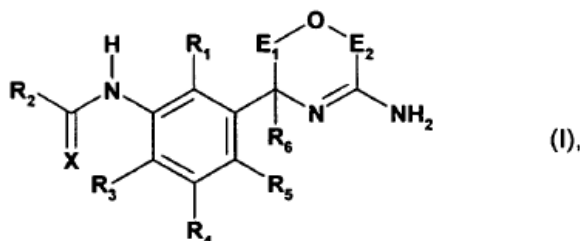
El BACE-1, también conocido como Asp2 o Memapsina 2, es una proteasa aspártica de trans-membrana altamente expresada en las neuronas. Esta se co-localiza con su sustrato APP en los compartimentos de Golgi y endocítico (Willem M, Lammich S, Haass C (2009) Semin. Cell Dev. Biol; 20 (2): 175- 182). Los estudios "Knock – out" en ratones han demostrado la ausencia de formación de péptido amiloide, mientras que los animales son saludables y fértiles (Ohno M. et al (2007) Neurobiol. Dis.; 26 (1): 134- 145). La ablación genética del BACE- 1 en ratones que sobre expresan APP ha demostrado ausencia de formación de placa, y el reversamiento de los déficit cognitivos (Ohno M et al (2004) Neuron; 27- 33). Los niveles de BACE-1 son elevados en los cerebros de pacientes esporádicos con enfermedad de Alzheimer (Hampel H, Shen Y (2009) Scand. J. Clin. Lab. Invest.; 69 (1): 8- 12).

Tomados juntos, estos hallazgos sugieren que la inhibición del BACE-1 puede ser una estrategia terapéutica favorable para la enfermedad de Alzheimer.

Los documentos WO 2008/133273 y WO 2007/049532 describen inhibidores BACE.

La presente invención se relaciona con derivados de oxazina novedosos que tienen actividad inhibitoria BACE, con su preparación, y su uso médico en medicamentos que los comprenden.

La relación se relaciona con un compuesto de fórmula



En el cual X, E₁, E₂, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, y R₆, son como se definió para suministrar un compuesto seleccionado de:

[3-(5-amino-3-difluorometil- 3,6- dihidro – 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4 fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-piridina-2-carboxílico;

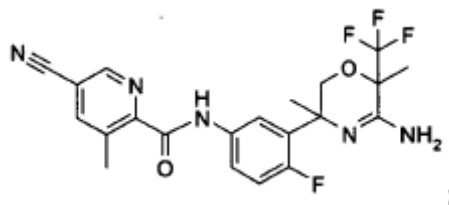
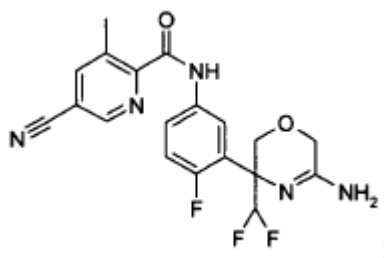
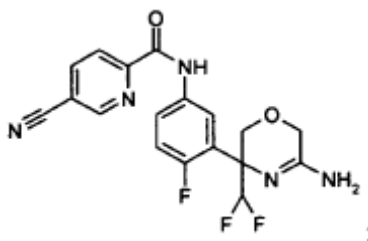
[3-(5-amino-3-difluorometil- 3,6- dihidro – 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4 fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico;

[3-(5-amino-3,6-dimetil- 6- trifluorometil -3,6- dihidro - 2H- [1,4] ozaxin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico; y

sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En un primer aspecto, se suministra por lo tanto un compuesto seleccionado del grupo que consiste de:

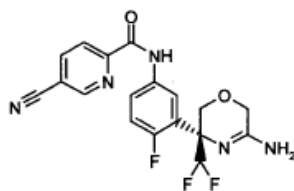
5



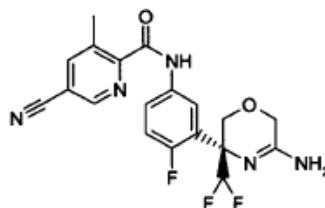
y sales farmacéuticamente aceptables de los medios.

10

En una realización, se suministra un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, que tiene la siguiente fórmula

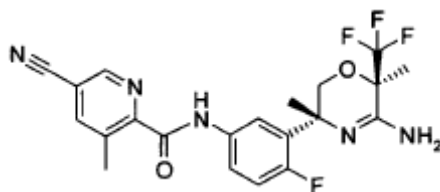


En otra realización, se suministra un compuesto, a una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, que tiene la siguiente fórmula



15

En otra realización, se suministra un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, que tiene la siguiente fórmula



En otro aspecto, se suministra una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se definió anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, como un ingrediente activo y un portador o diluyente farmacéutico.

- 5 Por cuenta de uno o más de un átomo de carbono asimétrico, que puede estar presente en un compuesto de la fórmula I, un compuesto correspondiente de la fórmula I puede existir en forma pura ópticamente activa o en la forma de una mezcla de isómeros ópticos, por ejemplo, en la forma de una mezcla racémica. Todos los tales isómeros ópticos y todas las tales mezclas que incluyen mezclas racémicas, son parte de la presente invención.

10 Como se utilizan aquí, los términos "isómeros" se refieren a diferentes compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero difieren en la disposición y configuración de los átomos. También como se utiliza aquí, el término "un isómero óptico" o "un estereoisómero" se refiere a cualquiera de las varias configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención que incluye isómeros geométricos. Se entiende que se puede unir un sustituyente al centro quiral del átomo de carbono. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros o racematos del compuesto. "Enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes de espejo no superponibles uno del otro. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se utiliza para designar una mezcla racémica donde sea adecuada. "Diastereoisómeros" son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes espejo uno del otro. La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo al sistema Cahn-Ingold-Prelog R-S. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral se puede especificar bien sea por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se conoce se puede designar (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro o levorrotatoria) la que ellos rotan la luz polarizada en el plano a una longitud de onda de la línea de sodio D. Ciertos de los compuestos descritos aquí contienen uno o más centros asimétricos o ejes y pueden así dar origen a enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas que se pueden definir, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-. La presente invención pretende incluir todos los tales posibles isómeros, incluyendo las mezclas racémicas, las formas ópticamente puras y las mezclas intermedias. Los isómeros ópticamente activos (R)- y (S)- se pueden preparar utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver utilizando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede estar en la configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo di sustituido, el sustituyente ciclo alquilo puede tener una configuración cis o trans.

- 30 Un compuesto de fórmula I puede existir en una forma tautomérica. Todos los tales tautómeros son parte de la presente invención.

En aún una realización adicional, la invención se relaciona con [3-((3R, 6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico en forma libre. En aún una realización adicional, la invención se relaciona con [3-((3R, 6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. En aún una realización adicional, la invención se relaciona con [3-((3R, 6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico en una forma de sal de clorhidrato.

En aún una realización adicional, la invención se relaciona con [3-((R))-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico en la forma libre. En aún una realización adicional, la invención se relaciona con [3-((R))-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la invención se relaciona con [3-((R))-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico en una forma de sal de clorhidrato. En aún una realización adicional la invención se relaciona con hidrato clorhidrato de [3-((R))-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-yl)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico.

Como se utilizan aquí, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de base de un compuesto de la invención. "Sales" incluyen en particular "sales" farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptable" se refieren a sales que retienen la efectividad y las propiedades biológicas de los compuestos de esta invención y, que típicamente no son biológica o de otra manera indeseable. En muchos casos,

los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácido y/o base en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a estos.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromohidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, camforsulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodo hidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecadoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/dihidrogen fosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y sales de trifluoroacetato. Los ácidos inorgánicos de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, y ácido sulfosalisílico. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan de sales de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc, y cobre; particularmente las sales adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

Las bases orgánicas de las cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de ocurrencia natural y resinas de intercambio iónico básico. Ciertas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar de un compuesto padre. Una porción básica o ácida, mediante métodos químicos convencionales. En general, tales sales se pueden preparar al hacer reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de una base apropiada (tal como hidróxido de Na, Ca, Mg, o K, carbonato, bicarbonato o similares), o al hacer reaccionar las formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones se llevan típicamente a cabo en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En general, el uso de medio no acuoso como éter, etil acetato, etanol, isopropanol, o acetonitrilo es deseable, cuando es practicable. Las listas de sales adicionales adecuadas se pueden encontrar, por ejemplo, en "Remington Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton Pa. (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley – VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Cuando tanto el grupo básico como el grupo ácido están presentes en la misma molécula, los compuestos de la presente invención también pueden formar sales interna, por ejemplo, moléculas zwitteriónicas.

Los profármacos de los compuestos de la presente invención convierten in vivo a los compuestos de la presente invención. Un profármaco es un compuesto activo o inactivo que se modifica químicamente a través de una acción fisiológica in vivo, tal como hidrólisis metabolismo y similares, en un compuesto de esta invención luego de la administración del profármaco a un sujeto. La idoneidad y las técnicas involucradas en la elaboración y el uso de profármacos son bien conocidas por aquellos expertos en la técnica. Los profármacos pueden ser conceptualmente divididos en dos categorías no exclusivas, los profármacos bio-precusores y los profármacos portadores. Ver The Practice of Medicinal Chemistry, Ch. 31 – 32 (Ed. Wermuth, Academic, Press, San Diego, Calif., 2001). En general, los profármacos bio-precusores son compuestos que son inactivos o que tienen baja actividad comparado con el correspondientes compuesto fármaco activo, que contiene uno o más grupos protectores y se convierten a una forma activa mediante el metabolismo o la solvólisis. Tanto la forma del fármaco activo como cualquiera de los productos metabólicos liberados debe tener una toxicidad aceptablemente baja.

Los profármacos portadores son compuestos fármacos que contienen una porción de transporte, por ejemplo, que mejora la toma y/o el suministro localizado a él o los sitios de acción. Deseablemente para tal profármaco portador, el enlace entre la porción de fármaco y la porción de transporte es un enlace covalente, el profármaco es inactivo o menos activo que el compuesto de fármaco, y cualquier porción de transporte liberada es aceptablemente no tóxica. Para los profármacos donde la porción de transporte pretende mejorar la toma, típicamente la liberación de la porción de transporte debe ser rápida. En otros casos, es deseable utilizar una porción que suministre liberación lenta, por ejemplo, ciertos polímeros u otras porciones, tal como ciclo dextrinas. Los profármacos portadores pueden, por ejemplo, ser utilizados para mejorar una o más de las siguientes propiedades: lipofilicidad incrementada, duración incrementada o efectos farmacológicos, especificidad de sitio incrementada, toxicidad y reacciones adversas disminuidas, y/o mejoran la formulación del fármaco (por ejemplo estabilidad, solubilidad en el agua, supresión de una propiedad organoléptica o físico química indeseable). Por ejemplo, la lipofilicidad se puede incrementar mediante la esterificación de (a) grupos hidroxilo con ácidos carboxílicos lipófilos (por ejemplo un ácido carboxílico que tiene al menos una porción lipófila), o (b) grupos de ácido carboxílico con alcoholes lipófilos (por ejemplo un alcohol que tiene al menos una porción lipófila, por ejemplo, alcoholes alifáticos).

Los profármacos de ejemplo son, por ejemplo, ésteres de ácidos carboxílicos libres y derivados de S-acilo de tioles y derivados de O-acilo alcoholes o fenoles, en donde el acilo tiene un significado tal como se definió aquí. Los profármacos adecuados son a menudo derivados de éster farmacéuticamente aceptables convertibles mediante solvolisis bajo condiciones fisiológicas al ácido carboxílico padre, por ejemplo, ésteres de alquilo inferior, ésteres de cicloalquilo, ésteres de alquilino inferior, ésteres de bencilo, ésteres de alquilo inferior mono o disustituídos, tal como el omega- (amino, alquilamino mono o di inferior, carboxi, alcóxicarbonil inferior)- ésteres de alquilo inferior, el α - (alcanoiloxi inferior, alcóxicarbonilo inferior o alquilaminocarbonilo di-inferior)- ésteres de alquilo inferior, tal como el éster de pivaloiloximetilo y los similares convencionalmente utilizados en la técnica. Adicionalmente, las aminas se han enmascarado como derivados arilcarboniloximetil sustituidos que son disociados por esterasas in vivo que liberan el fármaco libre y el formaldehído (Bundgaard, J. Med. Chem. 2503 (1989)). Más aún, los fármacos que contienen un grupo NH ácido tal como imidazol, imida, indol y similares, se han enmascarado con grupos N-aciloximetilo (Bundgaard, Design of Prodrugs, Elsevier (1985)). Los grupos hidroxilo se han enmascarado como ésteres y éteres. La EP 039, 051 (Sloan and Little) describe profármacos de ácido hidroxámico de base Manich, su preparación y su uso.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, que incluyen sus sales, también se pueden obtener en la forma de sus hidratos, o incluyen otros solventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden inherentemente o mediante diseño formar solvatos con solventes farmacéuticamente aceptables (que incluye agua); por lo tanto, se pretende que la invención abarque tanto las formas solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (que incluye sales farmacéuticamente aceptables de los mismos) con una o más moléculas solventes. Tales moléculas solventes son aquellas comúnmente utilizadas en la técnica farmacéutica, que son conocidas por ser inocuas al receptor, por ejemplo, agua, etanol, y similares. El término "hidratos" se refiere al complejo donde la molécula solvente es agua.

Los compuestos de la presente invención, que incluye sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden inherentemente o mediante diseño formar polimorfos.

La presente invención incluye todos los compuestos marcados con isótopo farmacéuticamente aceptables de la fórmula I, en donde uno o más de un átomo es / son remplazados por uno o más de un átomo que tiene el mismo número atómico como, pero una masa atómica diferente de aquella (s) usualmente encontrada en la naturaleza. Ejemplos de tales isótopos son aquellos del carbono, tales como el ^{11}C , ^{13}C o ^{14}C , cloro, tal como el ^{36}Cl , flúor tal como el ^{18}F , bromo, tal como ^{76}Br , hidrógeno, tal como el ^2H , o ^3H , yodo tal como ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I o ^{131}I , nitrógeno, tal como ^{13}N , ^{15}N oxígeno tal como ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , fósforo tal como ^{32}P , o azufre tal como ^{35}S . Un compuesto marcado con isótopo de la fórmula I se puede preparar mediante un proceso análogo a aquellos descritos en los ejemplos o mediante una técnica convencional conocida por aquellos expertos en el arte que utiliza un reactivo o material de partida marcado isotópicamente de manera apropiada. La incorporación de un isótopo más pesado, tal como el ^2H (D), puede suministrar mayor estabilidad metabólica a un compuesto de la fórmula I, que puede dar como resultado, por ejemplo, una vida media in vivo incrementada del compuesto o los requisitos de dosificación reducida. Ciertos compuestos marcados con isótopo de la fórmula I, por ejemplo aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, tal como el ^3H , o el ^{14}C , se pueden utilizar en estudios de distribución de tejido en fármaco o sustrato. Los compuestos de la fórmula I con un isótopo que emite positrones, tal como el ^{11}C , ^{18}F , ^{13}N , ^{15}O , puede ser útil en la tomografía de emisión de positrones (PET) o estudios de tomografía computarizada por emisión de fotones simples (SPECT), por ejemplo examinar las ocupaciones del sustrato- receptor.

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en donde el solvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido, por ejemplo, D2O, d6- acetona, d6- DMSO.

Los compuestos de la invención, es decir, los compuestos de fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donadores y/o aceptadores para los enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar co-cristales con formadores de co-cristal adecuados. Estos co-cristales se pueden preparar de compuestos de la fórmula (I) mediante procedimientos de formación de co cristal conocidos. Tales procedimientos incluyen maceramiento, calentamiento, co-sublimación, co-fundición o poner en contacto compuestos de solución de la fórmula (1) con el formador de co- cristal bajo condiciones de cristalización aislar los co-cristales formados de esta manera. Los formadores de co-cristal adecuados incluyen aquellos descritos en el documento WO 2004/078163. De esta manera la invención suministra además co-cristales que comprenden un compuesto de fórmula (1).

En otra realización, la invención se relaciona con un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que se selecciona de:

[3- (5-amino-3,6-dimetil- 6- trifluoro-metil -3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] -amida de ácido 5-ciano-3-metil- piridina-2- carboxílico;

[3- (5-amino-3- difluorometil- 3,6-dihidro- 2H- [1,4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5- ciano- piridino- 2- carboxílico; y

[3- (5-amino-3-difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5- ciano-3- metil- piridina- 2-carboxílico;

- 5 En otra realización, la invención se relaciona con un compuesto de la invención, o con una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que se selecciona de:

[3- ((3R, 6R)-5- amino-3,6- dimetil- 6 -trifluorometil—3,6 -dihidro-2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano- 3-metil-piridina-2- carboxílico;

- 10 [3- ((R)-5- amino-3- diclorometil-3,6- dihidro -2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-piridina- 2- carboxílico;y

[3- ((R)-5- amino-3, difluorometil—3,6 -dihidro-2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3-metil- piridina-2-carboxílico;

- 15 En una realización, la invención se relaciona, con [3- 5-amino-3-difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5- ciano- piridino- 2-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En otra realización, la invención se relaciona con [3-((R)- 5-amino-3- difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano- piridino-2- carboxílico, a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En aún otra realización, la invención, se relaciona con [3-((S)- 5-amino-3- difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il) -4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-piridino -2-carboxílico, a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

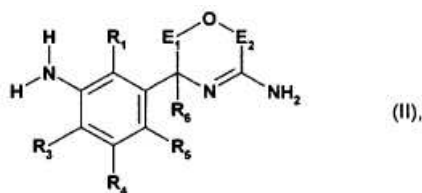
- 20 En un aspecto más específico, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((R)-5- amino-3- difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il) -4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano- piridino-2- carboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. en otra realización, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((R)-5- amino-3- difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5- ciano-piridino- 2- carboxílico que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo con al menos 1, 2, o 3 picos que tienen valores de ángulo de refracción 2 theta (θ) seleccionados de 8.3, 10.8, 16.6, 18.9, 21.5, 22.2, 23.3, 25.4, y 28.5 cuando se miden utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$, mas particularmente en donde dichos valores pueden ser más o menos $0.2^\circ \pm 2\theta$. En una realización adicional, la invención se relaciona con una forma cristalina del [3- ((R)-5- amino-3- difluorometil - 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5- ciano-piridino-2 -carboxílico que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente iguales al patrón de difracción de rayos X de polvo mostrado en la Figura 1 cuando se mide utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$. Para detalles ver el Ejemplo 152.

- 35 En un aspecto más específico, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((3R, 6R)-5- amino- 3,6- dimetil-6- trifluorometil-3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3- metil-piridino-2- carboxílico. En otra realización, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((3R, 6R)-5- amino-3,6- dimetil-6- trifluorometil 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3- metil-piridina-2- carboxílico que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo con al menos 1, 2, o 3 picos que tienen valores de ángulo de refracción 2 theta (θ) seleccionado de 8.3, 9.0, 10.9, 12.9, 13.9, 15.4, 16.2, 17.1, 18.2, y 24.5° cuando se miden utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$ en donde dichos valores son más o menos $0.2^\circ \pm 2\theta$. En una realización adicional, la invención se relaciona con una forma cristalina de del [3- ((3R, 6R)-5- amino- 3,6- dimetil-6- trifluorometil- 3,6-dihidro- 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3- metil-piridina-2- carboxílico que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo sustancialmente igual que el patrón de difracción de rayos X de polvo mostrado en la Figura 2 cuando se mide utilizando la radiación $\text{CuK}\alpha$. Para detalles ver Ejemplo 72b. En aún una realización aún adicional, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((3R, 6R)-5- amino-3, 6-dimetil - 6-trifluorometil-3, 6-dihidro- 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluorofenil] –amida de ácido 5-ciano-piridino-2- carboxílico en asocio con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

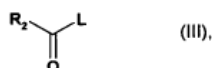
- 45 En un aspecto más específico, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((R)-5- amino-3- difluorometil-3,6- dihidro- 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3- metil-piridino-2- carboxílico. En una realización, la invención se relaciona con una forma cristalina de [3- ((R)-5-amino- 3-difluorometil- 3,6- dihidro - 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3- metil-piridino-2- carboxílico en asocio con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

- 50 Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I, en la forma libre o en la forma de sal, comprende

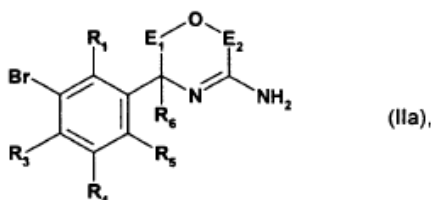
a) la reacción de un compuesto de fórmula



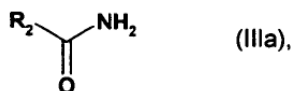
en el cual R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , E_1 , y E_2 son como se definió para la fórmula I, en la forma libre o en la forma de sal, con un compuesto de la fórmula



- 5 En la cual R_2 es como se definió para la fórmula I y L es un grupo saliente, en forma libre o en forma de sal,
b) la reacción del compuesto de fórmula



en la cual R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , E_1 , y E_2 son como se definió para la fórmula I, en forma libre o en forma de sal, con un compuesto de fórmula



- 10 en el cual R_2 es como se definió para la fórmula I en forma libre o en forma de sal,
c) la reducción opcional, oxidación u otra funcionalización del compuesto resultante,
d) la disociación de cualquier grupo (s) protector opcionalmente presente y
e) la recuperación del compuesto así obtenible de fórmula I en forma libre o en forma de sal.
- 15 Las reacciones se pueden efectuar de acuerdo a métodos convencionales, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.
- La preparación de las mezclas de reducción y la purificación de los compuestos así obtenibles se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos conocidos.
- Las sales se pueden preparar de los compuestos libres de manera conocida, y viceversa.
- 20 Los compuestos de fórmula I se pueden preparar mediante procesos convencionales adicionales, por ejemplo, como se describe en los ejemplos.
- Los materiales de partida de la fórmulas II y III son conocidos, se pueden preparar de acuerdo a procedimientos convencionales partiendo de los compuestos conocidos, se pueden preparar de los compuestos conocidos como se describe en los ejemplos o se pueden preparar utilizando procedimientos análogos a aquellos descritos en los ejemplos.
- 25 Los compuestos de fórmula I, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, en lo sucesivo se denominan a menudo como "agentes de la invención", exhiben propiedades farmacológicas valiosas, cuando se prueban in vitro o in vivo y son, por lo tanto, útiles en medicamentos.

