

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 164**

51 Int. Cl.:

C07D 498/04 (2006.01)
C07D 513/04 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/5383 (2006.01)
A61K 31/542 (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.08.2012 PCT/US2012/051195**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.02.2013 WO13028474**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.08.2012 E 12826237 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 2744499**

54 Título: **Inhibidores del canal de potasio de la médula renal externa**

30 Prioridad:

19.08.2011 US 201161525261 P
06.07.2012 US 201261668680 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.03.2017

73 Titular/es:

MERCK SHARP & DOHME CORP. (100.0%)
126 East Lincoln Avenue
Rahway, NJ 07065-0907, US

72 Inventor/es:

PASTERNAK, ALEXANDER;
BLIZZARD, TIMOTHY;
CHOBANIAN, HARRY;
DE JESUS, REYNALDA;
DING, FA-XIANG;
DONG, SHUZH;
GUDE, CANDIDO;
KIM, DOOSEOP;
TANG, HAIFENG;
WALSH, SHAWN;
PIO, BARBARA y
JIANG, JINLONG

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 605 164 T3

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

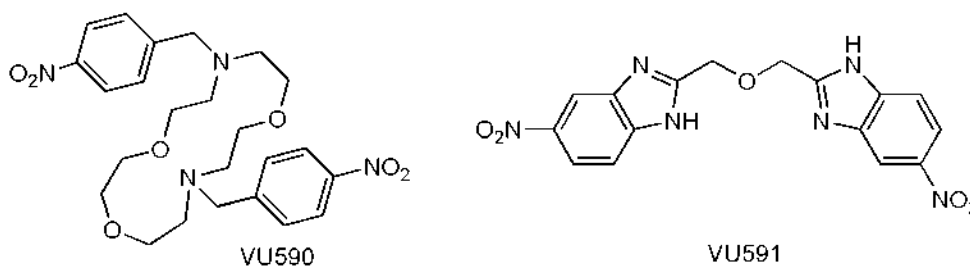
DESCRIPCIÓN

Inhibidores del canal de potasio de la médula renal externa

5 Antecedentes de la invención

El canal de potasio de la médula renal externa (ROMK, *Renal Outer Medullary K Channel*) (Kir1.1) (véanse, por ejemplo, Ho, K., et al., Cloning and expression of an inwardly rectifying ATP-regulated potassium channel, *Nature*, 1993, 362(6415): pág. 31-8.1,2; y Shuck, M.E., et al., Cloning and characterization of multiple forms of the human kidney ROM-Kpotassium channel, *J Biol Chem*, 1994, 269(39): pág. 24261-70) es un miembro de la familia rectificadora interior de canales de potasio expresados en dos regiones del riñón: el asa de Henle ascendente grueso (TALH, *thick ascending loop of Henle*) y el conducto colector cortical (CCD, *cortical collecting duct*) (véase Hebert, S.C., et al., Molecular diversity and regulation of renal potassium channels, *Physiol Rev*, 2005, 85(1): pág. 319-713). En el TALH, ROMK participa en el reciclado de potasio a través de la membrana luminal que es crítica para la función del co-transportador de $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$, la etapa determinante de la velocidad para la re-captación de sales en esta parte de la nefrona. En el CCD, ROMK proporciona una ruta para la secreción de potasio que está fuertemente acoplada a la captación de sodio a través del canal de sodio sensible a amilorida (véanse, Reinalter, S.C., et al., Pharmacotyping of hypokalaemic salt-losing tubular disorders, *Acta Physiol Scand*, 2004, 181(4): pág. 513-21; y Wang, W., Renal potassium channels: recent developments, *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2004, 13(5): pág. 549-55). Los inhibidores selectivos del canal ROMK (también mencionados en este documento como inhibidores de ROMK o inhibidores ROMK) se espera que representen novedosos diuréticos para el tratamiento de hipertensión y otras afecciones donde el tratamiento con un diurético sería beneficioso con desventajas potencialmente reducidas (es decir, hipo o hipercalemia, nueva aparición de diabetes, dislipidemia) sobre los agentes clínicos actualmente usados (véanse, Lifton, R.P., A.G. Gharavi, y D.S. Geller, Molecular mechanisms of human hypertension, *Cell*, 2001,104(4): pág. 545-56). La genética humana (Ji, W., et al., Rare independent mutations in renal salt handling genes contribute to blood pressure variation, *Nat Genet*, 2008, 40(5): pág. 592-9; y Tobin, M.D., et al., Common variants in genes underlying monogenic hypertension and hypotension and blood pressure in the general population, *Hypertension*, 2008, 51(6): pág. 1658-64) y la ablación genética de ROMK en roedores (véanse Lorenz, J.N., et al., Impaired renal NaCl absorption in mice lacking the ROMK potassium channel, a model for type II Bartter's syndrome, *J Biol Chem*, 2002, 277(40): pág. 37871-80 y Lu, M., et al., Absence of small conductance K^+ channel (SK) activity in apical membranes of thick ascending limb and cortical collecting duct in ROMK (Bartter's) knockout mice, *J Biol Chem*, 2002, 277(40): pág. 37881-7) apoyan estas expectativas. Los inhibidores del canal ROMK se describen en el documento US2010/0286123 de nuestro conocimiento, los primeros inhibidores selectivos de molécula pequeña de ROMK, incluyendo VU590, se presentaron a partir de un trabajo hecho en la Vanderbilt University como se describe en Lewis, L.M., et al., High-Throughput Screening Reveals a Small-Molecule Inhibitor of the Renal Outer Medullary Potassium Channel and Kir7.1, *Mol Pharmacol*, 2009, 76(5): pág. 1094-1103. El compuesto VU590 se presentó posteriormente en Bhawe, G. et al., Development of a Selective Small-Molecule Inhibitor of Kir1.1, the Renal Outer Medullary Potassium Channel, *Mol Pharmacol*, 2011,79(1), pág. 42-50, cuyo texto indica que "ROMK (Kir1.1), es una diana de fármaco putativa para una novedosa clase de diuréticos de asa que reducirían la presión sanguínea sin causar hipocalemia".

