

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 604**

51 Int. Cl.:

C07D 413/10 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2012 E 12794731 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 2788346**

54 Título: **Derivados de 6-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4] oxazin-3-amina**

30 Prioridad:

05.12.2011 EP 11191997

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

05.02.2016

73 Titular/es:

**JANSSEN PHARMACEUTICA, N.V. (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE**

72 Inventor/es:

**TRABANCO-SUÁREZ, ANDRÉS, AVELINO;
GIJSEN, HENRICUS, JACOBUS, MARIA;
SURKYN, MICHEL y
PROKOPCOVÁ, HANA**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 558 604 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 6-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4] oxazin-3-amina.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos derivados de 6-difluorometil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-amina como inhibidores de beta-secretas, también conocidos como enzima de escisión amiloidea del sitio beta, BACE, BACE1, Asp2 o memapsin2. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a procedimientos para preparar dichos compuestos y composiciones, y al uso de dichos compuestos y composiciones para la prevención y el tratamiento de trastornos en los que está implicada la beta-secretasa, tales como enfermedad de Alzheimer (EA), deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia de cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada a enfermedad de Parkinson y demencia asociada a beta-amiloide.

Antecedentes de la invención.

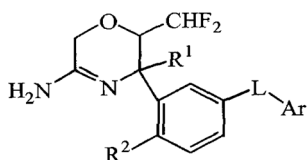
La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa asociada al envejecimiento. Los pacientes con EA padecen déficits de conocimiento y pérdida de memoria así como problemas de comportamiento tales como ansiedad. Más del 90% de los aquejados de EA presenta una forma esporádica del trastorno mientras menos del 10% de los casos son familiares o hereditarios. En los Estados Unidos, aproximadamente 1 en 10 personas de 65 años tienen EA mientras a los 85 años, 1 de cada dos individuos está aquejado de EA. La esperanza de vida promedio del diagnóstico inicial es 7-10 años y los pacientes con EA requieren extenso cuidado en un centro de vida asistida que es muy costoso o por miembros de la familia. Con el número creciente de personas mayores en la población, la EA es una preocupación médica creciente. En la actualidad, las terapias disponibles para EA simplemente tratan los síntomas de la enfermedad e incluyen inhibidores de la acetilcolinesterasa para mejorar las propiedades cognitivas así como anxiolíticos y antipsicóticos para controlar los problemas de comportamiento asociados a esta dolencia.

Las características patológicas distintivas en el cerebro de los pacientes con EA son ovillos neurofibrilares que son generados por hiperfosforilación de proteína tau y placas amiloides que se forman por agregación de péptido beta-amiloide 1-42 (Abeta 1-42). Abeta 1-42 forma oligómeros y después fibrillas, y por último placas amiloides. Se cree que los oligómeros y las fibrillas son especialmente neurotóxicos y pueden causar la mayor parte del daño neurológico asociado a la EA. Los agentes que previenen la formación de Abeta 1-42 tienen el potencial de ser agentes modificadores de la enfermedad para el tratamiento de la EA. Se genera Abeta 1-42 a partir de la proteína precursora amiloide (APP, por sus siglas en inglés), constituida por 770 aminoácidos. El N-terminal de Abeta 1-42 es escindido por beta-secretasa (BACE) y después la gamma-secretasa escinde el extremo C-terminal. Además de Abeta 1-42, la gamma-secretasa también libera Abeta 1-40 que es el producto de escisión predominante así como Abeta 1-38 y Abeta 1-43. Estas formas Abeta también se pueden agregar para formar oligómeros y fibrillas. Así, se esperaría que los inhibidores de BACE evitaran la formación de Abeta 1-42 así como Abeta 1-40, Abeta 1-38 y Abeta 1-43 y serían agentes terapéuticos potenciales en el tratamiento de EA.

La patente internacional WO 2011/009943 (Novartis) describe derivados de oxazina no sustituidos y 2-sustituidos y su uso como inhibidores de BACE para el tratamiento de trastornos neurológicos. La patente internacional WO 2011/020806 (Hoffmann-LaRoche) describe derivados de 3-amino-5-fenil-5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazina 2,6-no sustituidos con propiedades inhibitoras de BACE1 y/o BACE2.

Sumario de la invención.

La presente invención se refiere a derivados de 5,6-dihidro-2H-[1,4]oxazin-3-amina de Fórmula (I):



y los tautómeros y las formas estereoisómeras de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₃;

R² es hidrógeno o flúor;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar se selecciona del grupo que consiste en: piridinilo, pirimidinilo y pirazinilo, cada uno sustituido opcionalmente con halo o alcoxi C₁₋₃;

y las sales de adición farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 Ilustrativo de la invención es una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos descritos anteriormente. Una ilustración de la invención es una composición farmacéutica preparada mezclando cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable. Ilustrativo de la invención es un procedimiento para preparar una composición
10 farmacéutica que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable.

Son ejemplares de la invención métodos para tratar un trastorno mediado por la enzima beta-secretasa, que comprende administrar a un individuo con necesidad de los mismos una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria.

15 Son ejemplares además de la invención métodos para inhibir la enzima beta-secretasa, que comprenden administrar a un individuo con necesidad de los mismos una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria.

Un ejemplo de la invención es un método para tratar un trastorno seleccionado del grupo que consiste en: enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia de cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multi-infarto, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada a
20 enfermedad de Parkinson y demencia asociada a beta-amiloide, preferiblemente enfermedad de Alzheimer, que comprende administrar a un individuo con necesidad de los mismos, una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritos en la presente memoria.

Otro ejemplo de la invención es cualquiera de los compuestos descritos anteriormente para uso en tratar: (a) Enfermedad de Alzheimer, (b) deficiencia cognitiva leve, (c) senilidad, (d) demencia, (e) demencia de cuerpos de
25 Lewy, (f) síndrome de Down, (g) demencia asociada a apoplejía, (h) demencia asociada a enfermedad de Parkinson y (i) demencia asociada a beta-amiloide, en un individuo con necesidad de los mismos.

Descripción detallada de la invención.

La presente invención se refiere a compuestos de la Fórmula (I) como se definió anteriormente y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores de la enzima beta-
30 secretasa (también conocida como enzima de escisión del sitio beta, BACE, BACE1, Asp2 o memapsin 2), y son útiles en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia asociada a apoplejía, demencia de cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada a enfermedad de Parkinson y demencia asociada a beta-amiloide, preferiblemente enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve o demencia, más preferiblemente enfermedad de Alzheimer.

35 En una realización de la invención, R¹ es metilo o etilo.

En una realización de la invención Ar se selecciona de 5-metoxi-piridinilo, 5-pirimidinilo y 5-fluoropirazinilo.

En otra realización de la invención, R² es hidrógeno o flúor.

En otra realización, el átomo de carbono cuaternario sustituido con R¹ presenta la configuración R.

Definiciones

40 "Halo" indicará flúor, cloro y bromo; "alquiloxi C₁₋₃" indicará un radical éter en el que alquilo C₁₋₃ es un grupo alquilo saturado, lineal o ramificado, que tiene 1, 2 ó 3 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo.

El término "individuo" como se usa en la presente memoria, se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano o, que es o ha sido el objeto de tratamiento, observación o experimento.

45 El término "cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa en la presente memoria, significa la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema de tejido, animal o ser humano que está siendo buscado por un investigador, veterinario, médico u otro clínico, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o trastorno que se está tratando.

Como se usa en la presente memoria, el término "composición" se destina a incluir un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directamente o

indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Anteriormente y de ahora en adelante, el término "compuesto de fórmula (I)" significa que incluye las sales de adición, los solvatos y los estereoisómeros del mismo.

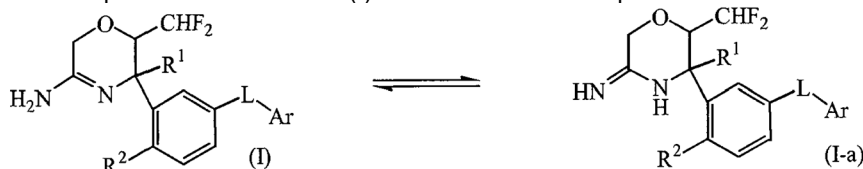
Los términos "estereoisómeros" o "formas estereoquímicamente isómeras" anteriormente o de ahora en adelante se usan indistintamente.

La invención incluye todos los estereoisómeros del compuesto de Fórmula (I) como un estereoisómero puro o como una mezcla de dos o más estereoisómeros. Son enantiómeros los estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica. Diastereómeros (o diaestereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, no se relacionan como imágenes especulares. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros, racematos.

La configuración absoluta se especifica según el sistema de Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico se especifica por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta no es conocida se pueden designar por (+) o (-) dependiendo de la dirección en la que rote la luz polarizada plana.

Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto significa que dicho estereoisómero está sustancialmente libre, es decir, asociado a menos de 50%, preferiblemente menos de 20%, más preferiblemente menos de 10%, incluso más preferiblemente menos de 5%, en particular menos de 2% y lo más preferiblemente menos de 1%, de los otros isómeros. Así, cuando un compuesto de fórmula (I) es por ejemplo especificado como (R), esto significa que el compuesto está sustancialmente exento del isómero (S).

Los compuestos de Fórmula (I) co-existen en un equilibrio dinámico con los tautómeros de Fórmula (I-a).



Además, algunas de las formas cristalinas para los compuestos de la presente invención pueden existir como polimórficos y como tales se desean que estén incluidas en la presente invención. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos como agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes, y también se desea que dichos solvatos estén incluidos dentro del alcance de esta invención.

Para uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Otras sales, sin embargo, pueden ser útiles en la preparación de compuestos de acuerdo con esta invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos incluyen sales de adición de ácido que se pueden formar, por ejemplo, mezclando una disolución del compuesto con una disolución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Además, en el caso de que los compuestos de la invención soporten un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables, adecuadas, de los mismos, pueden incluir sales de metal alcalino, por ejemplo, sales de sodio o potasio; sales de metal alcalino-térreo, por ejemplo, sales de calcio o magnesio y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo, sales de amonio cuaternario.

Los ácidos representativos que se pueden usar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, lo siguiente: ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucorónico, ácido L-glutámico, ácido beta-oxoglutámico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (±)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido (±)-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluorometilsulfónico y ácido undecilénico. Bases representativas que se pueden usar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, lo siguiente: amoniaco, L-arginina, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, dimetiletanolamina, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilendiamina, N-metil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, L-lisina, hidróxido de

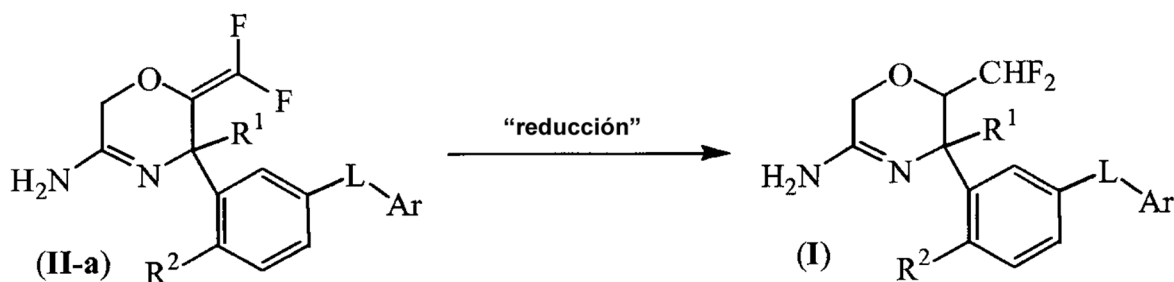
magnesio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido de potasio, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, amina secundaria, hidróxido de sodio, trietanolamina, trometamina e hidróxido de cinc.