Por ejemplo, los agentes de la invención son inhibidores de proteasas aspárticas y se pueden utilizar para el tratamiento o prevención de una condición, enfermedad o trastorno que involucra procesamiento de tales enzimas. Particularmente, los agentes de la invención inhiben la beta secretasa y, así, la generación de beta amiloide y la posterior agregación en oligómeros y fibrilas.

- 5 Las propiedades de inhibición de un agente de la invención hacia las proteasas se pueden evaluar en pruebas como se describe en lo sucesivo.

Prueba 1: Inhibición del BACE-1 humano

- 10 El BACE-1 recombinante (dominio extracelular, expresado en baculovirus y utilizando métodos estándares) en concentraciones de 0,1 a 10 nM se incuba con el compuesto de prueba en varias concentraciones durante 1 hora a temperatura ambiente en 10 a 100 mM de regulador de acetato, pH 4, 5 que contiene 0,1% de CHAPS. El sustrato de péptido sintético extinguido con fluorescencia, derivado de la secuencia de APP y que contiene el par adecuado fluoróforo – extinguidor, se agrega a una concentración final de 1 a 5 μ M, y el incremento de fluorescencia se registra a una longitud de onda de excitación/emisión adecuada en un fluorímetro de espectro con micro placa durante 5 a 30 minutos en intervalos de 1 minuto. Los valores IC_{50} se calculan del porcentaje de inhibición de la actividad de BACE-1 como una función de la concentración del compuesto de prueba.

Prueba 2: Inhibición del BACE-2 humano

- 20 El BACE-2 recombinante (dominio extracelular, expresado en baculovirus y purificado utilizando métodos estándar) a concentraciones de 0,1 a 10 nM se incuba con el compuesto de prueba a varias concentraciones durante 1 hora a temperatura ambiente en 10 a 100 mM de regulador de acetato, pH 4, 5 que contiene 0,1% CHAPS. El sustrato de péptido sintético, derivado de la secuencia de APP y que contiene el par de fluorófono-extinguidor adecuado, se agrega a una concentración final de 1 a 5 μ M, y el incremento en la fluorescencia se registra a una longitud de onda de excitación/emisión en un espectro fluorímetro de micro placa durante 5 a 30 minutos a intervalos de 1 minuto. Los valores IC_{50} se calculan del porcentaje de inhibición de la actividad BACE-2 como una función de la concentración del compuesto de prueba.

25 Prueba 3: Inhibición de la catepsina D humana

- 30 La catepsina D recombinante (expresada como propcatepsina D en baculovirus, se purifica utilizando métodos estándar y se activa mediante incubación en un regulador de formato de sodio pH 3.7) se incuba con el compuesto de prueba en varias concentraciones durante 1 hora a temperatura ambiente en formato de sodio o regulador de acetato de sodio a un pH adecuado dentro del rango de pH 3.0 a 5.0. El sustrato de péptido sintético Mca- Gly- Lys- Pro- Ile- Leu- Phe- Phe- Arg- Leu- Lys (DNP)- D- Arg- NH_2 se agrega a una concentración final de 1 a 5 μ M, y el incremento en la fluorescencia se registra a una excitación de 325 nm y a una emisión de 400 nm en un fluorímetro de espectro de micro placa durante 5 a 30 minutos a intervalos de 1 minuto. Los valores IC_{50} se calculan del porcentaje de inhibición de la actividad de catepsina D como una función de la concentración del compuesto de prueba.

35 Prueba 4: Inhibición de la liberación celular del péptido amiloide 1-40

- 40 Las células de ovario de Hámster chino son transfectadas con el gen para la proteína precursora amiloide. Las células son puestas en placa a una densidad de 8000 células/pozo en placas de micro título de 96 pozos y cultivadas durante 24 horas en un medio de cultivo celular DMEM que contiene 10% de FCS. El compuesto de prueba se agrega a las células a varias concentraciones, y las células se cultivaron durante 24 horas en la presencia del compuesto de prueba. Los sobrenadantes se recolectan, y la concentración del péptido amiloide 1- 40 se determina utilizando técnicas de inmunoensayo del estado de la técnica, por ejemplo, inmunoensayo homogéneo de fluorescencia de tiempo resuelto (HTRF) “ELISA intercalado”, un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia. La potencia del compuesto se calcula del porcentaje de inhibición de la liberación de péptido amiloide como una función de la concentración del compuesto de prueba.

- 45 Los agentes de la invención se probaron en al menos una de las pruebas descritas anteriormente. Las actividades específicas de los agentes de la invención se describen en el Ejemplo 186.

- 50 Como se utiliza aquí el término “portador farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensoactivos, antioxidantes, preservativos (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, ligadores, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes endulzantes, agentes saborizantes, tintes, y similares y combinaciones de los mismos, como se conocería por aquellos expertos en la técnica (ver, por ejemplo, Remington Pharmaceutical Science, 18th Ed. Mack Printing

Company, 1990, pp. 1289-1329). Excepto hasta ahora e igual que cualquier portador convencional es incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en composiciones terapéuticas o farmacológicas.

El término “una cantidad terapéuticamente efectiva” de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o disminución de una enzima o una actividad de proteína, o mejora de síntomas, con aliviar condiciones, la progresión lenta o demorada de la enfermedad, o evitar una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término “una cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para (1) aliviar al menos parcialmente, inhibir, prevenir y/o mejorar una condición, o un trastorno o una enfermedad (i) mediada por BACE-1 o (ii) asociada con actividad de BACE-1, o (iii) caracterizada por la actividad (normal o anormal) del BACE-1; o (2) reducir o inhibir la actividad del BACE-1. En otra realización no limitante, el término “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra una célula, o un tejido, o un material biológico no celular, o a un medio, es efectivo para al menos reducir parcialmente o inhibir la actividad del BACE-1. El significado del término “una cantidad terapéuticamente efectiva” como se ilustra en las anteriores realizaciones para el BACE-1 también aplica por los mismos medios a cualquiera de las otras proteínas/péptido/enzimas relevantes, tales como la BACE-2 o la catepsina D.

Como se utiliza aquí el término “sujeto” se refiere a un animal. Típicamente el animal es un mamífero. El sujeto también se refiere a por ejemplo, primates (por ejemplo, humanos, macho o hembra), vacas, oveja, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, pájaros y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En aún otras realizaciones, el sujeto es un humano.

Como se utiliza aquí el término “inhibir” “inhibición” o “inhibiendo” se refiere a la reducción o supresión de una condición, síntoma o trastorno o enfermedad dado o a una disminución significativa de la actividad de la línea base de una actividad biológica o proceso.

Como se utiliza aquí el término “tratar”, “tratando” o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, a mejorar la enfermedad o el trastorno (es decir, a ser más lento o a disminuir o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas técnicos de la misma). En otra realización “tratar” “tratando” o “tratamiento” se refiere a lidiar o mejorar al menos un parámetro físico que incluye aquellos que no pueden ser discernibles por el paciente. En aún otra realización “tratar”, “tratando” o “tratamiento” se refiere a modular la enfermedad o trastorno, físicamente (por ejemplo estabilización de un síntoma discernible) fisiológicamente, por ejemplo (estabilización de un parámetro físico), o ambos. En aún otra realización, “tratar”, “tratando” o “tratamiento” se refiere a evitar o a retrasar el ataque o desarrollo o progresión de una enfermedad o trastorno.

Como se utiliza aquí, un sujeto está “en necesidad de” un tratamiento si tal sujeto se beneficiaría biológicamente, medicamento o en la calidad de vida de tal tratamiento.

Como se utiliza aquí, el término un “agente” de la invención se utiliza intercambiabilmente con el término un “compuesto” de la invención y no tiene diferencia en el significado de este.

Como se utiliza aquí el término “un” “una” “el” y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) se debe considerar como que cubre tanto el singular como el plural a menos que se indique otra cosa aquí o se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje de ejemplo (por ejemplo “como tal”) suministrado aquí pretende simplemente ilustrar mejor la invención y no posee una limitación en el alcance de la invención reivindicada de otra manera.

Debido a sus propiedades de inhibición hacia las proteasas, los agentes de la invención pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de una variedad de estados siquiátricos, sicóticos, neurológicos, o vasculares discapacitantes, tales como una condición, enfermedad o trastorno del sistema vascular o del sistema nervioso, en el cual la generación de betamiloide o la agregación juega un papel, o, se basa en la inhibición del BACE-2 (enzima 2 de disociación de sitio APP beta) o la catepsina D, que son homólogos cercanos a las proteasas aspartilo tipo pepsina y a la beta secretasa y la correlación del BACE-2 o la expresión de la catepsina D con el potencial tumorogénico o metastásico de las células tumorales, como los medicamentos anticancerígenos, tales como en la supresión de los procesos de metástasis asociados con las células tumorales. La dicha condición, enfermedad de trastorno del sistema vascular o del sistema nervioso se ejemplifica mediante, e incluye, sin limitación, un trastorno de ansiedad, tal como un trastorno de pánico con o sin agorafobia, agorafobia sin historia de trastorno de pánico, un animal u otra fobia específica, que incluye una fobia social, trastorno por ansiedad social, ansiedad, trastorno obsesivo-compulsivo, un trastorno por tensión o estrés, que incluye trastorno por estrés post traumático o agudo, o un trastorno por ansiedad generalizado o inducido por sustancia; una neurosis, crisis; epilepsia, especialmente crisis parciales, simples, complejas o crisis parciales que evolucionan a crisis secundariamente generalizadas o crisis generalizadas [crisis de ausencia (típica o atípica), mioclónica, clónica, tónica, tónica-crónica, o atónica]; crisis; migraña; un trastorno afectivo, que incluye trastorno depresivo o bipolar, por ejemplo, trastorno depresivo principal

de episodio único o recurrente, depresión mayor, un trastorno distímico, distímia, trastorno depresivo NOS, trastorno maniaco bipolar 1 o bipolar 2 o trastorno ciclotímico; un trastorno sicótico, que incluye esquizofrenia o depresión; neurodegeneración, por ejemplo neurodegeneración que surge de la isquemia cerebral; un proceso degenerativo agudo, traumático o crónico del sistema nervioso, tal como la enfermedad de Parkinson, el síndrome de Down, la demencia, por ejemplo, la demencia senil, la demencia con cuerpos Lewy o demencia fronto temporal, un trastorno cognitivo, un daño cognitivo, por ejemplo, daño cognitivo medio, daño de la memoria, una neuropatía amiloide una neuropatía periférica, enfermedad de Alzheimer, Síndrome de Gerstmann-Straeussler- Scheinker, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad tipo C de Niemann-Pick, inflamación del cerebro, un cerebro, daño a la columna vertebral o nervioso, por ejemplo, daño traumático al cerebro (TBI), un trauma nervioso o un trauma del cerebro, amiloidosis vascular, hemorragia cerebral con amiloidosis, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, o síndrome del cromosoma frágil X; tembladera de ovejas; angiopatía amiloide cerebral; una encefalopatía, por ejemplo, encefalopatía espongiiforme transmisible; ataques; un trastorno de la atención, por ejemplo, trastorno de hiperactividad con déficit de atención; síndrome de Tourette, un trastorno del lenguaje, que incluye tartamudeo; un trastorno del ritmo circadiano, por ejemplo, en sujetos que sufren los efectos de los viajes intercontinentales o de cambio de trabajo; dolor; nocicepción; irritación; émesis, incluyendo émesis aguda, retrasada o anticipada, tales como émesis inducida por quimioterapia o radiación, enfermedad del movimiento, o náusea post operativa o vómito; un trastorno de la alimentación, que incluye anorexia nerviosa o bulimia nerviosa; síndrome premenstrual; un espasmo muscular o espasticidad, por ejemplo, en pacientes parapléjicos; un trastorno de la escucha, por ejemplo, tinitus o daño de la escucha relacionado con la edad; incontinencia urinaria; glaucoma; miocitis con cuerpo de inclusión; o un trastorno relacionado con sustancias, que incluye abuso o dependencia de sustancias, incluyendo una sustancia, tal como el alcohol, trastorno de abstinencia. Los agentes de la invención también pueden ser útiles en mejorar la cognición, por ejemplo, en un sujeto que sufre de una condición de demencia, tal como la enfermedad de Alzheimer; una pre medicación antes de la anestesia o una intervención médica menor tal como la endoscopia que incluye endoscopia gástrica; o ligandos, por ejemplo, ligandos de tomografía de emisión de radio ligandos o de positrón (PET).

Para las indicaciones anteriormente mencionadas, la dosis apropiada variará dependiendo de, por ejemplo, el compuesto empleado como ingrediente farmacéutico activo, el huésped, el modo de administración, la naturaleza y la severidad de la condición, la enfermedad o el trastorno o el efecto deseado. Sin embargo, en general, resultados satisfactorios en animales se pueden obtener con una dosis diaria de desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 100, preferiblemente desde aproximadamente 1 a aproximadamente 50, mg/kg de peso de cuerpo de animal. En mamíferos grandes, por ejemplo humanos, una dosis diaria indicada está en el rango de desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2000, preferiblemente desde aproximadamente 10 a aproximadamente 370, o desde aproximadamente 2 a aproximadamente 200, mg de un agente de la invención convenientemente administrado, por ejemplo, en dosis divididas hasta 4 veces al día o en forma de liberación sostenida. Para el compuesto [3- ((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro- 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano-3- metil-piridino-2-carboxílico, una dosis diaria predicha está en el rango de 10 a 370 mg (dosis total por día para una persona de 70 kg).

Un agente de la invención se puede administrar mediante cualquier ruta de conveniencia, en particular enteralmente, preferiblemente oralmente, por ejemplo, en la forma de un comprimido o cápsula, o parenteralmente, por ejemplo, en la forma de una solución inyectable o suspensión.

En un aspecto adicional, la invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende un agente de la invención como ingrediente farmacéutico activo en asocio con al menos un portador farmacéuticamente aceptable o diluyente y opcionalmente en asocio con otras sustancias auxiliares, tales como inhibidores de las enzimas del citocromo P450, degradación de ingredientes farmacéuticos mediante citocromo P450, agentes que mejoran las farmacocinéticas de los ingredientes farmacéuticos activos, agentes que mejoran la biodisponibilidad de los ingredientes farmacéuticos activos, y así sucesivamente, por ejemplo, jugo de uva, cetoconazol o, preferiblemente, ritonavir. Tal composición puede ser elaborada de manera conveniente, por ejemplo, al mezclar sus componentes. Las formas de dosis unitaria contienen, por ejemplo, desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000, preferiblemente desde aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg de un agente de la invención.

Por ejemplo, para estudios preclínicos en animales, un compuesto de la invención, tal como el compuesto [3- ((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro- 2H- [1,4] oxazin- 3- il)-4- fluoro- fenil] –amida de ácido 5-ciano- piridino-2-carboxílico se podía formular como una suspensión en una solución de metil celulosa al 0.5% con 0.1% de Tween 80.

Adicionalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden elaborar en forma sólida (que incluyen sin limitación capsulas, comprimidos, píldoras, gránulo, polvos o supositorios), o en una forma líquida (que incluye sin limitación soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes, o agentes reguladores, así como también adyuvantes, tales como preservativos, estabilizadores, agentes humectantes, emulsificadores y reguladores, etc.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitos, celulosa y/o glicina;

5 b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para tabletas también

c) aglutinantes, por ejemplo, magnesio aluminio silicato, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metil celulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinil pirrolidona; si se desea

d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y/o

e) absorbentes, colorantes, saborizantes o endulzantes.

10 Los comprimidos también pueden ser recubiertos con película o recubiertos entéricos de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

15 Las composiciones adecuadas para la administración oral incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos dispersables o gránulos, emulsión, capsulas duras o suaves, o jarabes o elixires. Las composiciones pretendidas para uso oral se preparan de acuerdo a cualquier método conocido en la técnica para la elaboración de composiciones farmacéutica y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste de agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de suministrar preparaciones farmacéuticamente elegantes y saboreables. Las tabletas pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la elaboración de comprimidos. Estos excipientes son, Por ejemplo, diluyentes inertes, tal como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos son no recubiertos o cubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y de esta manera suministrar una acción sostenida durante un periodo prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso en el tiempo tal como mono estearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente solido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina suave en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio aceitoso, un medio aceitoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

30 Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios son preparados ventajosamente de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones se pueden esterilizar y/o contener adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, humectantes o agentes emulsificantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o reguladores. Adicionalmente, ellos también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan de acuerdo a mezclas convencionales, métodos de granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0,1-75%, o contienen aproximadamente 1-50%, del ingrediente activo.

35 Las composiciones adecuadas de aplicación transdérmica incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención con un portador adecuado. Los portadores adecuados para el suministro transdérmico incluyen solventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de una banda que comprende un miembro de respaldo, un reservorio que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para suministrar el compuesto de la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo prolongado de tiempo, y medios para asegurar el dispositivo de la piel.

40 Las composiciones adecuadas para aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones rociables, por ejemplo, para suministro mediante aerosol o similares. Tales sistemas de suministro tópico en particular serán adecuadas para la aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para uso profiláctico en cremas para el sol, lociones, pulverizadores y similares. Ellos son así particularmente adecuados para uso en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticas bien conocidas en la técnica. Tales pueden contener solubilizadores, estabilizadores, agentes mejoradores de la tonicidad, reguladores y preservativos.

45 Como se utiliza aquí una aplicación tópica también puede pertenecer a una inhalación o una aplicación intranasal. Ellos pueden ser convenientemente suministrados en la forma de un polvo seco (bien sea solo, o como una mezcla,

por ejemplo una mezcla seca con lactosa, o una partícula componente mezclada, por ejemplo con fosfolípido) de un inhalador en polvo seco o una presentación de pulverizado en aerosol de un recipiente presurizado, bomba, pulverizado, atomizador o nebulizador, con y sin el uso de un propulsor adecuado.

- 5 La presente invención suministra además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosis que comprenden los compuestos de la presente invención como ingredientes activos, en razón a que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

- 10 Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosis de la invención se pueden preparar utilizando ingredientes que contienen anhidros o de baja humedad y condiciones de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de tal manera que su naturaleza anhidra se mantiene. De acuerdo con esto, las composiciones anhidras se empaquetan utilizando materiales conocidos para evitar la exposición al agua de tal manera que ello se puede incluir en kits o equipos de formulación adecuados. Ejemplos de empaques adecuados incluyen, pero no están limitados a, hojuelas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitarias (por ejemplo frascos), paquetes de ampollas y paquetes de tiras.

- 15 La invención suministra además composiciones farmacéuticas y formas de dosis que comprenden uno o más agentes que reducen la tasa mediante la cual el compuesto de la presente invención como un ingrediente activo se descompondrá. Tales agentes, que son denominados aquí como "estabilizadores" incluyen, pero no están limitados a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, reguladores de pH, o reguladores de sal, etc.

- 20 De acuerdo con lo anterior, en un aspecto adicional, la invención se relaciona con un agente de la invención para uso como medicamento, por ejemplo, para el tratamiento o prevención de una condición neurológica o vascular, enfermedad o trastorno, en la cual la generación o agregación de β -amiloide juega un papel, o para la supresión de procesos de metástasis asociados con células tumorales. En una realización adicional, la invención se relaciona con un agente de la invención para uso en el tratamiento de enfermedad o trastorno mediado por BACE-1, BACE-2 o actividad cathepsina D. En una realización, la invención se relaciona con un agente de la invención para uso en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer.

- 25 Un agente de la invención se puede administrar como un ingrediente farmacéutico activo o como una combinación con al menos otro ingrediente farmacéutico activo efectivo, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de una condición neurológica o vascular, enfermedad o trastorno, en la cual la generación o agregación de β -amiloide, juega un papel, o en la supresión de procesos de metástasis asociados con células tumorales. Tal combinación farmacéutica puede estar en forma de una forma de dosis unitaria, cuya forma de dosis unitaria comprende una cantidad predeterminada de cada uno de al menos dos componentes activos en asocio con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, la combinación farmacéutica puede estar en la forma de un paquete que comprende los al menos dos componentes activos separadamente, por ejemplo, un paquete o dispensador- dispositivo adaptado para la administración concomitante o separada de por lo menos dos componentes activos, en los cuales estos componentes activos se disponen separadamente. En un aspecto adicional, la invención se relaciona con tales combinaciones farmacéuticas.