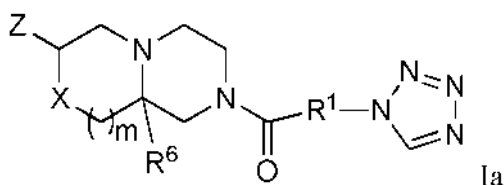
40



Sin embargo, aún es necesario el descubrimiento continuo de inhibidores de molécula pequeña selectivos de ROMK para el desarrollo de nuevos tratamientos para la hipertensión y trastornos relacionados. Los compuestos de Fórmula 1a de esta invención son inhibidores selectivos del canal ROMK y podrían usarse en el tratamiento de hipertensión, insuficiencia cardíaca y otras afecciones donde el tratamiento con un diurético o natriurético sería beneficioso.

Sumario de la invención

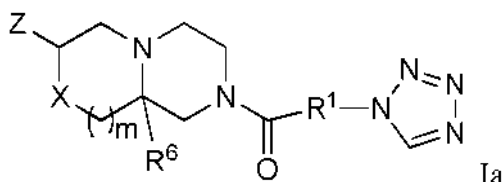
50 La presente invención proporciona compuestos de Fórmula 1a



y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos de Fórmula la son inhibidores del canal ROMK (Kir1.1). Como resultado, los compuestos de Fórmula la podrían usarse en el tratamiento, inhibición o mejora de una o más patologías que podrían beneficiarse de la inhibición de ROMK. Los compuestos de esta invención podrían usarse como agente diurético y/o natriurético. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula la podrían ser compuestos farmacéuticamente activos valiosos para la terapia, profilaxis o ambos de afecciones médicas incluyendo, aunque sin limitación, enfermedades cardiovasculares tales como hipertensión, insuficiencia cardíaca y afecciones asociadas con retención excesiva de sales y agua. Los compuestos de esta invención adicionalmente podrían usarse en combinación con otros agentes terapéuticamente incluyendo, aunque sin limitación, otros fármacos que son útiles para el tratamiento de hipertensión, insuficiencia cardíaca y afecciones asociadas con retención excesiva de sales y agua. La invención se refiere además a procesos para preparar compuestos de Fórmula la y composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de Fórmula la. Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes a partir de la descripción contenida en este documento.

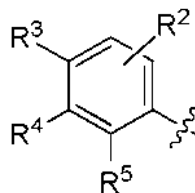
15 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos que tienen la Fórmula estructural Ia:

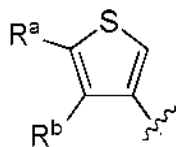


o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

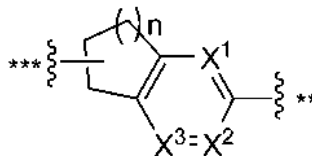
Z es



o



R¹ es



en la que *** indica la unión al carbono del carbonilo y ** indica la unión al anillo tetrazolilo en la Fórmula Ia;
X es O, NH o S;

m es un número entero seleccionado entre 1 o 2;

n es un número entero seleccionado entre 1 o 2;

cada uno de X¹, X² y X³ se selecciona independientemente entre C(R⁷) o N, con la condición de que al menos uno de X¹, X² y X³ debe ser N y como mucho dos de X¹, X² y X³ son N;

R^a es -CN;

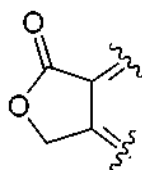
R^b es -H o -alquilo C₁₋₆;

R² es -H, -F, -Cl, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₆;

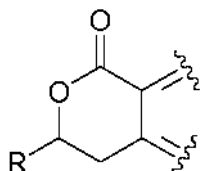
R³ es -H, -F, -Cl, -CN, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₆;

R⁴ es -F, -Cl, -CN, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆, -Oalquilo C₁₋₄ o N-tetrazolilo;

o R³ y R⁴ se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



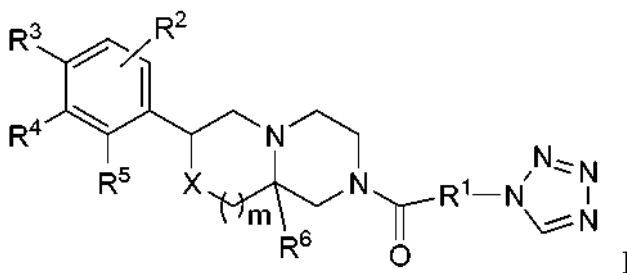
o



en la que R es -H o -alquilo C₁₋₄;