Los nombres de los compuestos de la presente invención se generaron de acuerdo con las reglas de nomenclatura de acuerdo con el Servicio de Resúmenes Químicos (CAS, por sus siglas en inglés) usando software Advanced Chemical Development, Inc., (ACD/Nombre de producto versión 10.01; Estructura 15494, 1 de diciembre de 2.006) o según las reglas de nomenclatura de acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) usando software Advanced Chemical Development, Inc., (ACD/Nombre de producto versión 10.01.0.14105, octubre de 2.006). En el caso de formas tautómeras, se generó el nombre de la forma tautómera representada de la estructura. La otra forma tautómera no representada también se incluye dentro del alcance de la presente invención.

Preparación de los compuestos

Procedimiento experimental 1

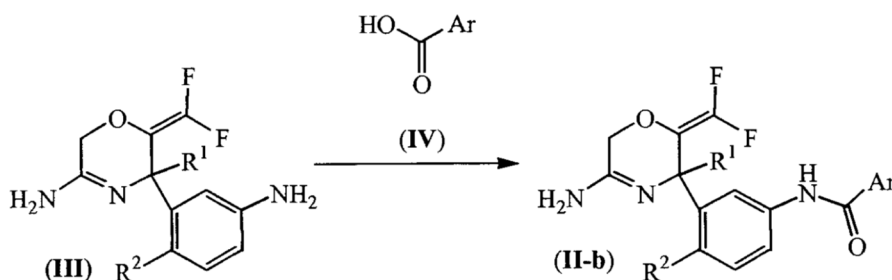
Los compuestos finales según la Fórmula (I) se pueden preparar por hidrogenación catalítica de un compuesto intermedio de Fórmula (II-a) según el esquema de reacción (1). Dicha conversión se puede llevar a cabo por tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (II-a) con hidrógeno en presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbono, un veneno de catalizador adecuado, tal como, por ejemplo, tiofeno, en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, acetato de etilo o metanol. Se agita la mezcla en atmósfera de hidrógeno, a una temperatura adecuada, típicamente temperatura ambiente, a una presión adecuada, tal como, por ejemplo, presión atmosférica, por ejemplo durante 16 horas. En el esquema de reacción (1), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de reacción 1

Procedimiento experimental 2

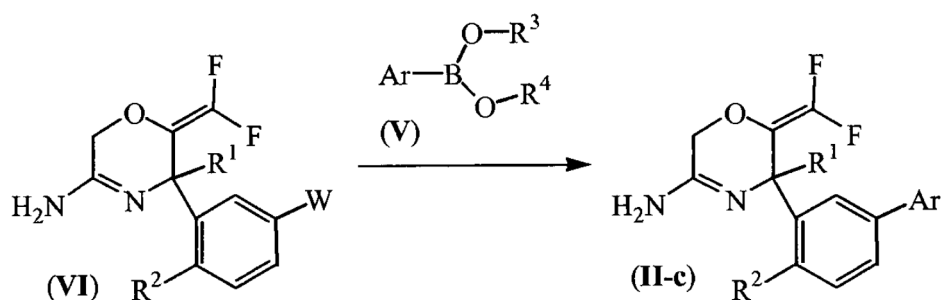
Los compuestos intermedios de la Fórmula (II-b) se pueden preparar en general haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (III) con un compuesto de Fórmula (IV) según el esquema de reacción (2), una reacción que se realiza en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano o metanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, trietilamina, en presencia de un agente de condensación tal como por ejemplo hexafluorofosfato de O-(7azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio [HATU, CAS 148893-10-1] o cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio [DMTMM, CAS 3945-69-5] en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentando la mezcla de reacción a 25 °C, durante el tiempo requerido para conseguir que se completara la reacción, por ejemplo 1-16 horas. En el esquema de reacción (2), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de reacción 2

Procedimiento experimental 3

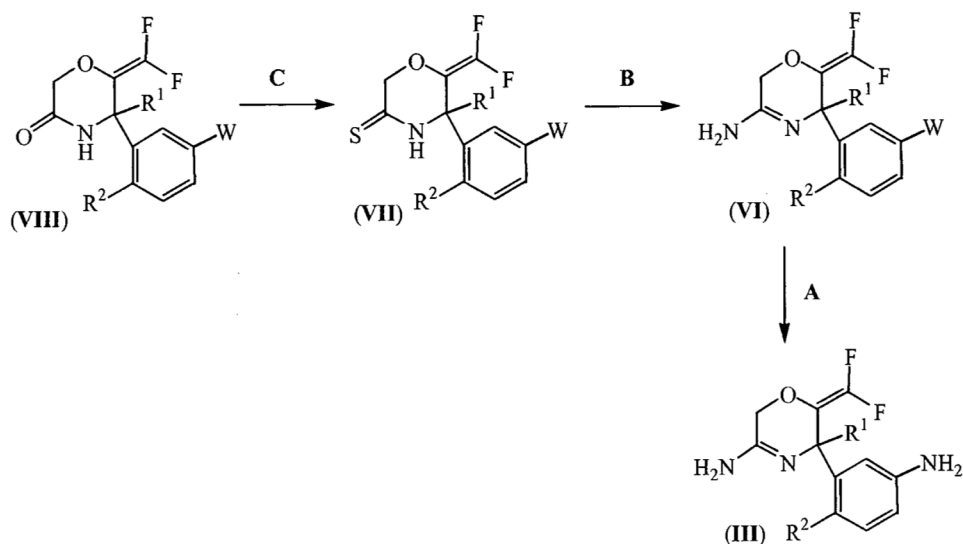
Los compuestos intermedios de la Fórmula (II-c) se pueden preparar en general por la reacción de los compuestos intermedios de la Fórmula (VI) con un aril-boronato o ácido arilborónico, apropiado, en una reacción de tipo Suzuki. Así los compuestos intermedios de la Fórmula (VI) pueden reaccionar con un aril-boronato o ácido arilborónico en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, 1,4-dioxano, etanol o mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,2-dimetoxietano/agua/etanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, K_3PO_4 , Na_2CO_3 o Cs_2CO_3 , acuoso, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II) [CAS 72287-26-4] o diacetato de trans-bisdiciclohexilamino)paladio [DAPCy, CAS 628339-96-8] o tetrakis(trifenilfosfino)paladio (0) [CAS14221-01-3] en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 80 °C, por ejemplo durante un periodo de tiempo entre 2-20 horas o por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 130 °C, por ejemplo durante 10 minutos con irradiación de microondas. En el esquema de reacción (3), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo. R^3 y R^4 pueden ser hidrógeno o alquilo, o se pueden tomar juntos para formar por ejemplo un radical bivalente de fórmula $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$ o $-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-$.



Esquema de reacción 3

Procedimiento experimental 4

Los compuestos intermedios de la Fórmula (III) se pueden preparar en general siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (4) a continuación.



Esquema de reacción 4

A: conversión bromo a amina.

B: conversión tioamida a amidina.

C: conversión amida a tioamida (tionación).

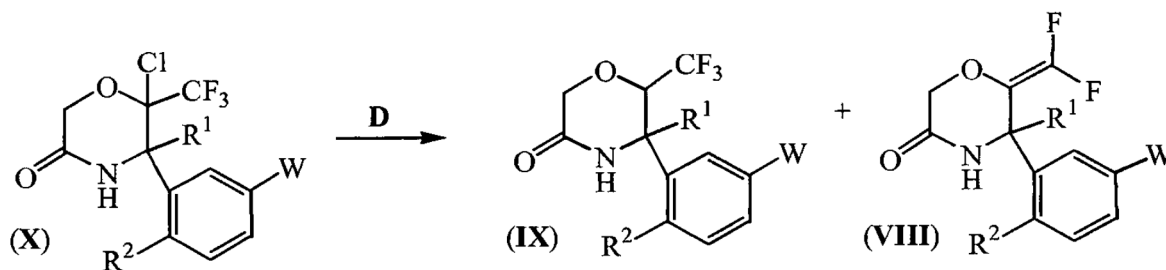
Los compuestos intermedios de la Fórmula (III) en el esquema de reacción (4) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de la Fórmula (VI) siguiendo el procedimiento de acoplamiento tipo catalizado con cobre conocido en la técnica (etapa de reacción A). Dicho acoplamiento se puede llevar a cabo por tratamiento de dichos compuestos intermedios de la Fórmula (VI) con azida de sodio en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, DMSO, en presencia de una mezcla de bases adecuadas, tal como, por ejemplo, dimetiletilendiamina y Na_2CO_3 , y un catalizador de cobre tal como, CuI , en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 110 °C, hasta la terminación de la reacción, por ejemplo 1 hora.

Los compuestos intermedios de la Fórmula (VI) en el esquema de reacción (4) anterior se pueden preparar a partir de las correspondientes compuestos intermedios de la Fórmula (VII) siguiendo los procedimientos de conversión de tioamida a amidina conocidos en la técnica (etapa de reacción B). Dicha conversión se puede llevar a cabo de manera conveniente por tratamiento de los compuestos intermedios de la Fórmula (VII) con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoníaco acuoso, en un disolvente inerte de reacción adecuado tal como, por ejemplo, agua o metanol y similar, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 60 °C, por ejemplo durante 6 horas.

Los compuestos intermedios de la Fórmula (VII) en el esquema de reacción (4) anterior se pueden preparar a partir de los compuestos intermedios correspondientes de la Fórmula (VIII) siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa de reacción C). Dicha conversión se puede llevar a cabo de manera conveniente por tratamiento de los compuestos intermedios de la Fórmula (VIII) con un agente de tionación tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson, CAS 19172-47-5], en un disolvente inerte de reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similares, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 50 °C, por ejemplo durante 50 minutos.

Procedimiento experimental 5

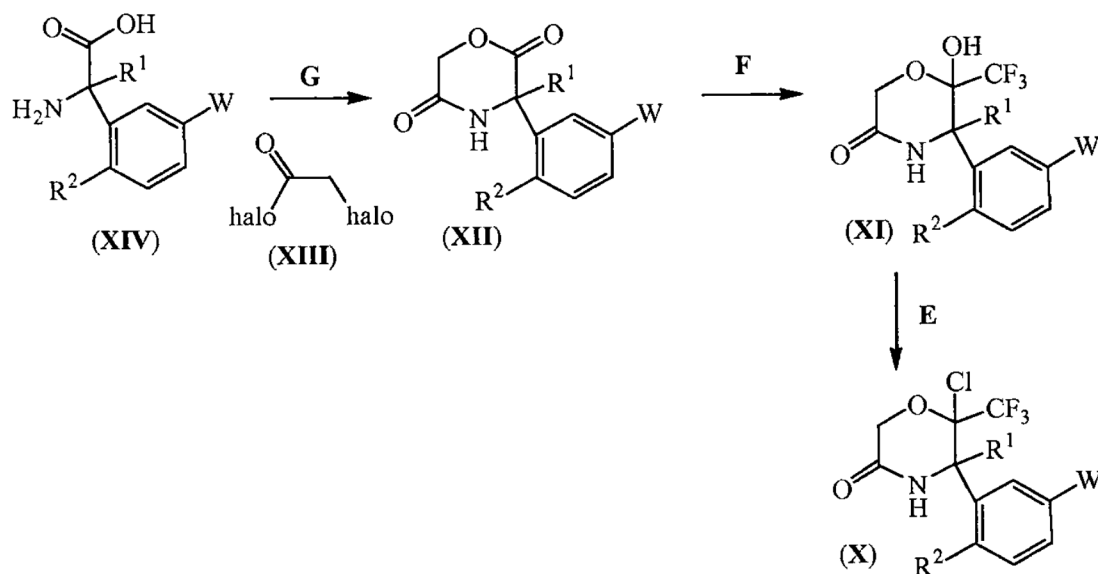
Los compuestos intermedios de la Fórmula (VIII) y (IX) se pueden preparar en general a partir de los compuestos intermedios de la Fórmula (X) siguiendo procedimientos de deshalogenación reductora conocidos en la técnica (etapa de reacción D). Dicha conversión se puede llevar a cabo por tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (X) con un reactivo de cinc adecuado, tal como, por ejemplo, polvo de cinc o par cinc cobre en un disolvente adecuado, tal como ácido acético, a una temperatura adecuada, típicamente de temperatura ambiente a 80 °C, durante el tiempo requerido para conseguir la terminación de la reacción, por ejemplo 1-16 horas. Esta conversión proporciona una mezcla de los compuestos intermedios de la Fórmula (VIII) y (IX) en diferente relación dependiendo de las condiciones de reacción y los agentes reaccionantes.