- 40 En las terapias de combinación, el agente de la invención y los otros agentes terapéuticos se pueden elaborar y/o formular mediante o por los mismos o diferentes fabricantes. Más aún, el compuesto de la invención y los otros terapéuticos se pueden mezclar en una terapia de combinación: (i) antes de liberar el producto de combinación a los médicos (por ejemplo en el caso de un equipo que comprende el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por los médicos mismos (o bajo la guía del médico) en resumen antes de administración; (iii) por los pacientes mismos, por ejemplo, durante la administración secuencial del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplos

- 45 Abreviaturas

ACN	acetonitrilo
AcOH	ácido acético
Boc	tert- butoxicarbonilo
Boc ₂ O	dicarbonato de tert-butilo

	t- Bu	tert- butilo
	nBuLi	n- butilitio
	t- BuOH	tert- butanol
	DAST	dietilaminosulfurtrifluoruro (Et ₂ N) ₂ SF ₃
5	DCM	diclorometano
	DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
	DIPEA	diisopropiletilamina
	DMAP	4- dimetilaminopiridina
	DMF	dimetilformamida
10	DMSO	dimetilsulfóxido
	DPPF	1, 1'- bis (difenilfosfino) ferroceno
	ee	exceso enantiomérico
	EDC	clorhidrato de 1- (3- dimetilaminopropil)- 3- etilcarbodiimida
	eq	equivalente (s)
15	Et ₃ N	triethylamina
	Et ₂ O	dietiléter
	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
	h	hora (s)
20	Hex	hexano
	HOAt	1- hidroxí- 7- aza- benzotriazol
	HOBT	hidroxí- benzotriazol
	HPLC	cromatografía líquida de alto desempeño
	IPAc	acetato de isopropilo
25	LCMS	cromatografía líquida con espectrometría de masa
	LDA	diisopropilamida de litio
	MeOH	metanol
	min	minuto (s)
	MS	espectrometría de masa
30	RMN	espectrometría de resonancia magnética nuclear
	NP	fase normal

	PE	éter de petróleo
	PPh3	trifenilfosfina
	R _f	factor de retención (TLC)
	RP	fase inversa
5	R _t	tiempo de retención
	rt	temperatura ambiente
	SMB	lecho móvil simulado
	TBME	tert- butil- metil- éter
	TFA	ácido trifluoroacético
10	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía de capa fina
	UPLC	cromatografía líquida de alto desempeño

Información de Cromatografía General

Método HPLC H1 (R_{tH1}):

15	Dimensiones de columna HPLC:	3.0 x 30 mm
	Tipo de columna HPLC:	Zorbax SB-C18, 1.8 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.05 Vol.-% de TFA; B) ACN + 0.05 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	30 - 100 % B en 3.25 min, flujo = 0.7 ml / min

Método HPLC H2 (R_{tH2}):

20	Dimensiones de columna HPLC:	3.0 x 30 mm
	Tipo de columna HPLC:	Zorbax SB-C18, 1.8 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.05 Vol.-% de TFA; B) ACN + 0.05 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	0 - 100 % B en 3.25 min, flujo = 0.7 ml / min

Método LCMS H3 (R_{tH3}):

25	Dimensiones de columna HPLC:	3.0 x 30 mm
	Tipo de columna HPLC:	Zorbax SB-C18, 1.8 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.05 Vol.-% de TFA, B) ACN + 0.05 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	10 - 100 % B en 3.25 min, flujo = 0.7 ml / min

Método LCMS H4 (R_{tH4}):

30	Dimensiones de columna HPLC:	3.0 x 30 mm
	Tipo de columna HPLC:	Zorbax SB-C8, 1.8 µm

ES 2 442 905 T3

	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.05 Vol.-% de TFA, B) ACN + 0.05 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	10 - 95 % B en 2.00 min, 95 % B 2.00 min, flujo = 0.7 ml / min
	Método UPLC H5 (R _{tH5}):	
	Dimensiones de columna HPLC:	2.1 x 50 mm
5	Tipo de columna HPLC:	Acquity UPLC HSS T3 C18, 1.7 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.1 Vol.-% de TFA, B) ACN + 0.1 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	5 - 100 % B en 1.5 min, flujo = 1.0 ml / min
	Método LCMS H6 (R _{tH6}):	
	Dimensiones de columna HPLC:	3.0 x 30 mm
10	Tipo de columna HPLC:	Zorbax SB-C18, 1.81 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.05 Vol.-% de TFA; B) ACN + 0.05 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	40 - 100 % B en 3.25 min, flujo = 0.7 ml / min
	Método LCMS H7 (R _{tH7}):	
	Dimensiones de columna HPLC:	3.0 x 30 mm
15	Tipo de columna HPLC:	Zorbax SB-C18, 1.8 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.05 Vol.-% de TFA; B) ACN + 0.05 Vol.-% de TFA
	Gradiente HPLC:	50 - 100 % B en 3.25 min, flujo = 0.7 ml / min
	Método LCMS H8 (R _{tH8}):	
	Dimensiones de columna HPLC:	4.0 x 20 mm
20	Tipo de columna HPLC:	Mercury MS Synergi, 2 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.1 Vol.-% de ácido fórmico, B) ACN
	Gradiente HPLC:	0.5 min 30% B, 30-95% B en 1 min, 0.9 min 95% B, flujo = 2.0 ml / min
	Temperatura de columna HPLC:	30° C
	Método LCMS H9 (R _{tH9}):	
25	Dimensiones de columna HPLC:	4.0 x 20 mm
	Tipo de columna HPLC:	Mercury MS Synergi, 2 µm
	Eluyente HPLC:	A) agua + 0.1 Vol.-% de ácido fórmico, B) ACN
	Gradiente HPLC:	0.5 min 70% B, 70-100% B en 1 min, 0.6 min 70% B, flujo = 2.0 ml / min
	Temperatura de columna HPLC:	30° C
30	Método UPLC H10 (R _{tH10}):	
	Dimensiones de columna HPLC:	2.1 x 50 mm

Tipo de columna HPLC: Acquity UPLC HSS T3, 1.8 μ m

Eluyente HPLC: A) agua + 0.05 Vol.-% de ácido fórmico + 3.75 mM acetato de amonio B) ACN + 0.04 Vol.-% de ácido fórmico

Gradiente HPLC: 2 - 98 % B en 1.7 min, 98% B 0.45 min, flujo = 1.2 ml / min

5 Método LCMS H11 (R_{tH11}):

Dimensiones de columna HPLC: 2.1 x 30 mm

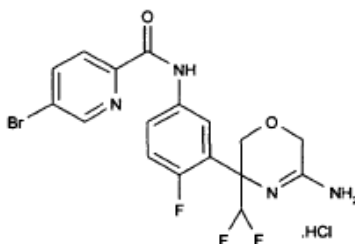
Tipo de columna HPLC: Ascentis Express C18, 2.8 μ m

Eluyente HPLC: A) agua + 0.05 Vol.-% de ácido fórmico + 3.75 mM acetato de amonio, B) ACN + 0.04 Vol.-% de ácido fórmico

10 Gradiente HPLC: 2 - 98 % B en 1.4 min, 0.75 min 98% B, flujo = 1.2 ml / min

Temperatura de columna HPLC: 50° C

Ejemplo de Referencia 42: clorhidrato de [3-(5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4] oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Bromo-piridina-2-carboxílico



15 a) 1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)- etanona

Una solución de 17.78 ml (126 mmol) diisopropil amina en 375 ml de THF se enfría a - 78° C. Se agrega en forma de gotas una solución 1.6 M de BuLi en hexanos (79 ml, 126 mmol). Después de 15 minutos se agrega en forma de gotas 20 g de 4- bromo- 1- fluoro benceno (114 mmol) mientras se mantiene la temperatura por debajo de - 60° C. Después de agitar durante 2.5 h a -70° C se agregan 13.22 ml de acetato de difluoro etilo. La mezcla se calienta a - 40° C y luego se detiene al verter la mezcla en HCl 1M. La mezcla se extrae con ligroína, se seca con MgSO₄.H₂O, se concentra y purifica mediante cromatografía de columna (gel de sílice; hexano/ 5- 15% de TBME) para dar el producto deseado como un líquido amarillo. ¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 8.09 (dd, 1 H), 7.82- 7.77 (m, 1H), 7.17 (t, 1 H), 6.45 (t, 1 H, CHF₂)

b) Éster de tert-butilo de ácido 1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-1-difluorometil-alil]-carbámico

25 Una mezcla de 16 g (63.2 mmol) de 1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- etanona y 26.3 g (69.6 mmol) de N-tertbutiloxycarbonil- trifeniliminofosforano se calientan a 90° C en tolueno durante 18 h. La mezcla se tritura con hexano y se filtra para eliminar óxido de trifenil fosfina. El filtrado se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano/ 1- 5% de TBME) para dar 11.37 g (32.3 mmol) del producto deseado como un aceite amarillo ligeramente impuro. TLC: R_f (Hexano / EtOAc 6: 1) = 0.65.

30 El producto se disuelve en 100 ml de THF y se enfría a - 78° C. Se agrega en forma de gotas bromuro de vinilmagnesio (48 ml de una solución 1 M en THF), mientras que no se deja que la temperatura de reacción exceda - 60° C. La mezcla se agita a -70° C durante 1 h antes de dejar calentar a 0° C. La reacción se detiene con 10% de cloruro de amonio acuoso y se extrae con TBME. La capa orgánica se lava con solución salina, se trata con carbono activado y MgSO₄.H₂O y se filtra sobre celita. El filtrado se concentra y se cristaliza a partir de hexano para dar el producto deseado como cristales incoloros.

HPLC: R_{tH1}= 3.575 min; ESIMS [M+Na]⁺ =402/404 (1Br);

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 7.57 (dd, 1 H), 7.51- 7.45 (m, 1H), 7.00 (dd, 1H), 6.49 (t, 1H, CHF₂), 6.21 (dd, 1 H), 5.59 (d, 1 H), 5.40 (dd, 1 H), 5.25 (br, 1H), 1.40 (br s, 9H).

c) Éster de tert-butilo de ácido [1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro-1-hidroximetil-etil]-carbámico

Una suspensión de 10.99 g (28.9 mmol) de éster de tert-butilo de ácido 1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-1-difluorometil-alil]-carbámico y 3.84 g (43.4 mmol) de hidrógeno de carbonato de sodio en 200 ml de DCM y 80 ml de MeOH se enfría a -78° C. Una mezcla de O₃ en gas oxígeno se introduce hasta que persiste el color azul. El exceso de ozono se elimina al burbujear gas oxígeno durante 10 minutos. Se agrega NaBH₄ (2.187 g, 57.8 mmol) como un sólido en tres porciones. La mezcla se agita 10 min a -78° C y luego se deja calentar a 0° C. Después de 30 min la mezcla se vierte sobre HCl 1 N enfriado con hielo y se extrae con TBME. La fase orgánica se lava con HCl 1 N, solución salina, se seca con MgSO₄·H₂O y se evapora. El producto crudo se cristaliza a partir de hexano para dar el producto deseado como cristales incoloros. TLC: R_f (Hexano / EtOAc 4: 1) = 0.29.

10 HPLC: R_{tH1} = 3.000 min; ESIMS [M+Na]⁺ = 406/408 (1Br);

¹H- RMN (DMSO- d₆, 360 MHz): 7.60- 7.49 (m, 2H), 7.42 (br s, 1 H), 7.180 (dd, 1H), 6.49 (t, 1 H, CHF₂), 5.27 (br s, 1 H), 3.90 (br s, 2H), 1.35 (br s, 9H).

d) N-[1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro-1-hidroximetil-etil]-2-cloro-acetamida

15 Una suspensión de 10.22 g (26.6 mmol) de éster de tert-butilo de ácido [1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro-1-hidroximetil-etil]-carbámico en 133 ml de HCl 4N en dioxano se agita durante dos h a rt. La mezcla se evapora para dar la sal de clorhidrato de 2-amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3,3-difluoro-propan-1-ol. HPLC: R_{tH3} = 2.550 min; ESIMS [M+H]⁺ = 284, 286 (1Br);

20 El producto crudo se toma en 63 ml de DCM y 63 ml 10% de soda acuosa y se agita vigorosamente con enfriamiento con hielo. Una solución de 3.34 ml (42 mmol) de cloruro de cloroacetilo en 10 ml de DCM se agrega en forma de gotas. El baño de hielo se quita y se continúa la agitación durante 1 h. La mezcla se diluye con TBME y agua. La fase orgánica se seca con MgSO₄·H₂O y se purifica a través de cromatografía en gel de sílice (hexano/ 25- 33% de EtOAc) para dar el producto deseado como una resina ligeramente impura.

HPLC: R_{tH3} = 3.336 min; ESIMS [M+H]⁺ = 360/362/364 (1Br, 1Cl);

25 ¹H- RMN (DMSO- d₆, 360 MHz): 8.78 (s, 1 H), 7.62- 7.53 (m, 2H), 7.19 (dd, 1 H), 6.53 (t, 1H, CHF₂), 5.43 (t, 1 H), 4.27- 4.02 (m, 4H).

e) 5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-morfolin-3-ona

30 Una solución de 9.59 g (26.2 mmol) de N-[1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro-1-hidroximetil-etil]-2-cloro-acetamida en 134 ml de t-butanol se trata con 3.58 g de KOtBu. La mezcla se calienta a reflujo durante 3h. Después de enfriamiento la mezcla se diluye con EtOAc y HCl 1 N. La fase orgánica se lava con solución salina, se seca con MgSO₄·H₂O, se filtra y se evapora. El producto se obtiene como cristal incoloro (TBME/ hexano). TLC: R_f (Hexano / EtOAc 2: 1) = 0.29.

HPLC: R_{tH3} = 2.950 min; ESIMS [M+H]⁺ = 324/326 (1 Br);

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 7.61- 7.55 (m, 2H), 7.09 (dd, 1 H), 6.80 (br, 1H), 6.35 (t, 1H, CHF₂), 4.37- 4.17 (m, 4H).

f) 5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-morfolina-3-tiona

35 Una mezcla de 7.34 g (22.65 mmol) 5-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-morfolin-3-ona y 5.19 g (12.46 mmol) de reactivo de Lawesson en 73 ml de THF se somete a reflujo durante 1 h. La mezcla se concentra y se cristaliza a partir de DCM/ hexano y se recristaliza a partir de EtOH para producir el producto deseado como cristales incoloros.

HPLC: R_{tH3} = 3.370 min; ESIMS [M+H]⁺ = 340/342 (1 Br);

40 ¹H- RMN (DMSO- d₆, 360 MHz): 11.40 (s, 1 H), 7.77- 7.70 (m, 1H), 7.63 (dd, 1 H), 7.37 (dd, 1H), 6.35 (t, 1H, CHF₂), 4.50 (d, 1 H), 4.44 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 4.10 (d, 1 H).

g) 5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

Una solución de 6.14 g (18.05 mmol) de 5-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-morfolina-3-tiona en 77 ml de NH₃ 7M /MeOH se agita a rt durante 6h. La mezcla se evapora y se purifica por cromatografía en gel de sílice (DCM/

1- 5% de MeOH seguido por DCM/ MeOH/ NH₃ acuoso 95: 4.5: 0.5) para dar el producto deseado como resina amarillenta.

HPLC: Rt_{H3}= 2.477 min; ESIMS [M+H]⁺=323/325 (1Br); ¹H- RMN (DMSO- d₆, 360 MHz): 7.99 (dd, 1H), 7.62- 7.56 (m, 1 H), 7.22 (dd, 1H), 6.31 (br, 2H), 6.12 (t, 1H, CHF₂), 4.25 (d, 1 H), 4.05 (d, 1H), 3.94 (d, 1 H), 3.75 (d, 1 H).

5 h) éster de tert-butilo de ácido [5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

A una solución enfriada con hielo 6.38 g (19.75 mmol) de 5- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina en 100 ml de THF se agregan 5.60 g (25.67 mmol) de Boc₂O y 5.17 ml (29.6 mmol) de DIPEA. La mezcla se agita durante 4h a rt. Luego la mezcla se diluye con TBME y se lava con 5% de NaHCO₃ acuoso. La fase orgánica se seca con MgSO₄.H₂O se filtra y se concentra. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (hexano/ 5- 20% de EtOAc) da el producto deseado como un sólido incoloro. TLC: Rf (Hexano / EtOAc 9: 1) = 0.27.

HPLC: Rt_{H1}= 3.299 min; ESIMS [M+H]⁺=423/425 (1Br);

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 7.81 (dd, 1 H), 7.50- 7.44 (m, 1 H), 7.00 (dd, 1 H), 6.12 (t, 1H, CHF₂), 4.83 (d, 1 H), 4.60 (d, 1 H), 4.37 (dd, 1 H), 3.94 (d, 1H), 1.52 (s, 9H).

15 i) Éster de tert-butilo de ácido [5-(5-Azido-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

A una solución de 7.27 g (17.18 mmol) éster de tert- butilo de ácido [5- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico y 2.443 g (17.18 mmol) de trans- N, N'- dimetilciclohexano- 1, 2- diamina en 237 ml de EtOH se agrega una solución de 8.93 g (137 mmol) de azida de sodio y 1.361 g (6.87 mmol) de ascorbato de sodio en 102 ml de agua. La mezcla se desgasifica y lleva bajo atmósfera de nitrógeno. Se agrega Cul (1.309 g, 6.87 mmol) y la mezcla se calienta a 70° C. La suspensión formada inicialmente se torna en una solución azul homogénea. La mezcla se enfría a rt, se diluye con agua y TBME. La fase orgánica se lava con solución salina y se seca con MgSO₄.H₂O. El producto crudo se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano / 5- 8% de TBME) para dar el producto deseado como un sólido incoloro.

HPLC: Rt_{H1}= 3.173 min; ESIMS [M+H]⁺=386;

25 ¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz, señales ampliadas debido a rotámeros): 7.39- 7.44 (m, 1 H), 7.15- 7.06 (m, 1 H), 7.05- 6.98 (m, 1 H), 6.14 (t, 1H, CHF₂), 4.80 (d, 1 H), 4.60 (d, 1 H), 4.39 (d, 1 H), 3.97 (d, 1H), 1.52 (s, 9H).

j) Éster de tert-butilo de ácido [5-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

Una solución de 4.89 g (12.69 mmol) de éster de tert-butilo de ácido [5- (5- azido- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico en 64 ml de EtOH y 17 ml de THF se trata con 1.1 g 10% de Pd- C y se agita bajo una atmósfera de hidrógeno hasta que se ha consumido el material de partida. La mezcla se diluye con DCM y se filtra sobre celita. El producto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano / 25- 50% de EtOAc) para dar el producto deseado como espuma incolora.

HPLC: Rt_{H3}= 2.778 min; ESIMS [M+H]⁺=360;

35 ¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz, espectro no interpretable debido a rotámeros): 7.1- 6.1 (m, -4H), 5.0- 4.9 (m, -4H), 1.52 (br s, 9H).

k) Éster de tert-butilo de ácido (5-{5-[(5-Bromo-piridina-2-carbonil)-amino]-2-fluoro-fenil}-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin- 3-il)-carbámico

A una solución de 325 mg (0.952 mmol) de éster de tert-butilo de ácido [5- (5- amino- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico, 212 mg (1.047 mmol) de ácido 5- bromo- piridina- 2- carboxílico, 168 mg (1.238 mmol) de HOAt y 0.34 ml (2.38 mmol) de Et₃N en 5 ml de DCM se agregan 237 mg (1.24 mmol) de EDC.HCl. La mezcla se agita durante la noche. La mezcla se diluye con EtOAc y se lava con agua, HCl 1 N, solución salina y 5% de NaHCO₃ acuoso. La fase orgánica se seca con MgSO₄.H₂O, se filtra y se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano / 14- 18% de EtOAc) para dar el producto deseado como espuma incolora. TLC: Rf (Hexano / EtOAc 3: 1) = 0.35.

45 HPLC: Rt_{H1}= 3.127 min; ESIMS [M+H]⁺=525/527 (1 Br);

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 9.90 (br s, 1 H), 8.72 (d, 1 H), 8.23 (d, 1H), 8.09 (dd, 1H), 7.94- 7.86 (m, 2H), 7.47 (t, 1H), 7.38- 7.28 (m, 3H), 5.92 (t, 1H, CHF₂), 4.87 (d, 1 H), 4.67 (d, 1 H), 4.6- 4.45 (br, 1 H), 4.34 (d, 1 H), 4.00 (d, 1 H), 1.56 (br s, 9H).

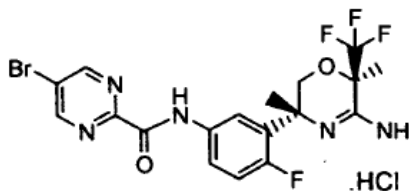
l) [3-(5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluorofenil]- amida de ácido 5-Bromo-piridina-2-carboxílico

Una solución de 100 mg (0.184 mmol) de éster de tert-butilo de ácido (5- {5- [(5- bromo- piridina- 2- carbonil)- amino]- 2- fluoro- fenil}- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico en 1.4 ml de HCl 4N en dioxano se agita a 50° C. Después de 15 min se agregan 0.3 ml de HCl 3N en MeOH y la solución ahora homogénea se agita durante 3 h. La mezcla se concentra y se cristaliza a partir de EtOH/ TBME para producir el compuesto del título.