- 5 **R⁵** es -H, -Cl, -F, -CN, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₄; con la condición de que cuando **R³** y **R⁴** no están unidos entre sí, entonces uno, y solo uno de **R³**, **R⁴** o **R⁵** es -CN;
R⁶ es -H o -alquilo C₁₋₄; y
R⁷ es -H, -F, -Cl o -alquilo C₁₋₄.

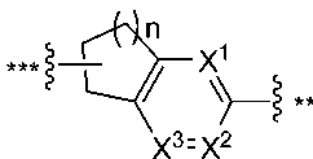
- 10 En una realización de esta invención están compuestos de Fórmula la que tienen la Fórmula estructural I:



- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que cada una de las variables X, m, n, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, y todas las otras variables en la misma son como se definen en la Fórmula la.

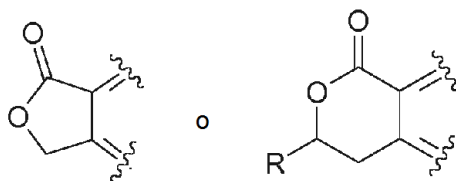
En la Realización A están compuestos de Fórmula la o I o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en las que:

- 20 X es O, NH o S;
 R¹ es



- 25 en la que *** indica la unión al carbono del carbonilo y ** indica la unión al anillo tetrazolilo en la Fórmula la o I;
m es un número entero seleccionado entre 1 o 2;
n es un número entero seleccionado entre 1 o 2;
 cada uno de **X¹**, **X²** y **X³** se selecciona independientemente entre CH o N, con la condición de que al menos uno de **X¹**, **X²** y **X³** debe ser N y como mucho dos de **X¹**, **X²** y **X³** son N;
 30 cuando Z es tienilo en la Fórmula la, entonces **R^a** es -CN, y **R^b** es -H o -alquilo C₁₋₃, y más particularmente **R^b** -CH₃;
R² es -H o -F;
R³ es -H, -F, -CN u -OCH₃;
R⁴ es -F, -CN u -OCH₃;
 o **R³** y **R⁴** se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:

35



en la que R es -H o -CH₃;

R⁵ es -H, -Cl, -F, -CN, -CH₃, -CH₂CH₃, ciclopropilo u -OCH₃;

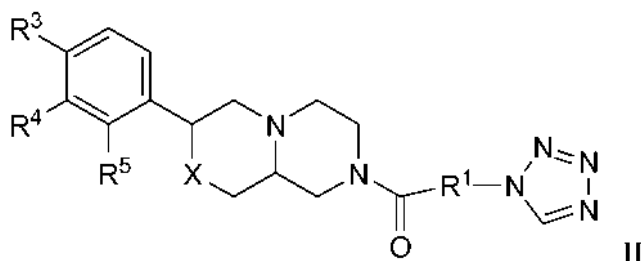
5 con la condición de que cuando R³ y R⁴ no están unidos entre sí, entonces uno, y solo uno de R³, R⁴ o R⁵ es -CN; y adicionalmente con la condición de que cuando R³ y R⁴ están unidos entre sí, entonces R⁵ es -H, -Cl, -F, -CH₃ o -CH₂CH₃;

R⁶ es -H o -alquilo C₁₋₄; y

R⁷ es -H, -F, -Cl o -alquilo C₁₋₄.

10

La presente invención se dirige adicionalmente a compuestos de las Fórmulas Ia o I que tienen la Fórmula estructural II:



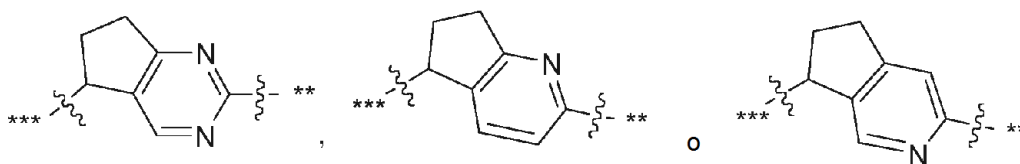
15

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que cada una de las variables X, R¹, R³, R⁴, R⁵ y todas las otras variables en la misma son como se definen en la Fórmula Ia. Los compuestos y sales de los mismos dentro del alcance de la Fórmula II incluyen aquellos en los que:

20

X es O o NH;

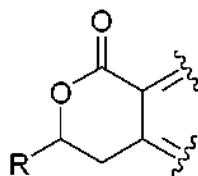
R¹ es:



25

en las que *** indica la unión al carbono del carbonilo y ** indica la unión al anillo tetrazolilo en la Fórmula II; y R³ es -F, R⁴ es -CN y R⁵ es -CH₃; o

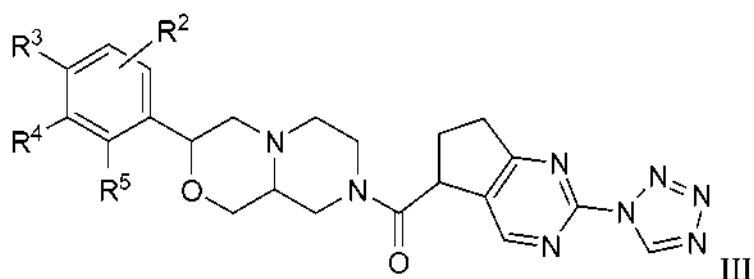
R³ y R⁴ se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



30

en la que R es -H o -CH₃, y R⁵ es -H.