Esquema de reacción 5

Procedimiento experimental 6

Los compuestos intermedios de la Fórmula (X) se pueden preparar en general siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (6) a continuación.



Esquema de reacción 6

- 5 E: cloración
F: trifluorometilación
G: ciclización

- Los compuestos intermedios de la Fórmula (X) en el esquema de reacción (6) anterior se pueden preparar a partir de los compuestos intermedios de la Fórmula (XI) siguiendo procedimientos de cloración conocidos en la técnica (etapa de reacción E). Dicha conversión se puede llevar a cabo por tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (XI) con un agente de cloración adecuado tal como, por ejemplo, cloruro de tionilo, en presencia de una base tal como, por ejemplo, piridina en un disolvente inerte de reacción, tal como, por ejemplo, diclorometano. Se agita la mezcla de reacción a temperatura adecuada, por ejemplo 0 °C durante el tiempo requerido para conseguir la terminación de la reacción, por ejemplo 30-60 minutos.
- Los compuestos intermedios de la Fórmula (XI) del esquema de reacción (6) anterior se pueden preparar a partir de los compuestos intermedios de la Fórmula (XII) siguiendo procedimientos de trifluorometilación conocidos en la técnica (etapa de reacción F). Dicha conversión se puede llevar a cabo por tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (XII) en presencia de fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) o trifenildifluorosilicato de tetrabutilamonio (TBAF), con un agente de trifluorometilación tal como, por ejemplo, (trifluorometil)trimetilsilano, en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano. Se agita la mezcla de reacción a temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente durante el tiempo requerido para conseguir la terminación de la reacción, por ejemplo dos horas.
- Los compuestos intermedios de la Fórmula (XII) en el esquema de reacción (6) anterior se pueden preparar a partir de los compuestos intermedios de la Fórmula (XIV) siguiendo procedimientos de ciclización de dos etapas conocidos en la técnica (etapa de reacción G). Dicha conversión se puede llevar a cabo por tratamiento primero de los compuestos intermedios de la Fórmula (XIV) con un compuesto intermedio de Fórmula (XIII), tal como, por ejemplo, cloruro de cloroacetilo en presencia de una base tal como, por ejemplo, NaOH o DIPEA, en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano, o mezclas de disolventes inertes tal como, por ejemplo, agua y 1,4-dioxano o agua y THF. El pH de la mezcla de reacción se puede ajustar a un valor de pH adecuado, por ejemplo, 10-11, por adición de una base adecuada tal como, por ejemplo, NaOH. Se agita la mezcla de reacción a una temperatura adecuada, por ejemplo, 0 °C a 25 °C durante el tiempo requerido para conseguir la terminación de la reacción, por ejemplo 1-4 horas. El residuo bruto obtenido se puede ciclar con posterioridad para proporcionar el compuesto intermedio (XII) por adición de una base adecuada tal como, por ejemplo, K₂CO₃, Cs₂CO₃, N,N-diisopropiletilamina o NaHCO₃, en un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como por ejemplo, acetonitrilo o DMF. Se agita la mezcla de reacción en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 25 °C a 80°C durante 2-24 horas o por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 140 °C durante 15-30 minutos con irradiación de microondas. Esta conversión también se puede llevar a cabo en ausencia de una base en

un disolvente inerte de reacción adecuado, tal como por ejemplo, acetonitrilo o DMF, a una temperatura adecuada, típicamente 40 °C a 110 °C, durante un periodo de, por ejemplo, 24-48 horas.

Farmacología

5 Los compuestos de la presente invención y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos inhiben BACE y por lo tanto pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de: Enfermedad de Alzheimer (EA), deficiencia cognitiva leve (MCI, por sus siglas en inglés), senilidad, demencia, demencia de cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada a enfermedad de Parkinson y demencia asociada a beta-amiloide.

10 La invención se refiere a un compuesto según la Fórmula (I) general, una forma estereoisómera del mismo o una sal de adición de ácido o de base farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un medicamento.

15 La invención también se refiere a un compuesto según la Fórmula (I) general, una forma estereoisómera del mismo o la sal de adición de ácido o de base farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades o afecciones seleccionadas del grupo que consiste en: EA, MCI, senilidad, demencia, demencia de cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada a enfermedad de Parkinson y demencia asociada a beta-amiloide.

La invención también se refiere al uso de un compuesto según la Fórmula (I) general, una forma estereoisómera del mismo o una sal de adición de ácido o de base farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente.

20 A la vista de la utilidad del compuesto de Fórmula (I), se proporciona un método para tratar individuos tales como animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, que padecen, o un método para evitar que los individuos tales como animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, padezcan una cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente.

25 Dichos métodos comprenden la administración, es decir, la administración sistémica o tópica, preferiblemente administración oral, de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), una forma estereoisómera del mismo, una sal de adición o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, a un individuo tal como un animal de sangre caliente, incluyendo un ser humano.

30 Un método de tratamiento también puede incluir administrar el ingrediente activo en un régimen de entre una y cuatro tomas al día. En estos métodos de tratamiento los compuestos de acuerdo con la invención se formulan preferiblemente previamente a la administración. Como se describe en la presente memoria a continuación, las formulaciones farmacéuticas adecuadas se preparan por procedimientos conocidos usando ingredientes conocidos y fácilmente disponibles.

35 Los compuestos de la presente invención, que pueden ser adecuados para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer o los síntomas de la misma, se pueden administrar solos o junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales. El tratamiento asociado incluye la administración de una formulación de dosis farmacéutica única que contiene un compuesto de Fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, así como la administración del compuesto de Fórmula (I) y cada uno de los agentes terapéuticos adicionales en su propia formulación de dosis farmacéutica separada. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) y un agente terapéutico pueden ser administrados al paciente juntos en una composición de dosis oral única tal como un comprimido o cápsula, o se puede administrar cada agente en formulaciones de dosis oral separadas.

Composiciones farmacéuticas

45 La presente invención también proporciona composiciones para prevenir o tratar enfermedades en las que es beneficiosa la inhibición de beta-secretasa, tales como enfermedad de Alzheimer (EA), deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia de cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada a enfermedad de Parkinson y demencia asociada a beta-amiloide. Dichas composiciones que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la fórmula (I) y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

50 Aunque es posible que se tenga que administrar solo el ingrediente activo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica. De acuerdo con esto, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la presente invención, junto con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El portador o diluyente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no perjudicial para los receptores del mismo.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica

de farmacia. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto particular, en forma de base o forma de sal de adición, como el ingrediente activo se combina en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, que puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma farmacéutica unitaria adecuada, preferiblemente, para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral o administración tópica tal como vía inhalación, un aerosol nasal, gotas para los ojos o vía una crema, gel, champú o similares. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma farmacéutica oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos normales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y disoluciones: o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma farmacéutica unitaria oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el portador comprenderá normalmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para ayudar a la solubilidad. Se pueden preparar disoluciones inyectables, por ejemplo, en las que el portador comprende disolución salina, disolución de glucosa o una mezcla de disolución salina y disolución de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectable adecuado, combinado opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, aditivos que no causan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, como un spot-on o como una pomada.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas anteriores en forma farmacéutica unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma farmacéutica unitaria como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en la presente memoria se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas farmacéuticas unitarias son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares y múltiples segregados de los mismos.

La dosis exacta y la frecuencia de administración depende del compuesto de fórmula (I) particular usado, la afección particular que se esté tratando, la importancia de la afección que se esté tratando, la edad, peso, sexo, extensión del trastorno y estado físico general del paciente particular así como otra medicación que pueda estar tomando el individuo, como es sabido para los expertos en la materia. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz puede ser disminuida o aumentada dependiendo de la respuesta del individuo tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la invención inmediata.

Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá de 0,05 a 99% en peso, preferiblemente de 0,1 a 70% en peso, más preferiblemente de 0,1 a 50% en peso del ingrediente activo, y, de 1 a 99,95% en peso, preferiblemente de 30 a 99,9% en peso, más preferiblemente de 50 a 99,9% en peso de un portador farmacéuticamente aceptable, estando basados todos los porcentajes en el peso total de la composición.

Los presentes compuestos se pueden usar para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral o administración tópica tal como vía inhalación, un aerosol nasal, gotas para los ojos o vía una crema, gel, champú o similar. Los compuestos se administran preferiblemente por vía oral. La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular según la fórmula (I) usado, la afección particular que se esté tratando, la importancia de la afección que se esté tratando, la edad, peso, sexo, extensión del trastorno y estado físico general del paciente particular así como otra medicación que esté tomando el individuo, como es sabido para los expertos en la materia. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz puede ser disminuida o aumentada dependiendo de la respuesta del individuo tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la invención inmediata.

La cantidad de un compuesto de Fórmula (I) que se puede combinar con un material portador para producir una forma farmacéutica única variará dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo de administración particular. Sin embargo, como una guía general, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden contener preferiblemente, por ejemplo, entre 0,1 mg y aproximadamente 1.000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida es entre 1 mg y aproximadamente 500 mg. Una dosis unitaria más preferida es entre 1 mg y aproximadamente 300 mg. Incluso la dosis unitaria más preferida es entre 1 mg y aproximadamente 100 mg. Dichas dosis unitarias se pueden administrar más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 ó 6 veces al día, pero preferiblemente 1 ó 2 veces al día, de manera que la dosis total para un adulto de 70 kg está en el intervalo de 0,001 a aproximadamente 15 mg por kg de peso de individuo por administración. Una dosis

preferida es 0,01 a aproximadamente 1,5 mg por kg de peso de individuo por administración y dicho tratamiento se puede extender durante una serie de semanas o meses y, en algunos casos, años. Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del individuo que se esté tratando; el tiempo y la vía de administración; la velocidad de excreción; otros fármacos que hayan sido administrados previamente y la importancia de la enfermedad particular que esté experimentando tratamiento, como es entendido para los expertos en el área.

Una dosis típica puede ser un comprimido de 1 mg a aproximadamente 100 mg o 1 mg a aproximadamente 300 mg tomados una vez al día, o, múltiples veces al día o una cápsula o comprimido de liberación prolongada tomada una vez al día y conteniendo un contenido proporcionalmente superior de ingrediente activo. El efecto de liberación prolongada se puede obtener por materiales de la cápsula que se disuelven a diferentes valores de pH, por cápsulas que liberan lentamente por presión osmótica o por cualquier otro medio conocido de liberación controlada.

Puede ser necesario usar dosis fuera de estos intervalos en algunos casos como será evidente para los expertos en la materia. Además, se observa que el clínico o médico que trata sabrá cómo y cuándo empezar, interrumpir, ajustar o terminar el tratamiento conjuntamente con la respuesta del paciente individual.

Para las composiciones y métodos proporcionados anteriormente, un experto en la materia comprenderá que los compuestos preferidos para uso en cada uno son los compuestos que se observan como preferidos anteriormente. Son compuestos más preferidos aún para las composiciones y métodos los compuestos proporcionados en los ejemplos a continuación.