HPLC: Rt_{H3}= 2.857 min; ESIMS [M+H]⁺=443/445;

¹H- RMN (600 MHz, DMSO- d₆): δ 10.93 (s, 1 H), 9.78 (s, 1H), 8.89 (s, 1 H), 8.77 (s, 1 H), 8.35 (d, 1H), 8.11- 8- 06 (m, 3H), 7.39 (t, 1H), 6.79 (t, 1H, CHF₂), 4.70 (d, 1 H), 4.64 (d, 1H), 4.34 (d, 1 H), 4.17 (d, 1H).

Ejemplo de Referencia 71: clorhidrato de [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil- 3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Bromo-pirimidina-2-carboxílico



a) 2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-propan-2-ol

A una solución de diisopropil amina (57.3 ml, 402 mmol) en THF (500 ml) se agrega bajo argón una solución 1.6 M de nBuLi en hexano (260 ml, 416 mmol) por debajo de - 50° C. Después de agitar durante 30 min a -75° C, se agrega 4- bromo- 1- fluoro benceno (31.1 ml, 277 mmol) mientras se mantiene la temperatura por debajo de - 70° C. Después de agitar durante 2 h a -75° C, se agrega acetona (41.2 ml, 554 mmol por debajo de - 65° C) y la mezcla de reacción se agita durante 1 h a -75° C, se calienta hasta - 50° C y se vierte en 10% de solución de NH₄Cl acuosa. La mezcla se extrae con TBME, las fases orgánicas se lavan con solución de KHSO₄ acuosa, solución de NaHCO₃ saturada y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran. El producto crudo se cristaliza a partir de hexano para proporcionar el compuesto del título como cristales blancos: TLC (hexano- EtOAc 3: 1): R_f =0.45; HPLC Rt_{H5}=1.045 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.74 (dd, 1H), 7.36 (m, 1 H), 6.93 (dd, 1 H), 2.04 (d, 1 H), 1.63 (s, 6H).

b) 4-Bromo-1-fluoro-2-isopropenil-benceno

A una solución de 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propan- 2- ol (119.7g, 498 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se agrega hidroquinona (2.74 g, 24.9 mmol) y 250 ml 85% de H₃PO₄. La mezcla de reacción resultante se agita durante 3.5 h a 50° C. La mezcla se vierte sobre agua helada y se extrae con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas se lavan con NaOH acuoso 2N y agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran. El producto crudo se disuelve en hexano y se filtra a través de un cepillo de gel de sílice para obtener después de concentración a 600 mbar el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano): R_f =0.52; HPLC Rt_{H5}=1.416 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.43 (dd, 1 H), 7.37 (m, 1 H), 6.94 (dd, 1 H), 5.27 (d, 2H), 2.13 (s, 3H).

c) (S)-2-(S-Bromo-2-fluoro-fenil)-propano-1,2-diol

A una suspensión de K₃Fe (CN)₆ (186 g, 561 mmol), K₂CO₃ (78 g, 561 mmol), (DHQ)2- PHAL (1.311 g, 1.674 mmol) y K₂OsO₂ (OH)₄ (0.378 g, 1 mmol) en t- BuOH- H₂O 1: 1 (1600 ml) se agrega 4- bromo- 1- fluoro- 2- isopropenilbenceno (36 g, 167 mmol) a 0° C y la mezcla de reacción se agita durante 14 h a 0° C. Después de adición cuidadosa de Na₂S₂O₅ (100 g) a 0- 5° C la mezcla de reacción se agita durante 1 h antes de extracción con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de NaS₃O₃ y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para dar el compuesto del título como un sólido blanco: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.46; HPLC Rt_{H5}=0.767 min; ESIMS: 266, 268 [(M+NH₄)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.71 (dd, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 6.83 (dd, 1 H), 3.85 (d, 1 H), 3.62 (d, 1 H), 2.94 (s, 3H), 2.01 (s, 1 H), 1.43 (s, 3H).

d) (S)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-metil-oxirano

A una solución de (S)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propano- 1, 2- diol (37.35 g, 150 mmol) en CH_2Cl_2 (400 ml) se agrega bajo argón NEt_3 (41.8 ml, 300 mmol) y en forma de gotas cloruro de mesilo (12.8 ml, 165 mmol) a 0- 5° C. Después de agitar durante 0.5 h a 0- 5° C la mezcla de reacción se agrega a HCl 1 N frío y se extrae con CH_2Cl_2 . Los extractos combinados se lavan con HCl 1 N, H_2O y solución de NaHCO_3 saturada, se secan sobre MgSO_4 , se filtran y se concentran. El mesilato crudo se disuelve en TBME (500 ml) y 200 ml de NaOH acuoso 2N y después de agitar durante 2 h a 25° C la mezcla se extrae con TBME. Los extractos combinados se lavan con solución de NaH_2PO_4 y solución salina, se secan sobre MgSO_4 , se filtran y se concentran para proporcionar el (S)-enantiómero como un aceite incoloro: 78% de ee (Chiralpak AS- H 1218, hexano- EtOH 97: 3, 0.4 mL/min); TLC (hexano- EtOAc 3: 1): R_f =0.69; HPLC $R_{t_{H5}}$ = 1.186 min; ^1H RMN (360 MHz, CDCl_3): δ 7.46 (dd, 1 H), 7.30 (m, 1 H), 6.83 (dd, 1H), 2.88 (d, 1 H), 2.72 (d, 1 H), 1.59 (s, 3H).

e) (S)-1-Azido-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-2-ol

A una solución de (S)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- metil- oxirano (51.85 g, 224 mmol) en EtOH (800 ml) se agrega NaN_3 (36.8 g, 531 mmol), NH_4Cl (60.6 g, 1122 mmol) y 18- corona- 6 (59.8 g, 224 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 6 h. La mezcla de reacción se filtra y se concentra hasta la mitad de su volumen. El aceite residual se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de NaHCO_3 saturada y solución salina, se secan sobre MgSO_4 , se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo claro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.70; HPLC $R_{t_{H3}}$ = 1.115 min; ^1H RMN (360 MHz, CDCl_3): δ 7.72 (dd, 1 H), 7.32 (m, 1 H), 6.85 (dd, 1 H), 3.73 (d, 1 H), 3.51 (d, 1 H), 2.44 (s, 1 H), 1.50 (s, 3H).

f) (S)-1-Amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-2-ol

A una suspensión de LiAlH_4 (4.65 g, 122 mmol) en THF (250 ml) se agrega bajo argón a 0- 5° C una solución de (S)- 1- azido- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propan- 2- ol (33.4 g, 122 mmol) disuelta en THF (150 ml) durante un periodo de 30 min. Después de agitar durante 1 h a 0- 5° C, la reacción se detiene mediante adición cuidadosa de agua (4.7 ml), NaOH 4 N (4.7 ml) y agua (14.1 ml) y se agita de nuevo durante 3 h a 25° C. La suspensión blanca se seca con MgSO_4 , se filtra y se concentra. El producto solidificado se recrystaliza a partir de TBME- hexano para proporcionar el compuesto del título como cristales beige: 98% de ee (Chiralpak AD- H hexano- EtOH 75- 25 + 0.05% de NEt_3); TLC (CH_2Cl_2 - MeOH 10: 1) R_f =0.10; HPLC $R_{t_{H5}}$ = 0.558 min; ESIMS: 248, 250 $[(M+H)^+]$; ^1H RMN (360 MHz, CDCl_3): δ 7.76 (dd, 1 H), 7.25 (m, 1 H), 6.82 (dd, 1 H), 4.16 (br s, 1 H), 3.19 (d, 1H), 2.72 (d, 1 H), 1.44 (s, 3H), 0.95 (br s, 2H).

g) N-[(S)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-hidroxi-propil]-2-nitro-bencenosulfonamida

A una solución de (S)- 1- amino- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propan- 2- ol (34.7 g, 140 mmol) en THF (400 ml) se agrega cloruro de 2- nitro- bencenosulfonilo (34.9 g, 154 mmol) a 0- 5° C y después NaOH acuoso 1 N durante un periodo de 0.5 h. La mezcla de reacción se agita durante 2 h a 20° C. La mezcla de reacción se diluye con TBME y se lava con agua y solución de NaH_2PO_4 y solución salina, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título después de cristalización a partir de TBME- hexano como cristales beige: TLC (tolueno- EtOAc 3: 1): R_f =0.51; HPLC $R_{t_{H5}}$ = 1.118 min; ESIMS: 450, 452 $[(M+NH_4)^+]$; ^1H RMN (360 MHz, CDCl_3): δ 7.98 (m, 1H), 7.81 (m, 1 H), 7.65 (m, 2H), 7.59 (dd, 1 H), 7.24 (m, 1 H), 6.79 (dd, 1 H), 5.60 (t, 1H), 4.16 (br s, 1 H), 3.55 (dd, 1 H), 3.44 (dd, 1 H), 2.51 (s, 1 H), 1.51 (s, 3H).

h) (R)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-metil-1-(2-nitro-bencenosulfonil)-aziridina

A una solución de N- [(S)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- hidroxi- propil]- 2- nitro- bencenosulfon- amida (20.8 g, 48 mmol) en CH_2Cl_2 (400 ml) se agrega PPh_3 (19.2 g, 72.4 mmol) a 0- 5° C y azodicarboxilato de dietilo (11.6 ml, 72.4 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 24 h a 25° C y se concentra. El compuesto del título se obtiene después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice (hexano- EtOAc 20: 1 a 2: 1) como cristales amarillos: TLC (tolueno- EtOAc 3: 1): R_f =0.69; HPLC $R_{t_{H5}}$ = 1.308 min; ^1H RMN (360 MHz, CDCl_3): δ 8.31 (m, 1H), 7.28 (m, 3H), 7.60 (dd, 1 H), 7.42 (m, 1 H), 6.91 (dd, 1 H), 3.24 (s, 1 H), 2.81 (s, 1 H), 2.06 (s, 3H).

i) Éster de etilo de ácido (R)-2-[(R)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-(2-nitro-bencenosulfonilamino)-propoxi]-3,3,3-trifluoro-2-metilpropiónico

A una suspensión de NaH (2.53 g 60% en aceite mineral, 63 mmol) en DMF (160 ml) se agrega en forma de gotas bajo argón éster de etilo de ácido (R)- 3, 3, 3- trifluoro- 2- hidroxi- 2- metil- propiónico (11.99 g, 63 mmol) y después de agitar durante 0.5 h a 20° C (R)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- metil- 1- (2- nitro- bencenosulfonil)- aziridina (21.85 g, 52.6 mmol). La reacción se mantiene a 25° C durante 16 h. La mezcla se agrega a HCl 2N acuoso frío y el producto se extrae con TBME. Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución de NaHCO_3 saturada y solución salina, se secan sobre MgSO_4 , se filtran y se concentran. El sólido residual se recrystaliza a partir de TBME- hexano para proporcionar el compuesto del título como cristales amarillos: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.59;

HPLC R_{tH5} = 1.444 min; ESIMS: 618, 620 $[(M+NH_4)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.83 (dd, 1 H), 7.61 (m, 3H), 7.48 (dd, 1H), 7.27 (m, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.60 (dd, 1H), 4.33 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 1.84 (s, 3H), 1.57 (s, 3H), 1.33 (t, 3H).

j) (R)-2-[(R)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-(2-nitro-bencenosulfonilamino)-propoxi]-3,3,3-trifluoro-2-metilpropionamida

5 Una solución de éster de etilo de ácido (R)- 2- [(R)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- (2- nitro- bencenosulfonilamino)- propoxi]- 3, 3, 3- trifluoro- 2- metil- propiónico (26.6 g, 44.2 mmol) en NH_3 7N en MeOH (75 ml) se agita durante 16 h a 50° C. El solvente se elimina bajo presión reducida y el sólido residual se recrystaliza a partir de Et_2O para dar el compuesto del título como cristales amarillos: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.35; HPLC R_{tH5} = 1.184 min; ESIMS: 589, 591 $[(M+NH_4)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.85 (d, 1H), 7.64 (m, 3H), 7.44 (d, 1H), 7.41 (dd, 1H), 7.26 (m, 1 H), 6.68 (br s, 1 H), 6.57 (dd, 1H), 6.19 (s, 1H), 5.54 (br s, 1H), 4.24 (d, 1 H), 3.93 (d, 1 H), 1.79 (s, 3H), 1.67 (s, 3H).

10 k) N-[(R)-1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-((R)-1-ciano-2,2,2-trifluoro-1-metil-etoxi)-1-metil-etil]-2-nitrobencenosulfonamida

15 A una solución de (R)- 2- [(R)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- (2- nitro- bencenosulfonilamino)- propoxi]- 3, 3, 3- trifluoro- 2- metil- propionamida (20.83 g, 35.6 mmol) en CH_2Cl_2 (300 ml) se agrega bajo argón NEt_3 (12.5 ml, 89 mmol) y a 0- 5° C anhídrido trifluoroacético (6.15 ml, 42.7 mmol). Después de agitar durante 4 h a 25° C la mezcla de reacción se agrega a una solución de $NaHCO_3$ fría y el producto se extrae con CH_2Cl_2 . Los extractos combinados se lavan con HCl acuoso 0.1 N frío, agua y solución de $NaHCO_3$ saturada, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo, que se utiliza como tal para la siguiente etapa: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.73; HPLC R_{tH5} = 1.364 min; ESIMS: 571, 573 $[(M+NH_4)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.89 (d, 1 H), 7.62 (ddd, 1 H), 7.57 (ddd, 1 H), 7.52 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 6.58 (dd, 1H), 6.19 (s, 1H), 4.17 (s, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.72 (s, 3H).

20 l) (2R,5R)-5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

25 A una solución de N- [(R)- 1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- ((R)- 1- ciano- 2, 2, 2- trifluoro- 1- metil- etoxi)- 1- metil- etil]- 2- nitro- bencenosulfonamida (6.54 g, 11.8 mmol) y N- acetilcisteína (2.4 g, 26.0 mmol) en MeOH (80 ml) se agrega K_2CO_3 (3.62 g, 26.0 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a 80° C durante 16 h. Después de eliminación del solvente el residuo se disuelve en agua y se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de $NaHCO_3$ saturada y solución salina, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice (hexano- EtOAc 10: 1 a 1: 2 que contiene 0.03% de NEt_3) como un aceite amarillo: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.58; HPLC R_{tH5} = 0.843 min; ESIMS: 369, 371 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.66 (dd, 1 H), 7.35 (m, 1H), 6.91 (dd, 1H), 3.97 (m, 2H), 1.53 (s, 3H), 1.49 (s, 3H).

30 m) (2R,5R)-5-(2-Fluoro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

35 Una solución de (2R, 5R)- 5- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (1.66 g, 4.5 mmol) y acetato de sodio (0.369 g, 4.5 mmol) en MeOH (50 ml) se hidrogena sobre 10% de Pd- C durante 6 h a 50° C. El catalizador se filtra sobre Celita y el filtrado se concentra. El residuo se disuelve en solución de $NaHCO_3$ saturada y se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución salina, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.19; HPLC R_{tH5} = 0.777 min; ESIMS: 291 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.41 (dt, 1 H), 7.26 (m, 1 H), 7.11 (t, 1 H), 7.05 (dd, 1 H), 4.11 (dd, 1 H), 3.94 (dd, 1 H), 1.54 (s, 3H), 1.49 (s, 3H).

n) (2R,5R)-5-(2-Fluoro-5-nitro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

40 A una solución de (2R, 5R)- 5- (2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (1.035 g, 3.57 mmol) en H_2SO_4 (6 ml) se agrega en porciones KNO_3 (0.379 g, 3.74 mmol) bajo enfriamiento con agua helada. La mezcla de reacción se agita durante 2 h a 25° C, se diluye con agua y se basicifica con K_2CO_3 bajo enfriamiento. El producto se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de $NaHCO_3$ saturada y solución salina, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran. La purificación a través de cromatografía en gel de sílice (hexano- EtOAc 4: 1 a 1: 1 que contiene 0.05% de NEt_3) da el compuesto del título como un aceite amarillo claro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.50; HPLC R_{tH5} = 0.749 min; ESIMS: 336 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 8.48 (dd, 1 H), 8.14 (m, 1 H), 7.15 (dd, 1 H), 4.20 (br s, 2H), 4.04 (dd, 1 H), 3.91 (dd, 1 H), 1.54 (s, 3H), 1.49 (s, 3H).

o) Éster de tert-butilo de ácido [(2R,5R)-5-(2-Fluoro-5-nitro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-carbámico

50 A una solución de (2R, 5R)- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- di- hidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (1.14 g, 3.4 mmol) en ACN (20 ml) se agrega Boc_2O (0.891 g, 4.08 mmol) y NEt_3 (0.72 ml, 5.1 mmol) y la mezcla se agita durante 16 h a 25° C. La mezcla de reacción se evapora y el aceite residual se purifica

mediante cromatografía en gel de sílice (hexano- EtOAc 20: 1 a 7: 3) para dar el compuesto del título después de cristalización a partir de Et₂O-hexano como cristales beige: TLC (hexano- EtOAc 3: 1): R_f =0.37; HPLC R_tH₅= 1.355 min; ESIMS: 436 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 11.04 (br s, 1 H), 8.24 (m, 2H), 7.30 (dd, 1 H), 4.41 (dd, 1 H), 4.11 (dd, 1 H), 1.68 (s, 3H), 1.51 (s, 9H), 1.49 (s, 3H).

- 5 p) éster de tert-butilo de ácido [(2R,5R)-5-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-carbámico

10 Una solución de éster de tert-butilo de ácido [(2R, 5R)- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico (0.98 g, 2.25 mmol) en isopropanol- THF 2: 1 (24 ml) se hidrogena sobre 5% de Pd- C durante 4 h a 50° C. El catalizador se filtra sobre Celita y el filtrado se concentra para proporcionar el compuesto del título después de cristalización a partir de TBME- hexano como cristales beige: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.42; HPLC R_tH₅= 0.955 min; ESIMS: 406 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 6.82 (dd, 1 H), 6.52 (m, 2H), 4.30 (dd, 1H), 3.97 (dd, 1 H), 3.06 (br s, 2H), 1.58 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.46 (s, 9H).

q) éster de tert-butilo de ácido ((2R,5R)-5-{5-[(5-Bromo-pirimidina-2-carbonil)-amino]-2-fluoro-fenil}-2,5-dimetil-2-trifluorometil- 5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-carbámico

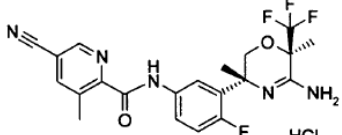
15 A una solución de éster de tert-butilo de ácido [(2R, 5R)- 5- (5- amino- 2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico (76 mg, 0.187 mmol) en DMF (2 ml) se agrega ácido 5-bromopiridina- 2- carboxílico (47 mg, 0.225 mmol), EDC.HCl (48 mg, 0.244 mmol), HOAt (29 mg, 0.206 mmol) y DIPEA (0.08 ml, 0.469 mmol) y la mezcla de reacción se mantiene a 25° C durante 16 h. La mezcla se concentra, el residuo se disuelve en EtOAc y se lava con solución de NaHCO₃ saturada y solución salina, se seca sobre MgSO₄,
20 se filtra y se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano- EtOAc 20: 1 a 1: 1) para proporcionar el compuesto del título como una espuma amarillo claro: HPLC R_tH₅= 1.297 min; ESIMS: 590, 592 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 10.98 (br s, 1H), 9.71 (br s, 1H), 8.94 (s, 2H), 7.89 (m, 1 H), 7.49 (dd, 1 H), 7.12 (dd, 1H), 4.38 (d, 1 H), 4.04 (d, 1 H), 1.66 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.52 (s, 9H).

- 25 r) Clorhidrato de [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro- 2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Bromo-pirimidina-2-carboxílico

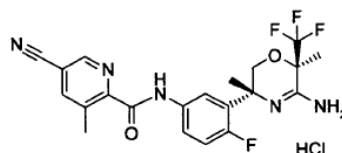
30 Una solución de éster de tert-butilo de ácido ((2R, 5R)- 5- {5- [(5- bromo- pirimidina- 2- carbonil)- amino]- 2- fluoro- fenil}- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico (90 mg, 0.153 mmol) en HCl 4N en dioxano (1 ml) se agita a 40- 45° C durante 6 h. La mezcla se concentra y el residuo se cristaliza a partir de Et₂O para producir el compuesto del título como un sólido beige: HPLC R_tH₅= 0.837 min; ESIMS: 490, 492 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (600 MHz, DMSO- d₆): 11.61 (br s, 1H), 11.14 (br s, 1 H), 9.61 (br s, 2H), 9, 26 (s, 2H), 7.98 (d, 1 H), 7.90 (d, 1 H), 7.32 (dd, 1 H), 4.31 (d, 1 H), 4.10 (d, 1H), 1.72 (s, 3H), 1.62 (s, 3H).

El Ejemplo 72: se puede preparar mediante procedimientos análogos a aquellos utilizados en el ejemplo de referencia 71.