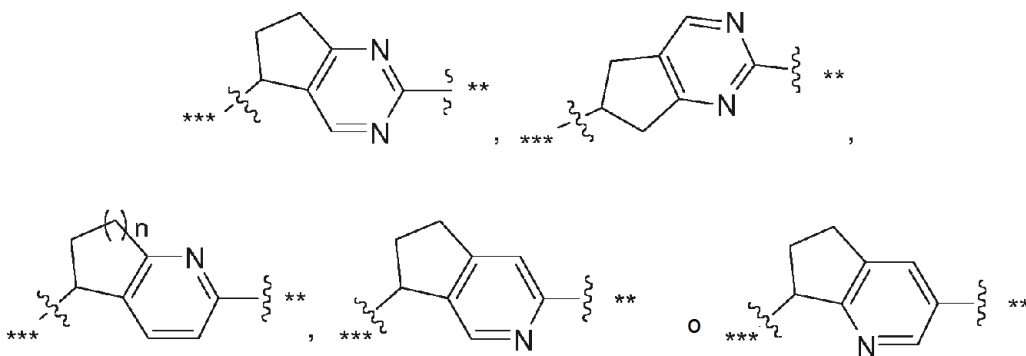
La presente invención se dirige adicionalmente a compuestos de las Fórmulas Ia, I o II que tienen la Fórmula estructural III:



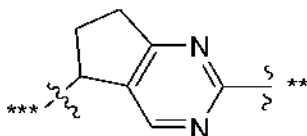
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R², R³, R⁴, y R⁵ y todas las otras variables en la misma son como se definen en la Fórmula Ia.

5 En una realización de esta invención están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II en la que X es O. En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que X es NH. En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que X es S.

10 En una realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R¹ es:

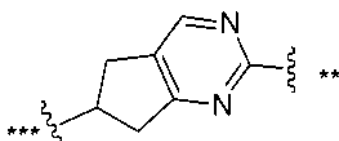


En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R¹ es:



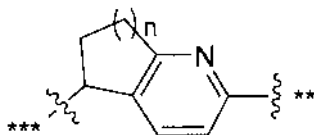
15

En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R¹ es:

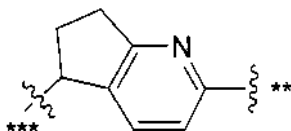


20

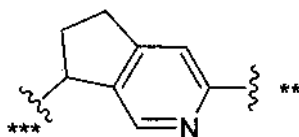
En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R¹ es:



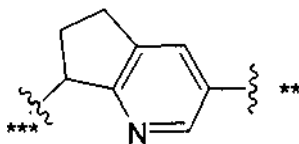
25 en la que n es 1 o 2, y más particularmente es



En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R^1 es:



5 En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R^1 es:

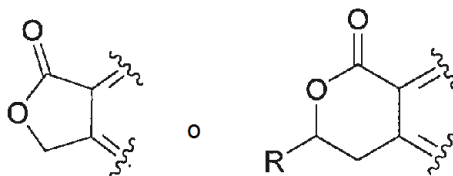


10 En una realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I o Realización A, en la que m es 1. En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I o Realización A, en la que m es 2.

15 En una realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que n es 1. En otra realización están compuestos de Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que n es 2. En una clase de los mismos, están compuestos en los que m y n son ambos 1.

20 En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A, Fórmula II o Fórmula III, en la que R^2 es -H o -F; R^3 es -H, -F, -CN u -OCH₃; R^4 es -F, -CN u -OCH₃; y R^5 es -H, -Cl, -F, -CN, -CH₃, -CH₂CH₃, ciclopropilo u -OCH₃; con la condición de que uno, y solo uno de R^3 , R^4 o R^5 sea -CN. En una clase de los mismos, están compuestos en los que uno de R^3 o R^4 es -CN. En una subclase de los mismos, están compuestos en los que R^4 es -CN. En una subclase adicional de los mismos están compuestos en los que R^2 es -H; R^3 es -F; R^4 es -CN; y R^5 es -CH₃.

En una realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A, Fórmula II o Fórmula III, en la que R^3 y R^4 se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



25 en la que R es -H o -CH₃; R^2 es -H; y R^5 es -H, -Cl, -F, -CN, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₄. En una clase de esta realización están compuestos en los que R^3 y R^4 se unen para formar el anillo de 5 miembros y R^5 es -H, -CH₃ o -CH₂CH₃. En otra clase de esta realización están compuestos, en los que R^3 y R^4 se unen para formar el anillo de 6 miembros y R^5 es -H o -F.