Parte experimental

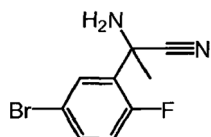
De ahora en adelante, el término "p. f." significa punto de fusión, "ac." significa acuoso, "m. r." significa mezcla de reacción, "t. a." significa temperatura ambiente, 'DIPEA' significa *N,N*-diisopropiletilamina, "DIPE" significa diisopropil éter, 'THF' significa tetrahidrofurano, 'DMF' significa dimetilformamida, 'DCM' significa diclorometano, "EtOH" significa etanol 'EtOAc' significa acetato de etilo, "AcOH" significa ácido acético, "iPrOH" significa isopropanol, "iPrNH₂" significa isopropilamina, "MeCN" significa acetonitrilo, "MeOH" significa metanol, "Pd(OAc)₂" significa diacetato de paladio (II), "rac" significa racémico, 'sat.' significa saturado, 'SFC' significa cromatografía de fluidos supercríticos, 'SFC-MS' significa cromatografía de fluidos supercríticos/espectrometría de masas, "LC-MS" significa cromatografía líquida/espectrometría de masas, "GCMS" significa cromatografía de gases/espectrometría de masas, "HPLC" significa cromatografía líquida de alta resolución, (todas por sus siglas en inglés), "FI" significa fase inversa, "UPLC" significa cromatografía líquida de ultra-resolución (por sus siglas en inglés), "t_R" significa tiempo de retención (en minutos), "[M+H]⁺" significa la masa protonada de la base libre del compuesto, "DAST" significa trifluoruro de dietilaminosulfuro (por sus siglas en inglés), "DMTMM" significa cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio, "HATU" significa hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, "Xantfos" significa (9,9-dimetil-9H-xanteno-4,5-diil)bis[difenilfosfino], "TBAT" significa trifenildifluorosilicato de tetrabutilamonio, "TFA" significa ácido trifluoroacético, "Et₂O" significa dietil éter, "DMSO" significa dimetilsulfóxido, "MeCN" significa acetonitrilo.

Para compuestos intermedios clave, así como algunos compuestos finales, la configuración absoluta de los centros quirales (indicado como R y/o S) se estableció por comparación con muestras de configuración conocida o el uso de técnicas analíticas adecuadas para la determinación de configuración absoluta, tal como VCD (dicroísmo circular vibracional) o cristalografía de rayos X. Cuando la configuración absoluta en un centro quiral es desconocida, se designa arbitrariamente R*.

A. Preparación de los compuestos intermedios

Ejemplo A1

Preparación de compuesto intermedio 1.



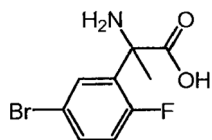
Se añadió cianuro de trimetilsililo (30,7 ml, 230 mmoles) a una disolución agitada de 5-bromo-2-fluoroacetofenona (25 g, 115 mmoles) y NH₄Cl (18,5 g, 345 mmoles) en NH₃/MeOH (150 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 días. Después se evaporó el disolvente a vacío y se absorbió el residuo en EtOAc (80 ml). Se

filtró el sólido y se evaporó el líquido filtrado a vacío para proporcionar compuesto intermedio 1 (27,9 g, rendim. cuant.) que se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

Ejemplo A2

Preparación de compuesto intermedio 2.

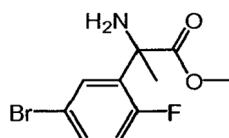
5



Se disolvió compuesto intermedio 1 (27 g, 111 mmoles) en HCl (37% en H₂O) (130 ml) y ácido acético (130 ml) y se calentó la mezcla para hacerla hervir a reflujo durante 16 horas. Después de refrigerar a temperatura ambiente, se concentró la mezcla a vacío. Se añadió agua y se extrajo la capa acuosa con EtOAc. Se alcalinizó la capa acuosa con disolución ac., de NaOH (25%) a pH 7. Se concentró parcialmente la capa acuosa a vacío. Se enfrió la mezcla en un baño de hielo y se separó por filtración el precipitado, se lavó con agua y después Et₂O y se secó a vacío para proporcionar compuesto intermedio 2 (18 g, 62% de rendimiento) como un sólido blanco.

Ejemplo A3

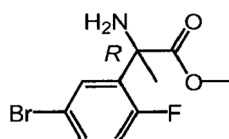
Preparación de compuesto intermedio 3.



Se disolvió compuesto intermedio 2 (15 g, 57,2 mmoles) en MeOH (300 ml). Se añadió H₂SO₄ (330 ml) y se calentó la mezcla de reacción para hacerla hervir a reflujo durante 48 h. Se concentró la m. r. a vacío. Se añadió agua y se alcalinizó la disolución a pH 8 con disolución sat., ac., de NHCO₃. Se extrajo después la capa acuosa con EtOAc. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar compuesto intermedio 3 (15 g, 95% de rendimiento).

Ejemplo A4

Preparación de compuesto intermedio 4.



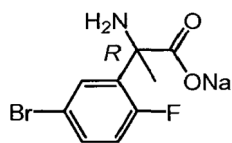
Se separó compuesto intermedio 3 (10 g) en los correspondientes enantiómeros por SFC preparativa en (Daicel AD 30 x 250 mm Chiralpak®). Fase móvil (CO₂, MeOH con iPrNH₂ al 0,2%) para proporcionar compuesto intermedio 4 (4,2 g, 42% de rendimiento).

α_D : -10,1° (365 nm, c 0,762 % p/v, MeOH, 20 °C).

Ejemplo A5

Preparación de compuesto intermedio 5.

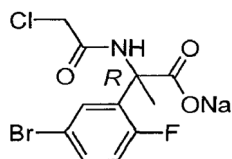
35



Se añadió THF (150 ml) a una disolución de compuesto intermedio 4 (40 g, 145 mmoles) en NaOH (1 M en H₂O, 360 ml). Se agitó la mezcla a t. a. durante 4 horas. Se concentró la mezcla a vacío para proporcionar compuesto intermedio 5 (42 g) como un sólido blanco, que se usó como tal en la siguiente etapa de reacción.

Ejemplo A6

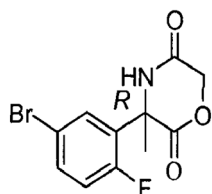
Preparación de compuesto intermedio 6.



A una disolución enfriada de compuesto intermedio 5 (41,3 g, 145 mmoles) en H₂O (150 ml), se añadió gota a gota una disolución de cloruro de cloroacetilo (24 ml, 304,5 mmoles) en 1,4-dioxano (75 ml). De manera simultánea, se añadió NaOH (5M en H₂O, 29 ml) para ajustar el pH a 10-11. Se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con Et₂O. Después se acidificó la capa acuosa con HCl (6 M, en H₂O) hasta pH 2. Se recogió por filtración el sólido blanco precipitado, se lavó con H₂O y se secó para proporcionar compuesto intermedio 6 (42 g, 86% de rendimiento).

Ejemplo A7

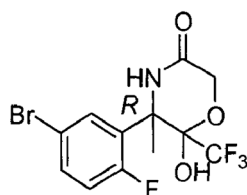
Preparación de compuesto intermedio 7.



Se disolvieron compuesto intermedio 6 (42 g, 124 mmoles) y NaHCO₃ (20,8 g, 248 mmoles) en DMF (1.000 ml) y se agitó la mezcla de reacción a 80°C durante 3 horas. Se concentró parcialmente la mezcla en presión reducida, se enfrió a t. a. y después se filtró sobre tierra de diatomeas. Se concentró el líquido filtrado a vacío y se purificó el residuo por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: MeOH/DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 7 (36 g, 96% de rendimiento).

Ejemplo A8

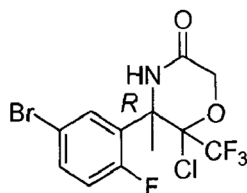
Preparación de compuesto intermedio 8.



A una disolución de compuesto intermedio 7 (11,6 g, 38,5 mmoles) en THF (117 ml) se añadió TBAT (2,08 g, 3,85 mmoles). Después, se añadió gota a gota (trifluorometil)trimetilsilano (12,5 ml, 84,6 mmoles) y se agitó la m. r. a t. a. durante 20 minutos. Se enfrió rápidamente la mezcla con NaCl acuoso y se extrajo con EtOAc. Se secaron las capas orgánicas combinadas (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar compuesto intermedio 8 (14 g, 98% de rendimiento) como una mezcla de isómeros cis y trans, que se usó como tal en la siguiente etapa.

Ejemplo A9

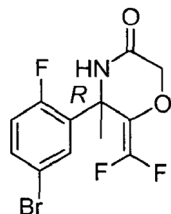
Preparación de compuesto intermedio 9.



Se disolvió Compuesto intermedio 8 (14 g, 37,6 mmoles) en DCM (600 ml) y se dejó enfriar a 0 °C. Después se añadió gota a gota cloruro de tionilo (11,2 ml, 150 mmoles). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a 0°C y después se añadió piridina (18,2 ml, 225,7 mmoles). Después de 30 minutos se hidrolizó la reacción con una disolución acuosa de HCl 1 N y se extrajo después con DCM. Se separaron las capas orgánicas, se secaron (MgSO₄), se filtró y se evaporó a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 2/98). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 9 (6 g, 41% de rendimiento, mezcla de diaestereoisómeros).

Ejemplo A10

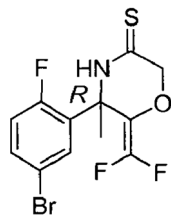
Preparación de compuesto intermedio 10.



Se agitó compuesto intermedio 9 (7 g, 17,9 mmoles) y par cinc cobre (8,55 g, 66,3 mmoles) en ácido acético (420 ml) a t. a. durante 16 horas. Se filtró la mezcla de reacción, se lavó con DCM y se concentró a vacío. Se añadió disolución de hidróxido de amonio (28% en agua) y DCM y se agitó la mezcla a t. a. durante 1 h. Se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con DCM. Se secaron las capas orgánicas combinadas (MgSO₄), se filtró y se evaporó a vacío para proporcionar compuesto intermedio 10 (6 g, 99% de rendimiento) como un polvo blanco.

Ejemplo A11

Preparación de compuesto intermedio 11.



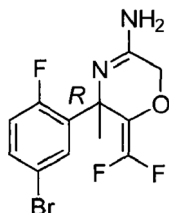
Se añadió P₂S₅ (5,95 g, 26,8 mmoles) a una disolución de compuesto intermedio 10 (6 g, 17,9 mmoles) en THF (145 ml) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a 70°C durante 90 minutos. Después se enfrió la mezcla

a t. a., se separó por filtración y se evaporó el disolvente orgánico a vacío para proporcionar compuesto intermedio 11 (5,9 g), que se usó como tal en la siguiente etapa.

5

Ejemplo A12

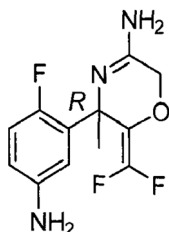
Preparación de compuesto intermedio 12.



- 10 Se disolvió compuesto intermedio 11 (5,9 g, 16,8 mmoles) en amoníaco 7 N en MeOH (390 ml) y se agitó la mezcla de reacción a 80°C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y se purificó el producto bruto por cromatografía de columna (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 12 (4,04 g, 72% de rendimiento).

15 Ejemplo A13

Preparación de compuesto intermedio 13.

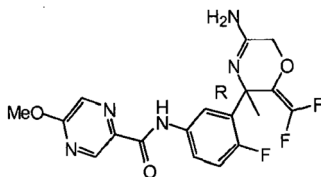


- 20 Se combinó compuesto intermedio 12 (3,6 g, 10,7 mmoles) con NaN₃ (1,75 g, 26,9 mmoles), CuI (2,56 g, 13,4 mmoles) y Na₂CO₃ (2,28 g, 21,5 mmoles) en DMSO (153 ml) y se desgaseó la reacción. Después de eso, se añadió *N,N'*-dimetiletilendiamina (2 ml, 18,8 mmoles) y se calentó la mezcla a 110°C hasta terminación de la reacción, aproximadamente 3 horas. Se concentró la mezcla de reacción a vacío. Se añadió amoníaco 7 N en MeOH y se agitó la mezcla durante la noche. Se separó por filtración el precipitado formado y se concentró el líquido filtrado a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía de columna (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 30/70). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 13 (1,52 g, 52% de rendimiento).