Tabla 9

Ejemplo	compuesto	¹ H-RMN (δ; DMSO-d ₆)	MS [m/z; (M+1) ⁺]
72	 Clorhidrato de [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil- 3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluorofenil]- amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico	11.0 (s, 1H), 9.60 (d, 2H), 9.04 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.96 (m, 1H), 7.83 (dd, 1H), 7.33 (dd, 1H), 4.37 (d, 1H), 4.11 (d, 1H), 2.56 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 1.70 (s, 3H)	450

Descripción más detallada de la preparación de Ejemplo 72: clorhidrato de [3-((3R, 6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico



5

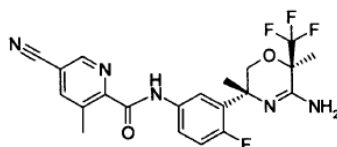
a) Éster de tert-butilo de ácido ((2R,5R)-5-{5-[(5-Ciano-3-metil-piridina-2-carbonil)-amino]-2-fluoro-fenil}-2,5-dimetil-2-trifluorometil- 5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-carbámico

A una solución de éster de tert-butilo de ácido [(2R, 5R)- 5- (5- amino- 2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico (82 mg, 0.20 mmol) en DMF (2 ml) se agrega ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico [Ácido- 3] (42 mg, 0.26 mmol), EDC.HCl (51 mg, 0.26 mmol), HOAt (31 mg, 0.22 mmol) y DIPEA (0.09 ml, 0.52 mmol) y la mezcla de reacción se mantiene a 25° C durante 16 h. La mezcla se concentra, el residuo se disuelve en EtOAc y se lava con solución de NaHCO₃ saturada y solución salina, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano- EtOAc 20: 1 a 1: 1) para proporcionar el compuesto del título como una espuma amarillo claro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f = 0.81; HPLC R_tH₅ = 1.437 min; ESIMS: 550 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 10.96 (br s, 1 H), 9.95 (br s, 1H), 8.63 (s, 2H), 7.88 (m, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.54 (dd, 1H), 7.08 (dd, 1H), 4.34 (d, 1 H), 4.02 (d, 1 H), 2.77 (s, 3H), 1.63 (s, 3H), 1.47 (m, 12H).

b) Clorhidrato de [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro- 2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico

A una solución de éster de tert-butilo de ácido ((2R, 5R)- 5- {5- [(5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carbonil)- amino]- 2- fluoro- fenil}- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico en CH₂Cl₂ (0.3 ml) se agrega TFA (0.6 ml) y la mezcla de reacción se mantiene a 25° C durante 2 h. La reacción se agrega a solución de K₂CO₃ acuosa al 10% fría y el producto se extrae con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución salina, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra para proporcionar [3- ((3R, 6R)- 5- amino- 3, 6- dimetil- 6- trifluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico como una espuma incolora. El compuesto del título se convierte en su sal de clorhidrato al disolver la base libre en CH₂Cl₂, agregar 1 eq. de HCl 2N en Et₂O, evaporación hasta secado, seguido por cristalización a partir de CH₂Cl₂- Et₂O para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco: HPLC R_tH₅ = 0.957 min; ESIMS: 450 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (600 MHz, DMSO- d₆): 11.0 (s, 1H), 9.60 (d, 2H), 9.04 (s, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 7.96 (m, 1 H), 7.83 (dd, 1 H), 7.33 (dd, 1 H), 4.37 (d, 1H), 4.11 (d, 1 H), 2.56 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 1.70 (s, 3H).

Ejemplo 72a: Preparación de [3-((3R,6R)-5-amino- 3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 6-ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico cristalina



a) 2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-propan-2-ol

A una solución de diisopropil amina (57.3 ml, 402 mmol) en THF (500 ml) se agrega bajo argón una solución 1.6 M de nBuLi en hexano (260 ml, 416 mmol) por debajo de - 50° C. Después de agitar durante 30 min a -75° C, se agrega 4- bromo- 1- fluoro benceno (31.1 ml, 277 mmol) mientras se mantiene la temperatura por debajo de - 70° C. Después de agitar durante 2 h a -75° C, se agrega acetona (41.2 ml, 554 mmol) por debajo de - 65° C y la mezcla de reacción se agita durante 1 h a -75° C, se calienta hasta - 50° C y se vierte en 10% de solución de NH₄Cl acuosa. La mezcla se extrae con TBME, las fases orgánicas se lavan con solución de KHSO₄ acuosa, solución de NaHCO₃ saturada y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran. El producto crudo se cristaliza a partir de hexano para proporcionar el compuesto del título como cristales blancos: TLC (hexano- EtOAc 3: 1): R_f =0.45; UPLC Rt_{H5}=1.045 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.74 (dd, 1H), 7.36 (m, 1 H), 6.93 (dd, 1 H), 2.04 (d, 1 H), 1.63 (s, 6H).

b) 4-Bromo-1-fluoro-2-isopropenil-benceno

A una solución de 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propan- 2- ol (119.7g, 498 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se agrega hidroquinona (2.74 g, 24.9 mmol) y 250 ml 85% de H₃PO₄. La mezcla de reacción resultante se agita durante 3.5 h a 50° C. La mezcla se vierte sobre agua helada y se extrae con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas se lavan con NaOH acuoso 2N y agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran. El producto crudo se disuelve en hexano y se filtra a través de un cepillo de gel de sílice para obtener después de concentración a 600 mbar el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano): R_f =0.52; UPLC Rt_{H5}=1.416 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.43 (dd, 1H), 7.37 (m, 1H), 6.94 (dd, 1H), 5.27 (d, 2H), 2.13 (s, 3H).

c) (S)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-propano-1,2-diol

A una suspensión de K₃Fe (CN)₆ (186 g, 561 mmol), K₂CO₃ (78 g, 561 mmol), (DHQ)₂- PHAL (1.311 g, 1.674 mmol) y K₂OsO₂ (OH)₄ (0.378 g, 1 mmol) en t- BuOH- H₂O 1: 1 (1600 ml) se agrega 4- bromo- 1- fluoro- 2- isopropenilbenceno (36 g, 167 mmol) a 0° C y la mezcla de reacción se agita durante 14 h a 0° C. Después de adición cuidadosa de Na₂S₂O₅ (100 g) a 0- 5° C la mezcla de reacción se agita durante 1 h antes de extracción con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de Na₂S₂O₃ y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para dar el compuesto del título como un sólido blanco: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.46; UPLC Rt_{H5}=0.767 min; ESIMS: 266, 268 [(M+NH₄)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.71 (dd, 1H), 7.27 (m, 1 H), 6.83 (dd, 1 H), 3.85 (d, 1H), 3.62 (d, 1H), 2.94 (s, 3H), 2.01 (s, 1 H), 1.43 (s, 3H).

d) (S)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-metil-oxirano

A una solución de (S)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propano- 1, 2- diol (37.35 g, 150 mmol) en CH₂Cl₂ (400 ml) se agrega bajo argón NEt₃ (41.8 ml, 300 mmol) y en forma de gotas cloruro de mesilo (12.8 ml, 165 mmol) a 0- 5° C. Después de agitar durante 0.5 h a 0- 5° C la mezcla de reacción se agrega a HCl 1 N frío y se extrae con CH₂Cl₂. Los extractos combinados se lavan con HCl 1 N, H₂O y solución de NaHCO₃ saturada, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran. El mesilato crudo se disuelve en TBME (500 ml) y 200 ml NaOH acuoso 2N y después de agitar durante 2 h a 25° C la mezcla se extrae con TBME. Los extractos combinados se lavan con solución de NaH₂PO₄ y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para proporcionar el (S)-enantiómero como un aceite incoloro: 78% de ee (Chiralpak AS- H 1218, hexano- EtOH 97: 3, 0.4 mL/min); TLC (hexano- EtOAc 3: 1): R_f =0.69; UPLC Rt_{H5}= 1.186 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.46 (dd, 1 H), 7.30 (m, 1 H), 6.83 (dd, 1H), 2.88 (d, 1 H), 2.72 (d, 1 H), 1.59 (s, 3H).

e) (S)-1-Azido-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-2-ol

A una solución de (S)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- metil- oxirano (51.85 g, 224 mmol) en EtOH (800 ml) se agrega NaN₃ (36.8 g, 531 mmol), NH₄Cl (60.6 g, 1122 mmol) y 18- corona- 6 (59.8 g, 224 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 6 h. La mezcla de reacción se filtra y se concentra hasta la mitad de su volumen. El aceite residual se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de NaHCO₃ saturada y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo claro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.70; UPLC Rt_{H3}= 1.115 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.72 (dd, 1 H), 7.32 (m, 1 H), 6.85 (dd, 1H), 3.73 (d, 1H), 3.51 (d, 1H), 2.44 (s, 1H), 1.50 (s, 3H).

f) (S)-1-Amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-2-ol

A una suspensión de LiAlH₄ (4.65 g, 122 mmol) en THF (250 ml) se agrega bajo argón a 0- 5° C una solución de (S)- 1- azido- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propan- 2- ol (33.4 g, 122 mmol) disuelta en THF (150 ml) durante un periodo de 30 min. Después de agitar durante 1 h a 0- 5° C, la reacción se detiene mediante adición cuidadosa de agua (4.7 ml), NaOH 4 N (4.7 ml) y agua (14.1 ml). Después de agitar durante 3 h a 25° C la suspensión blanca se seca con MgSO₄, se filtra y se concentra. El producto solidificado se recrystaliza a partir de TBME- hexano para proporcionar el

compuesto del título como cristales beige: 98% de ee (Chiralpak AD- H hexano- EtOH 75- 25 + 0.05% de NEt₃); TLC (CH₂Cl₂- MeOH 10: 1) R_f =0.10; UPLC R_tH₅= 0.558 min; ESIMS: 248, 250 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.76 (dd, 1H), 7.25 (m, 1H), 6.82 (dd, 1H), 4.16 (br s, 1 H), 3.19 (d, 1H), 2.72 (d, 1H), 1.44 (s, 3H), 0.95 (br s, 2H).

g) N-[(S)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-hidroxi-propil]-2-nitro-bencenosulfonamida

- 5 A una solución de (S)- 1- amino- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- propan- 2- ol (34.7 g, 140 mmol) en THF (400 ml) se agrega cloruro de 2- nitro- bencenosulfonilo (34.9 g, 154 mmol) a 0- 5° C y después NaOH acuoso 1 N durante un periodo de 0.5 h. La mezcla de reacción se agita durante 2 h a 20° C. La mezcla de reacción se diluye con TBME y se lava con agua y solución de NaH₂PO₄ y solución salina, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título después de cristalización a partir de TBME- hexano como cristales beige: TLC (tolueno- EtOAc 3: 1): R_f =0.51; UPLC R_tH₅= 1.118 min; ESIMS: 450, 452 [(M+NH₄)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.98 (m, 1H), 7.81 (m, 1H), 7.65 (m, 2H), 7.59 (dd, 1H), 7.24 (m, 1 H), 6.79 (dd, 1 H), 5.60 (t, 1H), 4.16 (br s, 1 H), 3.55 (dd, 1H), 3.44 (dd, 1 H), 2.51 (s, 1 H), 1.51 (s, 3H).

h) (R)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-metil-1-(2-nitro-bencenosulfonil)-aziridina

- 15 A una solución de N- [(S)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- hidroxi- propil]- 2- nitro- bencenosulfonamida (20.8 g, 48 mmol) en CH₂Cl₂ (400 ml) se agrega PPh₃ (19.2 g, 72.4 mmol) a 0- 5° C y azodicarboxilato de dietilo (11.6 ml, 72.4 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 24 h a 25° C y se concentra. El compuesto del título se obtiene después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice (hexano- EtOAc 20: 1 a 2: 1) como cristales amarillos: TLC (tolueno- EtOAc 3: 1): R_f =0.69; UPLC R_tH₅= 1.308 min; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 8.31 (m, 1H), 7.28 (m, 3H), 7.60 (dd, 1H), 7.42 (m, 1H), 6.91 (dd, 1H), 3.24 (s, 1H), 2.81 (s, 1 H), 2.06 (s, 3H).

- 20 i) éster de etilo de ácido de (R)-2-[(R)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-(2-nitro-bencenosulfonilamino)-propoxi]-3,3,3-trifluoro-2-metilpropiónico

- 25 A una suspensión de NaH (2.53 g 60% en aceite mineral, 63 mmol) en DMF (160 ml) se agrega en forma de gotas bajo argón éster de etilo de ácido (R)- 3, 3, 3- trifluoro- 2- hidroxi- 2- metil- propiónico (11.99 g, 63 mmol) y después de agitar durante 0.5 h a 20° C (R)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- metil- 1- (2- nitro- bencenosulfonil)- aziridina (21.85 g, 52.6 mmol). La reacción se mantiene a 25° C durante 16 h. La mezcla se agrega a HCl 2N acuoso frío y el producto se extrae con TBME. Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución de NaHCO₃ saturada y solución salina, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra. El sólido residual se recrystaliza a partir de TBME- hexano para proporcionar el compuesto del título como cristales amarillos: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.59; UPLC R_tH₅= 1.444 min; ESIMS: 618, 620 [(M+NH₄)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.83 (dd, 1H), 7.61 (m, 3H), 7.48 (dd, 1 H), 7.27 (m, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 6.60 (dd, 1 H), 4.33 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 1.84 (s, 3H), 1.57 (s, 3H), 1.33 (t, 3H).

j) (R)-2-[(R)-2-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-(2-nitro-bencenosulfonilamino)-propoxi]-3,3,3-trifluoro-2-metilpropionamida

- 35 Una solución de éster de etilo de ácido (R)- 2- [(R)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- (2- nitro- bencenosulfonilamino)- propoxi]- 3, 3, 3- trifluoro- 2- metil- propiónico (26.6 g, 44.2 mmol) en NH₃ 7N en MeOH (75 ml) se agita durante 16 h a 50° C. El solvente se elimina bajo presión reducida y el sólido residual se recrystaliza a partir de Et₂O para dar el compuesto del título como cristales amarillos: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.35; UPLC R_tH₅= 1.184 min; ESIMS: 589, 591 [(M+NH₄)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.85 (d, 1 H), 7.64 (m, 3H), 7.44 (d, 1H), 7.41 (dd, 1 H), 7.26 (m, 1 H), 6.68 (br s, 1 H), 6.57 (dd, 1 H), 6.19 (s, 1 H), 5.54 (br s, 1 H), 4.24 (d, 1 H), 3.93 (d, 1 H), 1.79 (s, 3H), 1.67 (s, 3H).

- 40 k) N-[(R)-1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2-((R)-1-ciano-2,2,2-trifluoro-1-metil-etoxi)-1-metil-etil]-2-nitrobencenosulfonamida

- 45 A una solución de (R)- 2- [(R)- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- (2- nitro- bencenosulfonilamino)- propoxi]- 3, 3, 3- trifluoro- 2- metil- propionamida (20.83 g, 35.6 mmol) en CH₂Cl₂ (300 ml) se agrega bajo argón NEt₃ (12.5 ml, 89 mmol) y a 0- 5° C anhídrido trifluoroacético (6.15 ml, 42.7 mmol). Después de agitar durante 4 h a 25° C la mezcla de reacción se agrega a una solución de NaHCO₃ fría y el producto se extrae con CH₂Cl₂. Los extractos combinados se lavan con HCl acuoso 0.1 N frío, agua y solución de NaHCO₃ saturada, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo, que se utiliza como tal para la siguiente etapa: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.73; UPLC R_tH₅= 1.364 min; ESIMS: 571, 573 [(M+NH₄)⁺]; ¹H RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 7.89 (d, 1 H), 7.62 (ddd, 1 H), 7.57 (ddd, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 6.58 (dd, 1H), 6.19 (s, 1H), 4.17 (s, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.72 (s, 3H).

- 50 l) (2R,5R)-5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

A una solución de N- [(R)- 1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2- ((R)- 1- ciano- 2, 2, 2- trifluoro- 1- metil- etoxi)- 1- metil- etil]- 2- nitro- bencenosulfonamida (6.54 g, 11.8 mmol) y N- acetil- cisteína (2.4 g, 26.0 mmol) en MeOH (80 ml) se

agrega K_2CO_3 (3.62 g, 26.0 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a 80° C durante 16 h. Después de eliminación del solvente el residuo se disuelve en agua y se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de $NaHCO_3$ saturada y solución salina, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran para proporcionar el compuesto del título después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice (hexano- EtOAc 10: 1 a 1: 2 que contiene 0.03% de NEt_3) como un aceite amarillo: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.58; UPLC R_{tH5} = 0.843 min; ESIMS: 369, 371 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.66 (dd, 1 H), 7.35 (m, 1 H), 6.91 (dd, 1H), 3.97 (m, 2H), 1.53 (s, 3H), 1.49 (s, 3H).

m) (2R,5R)-5-(2-Fluoro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

Una solución de (2R, 5R)- 5- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (1.66 g, 4.5 mmol) y acetato de sodio (0.369 g, 4.5 mmol) en MeOH (50 ml) se hidrogena sobre 10% de Pd- C durante 6 h a 50° C. El catalizador se filtra sobre Celita y el filtrado se concentra. El residuo se disuelve en solución de $NaHCO_3$ saturada y se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución salina, se seca sobre $MgSO_4$, se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título como un aceite incoloro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.19; UPLC R_{tH5} = 0.777 min; ESIMS: 291 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7.41 (dt, 1 H), 7.26 (m, 1 H), 7.11 (t, 1 H), 7.05 (dd, 1 H), 4.11 (dd, 1 H), 3.94 (dd, 1 H), 1.54 (s, 3H), 1.49 (s, 3H).

n) (2R,5R)-5-(2-Fluoro-5-nitro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

A una solución de (2R, 5R)- 5- (2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (1.035 g, 3.57 mmol) en H_2SO_4 (6 ml) se agrega en porciones KNO_3 (0.379 g, 3.74 mmol) bajo enfriamiento con agua helada. La mezcla de reacción se agita durante 2 h a 25° C, se diluye con agua y se basicifica con K_2CO_3 bajo enfriamiento. El producto se extrae con EtOAc. Los extractos combinados se lavan con solución de $NaHCO_3$ saturada y solución salina, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran. La purificación a través de cromatografía en gel de sílice (hexano- EtOAc 4: 1 a 1: 1 que contiene 0.05% de NEt_3) da el compuesto del título como un aceite amarillo claro: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.50; UPLC R_{tH5} = 0.749 min; ESIMS: 336 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 8.48 (dd, 1 H), 8.14 (m, 1 H), 7.15 (dd, 1H), 4.20 (br s, 2H), 4.04 (dd, 1H), 3.91 (dd, 1 H), 1.54 (s, 3H), 1.49 (s, 3H).

o) éster de tert-butilo de ácido [(2R,5R)-5-(2-Fluoro-5-nitro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

A una solución de (2R, 5R)- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (1.14 g, 3.4 mmol) en ACN (20 ml) se agrega Boc_2O (0.891 g, 4.08 mmol) y NEt_3 (0.72 ml, 5.1 mmol) y la mezcla se agita durante 16 h a 25° C. La mezcla de reacción se evapora y el aceite residual se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexano- EtOAc 20: 1 a 7: 3) para dar el compuesto del título después de cristalización a partir de Et_2O -hexano como cristales beige: TLC (hexano- EtOAc 3: 1): R_f =0.37; UPLC R_{tH5} = 1.355 min; ESIMS: 436 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 11.04 (br s, 1H), 8.24 (m, 2H), 7.30 (dd, 1H), 4.41 (dd, 1H), 4.11 (dd, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.51 (s, 9H), 1.49 (s, 3H).

p) éster de tert-butilo de ácido [(2R,5R)-5-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-2,5-dimetil-2-trifluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

Una solución de éster de tert-butilo de ácido [(2R, 5R)- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico (0.98 g, 2.25 mmol) en isopropanol- THF 2: 1 (24 ml) se hidrogena sobre 5% de Pd- C durante 4 h a 50° C. El catalizador se filtra sobre Celita y el filtrado se concentra para proporcionar el compuesto del título después de cristalización a partir de TBME- hexano como cristales beige: TLC (hexano- EtOAc 1: 1): R_f =0.42; UPLC R_{tH5} = 0.955 min; ESIMS: 406 $[(M+H)^+]$; 1H RMN (360 MHz, $CDCl_3$): δ 6.82 (dd, 1H), 6.52 (m, 2H), 4.30 (dd, 1H), 3.97 (dd, 1H), 3.06 (br s, 2H), 1.58 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.46 (s, 9H).

q) éster de tert-butilo de ácido ((2R,5R)-5-{[(5-Ciano-3-metil-piridina-2-carbonil)-amino]-2-fluoro-fenil}-2,5-dimetil-2-trifluorometil- 5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-carbámico

A una solución de éster de tert-butilo de ácido [(2R, 5R)- 5- (5- amino- 2- fluoro- fenil)- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico (2.2 g, 5.43 mmol) en DMF (20 ml) se agrega a 0- 5° C ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico (0.968 g, 5.97 mmol), EDC (1.095 g, 7.05 mmol), HOAt (1.182 g, 8.68 mmol) y la mezcla de reacción se agita a 25° C durante 16 h. La mezcla de reacción se agrega a solución fría de $NaHCO_3$ saturada y el producto se extrae con TBME. Las capas de TBME combinadas se lavan con H_2O y solución salina, se secan sobre $MgSO_4$, se filtran y se concentran para obtener después de cristalización a partir de diisopropiléter el compuesto del título como cristales incoloros: UPLC R_{tH5} =1.472 min; ESIMS: 550; $[(M+H)^+]$; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 11.11 (s, 1H), 10.11 (s, 1 H), 8.79 (br s, 1 H), 8.01 (s, 1H), 7.84 (m, 1H), 7.68 (dd, 1 H), 7.21 (dd, 1H), 4.49 (d, 1 H), 4.16 (d, 1 H), 1.76 (s, 3H), 1.64 (s, 3H), 1.62 (s, 9H).

r) ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro- 2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida

5 A una solución de éster de tert-butilo de ácido ((2R, 5R)- 5- {5- [(5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carbonil)- amino]- 2- fluoro- fenil}- 2, 5- dimetil- 2- trifluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico (2.27 g, 4.13 mmol) en CH₂Cl₂ (25 ml) se agrega TFA (41.3 mmol, 3.18 ml) y la mezcla de reacción se agita a 25° C durante 2.5 h. La mezcla de reacción se agrega a 10% de solución de NaHCO₃ acuosa (pH >8) y la base libre se extrae con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua y solución salina, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran. El producto crudo se recrystaliza dos veces al disolver el material en EtOH (15 ml) a 50- 60° C y después de saturación con H₂O (6- 8 ml) la solución clara se deja enfriar a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar después de filtración y secado el compuesto del título en >99% de pureza como cristales blancos: UPLC Rt_{H5} = 0.905 min; ESIMS: 450 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (600 MHz, DMSO- d₆): 10.72 (s, 1 H), 8.97 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 7.78 (d, 1 H), 7.71 (m, 1H), 7.15 (t, 1H), 6.08 (br s, 2H), 3.91 (d, 1H), 3.78 (d, 1 H), 2.52 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (s, 3H).