30

En una realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I o Realización A en la que R^6 es -H. En otra realización están compuestos de Fórmula Ia o Fórmula I, en la que R^6 es metilo, etilo, -alquilo C₃ o -alquilo C₄.

35 En una realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R^7 es -H. En otra realización están compuestos de Fórmula Ia, Fórmula I, Realización A o Fórmula II, en la que R^7 es -F, -Cl, metilo o etilo, -alquilo C₃ o -alquilo C₄, y más particularmente es -F, -Cl, metilo o etilo.

40 En una realización están compuestos de Fórmula Ia y Realización A, en las que R^b es -CH₃.

Todas las Fórmulas estructurales, Realización A y otras realizaciones descritas anteriormente incluyen las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos definidos en las mismas.

45 Como se usa en la presente memoria excepto si se indica lo contrario, "alquilo" pretende incluir grupos hidrocarburo alifático saturado tanto de cadena ramificada como lineal que tienen el número especificado de átomos de carbono. A lo largo de la presente memoria descriptiva se usan abreviaturas comúnmente usadas para grupos alquilo. Por ejemplo, la expresión "alquilo C₁₋₆" (o "alquilo C_{1-C6}"), significa grupos alquilo de cadena lineal o ramificada, incluyendo todos los isómeros, que tienen el número especificado de átomos de carbono e incluye todos los isómeros de hexilo y pentilo, así como *n*-, *iso*-, *sec*- y *terc*-butilo (butilo, *s*-butilo, *i*-butilo, *t*-butilo; Bu = butilo), *n*- e *i*-propilo (Pr = propilo), etilo (Et) y metilo (Me).

50

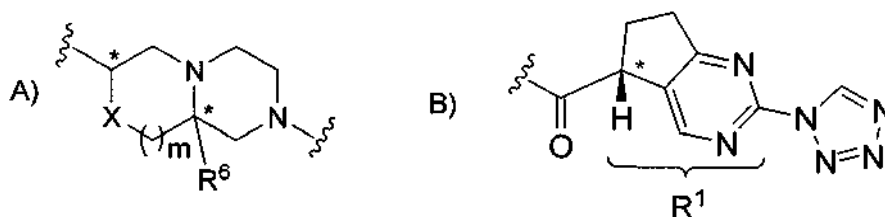
"Cicloalquilo" es un anillo alquilo ciclado que tiene el número indicado de átomos de carbono. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

5 A menos que expresamente se represente o se indique lo contrario, las variables representadas en una fórmula estructural con un enlace "flotante", tal como R^2 , se permiten en cualquier átomo de carbono disponible en el anillo al que están unidas las variables.

10 La presente invención abarca todas las formas isoméricas de los compuestos de Fórmula Ia. Los centros de asimetría que están presentes en los compuestos de Fórmula Ia pueden tener todos, independientemente los unos de los otros, configuración (R) o (S). Cuando se representan enlaces al carbono quiral como líneas rectas en las Fórmulas estructurales de la invención, o cuando el nombre de un compuesto se representa se enumera sin una designación quiral para un carbono quiral, se entiende que las configuraciones (R) y (S) del carbono quiral, y por tanto ambos enantiómeros y mezclas de los mismos, están abarcados dentro de la Fórmula o por el nombre. La producción de estereoisómeros específicos o mezclas de los mismos puede identificarse en los Ejemplos donde se obtuvieron tales estereoisómeros o mezclas, pero esto no limita de ningún modo la inclusión de todos los estereoisómeros y mezclas de los mismos de estar dentro del alcance de esta invención.

20 La invención incluye todos los enantiómeros y diastereómeros posibles y mezclas de dos o más estereoisómeros, por ejemplo mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros, en todas las proporciones. Por lo tanto, los enantiómeros son un objeto de la invención en forma enantioméricamente pura, antípodos tanto levógiros como dextrógiros, en forma de racematos y en forma de mezclas de los dos enantiómeros en todas las proporciones. En el caso de un isomerismo cis/trans, la invención incluye tanto la forma cis como la trans, así como mezclas de estas formas en todas las proporciones. La preparación de estereoisómeros individuales puede realizarse, si se desea, por separación de una mezcla por métodos habituales, por ejemplo por cromatografía o cristalización, por el uso de materiales de partida estereoquímicamente uniformes para la síntesis o por síntesis estereoselectiva. Opcionalmente, puede realizarse una derivatización antes de una separación de estereoisómeros. La separación de una mezcla de estereoisómeros puede realizarse en una etapa intermedia durante la síntesis de un compuesto de Fórmula Ia o puede hacerse en un producto racémico final. Puede determinarse la estereoquímica absoluta mediante cristalografía de rayos X de productos cristalinos o intermedios cristalinos que se derivatizan, si es necesario, con un reactivo que contiene un centro estereogénico de configuración conocida. Cuando los compuestos de esta invención son capaces de tautomerización, todos los tautómeros individuales, así como mezclas de los mismos están incluidos en el alcance de esta invención. La presente invención incluye todos estos isómeros, así como sales, solvatos (que incluye hidratos) y solvatos de sales de tales racematos, enantiómeros, diastereómeros y tautómeros y mezclas de los mismos.