25 Ejemplo A14

Preparación de compuesto intermedio 14.

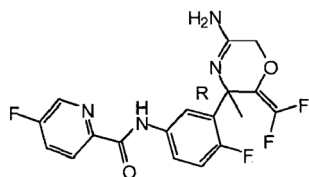
30



Se disolvió ácido 5-metoxipirazin-2-carboxílico (0,218 g, 1,42 mmoles) en MeOH (30 ml) y se añadió DMTMM (0,456 g, 1,548 mmoles). Después de agitar la mezcla durante 5 minutos, se añadió una disolución de compuesto intermedio 13 (0,35 g, 1,29 mmoles) en MeOH (20 ml) a 0°C y se agitó la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el material bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas. Se suspendió el residuo de DIPE/heptanos, se filtró y se secó en alto vacío para proporcionar compuesto intermedio 14 (0,266 g, 51% de rendimiento) como un sólido blanco.

Ejemplo A15

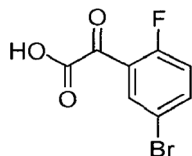
Preparación de compuesto intermedio 15.



Se sintetizó compuesto intermedio 15 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo A14. Partiendo de compuesto intermedio 13 (0,35 g, 1,29 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 15 como sólido blanco (0,362 g, 71% de rendimiento).

Ejemplo A16

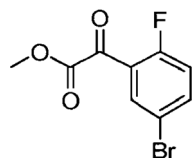
Preparación de compuesto intermedio 16.



Se disolvieron 1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)etanona [(CAS 198477-89-3), 70 g, 322 mmoles) y óxido de selenio (71,6 g, 645 mmoles) en piridina (520 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 100°C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y se añadió disolución acuosa de HCl 1 N. Se extrajo la capa acuosa con EtOAc. Se secaron las capas orgánicas combinadas (Mg₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar compuesto intermedio 16 (62 g, 78% de rendimiento), que se usó como tal en la siguiente reacción.

Ejemplo A17

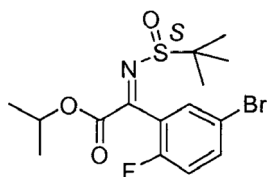
Preparación de compuesto intermedio 17.



Se añadió gota a gota cloruro de tionilo (37 ml, 510 mmoles) a una disolución agitada de compuesto intermedio 16 (42 g, 170 mmoles) en MeOH (456 ml) a 0°C. Se calentó la mezcla para hacerla hervir a reflujo durante 18 horas. Se evaporaron los disolventes a vacío y se repartió el residuo entre Na₂CO₃ saturado y DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (Mg₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar compuesto intermedio 17 (30 g, 68% de rendimiento) como un aceite amarillo.

Ejemplo A18

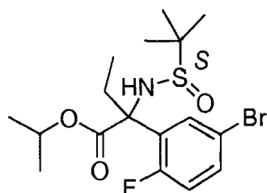
Preparación de compuesto intermedio 18.



- 5 Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (153 ml, 522 mmoles) a una mezcla agitada de compuesto intermedio 17 (68 g, 261 mmoles) y (S)-2-metil-2-propanosulfinamida (37,9 g, 313 mmoles) en n-heptano (1.000 ml). Se agitó la mezcla a 80°C durante 1,5 horas. Se enfrió la mezcla a t. a., y se añadió hielo-agua. Se filtró la mezcla resultante sobre almohadilla de tierra de diatomeas y se enjuagó con n-heptano. Se extrajo la capa acuosa con EtOAc. Se secaron las capas orgánicas combinadas (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar compuesto intermedio 18 (87,9 g, 86% de rendimiento), que se usó como tal en la siguiente reacción.

Ejemplo A19

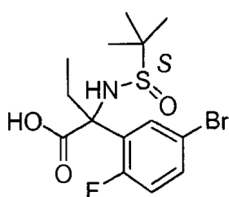
- 10 Preparación de compuesto intermedio 19.



- 15 Se añadió gota a gota bromuro de etilmagnesio (3 M, 86 ml, 259 mmoles) a una disolución agitada de compuesto intermedio 18 (72,6 g, 185 mmoles) en DCM (1.154 ml) a -78°C en nitrógeno. Se agitó la mezcla a esta temperatura durante 30 min y se enfrió rápidamente después la reacción por adición de una disolución sat. ac. de NH₄Cl, seguido por agua. Se extrajo la mezcla con DCM y se lavó con agua. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: Heptanos/EtOAc 90/10 a 70/30). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 19 (25,56 g, 33% de rendimiento, mezcla de diastereómeros) como un aceite amarillo.

Ejemplo A20

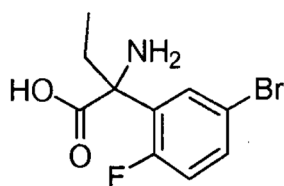
Preparación de compuesto intermedio 20.



- 25 Se añadió una disolución 2 M ac. de NaOH (91 ml, 181,8 mmoles) a una disolución de compuesto intermedio 19 bruto (25,6 g, 60,6 mmoles) en MeOH (68 ml). Se agitó a reflujo la mezcla resultante durante 5 horas. Se enfrió la mezcla a t. a., y después se repartió entre agua y EtOAc. Se separó la capa acuosa y se neutralizó por adición de una disolución 1 M ac. de HCl y se extrajo después con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se suspendió el residuo de DIPE y se separó por filtración el precipitado y se secó a vacío para proporcionar compuesto intermedio 20 (17,5 g, 76% de rendimiento, mezcla de diastereómeros) como un sólido blanco.

Ejemplo A21

Preparación de compuesto intermedio 21.

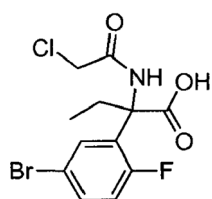


Sal de ácido clorhídrico

Se agitó compuesto intermedio 20 (17,5 g, 46 mmoles) en disolución 4 M de HCl en dioxano (46 ml) a temperatura ambiente durante 15 min. A la suspensión resultante, se añadió DIPE y se separó por filtración el precipitado y se secó a vacío para proporcionar compuesto intermedio 21 (15,1 g, rendim., cuant., racemato) como un sólido blanco.

5 Ejemplo A22

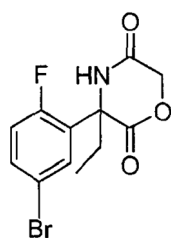
Preparación de compuesto intermedio 22.



- 10 A una disolución enfriada de compuesto intermedio 21 (15,1 g, 43,2 mmoles) y DIPEA (35 ml, 203,7 mmoles) en DCM (350 ml), se añadió gota a gota cloruro de cloroacetilo (5,6 ml, 70,6 mmoles) a 0°C. Después de agitar a 0°C durante 15 minutos, se calentó la mezcla de reacción a t a y se acidificó con HCl (2 M en H₂O, 10 ml). Se extrajo la mezcla con EtOAc y se lavó con salmuera. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se trituró el producto bruto con DIPE y se separó por filtración el precipitado y se secó a vacío para proporcionar compuesto intermedio 22 (8,04 g, 53% de rendimiento) como un sólido pardo.

15 Ejemplo A23

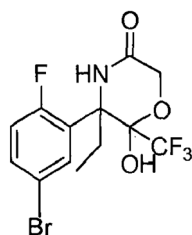
Preparación de compuesto intermedio 23.



- 20 Se sintetizó compuesto intermedio 23 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo 7. Partiendo de compuesto intermedio 22 (8 g, 22,69 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 23 como un sólido blanco (4,5 g, 63% de rendimiento).

Ejemplo A24

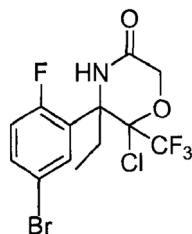
- 25 Preparación de compuesto intermedio 24.



Se sintetizó compuesto intermedio 24 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo 8. Partiendo de compuesto intermedio 23 (2,34 g, 7,4 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 24 como un aceite (1,9 g, 66% de rendimiento).

Ejemplo A25

Preparación de compuesto intermedio 25.

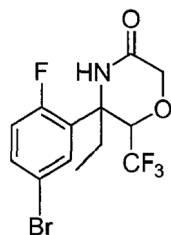


5

Se sintetizó compuesto intermedio 25 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo 9. Partiendo de compuesto intermedio 24 (1,9 g, 4,92 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 25 como un sólido amarillo pálido (1,58 g, 79% de rendimiento).

10 Ejemplo A26

Preparación de compuesto intermedio 26.



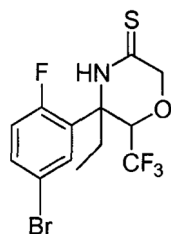
15

Se agitó compuesto intermedio 25 (1,4 g, 3,46 mmoles) en ácido acético (42 ml) a 100°C durante 5 minutos. Se añadió cinc (0,91 g, 13,8 mmoles) y se agitó la mezcla a 100°C durante 1 h. Se añadió cinc extra (0,452 g, 6,9 mmoles) y se agitó más la mezcla a 100°C. Después de otra hora, se añadió nuevo cinc (0,226 g, 3,46 mmoles) y se agitó la mezcla a 100 °C durante 2 h. Finalmente, se añadió cinc extra (0,91 g, 13,8 mmoles) y se agitó la mezcla a 100°C durante 1 h. Después de refrigerar, se filtró la mezcla de reacción, se lavó con DCM y se concentró a vacío. Se añadió disolución de hidróxido de amonio (28% en agua), disolución ac., sat., de NaHCO₃ y agua. Se extrajo la capa acuosa con DCM. Se secaron las capas orgánicas combinadas (MgSO₄), se filtró y se evaporó a vacío para proporcionar compuesto intermedio 26 (1,26 g, 98% de rendimiento) como un sólido blanco.

20

Ejemplo A27

Preparación de compuesto intermedio 27.

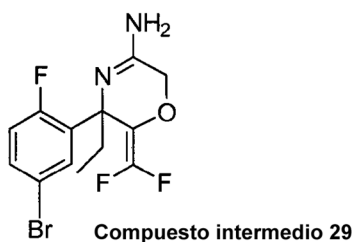
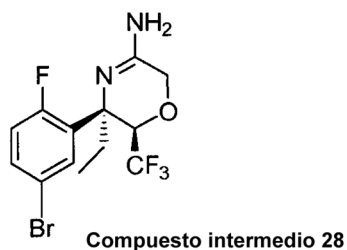


25

Se sintetizó compuesto intermedio 27 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo 11. Partiendo de compuesto intermedio 26 (1,26 g, 3,4 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 27 como un sólido blanco (1,09 g, 83% de rendimiento).

Ejemplo A28

30 Preparación de compuesto intermedio 28 y compuesto intermedio 29.



- Se disolvió compuesto intermedio 27 (1 g, 2,59 mmoles) en amoníaco 7 N en MeOH (60 ml) y se agitó la mezcla de reacción a 130°C durante 15 minutos con radiación de microondas. Se concentró a vacío la mezcla de reacción y se añadió nuevo amoníaco 7 N en MeOH (30 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 130°C durante otros 15 minutos con radiación de microondas. Se evaporó el disolvente y se purificó el producto bruto por cromatografía de columna (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 2/98). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 28 (0,29 g, 30% de rendimiento, racemato *cis*) como un sólido blanco y compuesto intermedio 29 (0,27 g, 30% de rendimiento) como un aceite.