15 **Ejemplo 72b:** Análisis XRPD y DSC de [3-((3R,6R)- 5-amino-3,6-dimetil-6-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico cristalina

Se analiza [3- ((3R, 6R)- 5- amino- 3, 6- dimetil- 6- trifluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico analiza mediante XRPD y se muestran los diez picos característicos en la Tabla 9.5 (véase también la Figura 2).

Tabla 9.5

Grados 2-Θ	Espaciado d (Å)	Intensidad (conteos)	Intensidad relativa %
8.335	10.59904	22.60	7.1 Bajo
9.032	9.78356	2013	6.3 Bajo
10.851	8.14682	6590	20.7 Medio
12.919	6.84703	7660	24.1 Medio
13.859	6.38459	31816	100 Alto
15.403	5.74799	15281	48.0 Medio
16.211	5.46313	6577	20.7 Medio
17.129	5.17238	8543	26.9 Medio
18.158	4.88155	5135	16.1 Medio
24.514	3.62838	10501	33 Medio

20

Se realiza análisis de difracción en polvo de rayos X (XRPD) utilizando un difractómetro de rayos x Brucker D8 Advance. Se toman mediciones a aproximadamente a 30 kV y 40 mA bajo las siguientes condiciones:

Índice de escaneo (escaneo continuo): 0.3 s/etapa (igual a 107.1 s tiempo de etapa)

Tamaño de etapa: 0.017° (2Teta)

Hendidura Soller 2.5°

Hendiduras (desde izquierda a derecha): V12 (variable), 6 mm hendidura antidispersión

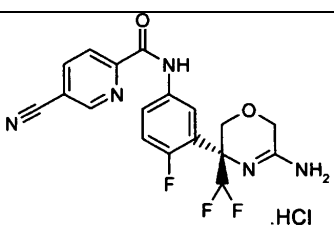
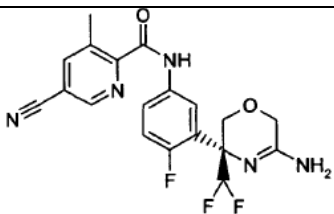
El patrón de difracción de rayos X se registra entre 2° y 40° (2 teta) con radiación CuK_α para identificación del patrón completo.

También se analiza la [3- ((3R, 6R)- 5- amino- 3, 6- dimetil- 6- trifluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico cristalina mediante calorimetría de escaneo diferencial (DSC) utilizando un DSC Q1000 de TA Instruments y se encuentra que tiene un inicio de fusión en aproximadamente 94° C (93.6° C).

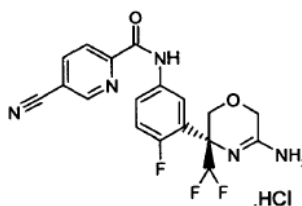
- 5 **Ejemplos 112 y 144:** Los compuestos enumerados en la Tabla 17 se preparan mediante procedimientos análogos a aquellos utilizados en los Ejemplos 42 o 112.

10 Para compuestos enantioméricamente puros el precursor racémico éster de tert-butilo de ácido [5- (5- amino- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico a (ejemplo 42)] se separa a través de columna prep- HPLC en Chiralpak AD- H 250 x 4.6mm utilizando CO₂ / EtOH supercrítico 9: 1 como un eluyente. El compuesto deseado es el (R)- enantiómero que se eluye más lentamente. Exceso enantiomérico = 99.7 %; [α]_D = -109.7° (c=1, CHCl₃).

Tabla 17

Ejemplo	Compuesto	¹ H-RMN (δ; DMSO-d ₆)	MS [m/z; (M+1) ⁺]
112	 clorhidrato de [3-((R)- 5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro- 2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-piridina-2-carboxílico	11.09 (s, 1H), 11.01 (s, 1H) 9.76 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.61 (d, 1H), 8.30 (d, 1H), 8.12 - 8.06 (m, 2H), 7.41 (dd, 1H), 6.79 (t, J = 54 Hz, 1H), 4.71 (d, 1H), 4.65 (d, 1H), 4.34 (d, 1H), 4.18 (d, 1H)	390
144	 [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluorofenil]-amida ácido 5-Ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico	10.72 (s, 1H), 8.97 (s, 1H) 8.39 (s, 1H), 8.02 - 7.97 (m, 1H), 7.83 - 7.78 (m, 1H), 7.18 (dd, 1H), 6.14 (s, 2H), 6.14 (t, J = 54 Hz, 1H), 4.10 (d, 1H), 4.01 (d, 1H), 3.91 (d, 1H), 3.84 (d, 1H), 2.54 (s, 3H)	404

- 15 Descripción más detallada de la preparación del Ejemplo 112: clorhidrato de [3-((R)-5-amino- 3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-piridina-2-carboxílico



a) 5-Difluorometil-5-(2-fluoro-fenil)-morfolin-3-ona

- 20 5- (5- Bromo- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- morfolin- 3- ona (190 g, 586 mmol) [ejemplo 42 etapa e)] y acetato de sodio (57.7 g, 703 mmol) se suspenden en 1850 mL de metanol. Luego se agrega 10 % de Pd sobre carbono (18.7 g) y la mezcla de reacción se agita en un aparato Parr en una atmósfera de hidrógeno a rt. Después de 60 minutos

[3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico la mezcla de reacción se filtra sobre celita y se evapora. El residuo se disuelve en 2L TBME y se lava con aqueous NaHCO₃ y solución salina. La capa orgánica se seca sobre MgSO₄.H₂O y se evapora para dar 143.2 g del compuesto del título como un sólido blanco.

5 HPLC: Rt_{H1} = 0.792 min; ESIMS [M+H]⁺ = 246;

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 7.50- 7.43 (m, 2H), 7.32- 7.27 (m, 1 H), 7.19 (dd, 1H), 6.62 (br, 1 H), 6.37 (t, J = 54 Hz, 1H), 4.34 (d, 1 H), 4.31 (d, 1H), 4.22 (d, 1H), 4.20 (d, 1H).

b) 5-Difluorometil-5-(2-fluoro-fenil)-morfolina-3-tiona

10 Una mezcla de 5- difluorometil- 5- (2- fluoro- fenil)- morfolin- 3- ona (141 g, 575 mmol) y reactivo de Lawesson (132 g, 316 mmol) en 1400 ml de THF se calienta a 68° C durante 1 h, se enfría y luego se evapora. El residuo se disuelve en DCM 1 L y se filtra sobre 2 Kg de gel de sílice with 10 L DCM para dar 161 g del compuesto del título en la forma de una resina verdosa que se cristaliza lentamente. El compuesto se utiliza sin purificación adicional.

HPLC: Rt_{H1} = 1.799 min; ESIMS [M+H]⁺ = 262;

15 ¹H- RMN (360 MHz, CDCl₃): 7.42- 7.35 (m, 1H), 7.28 (t, 1 H), 7.19 (t, 1 H), 7.11 (dd, 1 H), 6.29 (t, J = 54 Hz, 1 H), 4.57 (d, 1 H), 4.47 (d, 1H), 4.21 (d, 1 H), 4.18 (d, 1H).

c) 5-Difluorometil-5-(2-fluoro-fenil)-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

20 5- Difluorometil- 5- (2- fluoro- fenil)- morfolina- 3- tiona (160 g, 570 mmol) se disuelve en 2.4 L de una solución NH₃ 7 mol/L en metanol durante 6.5 h y después se deja reposar durante la noche. La mezcla de reacción se evapora y se toma en 2 L de HCl acuoso 1 N y 2 L de TBME. La fase acuosa se lava con TBME y se hace básica mediante adición de 300 ml de 30% de NaOH acuoso y algo de hielo. La mezcla se extrae con DCM tres veces y las capas orgánicas combinadas se secan con Na₂SO₄ y se concentran en vacío. El compuesto del título se obtiene mediante cristalización a partir de DCM/ heptanos (128.45 g).

HPLC: Rt_{H3} = 2.059 min; ESIMS [M+H]⁺ = 245;

25 ¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 7.77 (t, 1 H), 7.38- 7.30 (m, 1 H), 7.21 (t, 1 H), 7.09 (dd, 1 H), 6.19 (t, J = 54 Hz, 1H), 4.51 (br, 2H), 4.32, (d, 1H), 4.18 (d, 1 H), 4.05 (d, 1 H), 3.96 (d, 1H), 1.39 (s, 3H), 1.24 (s, 3H).

d) 5-Difluorometil-5-(2-fluoro-5-nitro-fenil)-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

30 Se agrega nitrato de potasio (60.3 g, 596 mmol) en forma de porciones a 600 ml de ácido sulfúrico (Temperatura < 20° C). Esta solución se agrega en forma de gotas a una solución de 5- difluorometil- 5- (2- fluoro- fenil)- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (112 g, 459 mmol) en 600 ml de ácido sulfúrico, mientras que se mantiene la temperatura de reacción < 22° C con un baño de hielo. Después de agitar durante 1 h, la mezcla se vierte sobre 10 Kg de hielo. Se agrega TBME (6 L) y el pH se ajusta a 12- 14 mediante la adición de aproximadamente about 5 L de 30% de NaOH acuoso. Las fases se separan y la fase acuosa se extrae dos veces con TBME. Las capas orgánicas combinadas se secan con sulfato de sodio y se evaporan para dar 130 g de un sólido amarillo que se utiliza sin purificación adicional.

35 HPLC: Rt_{H3} = 2.063 min; ESIMS [M+H]⁺ = 290;

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 8.71 (dd, 1 H), 8.13 (dt, 1 H), 7.13 (dd, 1 H), 5.99 (t, J = 54 Hz, 1H), 4.55 (br, 2H), 4.33 (dd, 1 H), 4.10 (d, 1 H), 3.97 (d, 1 H), 3.82 (dt, 1 H).

e) éster de tert-butilo de ácido [5-Difluorometil-5-(2-fluoro-5-nitro-fenil)-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

40 Una solución de 5- Difluorometil- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (144.5 g, 500 mmol), Boc anhídrido (142 g, 650 mmol) y DIPEA (131 ml, 749 mmol) en 2500 ml de THF se agita durante 3 días a rt, después de lo cual aún queda material de partida. Se agrega Boc anhídrido (56 g, 325 mmol), la mezcla se calienta a 60° C y se agita durante 10h hasta que se completa la reacción. La mezcla se evapora, se disuelve en TBME, se lava con HCl acuoso 1 N enfriado con hielo, agua, 10% de NaHCO₃ acuoso y solución salina. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio, se filtra y se evapora. El producto se purifica mediante cristalización a partir de DCM/ heptanos. Rendimiento 182.8 g de cristales blancos.

45 HPLC: Rt_{H1} = 3.259 min; ESIMS [M+Na]⁺ = 412;

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): 8.70 (dd, 1 H), 8.27 (dt, 1 H), 7.34 (br, 1 H), 7.25 (dd, 1 H), 6.09 (t, J = 54 Hz, 1H), 4.85 (d, 1 H), 4.58 (d, 1 H), 4.49 (dd, 1 H), 3.94 (dt, 1 H).

f) éster de tert-butilo de ácido [5-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

5 Éster de tert-butilo de ácido [5- Difluorometil- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]-carbámico (180 g, 462 mmol) y 17.61 g de Pd- C 10% se suspenden en 1760 mL de THF. La mezcla se agita en un aparato Parr en una atmósfera de hidrógeno a rt. Después de 6 h la mezcla de reacción se filtra sobre celita y se evapora. El residuo se cristaliza a partir de DCM/ heptanos para proporcionar 157.6 g del compuesto del título como cristales beige.

HPLC: Rt_{H3} = 2.748 min; ESIMS [M+H]⁺ = 360;

10 ¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): Espectro no interpretable debido a la presencia de una mezcla compleja de rotámeros.

g) Éster de tert-butilo de ácido [(R)-5-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

15 El producto racémico éster de tert-butilo de ácido ((rac) [5- (5- Amino- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico) se separa a través de prep- HPLC en Chiralpak AD- H 20um (columnas 8 x 100 x 48mm HPLC), en un instrumento Bayer SMB CC50 utilizando tecnología SMB con heptano/ EtOH/ MeOH 70: 20: 10 como eluyente. El compuesto deseado es el (R)- enantiómero que se eluye más lentamente. Rendimiento 72.29 g del compuesto del título como una espuma incolora. ee = 99.3 %; rotación Opt.: [α]_D- 97.5° (c=1, CHCl₃) HPLC: Rt_{H3}= 2.748 min; ESIMS [M+H]⁺= 360;

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz): Espectro no interpretable debido a la presencia de una mezcla compleja de rotámeros.

20 h) Éster de tert-butilo de ácido ((R)-5-[5-[(5-Ciano-piridina-2-carbonil)-amino]-2-fluoro-fenil]-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin- 3-il)-carbámico

25 Éster de tert-butilo de ácido [(R)- 5- (5- Amino- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]-carbámico (35 g, 97.4 mmol), ácido 5- ciano- piridina- 2- carboxílico (15.87 g, 107.14 mmol) e hidrato de HOBT (22.35 g, 146.1 mmol) se disuelven en 185 ml de DMF y se agitan con enfriamiento con hielo. Cuando la temperatura ha alcanzado 0- 5° C se agrega en forma de gotas EDC (22.33 ml, 126.62 mmol). La mezcla se agita durante 2 h. El baño de hielo se retira y se continúa la agitación durante 2h. La mezcla se toma en EtOAc y agua. Las fases se separan y la fase orgánica se lava con 5% de NaHCO₃ acuoso y solución salina. La fase orgánica se seca con MgSO₄.H₂O y se evapora para proporcionar un sólido beige. La cristalización a partir de EtOAc/ hexano da el compuesto del título como cristales incoloros. Rendimiento 44.47 g.

30 HPLC: Rt_{H1}= 2.888 min; ESIMS [M+Na]⁺= 512;

¹H- RMN (CDCl₃, 360 MHz, señales ampliadas debido a rotámeros): 8.95 (s, 1 H), 8.48 (d, 1H), 8.25 (d, 1H), 8.08- 8.03 (m, 1H), 7.84- 7.80 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.17 (t, 1 H), 6.18 (t, J = 54 Hz, 1 H), 4.83 (d, 1 H), 4.60 (d, 1 H), 4.42 (d, 1 H), 4.4- 4.3 (br, 1 H), 3.97 (d, 1H), 1.53 (s, 9H).

35 i) [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)- 4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-piridina-2-carboxílico

40 Éster de tert-butilo de ácido ((R)- 5- {5- [(5- Ciano- piridina- 2- carbonil)- amino]- 2- fluoro- fenil}- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico (44.47 g, 91.0 mmol) se disuelve en 450 ml de DCM y se enfría levemente con un balo de agua a rt. Se agrega TFA (150 ml). La reacción es ligeramente exotérmica. La mezcla se agita durante 1.5 h a rt. Los volátiles se eliminan con vacío a rt. El residuo se toma en DCM y el procedimiento se repite dos veces. El residuo se toma en 3 L de EtOAc y se lava con 10% de Na₂CO₃ acuoso y solución salina. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio y se evapora parcialmente. Se agrega iPrOH y la mezcla enfría. El compuesto del título se recolecta como cristales blancos-nieve. Rendimiento 30.56 g.

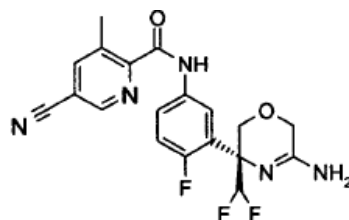
HPLC: Rt_{H3}= 2.605 min; ESIMS [M+H]⁺= 390;

45 ¹H- RMN (DMSO- d₆, 600 MHz): 10.85 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.58 (d, 1 H), 8.27 (d, 1H), 8.18- 8.14 (m, 1 H), 7.85- 7.80 (m, 1H), 7.19 (t, 1 H), 6.16 (br s, 2H), 6.14 (t, J = 54 Hz, 1 H), 4.12 (d, 1 H), 4.01 (d, 1 H), 3.92 (d, 1H), 3.88 (d, 1 H).

j) Clorhidrato de [3-((R)-5-amino-3-difluoro-metil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida, de ácido 5-Ciano-piridina-2-carboxílico

Una solución de [3-((R)-5-amino-3-difluoro-metil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-ciano-piridina-2-carboxílico (277 mg, 0.71 mmol) en 5 ml de THF se tritura con 0.9 ml de HCl 1 M en Et₂O. La mezcla se evapora parcialmente, se diluye con TBME y se evapora parcialmente (3x), finalmente hasta secado. La sal de clorhidrato contiene una cantidad significativa de THF. Se toma en EtOH y se evapora hasta secado dos veces. El producto finalmente se liofiliza con 15 ml de agua. Rendimiento 261 mg white lyophilisate. ¹H- RMN (DMSO- d₆, 600 MHz): 11.05 (s, 1 H), 11.01 (s, 1 H), 9.75 (s, 1 H), 9.25 (s, 1 H), 8.73 (br s, 1 H), 8.61 (d, 1 H), 8.10 (d, 1 H), 8.12- 8.07 (m, 2H), 7.41 (dd, 1 H), 6.79 (t, J = 54 Hz, 1 H), 4.70 (d, 1 H), 4.65 (d, 1 H), 4.36 (d, 1 H), 4.18 (d, 1H).