35 Los compuestos de la presente invención tienen al menos dos centros quirales (es decir, asimétricos) del anillo bicíclico condensado central de Fórmula Ia, según se indica mediante el asterisco en cada centro quiral en el ejemplo A. También, el carbono en el anillo no aromático de R^1 (como se define en la Fórmula Ia), que es alfa con respecto al carbono del carbonilo en la Fórmula Ia, es un centro quiral y se denomina en el presente documento por brevedad como un centro quiral de "aza-indano" o una variación de significado similar del mismo. Un ejemplo ilustrativo de un centro quiral de aza-indano center se indica mediante el asterisco en el ejemplo B:



45 El término aza-indano como se usa en el presente documento puede ser cualquier estructura abarcada por la definición de R^1 en la Fórmula Ia, incluyendo donde el anillo no aromático es de 5 o 6 miembros y donde el anillo aromático condensado contiene uno o dos nitrógenos. En algunos ejemplos, tales como los Ejemplos 2A y 2B, se hizo una asignación estereoquímica que identifica cada uno de los isómeros separados como S o R en el centro quiral de aza-indano. En algunos ejemplos, no se hizo ninguna asignación, pero los isómeros creados por el centro quiral aza-indano se separaron de todos modos y se denominan como el diastereómero o diastereómeros de aza-indano o un lenguaje similar que transmite este centro quiral particular en el compuesto.

50 Puede haber presentes centros quirales adicionales dependiendo de la naturaleza de los diversos sustituyentes en una molécula. En algunas de las estructuras químicas mostradas en los ejemplos, se usa un asterisco para identificar uno o más centros quirales.

55 La referencia a los compuestos de Fórmula Ia en el presente documento abarca los compuestos de Formulas I, II y III, y todas las realizaciones de los mismos. La referencia a los compuestos de esta invención como aquellos de una realización o fórmula específica, por ejemplo, Fórmula Ia, I, II o III o realizaciones de las mismas, o cualquier otra fórmula estructural genérica o compuesto específico descrito o reivindicado en el presente documento, pretende incluir

el compuesto específico o compuestos que entran dentro del alcance de la fórmula o realización, incluyendo sales de los mismos, particularmente sales farmacéuticamente aceptables, solvatos de tales compuestos y formas de sal solvatadas de los mismos, donde tales formas sean posibles, a menos que se especifique lo contrario.

- 5 En los compuestos de Fórmula la, los átomos pueden mostrar sus abundancias isotópicas naturales, o uno o más de los átomos puede enriquecerse artificialmente en un isótopo particular que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra predominantemente en la naturaleza. La presente invención pretende incluir todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de Fórmula la. Por ejemplo, las diferentes formas isotópicas de hidrógeno (H) incluyen protio (^1H) y deuterio (^2H). El
10 protio es el isótopo de hidrógeno predominante que se encuentra en la naturaleza El enriquecimiento para deuterio puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas, tales como aumento de la semivida *in vivo* o reducción de los requerimientos de dosificación, o puede proporcionar un compuesto útil como un patrón para caracterización de muestras biológicas. Pueden prepararse compuestos enriquecidos isotópicamente dentro de la Fórmula la sin demasiada experimentación por técnicas convencionales bien conocidas para los expertos en la materia o por
15 procesos análogos a los descritos en los Esquemas y Ejemplos en el presente documento intermedios y/o reactivos enriquecidos isotópicamente adecuado.

20 Cuando los compuestos de Fórmula la contienen uno o más grupos ácidos o básicos, la invención también incluye las sales farmacéuticamente aceptables correspondientes. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula la que contienen grupos ácidos pueden usarse de acuerdo con la invención, por ejemplo, como sales de metal alcalino, sales de metal alcalinotérreo o como sales de amonio. Los ejemplos de dichas sales incluyen, pero sin limitación, sales de sodio, sales de potasio, sales de calcio, sales de magnesio o sales de amoníaco o aminas orgánicas, tales como, por ejemplo, etilamina, etanolamina, trietanolamina o aminoácidos. Los compuestos de Fórmula la que contienen uno o más grupos básicos, es decir grupos que pueden protonarse, pueden usarse de acuerdo con la invención en forma de
25 sus sales de adición de ácidos con ácidos inorgánicos u orgánicos como, por ejemplo, pero sin limitación, sales con cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido benzenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácidos naftalenodisulfónicos, ácido oxálico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido pivalico, ácido dietilacético, ácido malónico, ácido succínico, ácido pimélico MRL-ACV-00014 modificado en oct. de
30 2015, ácido fumárico, ácido maleico, ácido málico, ácido sulfamínico, ácido fenilpropiónico, ácido glucónico, ácido ascórbico, ácido isonicotínico, ácido cítrico, ácido adípico, etc. Si los compuestos de Fórmula la contienen simultáneamente grupos ácidos y básicos en la molécula, la invención también incluye, además de las formas de sal mencionadas, sales internas o betainas (zwitteriones). Pueden obtenerse sales a partir de los compuestos de Fórmula la por métodos habituales que son conocidos para el experto en la materia, por ejemplo mediante combinación con un
35 ácido o base orgánica o inorgánica, en un disolvente o dispersante, o por intercambio aniónico o intercambio catiónico a partir de otras sales. La presente invención también incluye todas las sales de los compuestos de Fórmula la que, debido a una baja compatibilidad fisiológica, no son directamente adecuadas para su uso en productos farmacéuticos pero que pueden usarse, por ejemplo, como intermedios para reacciones químicas o para la preparación de sales farmacéuticamente aceptables.