Ejemplo A29

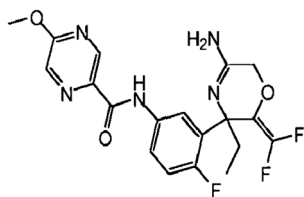
- 10 Preparación de compuesto intermedio 30.



- Se sintetizó compuesto intermedio 30 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo 13. Partiendo de compuesto intermedio 29 (0,189 g, 0,542 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 30 como un aceite (0,16 g), que se usó como tal en la siguiente reacción.

Ejemplo A30

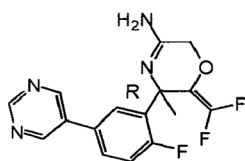
Preparación de compuesto intermedio 31.



- Se sintetizó compuesto intermedio 31 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo A14. Partiendo de compuesto intermedio 30 (0,09 g, 0,315 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 31 como un sólido blanco ligeramente oscurecido (0,028 g, 21% de rendimiento).

- 25 Ejemplo A31

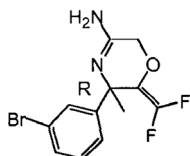
Preparación de compuesto intermedio 32.



Se disolvieron compuesto intermedio 12 (0,4 g, 1,194 mmoles), ácido 5-pirimidinilborónico (0,296 g, 2,387 mmoles) y tetrakis(trifenilfosfino)paladio (0) (0,207 g, 0,179 mmoles) en una mezcla de 1,4-dioxano (18 ml) y NaHCO₃ acuoso (sol., sat., 8,5 ml). Se descargó la mezcla resultante con N₂ y se calentó después a 70°C durante 2 horas. Se diluyó después la mezcla de reacción con agua y se extrajo después con DCM (3x). Se lavó la capa orgánica combinada con salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 32 (0,3 g, 75% de rendimiento) como una espuma blanca.

10 Ejemplo A32

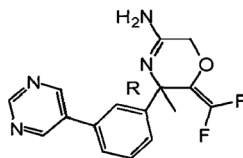
Preparación de compuesto intermedio 33.



15 Partiendo de 3-bromoacetofenona (CAS 2142-63-4), se sintetizó compuesto intermedio 33 siguiendo los mismos procedimientos de reacción como se describe para el compuesto intermedio 12 en los Ejemplos A1-A12.

Ejemplo A33

Preparación de compuesto intermedio 34.



20 Se sintetizó compuesto intermedio 34 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo A31. Partiendo de compuesto intermedio 33 (0,31 g, 0,978 mmoles) se obtuvo compuesto intermedio 34 como un sólido blanco (0,21 g, 68% de rendimiento).

25 Ejemplo A34

Preparación de compuesto intermedio 35.



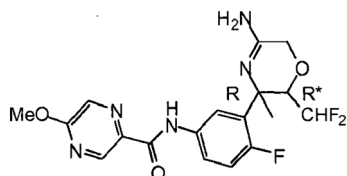
30 Se disolvió compuesto intermedio 13 (2,78 g, 10,25 mmoles) en EtOAc (70 ml) y se añadieron paladio sobre carbono (10%) (1,09 g) y tiofeno (disolución al 0,4% en THF, 14 ml). Se hidrogenó la mezcla a t a y presión atmosférica durante 16 horas. Se separó el catalizador por filtración y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 10/90). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto intermedio 35 (0,478 g, 17% de rendimiento)

35

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

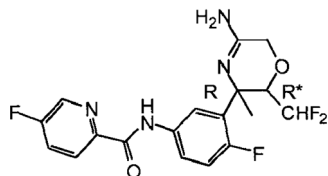
Preparación de compuesto 1: *N*-{3-[(2R*,3R)-5-Amino-2-(difluorometil)-3-metil-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-il]-4-fluorofenil}-5-metoxipirazin-2-carboxamida.



Se disolvió compuesto intermedio 14 (0,154 g, 0,378 mmoles) en EtOAc (5 ml) y se añadieron paladio sobre carbono (10%) (0,04 g, 0,038 mmoles) y tiofeno (disolución al 0,4% en THF, 0,5 ml, 0,026 mmoles). Se hidrogenó la mezcla a t a y presión atmosférica durante 16 horas. Se separó el catalizador por filtración y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 2/98). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas. Se suspendió el residuo de DIPE, se filtró y se secó en alto vacío para proporcionar compuesto 1 (0,067 g, 43% de rendimiento).

Ejemplo B2

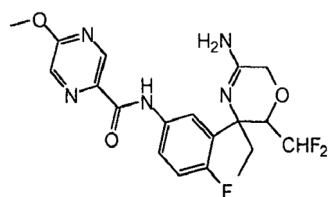
Preparación de compuesto 2: *N*-{3-[(2R*,3R)-5-Amino-2-(difluorometil)-3-metil-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridin-2-carboxamida.



Se sintetizó compuesto 2 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo B1. Partiendo de compuesto intermedio 15 (0,251 g, 0,637 mmoles) se obtuvo compuesto 2 como sólido blanco (0,114 g, 45% de rendimiento).

Ejemplo B3

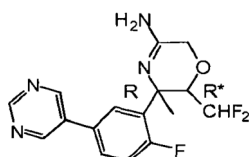
Preparación de compuesto 3: *cis*-rac-*N*-{3-[5-Amino-2-(difluorometil)-3-etil-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-il]-4-fluorofenil}-5-metoxipirazin-2-carboxamida.



Se disolvió compuesto intermedio 31 (0,028 g, 0,066 mmoles) en MeOH (1,3 ml) y se hidrogenó en un reactor H-cube (1 ml/min, cartucho de Pd/C al 10%, modo H2 completo), primero a 25 °C, después a 50 °C y finalmente a 80 °C. Se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el producto bruto por HPLC preparativa (C18 XBridge 19 x 100 5 um), fase móvil (gradiente de 80% NH₄CO₃H al 0,1% /disolución de NH₄OH pH 9 en Agua, 20% de CH₃CN a 0% 0,1% de NH₄CO₃H/ disolución de NH₄OH pH 9 en Agua, 100% de CH₃CN). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas para proporcionar compuesto 3 (0,0032 g, 11% de rendimiento).

Ejemplo B4

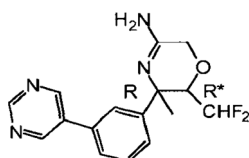
Preparación de compuesto 4: (5R,6R*)-6-(Difluorometil)-5-(2-fluoro-5-pirimidin-5-ilfenil)-5-metil-5,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-amina.



- 5 Se sintetizó compuesto 4 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo B1. Partiendo de compuesto intermedio 32 (0,155 g, 0,464 mmoles) se obtuvo compuesto 4 (0,018 g, 12% de rendimiento).

Ejemplo B5

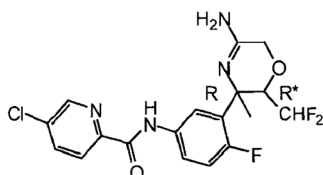
- 10 Preparación de compuesto 5: (5R,6R*)-6-(Difluorometil)-5-metil-5-(3-pirimidin-5-ilfenil)-5,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-amina.



Se sintetizó compuesto 5 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo B1. Partiendo de compuesto intermedio 34 (0,124 g, 0,392 mmoles) se obtuvo compuesto 5 como un sólido blanco (0,04 g, 32% de rendimiento).

- 15 Ejemplo B6

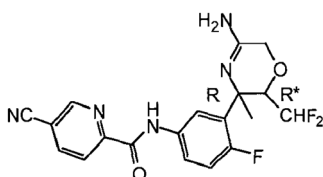
Preparación de compuesto 6: *N*-{3-[(2R*,3R)-5-Amino-2-(difluorometil)-3-metil-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-il]-4-fluorofenil}-5-cloropiridin-2-carboxamida.



- 20 Se disolvió ácido 5-cloropiridin-2-carboxílico (63 mg, 0,4 mmoles) en MeOH (7 ml) y se añadió DMTMM (129 mg, 0,44 mmoles). Después de agitar la mezcla durante 5 minutos, se añadió una disolución de compuesto intermedio 35 (100 mg, 0,366 mmoles) en MeOH (8 ml) a 0°C y se agitó la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el material bruto por cromatografía de columna por desorción súbita (gel de sílice; eluyente: disolución 7 M de amoníaco en metanol/DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron y se concentraron a vacío las fracciones deseadas. Se trituró el residuo con DIPE, se filtró y se secó en alto vacío para proporcionar compuesto 6 (0,116 g, 74% de rendimiento) como un sólido blanco.
- 25

Ejemplo B7

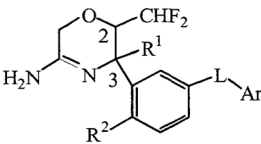
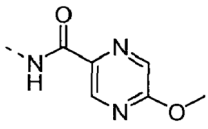
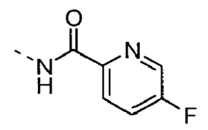
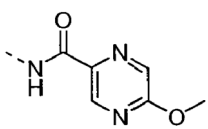
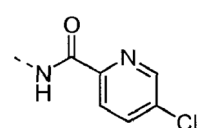
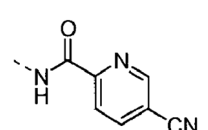
- 30 Preparación de compuesto 7: *N*-{3-[(2R*,3R)-5-Amino-2-(difluorometil)-3-metil-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-il]-4-fluorofenil}-5-cianopiridin-2-carboxamida.



Se sintetizó compuesto 7 siguiendo el mismo criterio descrito en el Ejemplo B6. Partiendo de compuesto intermedio 35 (100 mg, 0,4 mmoles) se obtuvo compuesto 7 (110 mg, 75% de rendimiento).

- 5 Compuestos 1 a 7 en la tabla 1 se enumeran los compuestos que se prepararon según uno de los Ejemplos anteriores. 'Ej. N°' se refiere al número del Ejemplo según cuyo protocolo se sintetizó el compuesto. 'Co. N°' significa número del compuesto. C₂(R*) significa que la configuración absoluta en C₂ es R o S pero aún desconocida.

Tabla 1:

					
Co. N°	Ej. N°	R ¹	R ²	---L-Ar	Estereoquímica
1	B1	CH ₃	F		C ₂ (R*); C ₃ (R) Único diastereoisómero Enantiómero puro
2	B2	CH ₃	F		C ₂ (R*); C ₃ (R) Único diastereoisómero Enantiómero puro
3	B3	CH ₂ CH ₃	F		C ₂ (RS); C ₃ (RS) Único diastereoisómero (Cis)
4	B4	CH ₃	H		C ₂ (R*); C ₃ (R) Único diastereoisómero Enantiómero puro
5	B5	CH ₃	F		C ₂ (R*); C ₃ (R) Único diastereoisómero Enantiómero puro
6	B6	CH ₃	F		C ₂ (R*); C ₃ (R) Único diastereoisómero Enantiómero puro
7	B7	CH ₃	F		C ₂ (R*); C ₃ (R) Único diastereoisómero Enantiómero puro

C. Parte analítica

LCMS

Para caracterización (LC)MS de los compuestos de la presente invención, se usaron los siguientes métodos.

Método 1:

- 5 Se realizó la medición LC usando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprendía una bomba binaria, un organizador de muestras, un calentador de columna (fijado a 55°C), un detector de haz de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los respectivos métodos a continuación. Se dividió el flujo de la columna a un espectrómetro MS. El detector MS se configuró con una fuente de ionización de electropulverización. Los espectros de masas se adquirieron barriendo de 100 a 1.000 en 0,18 segundos usando un tiempo de permanencia de 0,02 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3,5 kV y se mantuvo la temperatura de la fuente a 140°C. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. Se realizó adquisición de datos con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

- 15 Se realizó UPLC de fase inversa (Cromatografía Líquida de Ultra Realización) en una columna C18 híbrida de etilsiloxano/sílice de puente (BEH) (1,7 µm, 2,1 x 50 mm; Waters Acquity) con un caudal de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (acetato de amonio 10 mM en H₂O/acetonitrilo 95/5; fase móvil B: acetonitrilo) para realizar una condición de gradiente de 95% de A y 5% de B a 5% de A y 95% de B en 1,3 minutos y se mantuvo durante 0,7 minutos. Se usó un volumen de inyección de 0,75 µl.