Primer procedimiento alternativo para la preparación del Ejemplo 144: [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico



a) 1-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro- etanona

A una solución de diisopropilamina (343 g, 3.39 mol) en THF (4 L) se agrega lentamente n- BuLi (1.4 L, 3.5 mol, 2.5 M en hexano) a -78° C mientras que se mantiene la temperatura de reacción bajo - 55° C. Después de adición, la mezcla se agita a -78° C durante 15 min. En este punto, una solución de 4- bromo- 1- fluorobenceno (540 g, 3.08 mol) en THF (1 L) se enfría a - 60° C antes de agregar a la mezcla de reacción gradualmente mientras que se mantiene temperatura de reacción bajo - 55° C y la solución amarilla resultante se agita a -78° C durante 150 min. Se agrega etildifluoroacetato (421 g, 3.39 mol) a la mezcla de reacción over 15 min y then la mezcla se agita a -78° C durante 15 min. HCl 1 M (6.0 L) se agrega a la mezcla de reacción con agitación. La capa acuosa se extrae con TBME (3 x 4 L). Las fases orgánicas combinadas se lavan con agua, se secan (MgSO₄) y se evaporan en vacío. El residuo resultante se destila bajo vacío (90- 95° C/ 0.19 mbar) y la fracción a 54 ~ 62° C se recolecta para obtener el compuesto del título como un líquido incoloro. ESIMS: 253 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8.06 (dd, 1 H), 7.75 (ddd, 1 H), 7.13 (dd, 1H), 6.41 (dt, 1 H).

b) [1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro-et-(Z)-ilideno]-amida de ácido 2-Metil-propano-2-sulfínico

A la mezcla de 1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2, 2- difluoro- etanona (6.0 kg, 23.7 mol) y (S)- (-)-tertbutanesulfonamida (3.3 kg, 27.2 mol) se agregan tolueno (73 L) con agitación a temperatura ambiente. Después de 5 min, se agrega etóxido de titanio (6.5 kg, 28.5 mol) y la mezcla se calienta a 50- 55° C. La mezcla se agita a 50- 55° C durante 3 h y se deja enfriar a temperatura ambiente antes de concentración en vacío. El producto crudo resultante se utiliza directamente en la siguiente transformación química sin purificación adicional. ESIMS: 356 [(M+H)⁺].

c) [(S)-1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-1-difluorometil-alil]-amida de ácido (S_s)-2-Metil-propano-2-sulfínico

A una solución de bromuro de vinil magnesio (400 mL, 400 mmol, 1 M en THF) se agrega tolueno (400 mL) y la mezcla resultante se enfría a por debajo de - 65° C. A la mezcla se agrega una solución de [1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2, 2- difluoro- et- (Z)- ilideno]- amida de ácido 2- metil- propano- 2- sulfínico cruda (40.2 g, 113 mmol) en tolueno (200 mL) dentro de 20 min, que se pre-enfría por debajo de - 60° C, mientras que se mantiene la temperatura de reacción bajo - 65° C. Después de adición, la mezcla resultante se agita a -65- -72° C durante 40 min antes de detenerla con solución de H₂SO₄ acuosa (270 ml, 8.4% en peso). La mezcla resultante se agita y se calienta lentamente a - 20° C, otra porción de solución de H₂SO₄ acuosa (540 ml, 8.4% en peso) se agrega a la mezcla lentamente por medio de una jeringa, la mezcla resultante se calienta y se agita a 10 ~ 20° C durante 1 hora. Las dos capas se separan y la capa orgánica se lava con solución de bicarbonato acuoso (540 mL, 4% en peso), seguido por solución salina. La capa orgánica se filtra a través de una almohadilla de Celite®, se concentra en vacío para obtener el compuesto del título crudo como una mezcla 3:1 de diastereoisómeros, que se utiliza en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESIMS: 384 [(M+H)]⁺.

d) [(R)-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-2,2-difluoro-1-hidroximetiletil]-amida de ácido 2-Metilpropano-2-sulfínico

A la solución de [(S)- 1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 1- difluorometilalil]- amida de ácido (S_s)- 2- metil- propano- 2- sulfínico (20 g, 52 mmol) en CH₂Cl₂ (640 mL) y MeOH (160 mL) se agrega acetato de potasio (1 g, 10.4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla agitada luego se enfría a - 70° C. Se burbujea gas O₂ a través de la mezcla de reacción con agitación a través del dispensador de gas bajo la superficie de la mezcla de reacción durante 15 min a índice de flujo 1 L/min. Luego se reemplaza por ozono y se burbujea a través con agitación a -70° C hasta que la mezcla de reacción se torna azul. En este punto, se detiene el ozono y se reemplaza al burbujear O₂ a través de la mezcla de reacción hasta el desvanecimiento del color azul. Luego borohidruro de sodio (3.9 g, 104 mmol) se agrega en porciones mientras que se mantiene la mezcla de reacción a <- 60° C. La mezcla se deja calentar a - 20° C durante 1 h con agitación. Se utiliza un palillo de prueba de Peróxido Quantofix® 25 (Sigma Aldrich) para determinar los restos del peróxido en la mezcla de reacción. Cuando no existe peróxido en la mezcla de reacción revelado por el palillo de prueba de peróxido, se agrega lentamente solución de NH₄Cl acuosa saturada a la mezcla de reacción con agitación hasta que finaliza la evolución de gas H₂. La mezcla se concentra en vacío para eliminar volátiles orgánicos. El residuo acuoso se divide en partes entre acetato de etilo y H₂O. La capa orgánica separada se concentra en vacío para dar el compuesto del título crudo como una mezcla 3:1 de diastereoisómeros. El compuesto del título crudo aceitoso se disuelve en TBME y la solución se calienta a 50~ 55° C antes de adición de n- heptano a 50- 55° C. La mezcla se deja enfriar gradualmente durante 20 min a 40- 45° C. En este punto, la semilla de compuesto del título pura se agrega al matraz y la mezcla de reacción se enfría gradualmente con agitación gentil durante 2 h a 0- 5° C y luego se agita a 0- 5° C durante otras 8 h. La suspensión resultante se filtra y la torta de filtro se lava con solvente mezclado frío (TBME: n- heptano = 1: 2). La torta de filtro se seca en horno al vacío a 40° C durante 12 h para dar el compuesto del título puro como un sólido cristalino blanco. ESIMS: 388 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 7.80 (dd, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.21 (dd, 1 H), 6.51 (t, 1 H), 5.72 (s, 1H), 5.23 (dd, 1 H), 3.97 (d, 1 H), 1.18 (s, 9H).

e) (R)-2-Amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3,3-difluoro-propan-1-ol

A una solución de [(R)- 1- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 2, 2- difluoro- 1- hidroximetil- etil]- amida de ácido 2- metil- propano- 2- sulfínico (10 g, 25.76 mmol) en DCM (100 ml) se agrega bajo argón 30% de HCl en solución IPA (10 ml, 91.6 mmol) por debajo de 25° C. Después de agitar durante 30 min a 25° C, se enfría a - 10° C, se filtra y se seca para proporcionar la sal de HCl del compuesto del título como cristales blancos: ESIMS: 284, 286 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 9.42 (b, 3H), 7.84 (m, 1 H), 7.74 (m, 1 H), 7.35 (dd, 1 H), 6.68 (t, 1H), 4.03 (m, 2H).

f) (R)-5-Difluorometil-5-(2-fluoro-fenil)-morfolin-3-ona

A una suspensión de sal de HCl de (R)- 2- amino- 2- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 3, 3- difluoro- propan- 1- ol (0.5 g, 1.56 mmol) en IPAc (5 ml) se agrega bajo argón una solución de K₂CO₃ (0.862g, 6.24 mmol) en 5 ml de agua por debajo de 25° C. Después de agitar durante 30 min a 25° C para proporcionar una solución clara bifásica, se enfría a - 5° C, una solución de 2- cloruro de cloroacetilo (0.41 g, 3.59 mmol) en IPAc (2 mL) se agrega lentamente con la temperatura por debajo de 10° C. Después de agitar durante 30 min a 20° C, la fase orgánica se recolecta y se utiliza para la siguiente etapa directamente. Se agrega THF (3 ml) a la solución anterior, la mezcla se enfría a 0° C. A la solución se agrega bajo argón KOtBu (0.35 g, 3.12 mmol) por debajo de 10° C. Después de agitar a 20° C durante 3h, se agrega agua para detener la reacción. La fase orgánica se lava con solución de HCl 1 N y agua (5 ml). La fase orgánica se recolecta y se utiliza para la siguiente etapa directamente. La solución anterior se agrega agua (5ml) y Pd/C (10%, 50 mg), la mezcla se agita bajo H₂ (1.5 bar) a-t 25° C durante 3h. El catalizador se filtra. La filtración se lava mediante solución de NaCl agua al 15%. El solvente se elimina bajo vacío para proporcionar el compuesto del título como sólido amarillento. ESIMS: 246 [(M+H)⁺]. ¹ H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 9.08 (s, 1 H), 7.57 (m, 1 H), 7.48 (m, 1H), 7.30 (m, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.30 (m, 2H), 6.55 (t, 1 H), 4.1 (m, 4H).

g) sulfato de (R)-5-Difluorometil-5-(2-fluoro-fenil)-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

A una solución de (R)- 5- difluorometil- 5- (2- fluoro- fenil)- morfolin- 3- ona (120 g, 489.4 mmol) en CH₂Cl₂ (1.2 L) se agrega P₂S₅ (108 g, 489.4 mmol) a temperatura ambiente. La suspensión amarilla resultante se calienta a reflujo durante 3.5 h. La mezcla de reacción se filtra a través de una almohadilla de gel de sílice (200- 300 de malla), se lava con CH₂Cl₂ durante 3 veces para conseguir una solución marrón. El solvente se elimina para proporcionar el producto crudo como un sólido naranja, que se dispersa en THF (100 mL), luego se agrega 25% de solución de NH₃ agua (750 mL) a temperatura ambiente. 27 horas después, la mezcla de reacción se extrae con IPAC. La fase orgánica combinada se lava con agua, se concentra para proporcionar un aceite amarillo. El producto crudo se disuelve en IPAC (1.2 L) y MeOH (60 mL) y algún líquido no disuelto se elimina a través filtración. Luego se agrega H₂SO₄ conc. (57.6 g, 587.3 mmol) para conseguir una suspensión blanca. La suspensión se agita a temperatura ambiente durante la noche y se filtra para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco: ESIMS: 245; [(M-H₂SO₄+ H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 9.60 (bs, 1 H), 8.82 (br s, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.35 (m, 2H), 6.75 (t, 1H), 4.65 (dd, 2H), 4.36 (d, 1 H), 4.14 (d, 1H).

h) (R)-5-Difluorometil-5-(2-fluoro-5-nitro-fenil)-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

A una solución de sulfato de (R)- 5- difluorometil- 5- (2- fluoro- fenil)- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (127.2 g, 371.6 mmol) en se agrega H₂SO₄ conc. (380 mL) a 5- 15° C HNO₃ (25.8 g, 408.8 mmol). Después de adición, la mezcla de reacción se agrega lentamente a 12% de solución de NH₃ agua (2.6 L) a 10- 20° C. La suspensión resultante (pH- 8) se filtra para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo: ESIMS: 290; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8.89 (m, 1H), 8.14 (m, 1H), 7.18 (dd, 1H), 6.10 (t, 1 H), 5.65 (br s, 2H), 4.57 (dd, 1H), 4.13 (dd, 2H), 3.88 (m, 1H).

i) Éster de tert-butilo de ácido [(R)-5-Difluorometil-5-(2-fluoro-5-nitro-fenil)-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

A una suspensión de (R)- 5- difluorometil- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina (20 g, 64.659 mmol) en 2- Me- THF (20 mL) se agrega a temperatura ambiente DIPEA (9.831 g, 76.066 mmol) y (Boc)₂O (18.111 g, 82.984 mmol). La mezcla resultante se calienta a 60- 65° C y se agita a esta temperatura durante 17 h. Se agrega n- Heptano (200 mL) a la mezcla de reacción, luego la mezcla se enfría a - 20° C. La suspensión se filtra para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo: ESIMS: 390; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8.67 (m, 1H), 8.23 (m, 1H), 7.23 (t, 1 H), 6.06 (t, 1H), 4.83 (d, 1 H), 4.55 (d, 1 H), 4.46 (dd, 1H), 3.91 (d, 1 H), 1.50 (s, 9H).

j) Éster de tert-butilo de ácido [(R)-5-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il]-carbámico

A una suspensión de éster de tert-butilo de ácido [(R)- 5- difluorometil- 5- (2- fluoro- 5- nitro- fenil)- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico (8 g, 19.23 mmol) en MeOH (56 mL) se agrega Pd (OH)₂/C (20%, 50% agua, 0.8 g). La atmósfera en el reactor se reemplaza por hidrógeno (1 bar), luego la mezcla de reacción se agita a 20° C durante 5 h, se filtra a través de celulosa microcristalina y se concentra. El producto crudo se recrystaliza a partir de MeOH y agua para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco: ESIMS: 360.1521; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 9.99 (s, 1 H), 6.83 (dd, 1 H), 6.74 (m, 1H), 6.50 (m, 1 H), 6.22 (t, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.46 (dd, 2H), 4.03 (m, 1 H), 3.84 (m, 1H), 1.42 (s, 9H).

k) Éster de tert-butilo de ácido ((R)-5-{5-[(5-Ciano-3-metil-piridina-2-carbonil)-amino]-2-fluoro-fenil}-5-difluorometil-5,6-dihidro- 2H-[1,4]oxazin-3-il)-carbámico

A una mezcla de éster de tert-butilo de ácido [(R)- 5- (5- amino- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il]- carbámico (636 g, 1.77 mol) y ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (301 g, 1.86 mol) se agrega THF (4.2 L) bajo atmósfera de N₂ a temperatura ambiente. A la mezcla de agitación se agrega N- metilmorfolina (428 mL, 3.89 mol) y la mezcla se agita para formar una solución homogénea. La solución de reacción se enfría a 0- 5° C antes de adición de cloroformato de isobutilo (256 mL, 1.95 mol) a través de un embudo de adición mientras que se mantiene la temperatura de reacción bajo 10° C. Después de la adición, la mezcla se agita a 0- 10° C durante 1 h antes de filtración. El filtrado se evapora en vacío y el residuo resultante se disuelve en la mezcla de CH₂Cl₂ (3 L) y metanol (1 L). La mezcla se concentra en vacío a 400 mbar/ 35° C hasta que no sale más volátil para dar una lechada. La lechada se filtra y la torta de filtro se lava con metanol hasta que se hace incolora. La torta húmeda se seca en un horno de vacío a 45° C durante 24 h para dar compuesto del título como un sólido blanco: ESIMS: 504; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 10.72 (s, 1H), 10.00 (s, 1H), 8.98 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 7.92 (m, 1H), 7.81 (m, 1 H), 7.24 (m, 1H), 6.30 (t, 1 H), 4.56 (d, 1 H), 4.44 (d, 1H), 4.12 (m, 1 H), 3.90 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 1.41 (s, 9H).

i) [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin- 3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico

A una solución de éster de tert-butilo de ácido ((R)- 5- {5- [(5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carbonil)- amino]- 2- fluoro- fenil}- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- carbámico (23 g, 45.77 mmol) en DCM (615 ml) se agrega bajo argón TFA (23 ml, 302.27 mmol) por debajo de 25° C. Después de agitar durante 18h a 25° C, se agrega otro TFA (12 ml, 151.13 mmol). Después de agitar a 25° C durante otras 6 h, se enfría a - 5° C, se detiene mediante 12.5% de solución acuosa de NH₃ (110 ml). La fase DCM se recolecta y se agrega agua (100 ml). El DCM de la solución bifásica se elimina para proporcionar una suspensión amarillenta. Se filtra y se seca para proporcionar el compuesto del título como cristales amarillentos. ESIMS: 404 [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): 10.72 (s, 1H), 8.96 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 7.99 (dd, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.18 (d, 1 H), 6.17 (br s, 2H), 6.15 (t, 1 H), 3.98 (m, 4H), 2.53 (s, 3H).

El ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico utilizado en la etapa k se prepara como sigue:

m) éster de tert-butilo de ácido 5-Bromo-3-metil-piridina-2-carboxílico

A la solución amarillo pálido agitada de ácido 5- bromo- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (20 g, 92.6 mmol), DMAP (0.57 g, 4.6 mmol) en DMF (120 mL) se agrega Boc anhídrido (20.2 g, 92.6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a 35- 40° C durante 2 h antes de adición de otra porción de Boc anhídrido (20.2 g, 92.6

mmol). La reacción se agita a 35- 40° C durante otras 16 h para alcanzar conversión al compuesto del título, que se utiliza directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESIMS: 272 [(M+H) +].

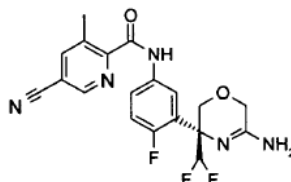
n) Éster de tert-butilo de ácido 5-Ciano-3-metilpiridina-2-carboxílico

5 A una solución de éster de tert-butilo de ácido 5- bromo- 3- metil- piridina- 2- carboxílico (48 g, 176 mmol) en DMF (253 mL) bajo atmósfera de N₂ se agrega de forma secuencial polvo de Zn (1.15 g, 17.6 mmol), Pd₂ (dba)₃ (4.04 g, 4.4 mmol), tritert- butilfosfina (214 g, 10.6 mmol, 10% en peso en n- hexano). La mezcla luego se calienta a 50- 60° C con agitación, en este punto, se agrega Zn (CN)₂ (14.5 g, 123.5 mmol) a la mezcla en una porción. La mezcla de reacción luego se calienta a 69° C con agitación. Después de 1 h, la mezcla de reacción se deja enfriar por debajo de 30° C y se filtra. La torta de filtro se lava con DMF. Al filtrado se agrega 2- metiltetrahidrofurano con agitación y la
10 mezcla se enfría a < 20° C, a la mezcla se agrega lentamente solución de amoníaco acuosa 3 N con agitación y la mezcla luego se agita vigorosamente durante 30 min a 20- 30° C antes de la separación de capa. La capa orgánica se lava con solución salina y se concentra en vacío para dar el compuesto del título como un sólido cristalino amarillento: ESIMS: 219; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 8.79 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 2.49 (s, 3H), 1.60 (s, 9H).

15 o) ácido 5-Ciano-3-metilpiridina-2-carboxílico

A la solución agitada de éster de tert-butilo de ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (20.7 g, 94.9 mmol) en tolueno (200 mL) se agrega H₂O (3.4 mL) a temperatura ambiente. La mezcla luego se enfría a 0-5° C con agitación, en este punto, se agrega TFA (200 mL) a la mezcla lentamente mientras que se mantiene la temperatura de reacción a 25- 35° C. La mezcla de reacción luego se calienta a 33° C con agitación. Después de 60 min, a la
20 mezcla de reacción se agrega tolueno y la mezcla se concentra en vacío a ~1/4 del volumen original para eliminar TFA mediante destilación azeotrópica con tolueno. A la mezcla concentrada se agrega tolueno y la mezcla se evapora en vacío a ~1/4 del volumen original. La misma manipulación de evaporación se repite una vez y el producto precipitado se recolecta mediante filtración. La torta de filtro se lava con tolueno y se seca en horno vacío a 50° C durante 8 h para dar el compuesto del título como un sólido cristalino amarillo pálido: ESIMS: 163; [(M+H)⁺]; ¹H
25 RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 8.90 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 2.46 (s, 3H).

Segundo procedimiento alternativo para la preparación del Ejemplo 144: [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico



a) (R)-5-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-5-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-ilamina

30 A una solución de (R)- 5- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- morfolin- 3- ona (10 g, 30.86 mmol) en CH₂Cl₂ (100 mL) se agrega P₂S₅ (6.86 g, 30.86 mmol) a temperatura ambiente. La suspensión amarilla resultante se calienta a reflujo durante 6.5 h. La mezcla de reacción se filtra a través de una almohadilla de gel de sílice (200- 300 de malla), se lava con CH₂Cl₂ durante 3 veces para conseguir una solución marrón. El solvente se elimina para
35 proporcionar el producto crudo como un sólido amarillo, que se dispersa en THF (10 mL), luego se agrega 25% de solución de NH₃ agua (60 mL) a temperatura ambiente. 20 horas después, la mezcla de reacción se extrae con IPAC. La fase orgánica combinada se lava con solución salina, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo. ESIMS: [(M+H) +] 323; ¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO): δ 7.98 (dd, 1 H), 7.54 (m, 1H), 7.17 (m, 1 H), 6.32 (br s, 2H), 6.10 (t, 1H), 4.24 (dd, 1H), 3.98 (dd, 2H), 3.73 (m, 1H).

40 b) Éster de tert-butilo de ácido 5-Bromo-3-metil-piridina-2-carboxílico

A una solución amarillo pálido agitada de ácido 5- bromo- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (20 g, 92.6 mmol), DMAP (0.57 g, 4.6 mmol) en DMF (120 mL) se agrega Boc anhídrido (20.2 g, 92.6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a 35- 40° C durante 2 h antes de adición de otra porción de Boc anhídrido (20.2 g, 92.6 mmol). La reacción se agita a 35- 40° C durante otras 16 h para lograr conversión completa para el compuesto del
45 título, que se utiliza directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESIMS: 272 [(M+H) +].

c) Éster de tert-butilo de ácido 5-Ciano-3-metilpiridina-2-carboxílico

A una solución de éster de tert-butilo de ácido 5- bromo- 3- metil- piridina- 2- carboxílico (48 g, 176 mmol) en DMF (253 mL) bajo atmósfera de N₂ se agrega de forma secuencial polvo de Zn (1.15 g, 17.6 mmol), Pd₂ (dba)₃ (4.04 g, 4.4 mmol), tritert- butilfosfina (214 g, 10.6 mmol, 10% en peso en n- hexano). La mezcla luego se calienta a 50- 60° C con agitación, en este punto, se agrega Zn (CN)₂ (14.5 g, 123.5 mmol) a la mezcla en una porción. La mezcla de reacción luego se calienta a 69° C con agitación. Después de 1 h, la mezcla de reacción se deja enfriar por debajo de 30° C y se filtra. La torta de filtro se lava con DMF. Al filtrado se agrega 2- metiltetrahidrofurano con agitación y la mezcla se enfría a < 20° C, a la mezcla se agrega lentamente solución de amoníaco acuosa 3 N con agitación y la mezcla luego se agita vigorosamente durante 30 min a 20- 30° C antes de separación de capa. La capa orgánica se lava con solución salina y se concentra en vacío para dar el compuesto del título como un sólido cristalino amarillento: ESIMS: 219; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, acetona-d₆): δ 8.79 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 2.49 (s, 3H), 1.60 (s, 9H).

d) ácido 5-Ciano-3-metilpiridina-2-carboxílico

A la solución agitada de éster de tert-butilo de ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (20.7 g, 94.9 mmol) en tolueno (200 mL) se agrega H₂O (3.4 mL) a temperatura ambiente. La mezcla luego se enfría a 0- 5° C con agitación, en este punto, se agrega TFA (200 mL) a la mezcla lentamente mientras que se mantiene la temperatura de reacción a 25- 35° C. La mezcla de reacción luego se calienta a 33° C con agitación. Después de 60 min, a la mezcla de reacción se agrega tolueno y la mezcla se concentra en vacío a ~1/4 del volumen original para eliminar TFA mediante destilación azeotrópica con tolueno. A la mezcla concentrada se agrega tolueno y la mezcla se evapora en vacío a ~1/4 del volumen original. La misma manipulación de evaporación se repite una vez y el producto precipitado se recolecta mediante filtración. La torta de filtro se lava con tolueno y se seca en horno vacío a 50° C durante 8 h para dar el compuesto del título como un sólido cristalino amarillo pálido: ESIMS: 163; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 8.90 (s, 1H), 8.35 (s, 1 H), 2.46 (s, 3H).

e) Éster de metilo de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico metil

A una solución de ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (2 g, 12.4 mmol) en metanol (20 mL) se agrega cloruro de tionilo en forma de gotas bajo reflujo. La mezcla luego se calienta a reflujo con agitación. Después de 60 min, el análisis HPLC revela terminación de reacción. A la mezcla de reacción se agrega tolueno y la mezcla se concentra en vacío para dar el compuesto del título como un sólido amarillo pálido: ESIMS: 177; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): δ 8.92 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 2.46 (s, 3H).

f) amida de ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico

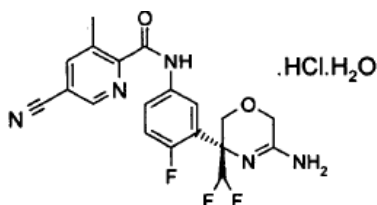
A una solución de éster de metilo de ácido 5- ciano- 3- metilpiridina- 2- carboxílico (1 g, 5.6 mmol) en metanol (5 mL) se agrega amoníaco (4 mL, 28 mmol, solución 7 N en metanol). La mezcla luego se calienta a 50° C con agitación en un tubo sellado. Después de 60 min, el análisis HPLC revela terminación de reacción. La mezcla se concentra en vacío para dar el compuesto del título como un sólido amarillo pálido: ESIMS: 162; [(M+H)⁺]; ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): 8.87 (d, 1 H), 8.30 (d, 1 H), 8.09 (br s, 1 H), 7.74 (br s, 1 H), 2.50 (s, 3H)

g) [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin- 3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico

50 mg de (R)- 5- (5- bromo- 2- fluoro- fenil)- 5- difluorometil- 5, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- ilamina, 30 mg de amida de ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico, 3.0 mg de CuI y 65 mg de K₃PO₄ se carga al reactor bajo atmósfera N₂. se agrega 1.0 ml de dioxano. Seguido por 3.0 mg de N1, N2- dimetiletano- 1, 2- diamina. La mezcla de reacción resultante se calienta a reflujo y se mantiene durante 23 h. Se enfría a 23° C luego se diluye con 15 ml de IPAc. La fase orgánica se lava con agua (5 ml x 2), se concentra hasta secado bajo presión reducida, La purificación a través de cromatografía de columna sobre gel de sílice (IPAc- Heptano 2: 1 a 3: 1) da 30 mg de sólido blanco. ESIMS: [M+H]⁺ = 403.9,

¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆): 10.72 (s, 1 H), 8.96 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 7.99 (dd, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.18 (d, 1 H), 6.17 (br s, 2H), 6.15 (t, 1 H), 3.98 (m, 4H), 2.53 (s, 3H).