40 Adicionalmente, además, pueden existir compuestos de la presente invención en una forma amorfa y/o en una o más formas cristalinas, y se pretende que todas estas formas amorfas y cristalinas, y mezclas de las mismas de los compuestos de Fórmula la, estén incluidas dentro del alcance de la presente invención. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos con agua (es decir, un hidrato) o disolventes orgánicos
45 comunes. Tales solvatos e hidratos, particularmente los hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables, de los presentes compuestos están del mismo modo abarcados dentro del alcance de esta invención, junto con formas anhidras y sin solvatar.

50 También se describe cualquier modificación de profármaco farmacéuticamente aceptable de un compuesto de esta invención que dé como resultado de una conversión *in vivo* en un compuesto dentro del alcance de esta invención. Por ejemplo, pueden prepararse opcionalmente ésteres por esterificación de un grupo de ácido carboxílico disponible o por formación de un éster en un grupo hidroxilo disponible en un compuesto. De forma análoga, pueden prepararse amidas lábiles. Pueden prepararse amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención para que actúen como profármacos que pueden hidrolizarse de nuevo para dar un ácido (o $-\text{COO}^-$ dependiendo del pH del
55 fluido o tejido donde tenga lugar la conversión) o forma de hidroxilo particularmente *in vivo*, y como tales también se describen.

60 Los ejemplos de modificaciones de profármaco farmacéuticamente aceptable incluyen, pero sin limitación, ésteres de -alquilo C_{1-6} y -alquilo C_{1-6} sustituido con fenil ésteres.

65 Por consiguiente, los compuestos dentro de las fórmulas estructurales genéricas, realizaciones y compuestos específicos descritos y reivindicados en el presente documento abarcan sales, todos los estereoisómeros y tautómeros posibles, formas físicas (por ejemplo, formas amorfa y cristalina), formas de solvato e hidrato de los mismos y cualquier combinación de estas formas, así como las sales de las mismas, formas de profármaco de las mismas y sales de formas de profármaco de las mismas, donde tales formas sean posibles, a menos que se especifique lo contrario, en la medida en que se incluyen en las reivindicaciones.

Los compuestos de Fórmula la de acuerdo con la invención son inhibidores de ROMK y, por lo tanto, podrían usarse como agentes diuréticos y/o natriuréticos. Los inhibidores de ROMK pueden usarse para ayudar a aumentar la micción y a aumentar el volumen de orina y también para prevenir o reducir la reabsorción de sodio en los riñones que conduce a excreción aumentada de sodio y agua. Por lo tanto, los compuestos podrían usarse en el tratamiento o profilaxis o en

5 ambos de trastornos que se benefician de la excreción aumentada de agua y sodio desde el organismo. Por consiguiente, los compuestos de esta invención podrían usarse en la inhibición de ROMK. La inhibición de ROMK por los compuestos de Fórmula la puede examinarse, por ejemplo, en el ensayo de flujo de talio y/o en el ensayo de electrofisiología descritos a continuación. Además, esta invención también se refiere al uso de los compuestos de Fórmula la o sales de los mismos para validar ensayos *in vitro*, por ejemplo, aunque sin limitación, los ensayos de flujo

10 de talio y de electrofisiología descritos en este documento.

Los compuestos de esta invención podrían usarse para causar diuresis, natriuresis o ambas. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula la de esta invención podrían usarse en el tratamiento de, prevención de o reducción del riesgo de desarrollar afecciones médicas que se benefician de la excreción aumentada de agua y sodio, tales como, aunque sin limitación, una o más de hipertensión, insuficiencia cardíaca (tanto aguda como crónica, la última también conocida como insuficiencia cardíaca congestiva) y/u otras afecciones asociadas con retención excesiva de sales y agua. Además, los compuestos de Fórmula la podrían usarse en el tratamiento de, prevención de o reducción del riesgo de desarrollar uno o más trastornos tales como hipertensión arterial pulmonar (PAH), enfermedad cardiovascular, diabetes, disfunción endotelial, disfunción diastólica, angina de pecho estable e inestable, trombosis, reestenosis,

15 infarto de miocardio, ictus, insuficiencia cardíaca, hipertonía pulmonar, aterosclerosis, cirrosis hepática, ascitis, preeclamsia, edema cerebral, nefropatía, síndrome nefrótico, insuficiencia renal aguda y crónica (también mencionada como enfermedad renal crónica o más generalmente como deficiencia renal), hipercalcemia, enfermedad de Dent, enfermedad de Meniere, estados edematosos y otras afecciones para las cuales un diurético o un natriurético o ambos tendría beneficio terapéutico o profiláctico. Los compuestos de la invención pueden administrarse a un paciente que

20 tiene, o está en riesgo de tener, una o más afecciones para las cuales un diurético o natriurético o ambos tendría beneficio terapéutico o profiláctico, tales como los descritos en este documento.