El voltaje del cono fue 10 V para modo de ionización positivo y 20 V para modo de ionización negativo.

Método 2:

- 20 La medición de UPLC (Cromatografía Líquida de Ultra Realización) se realizó usando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprendía un organizador de muestras, una bomba binaria con desgaseador, una estufa de cuatro columnas, un detector de haz de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los respectivos métodos. El detector MS se configuró con una fuente de ionización dual ESCI (electropulverización combinada con ionización química a presión atmosférica). Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. Se mantuvo la temperatura de la fuente a 140°C. Se realizó adquisición de datos con software MassLynx-Openlynx.

- 25 Se realizó UPLC de fase inversa (Cromatografía Líquida de Ultra Realización) en una RRHD Eclipse Plus-C18 (1,8 µm, 2,1 x 50 mm) de Agilent, con un caudal de 1,0 ml/min, a 50°C sin dividir al detector MS. Las condiciones del gradiente usadas son: 95% de A (0,5 g/l de disolución de acetato de amonio + 5% de acetonitrilo), 5% de B (acetonitrilo), a 40% de A, 60% de B en 3,8 minutos, a 5% de A, 95% de B en 4,6 minutos, mantenido hasta 5,0 minutos. Volumen de inyección 2 µl. Se adquirieron espectros de masas de baja resolución (cuadrupolo único, detector SQD) por barrido de 100 a 1.000 en 0,1 segundos usando un retardo entrecanales de 0,08 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3 kV. El voltaje del cono fue 25 V para modo de ionización positivo y 30 V para modo de ionización negativo.

Método 3:

- 35 La medición de LC se realizó usando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprendía una bomba binaria, un organizador de muestras, un calentador de columna (fijado a 55°C), un detector de haz de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los respectivos métodos a continuación. Se dividió el flujo de la columna a un espectrómetro MS. El detector MS se configuró con una fuente de ionización de electropulverización. Los espectros de masas se adquirieron barriendo de 100 a 1.000 en 0,18 segundos usando un tiempo de permanencia de 0,02 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3,5 kV y se mantuvo la temperatura de la fuente a 140°C. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. Se realizó adquisición de datos con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

- 45 Se realizó UPLC de fase inversa (Cromatografía Líquida de Ultra Realización) en una columna C18 híbrida de etilsiloxano/sílice de puente (BEH) (1,7 µm, 2,1 x 50 mm; Waters Acquity) con un caudal de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (acetato de amonio 10 mM en H₂O/acetonitrilo 95/5; fase móvil B: acetonitrilo) para realizar una condición de gradiente de 95% de A y 5% de B a 5% de A y 95% de B en 1,3 minutos y se mantuvo durante 0,3 minutos. Se usó un volumen de inyección de 0,5 µl. El voltaje del cono fue 10 V para modo de ionización positivo y 20 V para modo de ionización negativo.

Puntos de fusión

- 50 Los valores son valores de pico o intervalos de fusión y se obtienen con incertidumbres experimentales que están asociadas comúnmente a este método analítico.

DSC823e (indicado por DSC en la Tabla 2)

Para una serie de compuestos, se determinaron los puntos de fusión con un DSC823e (Mettler-Toledo). Se midieron los puntos de fusión con un gradiente de temperatura de 30°C/minuto. La temperatura máxima fue 400°C.

- 5 Tabla 2: Datos analíticos - R_t significa tiempo de retención (en minutos), $[M+H]^+$ significa la masa protonada del compuesto, el método se refiere al método usado para (LC)MS.

Co. Nr.	t_R	$[M+H]^+$	Método	Punto de fusión
1	0,75	410	1	227,3°C
2	0,76	397	1	205,7°C
3	1,98	424	2	n. d.
4	0,59	337	1	n. d.
5	0,55	319	1	n. d.
6	0,89	413	3	203,9°C
7	0,87	404	3	230,9°C
n. d. significa no determinado				

Rotaciones ópticas

Se midieron las rotaciones ópticas en un polarímetro Perkin-Elmer 341 con una lámpara de sodio y se indicó como sigue: $[\alpha]_D^{25}$ (c g/100 ml, disolvente).

- 10 Tabla 3: Datos analíticos - Valores de rotación óptica para compuestos enantioméricamente puros.

Co. Nr.	α_D (°)	Longitud de onda (nm)	Concentración %p/v	Disolvente	Temp. (°C)
2	+121,95	365	0,205	DMF	20
7	+11,85	589	0,27	DMF	20

RMN

- 15 Para una serie de compuestos, se registraron los espectros de RMN de 1H en un espectrómetro Bruker DPX-360, en un Bruker DPX-400 o en un Bruker Avance 600 con secuencias de pulsos clásicas, operando a 360 MHz, 400 MHz y 600 MHz, respectivamente, usando CLOROFORMO- d (cloroformo deuterado, $CDCl_3$) o $DMSO-d_6$ (DMSO deuterado, dimetil-sulfóxido d_6) como disolventes. Los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm) relativo a tetrametilsilano (TMS), que se usó como patrón interno.

Tabla 4:

Co. Nr.	Resultado de RMN
1	RMN de ^1H (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,52 (s, 3 H), 3,93 - 4,01 (m, 1 H), 4,02 (s, 3 H), 4,10 (d, $J=15,9$ Hz, 1 H), 4,15 (d, $J=15,9$ Hz, 1 H), 5,64 (td, $J=54,0$, 4,4 Hz, 1 H), 5,80 (a, s, 2 H), 7,11 (dd, $J=12,1$, 8,8 Hz, 1 H), 7,80 (ddd, $J=8,8$, 4,1, 2,7 Hz, 1 H), 8,04 (dd, $J=7,3$, 2,8 Hz, 1 H), 8,42 (d, $J=1,3$ Hz, 1 H), 8,88 (d, $J=1,3$ Hz, 1 H), 10,44 (s, 1 H).
2	RMN de ^1H (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,52 (s, 3 H), 3,94 - 4,05 (m, 1 H), 4,10 (d, $J=16,0$ Hz, 1 H), 4,15 (d, $J=16,0$ Hz, 1 H), 5,65 (td, $J=54,3$, 4,3 Hz, 1 H), 5,81 (a, s, 2 H), 7,11 (dd, $J=12,1$, 8,8 Hz, 1 H), 7,82 (dt, $J=8,5$, 3,6 Hz, 1 H), 7,97 (dd, $J=8,8$, 2,9 Hz, 1 H), 8,03 (td, $J=6,9$, 2,7 Hz, 1 H), 8,22 (dd, $J=8,8$, 4,8 Hz, 1 H), 8,74 (d, $J=2,9$ Hz, 1 H), 10,55 (a, s, 1 H).
3	RMN de ^1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 0,77 (t, $J=7,4$ Hz, 3 H), 1,97 - 2,07 (m, 1 H), 2,13 - 2,26 (m, 1 H), 4,07 (s, 3 H), 4,32 (a, s., 2 H), 4,18 (dd, $J=15,7$, 1,2 Hz, 1 H), 4,33 (dd, $J=15,6$, 1,5 Hz, 1 H), 4,36 (ddt, $J=21,0$, 8,4, 2,2, 2,2 Hz, 1 H), 5,46 (td, $J=54,0$, 2,6 Hz, 1 H), 7,07 (dd, $J=11,6$, 8,8 Hz, 1 H), 7,83 (dd, $J=6,7$, 2,8 Hz, 1 H), 8,07 (ddd, $J=8,8$, 4,2, 2,9 Hz, 1 H), 8,16 (d, $J=1,4$ Hz, 1 H), 9,02 (d, $J=1,2$ Hz, 1 H), 9,56 (a. s, 1 H).
4	RMN de ^1H (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,56 (s, 3 H), 4,05 - 4,13 (m, 1 H), 4,11 - 4,17 (m, 2 H), 5,80 (td, $J=53,8$, 4,0 Hz, 1 H), 5,90 (a. s., 2 H), 7,31 (dd, $J=12,1$, 8,4 Hz, 1 H), 7,76 (ddd, $J=8,3$, 4,5, 2,6 Hz, 1 H), 8,10 (dd, $J=7,5$, 2,4 Hz, 1 H), 9,08 (s, 2 H), 9,20 (s, 1 H).
5	RMN de ^1H (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,57 (s, 3 H), 3,85 (ddd, $J=15,2$, 7,5, 4,8 Hz, 2 H), 4,11 (d, $J=15,7$ Hz, 1 H), 4,26 (d, $J=15,7$ Hz, 1 H), 5,24 - 5,64 (m, 1 H), 5,78 (a., s., 2 H), 7,43 - 7,53 (m, 2 H), 7,64 - 7,74 (m, 1 H), 9,10 (s, 2 H), 9,20 (s, 1 H).
6	RMN de ^1H (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,53 (s, 3 H) 4,00 (ddd, $J=14,2$, 10,0, 4,0 Hz, 1 H) 4,07 - 4,22 (m, 2 H) 5,47 - 5,81 (m, 1 H) 5,82 (s, 2 H) 7,12 (dd, $J=12,1$, 8,8 Hz, 1 H) 7,78 - 7,88 (m, 1 H) 8,04 (dd, $J=7,1$, 2,7 Hz, 1 H) 8,11 - 8,18 (m, 1 H) 8,20 (dd, $J=8,4$, 2,6 Hz, 1 H) 8,79 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 10,61 (s, 1 H).
7	RMN de ^1H (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,53 (s, 3 H) 3,90 - 4,06 (m, 1 H) 4,06 - 4,21 (m, 2 H) 5,47 - 5,81 (m, 1 H) 5,81 (a, s., 2 H) 7,13 (dd, $J=12,1$, 8,8 Hz, 1 H) 7,76 - 7,90 (m, 1 H) 8,07 (dd, $J=7,3$, 2,9 Hz, 1 H) 8,28 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 8,58 (dd, $J=8,2$, 2,0 Hz, 1 H) 9,20 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 10,78 (s, 1 H)

D. Ejemplos farmacológicos.

- 5 Los compuestos proporcionados en la presente invención son inhibidores de la enzima 1 de escisión APP del sitio beta (BACE1). Se cree que la inhibición de BACE1, una proteasa aspártica, es relevante para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer (EA). Se cree que la producción y la acumulación de péptidos beta-amiloide (Abeta) de la proteína precursora beta-amiloide (APP) desempeña una función clave en el comienzo y el progreso de EA. Abeta se produce a partir de la proteína precursora amiloide (APP) por escisión secuencial en el N- y C-terminal del dominio Abeta por beta-secretasa y gamma-secretasa, respectivamente.
- 10 Se espera que los compuestos de la Fórmula (I) presenten su efecto sustancialmente en BACE1 en virtud de su capacidad para inhibir la actividad enzimática. El comportamiento de dichos inhibidores ensayados usando un ensayo basado en Transferencia de Energía de Resonancia por Fluorescencia bioquímica (FRET, por sus siglas en inglés) y un ensayo α Lisa celular en células SKNBE2 descrito a continuación y que son adecuados para la identificación de tales compuestos y más en particular los compuestos según la Fórmula (I), se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6.
- 15

Ensayo basado en FRET bioquímica

- 20 Este ensayo es un ensayo basado en Ensayo de Transferencia de Energía de Resonancia por Fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo es un péptido de 13 aminoácidos procedente de APP que contiene la mutación Lys-Met/Asn-Leu "Sueca" del sitio de escisión de beta-secretasa de la proteína precursora amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: ácido (7-metoxicumarin-4-il)acético (Mca) es un donador fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y emisión a 405 nm y 2,4-Dinitrofenilo (Dnp) es un aceptor de inhibidores

de la fluorescencia propio. La distancia entre esos dos grupos se ha seleccionado de manera que en la excitación de la luz, la energía de fluorescencia del donador es significativamente inhibida por el aceptor, por transferencia de energía de resonancia. En la escisión por BACE1, en fluoróforo Mca se separa del grupo inhibidor de la fluorescencia Dnp, restaurando el rendimiento de fluorescencia completo del donador. El aumento en fluorescencia está relacionado de manera lineal con la velocidad de la proteólisis.