Ejemplo 144a: preparación de clorhidrato de [3-((R)-5-amino-3-difluorometil- 3,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-3-metil-piridina-2-carboxílico



2.3 g de [3- ((R)- 5- amino- 3- difluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico (5.702 mmol) se coloca en un matraz de 4 cuellos. En un matraz Erlenmeyer se agregan 92 ml de acetonitrilo y 4.6 ml de agua. La mezcla se agita durante unos pocos segundos y se agregan 561.6 mg de HCl 37% (5.702 mmol). La solución se agita de nuevo durante unos pocos segundos y luego se agrega al matraz de 4 cuellos en porciones. La mezcla se agita con una paleta y se calienta en un baño de agua hasta 85° C. A 85° C se disuelve completamente todo el material sólido y se obtiene una solución transparente ligeramente amarilla. La solución se deja a rt para enfriar con agitación. El precipitado aparece a 40° C. La suspensión se deja agitar durante la noche y se filtra después de 16 horas a través de un filtro Büchner. El material aislado se seca en un horno a rt durante 16h y se obtiene 1854.5 mg de un polvo blanco.

Ejemplo 152: [3-((R)-5-amino-3-difluorometil-3,6-dihidro- 2H-[1,4]oxazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-Ciano-piridina-2-carboxílico cristalina

Se disuelve [3- ((R)- 5- amino- 3- difluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- piridina- 2- carboxílico en EtOAc, se agrega isopropanol y la solución resultante se concentra a presión reducida. Este procedimiento se repite hasta que se ha cristalizado la mayoría del producto. El material cristalino resultante se analiza mediante XRPD y se muestran los diez picos característicos en la Tabla 18 (véase también la Figura 1).

Tabla 18

Grados 2- Θ	Espaciado d (Å)	Intensidad (conteos)	Intensidad relativa %
8.29	10.65649	9840	Alto
10.813	8.17512	5198	Medio
14.077	6.28645	1911	Bajo
14.525	6.09337	2446	Bajo
16.624	5.32842	19854	Alto
18.919	4.68693	3766	Medio
21.453	4.13863	3862	Medio
22.244	3.99323	6947	Medio
23.327	3.81033	4257	Medio
25.436	3.49889	3672	Medio
28.495	3.12985	5558	Medio

Se realiza análisis de difracción en polvo de rayos X (XRPD) utilizando un difractómetro de rayos x Brucker D8 Advance. Se toman mediciones a aproximadamente 30 kV y 40 mA bajo las siguientes condiciones:

Índice de escaneo (escaneo continuo): 0.3 s/etapa (igual a 107.1 s tiempo de etapa)

Tamaño de etapa: 0.017° (2 Θ)

Hendidura Soller

2.5°

Hendiduras (desde izquierda a derecha):

V12 (variable), 6 mm hendidura antidispersión

El patrón de difracción de rayos X se registra entre 2° y 40° (2 teta) con radiación CuK α para identificación del patrón completo.

También se analiza el material cristalino mediante calorimetría de escaneo diferencial utilizando un PerkinElmer DSC7 y se encuentra que tiene un inicio de fusión en aproximadamente 227° C (227.46 °C).

5 Preparación de Intermedios

Los bloques de construcción de ácido sustituido están disponibles comercialmente o se puede preparar como se describe en la bibliografía o en una forma análoga, por ejemplo los documentos WO 2005063738, WO 2009091016, WO 2010047372, Bioorg. Med. Chem. 2001, 9, 2061-2071, o se puede preparar como se describe adelante o en una forma análoga.

10 Ácido-1: ácido 5-Ciano-4,6-dideutero-3-trideuterometil-piridina-2-carboxílico

a) ácido 5-Bromo-4,6-dideutero-3-trideuterometil-piridina-2-carboxílico

Una suspensión de 2.16 g (0.00 mmol) ácido 5- bromo- 3- metil- piridina- 2- carboxílico en 36 ml de D₂O (99, 96% D) se trata con 4 ml de una solución al 40% de NaOD en D₂O. La solución homogénea se calienta en un recipiente de 100 ml de Teflon con un aparato Synthos 3000 Microwave. La mezcla se calienta a 160° C durante 5 h y se enfría. Los análisis ¹H- RMN y MS del producto muestran que la deuterización ha progresado a un alto grado. Solo se presentan menores cantidades de derivados de tetradeutero. La mezcla de reacción se acidifica a pH 3 con HCl 2N y se extrae con EtOAc. La fase orgánica se seca con MgSO₄·H₂O y se evapora para dar el compuesto del título como un sólido blanco, bastante puro para transformaciones adicionales.

HPLC: Rt_{H2} = 2.829 min; ESIMS [M+H]⁺ = 221, 223 (1 Br, 5D);

20 b) Éster de tert-butilo de ácido 5-Bromo-4,6-dideutero-3-trideuterometil-piridina-2-carboxílico

Una solución de 1.65 g (7.46 mmol) de ácido 5- bromo- 4, 6- dideutero- 3- trideuterometil- piridina- 2- carboxílico y dos gotas de DMF se disuelven en 17 ml de DCM. Se agrega cloruro de oxalilo (1.3 ml, 14.9 mmol) en forma de gotas. El desarrollo de gas inicia inmediatamente. Después de agitar durante 2 h a 25° C la mezcla se evapora, se toma en tolueno y se evapora de nuevo. La resina de color marrón residual se disuelve en 3 ml de THF y se agrega a una solución agitada de 14 ml (22.39 mmol) de BuLi (1.6 M en hexano) en 24 ml de t- BuOH. Después de 1 h la mezcla se vierte sobre 10% de NH₄Cl acuoso y se extrae con TBME. La capa orgánica se lava con solución salina, se seca con MgSO₄·H₂O y se evapora. La cromatografía en gel de sílice (hexano/ EtOAc 9: 1) proporciona el compuesto del título como un líquido incoloro.

HPLC: Rt_{H1} = 3.002 min; ESIMS [M+H]⁺ = 277, 279 (1 Br, 5D);

30 ¹H- RMN (360 MHz, CDCl₃): 1.65 (s, 9H).

c) Éster de tert-butilo de ácido 5-Ciano-4,6-dideutero-3-trideuterometil-piridina-2-carboxílico

Una mezcla de 1.41 g (5.09 mmol) éster de tert-butilo de ácido 5- bromo- 4, 6- dideutero- 3- trideuterometil- piridina- 2- carboxílico, 0.418 g (3.56 mmol) Zn(CN)₂, 0.033 g de polvo Zn (0.509 mmol) y 0.265 g (0.254 mmol) de Pd₂(dba)₃·CHCl₃ se suspenden en 14 ml de DMF bajo atmósfera de nitrógeno. Se agrega una solución 0.25 M de tBu₃P en dioxano (4.0 ml, 1.02 mmol) y la mezcla se agita durante 16 h a 60° C. Después que se enfría la mezcla se diluye con TBME, se filtra sobre celita y se lava con solución salina tres veces. El producto crudo se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (hexano/ EtOAc 5- 15%) para dar el compuesto del título como un sólido blancuzco.

HPLC: Rt_{H3} = 3.275 min; ESIMS [M+Na]⁺ = 246 (5D);

40 ¹H- RMN (360 MHz, CDCl₃): 1.68 (s, 9H); Ft- IR: 2231 cm⁻¹ (CN).

d) ácido 5-Ciano-4,6-dideutero-3-trideuterometil-piridina-2-carboxílico

A una solución de 825 mg (3.69 mmol) éster de tert-butilo de ácido 5- ciano- 4, 6- dideutero- 3- trideuterometil- piridina- 2- carboxílico en 5.1 g (37 mmol) de 1, 3- dimetoxibenceno se agregan 8.3 ml de TFA y se agita durante 6.5 h. La mezcla de reacción se diluye con tolueno y se evapora. El residuo se toma en tolueno y se evapora (2x). El producto se cristaliza a partir de TBME/ hexano para dar el compuesto del título como un polvo blanco.

5 HPLC: $R_{tH_2} = 2.397$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 168$ (5D);

1H - RMN (360 MHz, $CDCl_3$): impurezas no deuteradas.

Ácido -3: ácido 5-Ciano-3-metil-Piridina-2-carboxílico

El compuesto del título se prepara mediante un procedimiento análogo al Ácido - 1 que inicia con ácido 5- bromo- 3- metilpiridina- 2- carboxílico en lugar del derivado deuterado [Ácido - 1 etapa a)].

10 R_f (hexanos /EtOAc 6: 1) = 0.28

1H - RMN (360 MHz, $CDCl_3$): 8.09 (dd, 1 H), 7.79 (ddd, 1 H), 7.17 (t, 1H), 6.44 (t, J = 45 Hz, 1 H).

Ejemplo 186: Actividad Biológica de los compuestos de la fórmula I

Los compuestos de los Ejemplos anteriores muestran las siguientes valores IC_{50} en la Prueba 1 descrita anteriormente:

15 Tabla 22

Ejemplo	Bace IC_{50} [μM]
72	0.010
112	0.042
144	0.017

Ciertos compuestos de los Ejemplos anteriores muestran los siguientes valores IC_{50} en la Prueba 4 descrita anteriormente:

Tabla 23

Ejemplo	Bace IC_{50} [μM]
72	0.003
112	0.007
144	0.006

20

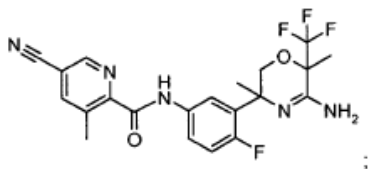
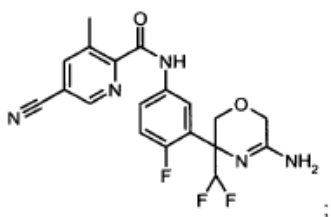
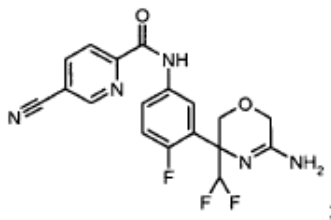
Descripciones de las Figuras

La Figura 1 muestra patrón de difracción en polvo de rayos X para una forma cristalina de [3- ((R)- 5- amino- 3- difluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- piridina- 2- carboxílico cuando se mide utilizando radiación CuK_{α} . Para detalles véase el Ejemplo 152.

25 La Figura 2 muestra patrón de difracción en polvo de rayos X para la [3- ((3R, 6R)- 5- amino- 3, 6- dimetil- 6- trifluorometil- 3, 6- dihidro- 2H- [1, 4] oxazin- 3- il)- 4- fluoro- fenil]- amida de ácido 5- ciano- 3- metil- piridina- 2- carboxílico cristalina cuando se mide utilizando radiación CuK_{α} . Para detalles véase el Ejemplo 72b.

REIVINDICACIONES

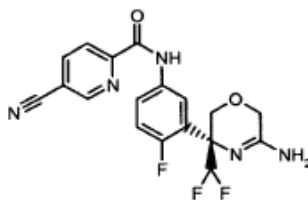
1. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste de



5

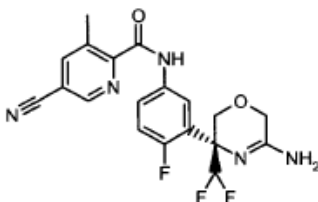
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la siguiente fórmula

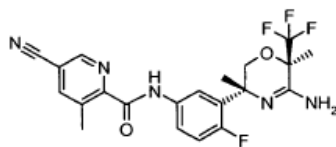


10

3. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la siguiente fórmula



4. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la siguiente fórmula



15

5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 en forma libre.
6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 en forma de sal farmacéuticamente aceptable.
7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 en la forma de sal de clorhidrato.
- 5 8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como ingrediente activo y un portador o diluyente farmacéutico.
9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un medicamento.
- 10 10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer.

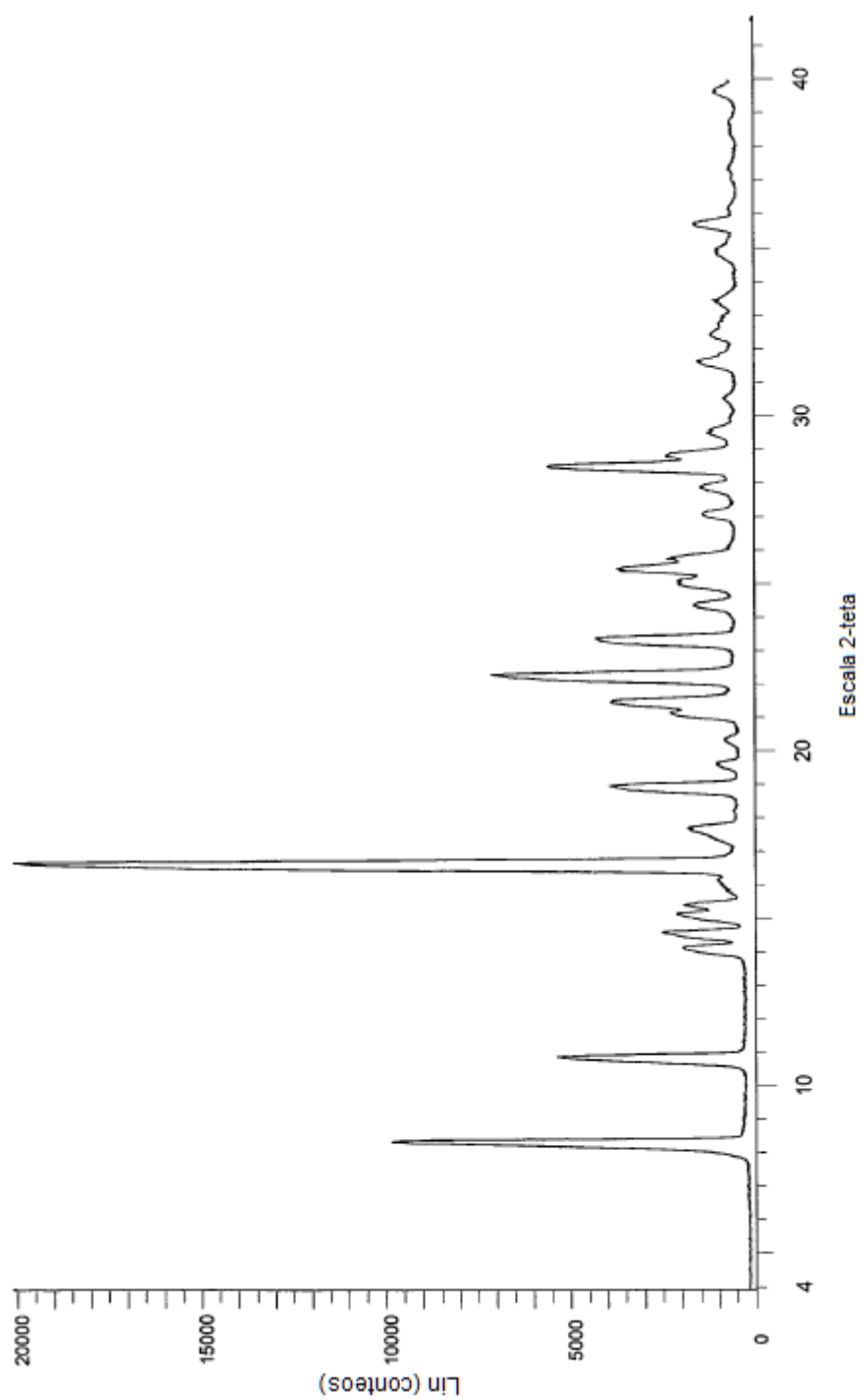


Figura 1

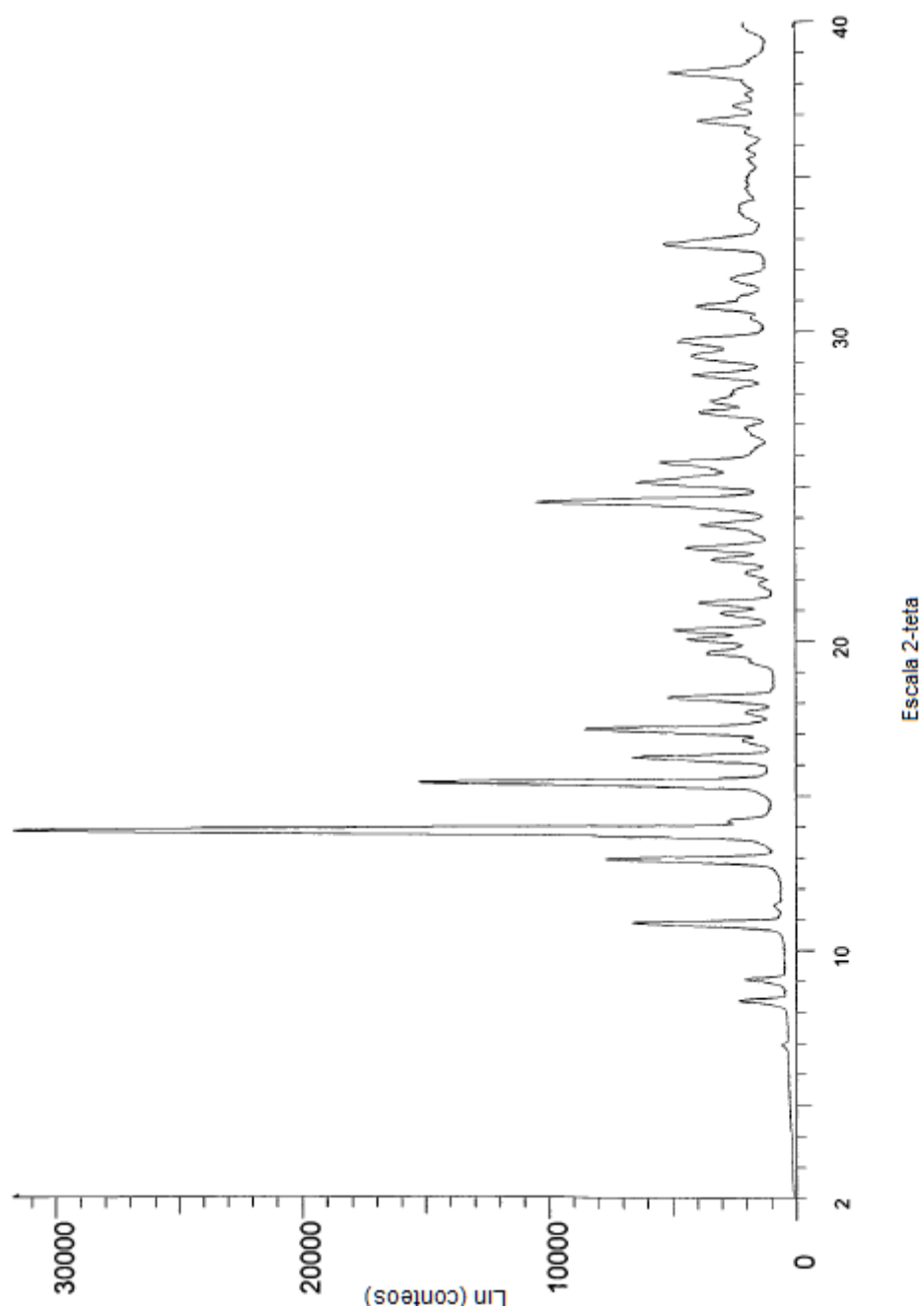


Figura 2