En resumen, en un formato de 384 pozos la proteína BACE1 recombinante en una concentración final de 1 µg/ml se incubaba durante 120 minutos a temperatura ambiente con 10 µM de sustrato en tampón de incubación (tampón de Citrato 40 mM pH 5,0, PEG al 0,04%, DMSO al 4%) en ausencia o en presencia de compuesto. A continuación se mide directamente la cantidad de proteólisis por medición de la fluorescencia a T=0 y T=120 (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativas, por sus siglas en inglés), como diferencia entre T120 y T0.

Se fija una curva de ajuste óptimo por un método de suma de cuadrados mínima para la representación gráfica de %Control min frente a concentración de compuesto. A partir de esto se puede obtener un valor de IC₅₀ (concentración inhibitoria que causa 50% de inhibición de actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajos = Control bajo: Reacción sin enzima

HC = Mediana de los Valores de control altos = Control Alto: Reacción con enzima

% Efecto = $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

% Control = $(muestra / HC) * 100$

% Control min = $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Los siguientes compuestos ejemplificados se ensayaron esencialmente como se describió anteriormente y presentaron la siguiente actividad:

Tabla 5:

Co. Nr.	Ensayo basado en FRET bioquímica	
	pIC ₅₀	
1	7,45	
2	7,45	
3	7,2	
4	6,37	
5	6,34	
6	7,39	
7	7,27	

Ensayo αLisa celular en células SKNBE2

En dos ensayos αLisa se cuantifican los niveles de Abeta total y Abeta 1-42 producidos y secretados en el medio de células SKNBE2 de neuroblastoma humano. El ensayo se basa en SKNBE2 de neuroblastoma humano que expresa la Proteína Precursora Amiloide (hAPP695) natural. Se diluyen los compuestos y se añaden a estas células, incubadas durante 18 horas y después se toman mediciones de Abeta 1-42 y Abeta total. Se miden Abeta total y Abeta 1-42 por αLisa sándwich. αLisa es un ensayo sándwich usando anticuerpo biotinilado AbN/25 unido a perlas recubiertas con estreptavidina y anticuerpo Ab4G8 o perlas aceptoras conjugadas de cAb42/26 para la detección de Abeta total y Abeta 1-42, respectivamente. En presencia de Abeta total o Abeta 1-42, las perlas se encuentran muy próximas. La excitación de las perlas de donador provoca la liberación de moléculas de oxígeno singlete que

provoca una cascada de transferencia de energía en las perlas aceptoras, dando como resultado emisión de luz. Después de 1 hora de incubación se mide la emisión de luz (excitación a 650 nm y emisión a 615 nm).

Se fija una curva de ajuste óptimo por un método de suma de cuadrados mínima para la representación gráfica de %Control min frente a concentración de compuesto. A partir de esto se puede obtener un valor de IC₅₀ (concentración inhibitoria que causa 50% de inhibición de actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajos = Control bajo: células preincubadas sin compuesto, sin Ab biotinilado en el αLisa

HC = Mediana de los Valores de control altos = Control Alto: células preincubadas sin compuesto

% Efecto = $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

% Control = $(muestra / HC) * 100$

% Control min = $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Los siguientes compuestos ejemplificados se ensayaron esencialmente como se describió anteriormente y presentaron la siguiente actividad:

Tabla 6:

Co. Nr.	Ensayo αLisa celular en células SKNBE2	Ensayo αLisa celular en células SKNBE2
	Abeta 42	Abeta total
	pIC ₅₀	pIC ₅₀
1	8,38	8,37
2	8,07	8,07
3	8,38	8,43
4	6,89	6,89
5	6,93	6,93
6	8,48	8,47
7	8,46	8,51

Demostración de eficacia in vivo.

Se pueden usar agentes que disminuyen péptido Aβ de la invención para tratar EA en mamíferos tales como seres humanos o demostrando alternativamente la eficacia en modelos de animales tales como, pero no limitados a, el ratón, rata o conejillo de indias. El mamífero puede no estar diagnosticado con EA o puede no presentar una predisposición genética para EA, pero puede ser transgénico de manera que reproduzca y eventualmente deposite Aβ de una manera similar a la observada en seres humanos aquejados de EA.

Se pueden administrar agentes que disminuyen péptido Aβ en cualquier forma clásica usando cualquier método clásico. Por ejemplo, pero no limitado a, agentes que disminuyen péptido Aβ pueden estar en la forma de líquido, comprimidos o cápsulas que se toman por vía oral o por inyección. Los agentes que disminuyen péptido Aβ se pueden administrar a cualquier dosis que sea suficiente para reducir significativamente los niveles de péptidos Aβ en la sangre, plasma sanguíneo, suero, fluido cerebroespinal (CSF, por sus siglas en inglés) o cerebro.

Para determinar si la administración aguda de un agente que disminuye péptido Aβ42 reduciría los niveles de péptido Aβ in vivo, se usaron roedores no transgénicos, por ejemplo, ratones o ratas. Los animales tratados con el agente reductor de péptido Aβ se examinaron y se compararon con los no tratados o tratados con vehículo y se cuantificaron los niveles en el cerebro de Aβ42 soluble y Aβ total por técnicas clásicas, por ejemplo, usando ELISA.

Los periodos de tratamiento variaron de horas (h) a días y se ajustaron basándose en los resultados de la disminución de A β 42 una vez que se pudo establecer un curso temporal de comienzo del efecto.

Se muestra un protocolo típico para medir la disminución de A β 42 in vivo pero es sólo una de las muchas variaciones que se podían usar para optimizar los niveles de A β detectable. Por ejemplo, se formularon compuestos que disminuyen péptido A β en 20% de hidroxipropil β ciclodextrina. Se administraron los agentes que disminuyen péptido A β como una dosis oral única (p. o.) o una dosis subcutánea única (s. c.) a animales en ayunas durante la noche. Después de un cierto tiempo, normalmente 2 ó 4 h (como se indica en la Tabla 7), se sacrificaron los animales y se analizaron los niveles de A β 42.

Se recogió sangre por decapitación y desangrados en tubos de recogida tratados con AEDT. Se centrifugó la sangre a 1.900 g durante 10 minutos (min) a 4 °C y se recuperó el plasma y se congeló súbitamente para análisis más tarde. Se retiró el cerebro del cráneo y el cerebro posterior. Se retiró el cerebelo y se separó el hemisferio izquierdo y derecho. Se almacenó el hemisferio izquierdo a -18 °C para análisis cuantitativo de los niveles de compuesto de ensayo. Se enjuagó el hemisferio derecho con tampón de disolución salina tamponada con fosfato (PBS) y se congeló inmediatamente en nieve carbónica y se almacenó a -80°C hasta homogeneización para ensayos bioquímicos.

Se volvieron a suspender los cerebros de ratón de animales no transgénicos en 8 volúmenes de inhibidores de proteasa que contienen DEA al 0,4% (dietilamina) / NaCl 50 mM (Roche-11873580001 ó 04693159001) por gramo de tejido, por ejemplo para 0,158 g de cerebro, se añaden 1,264 ml de DEA al 0,4%. Se homogeneizaron todas las muestras en el sistema FastPrep-24 (MP Biomedicals) usando matriz D de lisis (MPBio #6913-100) a 6 m/s durante 20 segundos. Se centrifugaron los homogenados a 221,300 x g durante 50 min. Después se transfirieron los sobrenadantes de alta velocidad resultantes a tubos eppendorf frescos. Se neutralizaron nueve partes de sobrenadante con una parte de Tris-HCl 0,5 M pH 6,8 y se usaron para cuantificar A β total y A β 42.

Para cuantificar la cantidad de A β total y A β 42 en la fracción soluble de los homogenados de cerebro, se usó Inmunoanálisis Ligado a Enzimas. En resumen, se prepararon los patrones (una dilución de A β 1-40 y A β 1-42, sintéticos, Bachem) en tubo Eppendorf de 1,5 ml en Ultracultivo, con concentraciones finales oscilando de 10.000 a 0,3 pg/ml. Se incubaron conjuntamente las muestras y los patrones con anticuerpo N-terminal etiquetado con HRPO para detección de A β 42 y con el anticuerpo de semidominio biotinilado 4G8 para detección de A β total. Después se añadieron 50 μ l de mezclas conjugado/muestra o conjugado/patrones a la placa recubierta con anticuerpo (los anticuerpos de captura reconocen selectivamente el extremo C-terminal de A β 42, anticuerpo JRF/cA β 42/26, para detección de A β 42 y el N-terminal de A β , anticuerpo JRF/rA β /2, para detección de A β total). Se dejó incubar la placa durante la noche a 4°C para permitir la formación del complejo anticuerpo-amiloide. Después de esta incubación y posteriores etapas de lavado se acabó el ELISA para cuantificación de A β 42 por adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu según las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL). Se realizó una lectura después de 10 a 15 min (excitación 320 nm /emisión 420 nm).

Para detección de A β total, se añadió un Conjugado de Estreptavidina-Peroxidasa, seguido 60 min más tarde por una etapa de lavado adicional y adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu según las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL). Se realizó una lectura después de 10 a 15 min (excitación 320 nm /emisión 420 nm).

En este modelo sería ventajosa una disminución de al menos 20% de A β 42 comparado con animales no tratados.

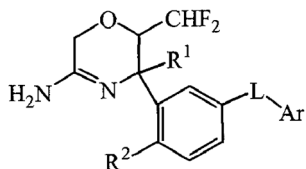
Los compuestos ejemplificados siguientes se ensayaron esencialmente como se describió anteriormente y presentaron la siguiente actividad:

Tabla 7:

Co. N°	A β 42 (%Ctrl)_Media	A β total (%Ctrl)_Media	Dosis	Vía de administración	Tiempo después de administración
1	62	59	10 mpk	p. o.	2 h
2	91	96	10 mpk	p. o.	2 h
7	53	55	30 mpk	p. o.	4 h
n. e. significa no ensayado; s. c. significa subcutánea; p. o. significa oral					

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



o un tautómero o una forma estereoisómera del mismo, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₃;

R² es hidrógeno o flúor;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar se selecciona del grupo que consiste en: piridinilo, pirimidinilo y pirazinilo, cada uno sustituido opcionalmente con halo o alcoxi C₁₋₃;

o una sal de adición farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹ es metilo o etilo.

3. El compuesto según la reivindicación 2, en el que Ar se selecciona de: 5-metoxi-piridinilo, 5-pirimidinilo y 5-fluoropirazinilo.

4. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R² es hidrógeno o flúor.

5. El compuesto según la reivindicación 1, en el que el átomo de carbono cuaternario sustituido con R¹ presenta la configuración R.

6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un portador farmacéuticamente aceptable.

7. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 6, **caracterizado por que** un portador farmacéuticamente aceptable se mezcla íntimamente con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

8. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para uso en el tratamiento o la prevención de: enfermedad de Alzheimer (EA), deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia de cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada a enfermedad de Parkinson o demencia asociada a beta-amiloide.

9. Un compuesto definido como *N*-{3-[(2R*,3R)-5-Amino-2-(difluorometil)-3-metil-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazin-3-il]-4-fluorofenil}-5-cianopiridin-2-carboxamida o una sal de adición farmacéuticamente aceptable del mismo.