Los compuestos de Fórmula la pueden tener potencialmente desventajas reducidas (por ejemplo, hipo o hipercalemia, nueva aparición de diabetes, dislipidemia, etc.) sobre los agentes clínicos usados actualmente. Además, los compuestos pueden tener riesgo reducido de tolerancia diurética, que puede ser un problema con el uso a largo plazo de diuréticos de asa.

30

En general, los compuestos que son inhibidores de ROMK pueden identificarse como aquellos compuestos que, cuando se ensayan, tienen una Cl_{50} de 5 μM o menos, preferiblemente 1 μM o menos y más preferiblemente 0,25 μM o menos, en al menos uno de los siguientes ensayos: 1) ensayo de flujo de talio, 2) ensayo de electrofisiología. Estos ensayos se describen en mayor detalle a continuación adicionalmente.

35

La cantidad de dosificación del compuesto a administrarse depende del caso individual y tiene que adaptarse, como es habitual, a las circunstancias individuales para conseguir un efecto óptimo. Por tanto, depende de la naturaleza y la gravedad del trastorno a tratar, y también del género, edad, peso y sensibilidad individual del ser humano o animal a tratarse, de la eficacia y duración de acción de los compuestos usados, de si la terapia es aguda o crónica o profiláctica, o de si se administran otros compuestos activos además de los compuestos de Fórmula la. Una consideración de estos factores está dentro del alcance de los expertos en la materia con el fin de determinar la cantidad de dosificación terapéuticamente eficaz o profilácticamente eficaz necesaria para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección. Se espera que el compuesto se administrará de forma crónica sobre una base diaria durante una cantidad de tiempo apropiada para tratar o prevenir la afección médica relevante para el paciente, incluyendo un curso de terapia que dure días, meses, años o toda la vida del paciente.

40

45

En general, una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg, preferiblemente de 0,001 a 30 mg/kg, en particular de 0,001 a 10 mg/kg (en cada caso mg por kg de peso corporal) es apropiada para su administración a un adulto que pese aproximadamente 75 kg para obtener los resultados deseados. La dosis diaria se administra preferiblemente en una dosis única o puede dividirse en varias, por ejemplo, dos, tres o cuatro dosis individuales, y puede ser, por ejemplo, aunque sin limitación, 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg, 1,25 mg, 2 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, etc., en una base diaria. En algunos casos, dependiendo de la potencia del compuesto o de la respuesta individual, puede ser necesario desviarse al alza o a la baja de la dosis diaria dada. Además, el compuesto puede formularse para liberación inmediata o modificada tal como liberación prolongada o controlada.

50

55

El término "paciente" incluye animales, preferiblemente mamíferos y especialmente seres humanos, que usan los presentes principios activos para la profilaxis o tratamiento de una afección médica. La administración del fármaco al paciente incluye tanto autoadministración como administración al paciente por otra persona. El paciente puede estar en necesidad de tratamiento para una enfermedad o afección médica existente, o puede desear tratamiento profiláctico para prevenir o reducir el riesgo de desarrollar dicha enfermedad o afección médica o desarrollar complicaciones a largo plazo de una enfermedad o afección médica.

60

65

La expresión cantidad terapéuticamente eficaz pretende indicar esa cantidad de un fármaco o agente farmacéutico

que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, un sistema, animal o ser humano que se está buscando por un investigador, veterinario, médico u otro clínico. Una cantidad profilácticamente eficaz pretende indicar esa cantidad de un fármaco farmacéutico que prevendrá o reducirá el riesgo de aparición del evento biológico o médico que se busca prevenir en un tejido, sistema, animal o ser humano por un investigador, veterinario, médico u otro clínico. Los términos "prevenir", "prevención", "profiláctico" y derivados de estos términos como se usan en este documento se refieren a la administración de un compuesto a un paciente antes de la aparición de síntomas clínicos de una afección aún no presente en el paciente. Se entiende que una cantidad de dosificación diaria específica puede ser simultáneamente tanto una cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, para el tratamiento de hipertensión, como una cantidad profilácticamente eficaz, por ejemplo, para la prevención o reducción del riesgo de infarto de miocardio o prevención o reducción del riesgo de complicaciones relacionadas con hipertensión.

En los usos de tratamiento de esta invención, los inhibidores de ROMK pueden administrarse mediante cualquier vía adecuada de administración tal como, por ejemplo, por vía oral, parenteral o rectal en formulaciones unitarias de dosificación que contienen excipientes, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales. El término parenteral, como se usa en este documento, incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa (IV), intramuscular, intraesternal o técnicas de infusión. Las formulaciones orales son preferidas para el tratamiento de indicaciones crónicas tales como hipertensión o insuficiencia cardíaca crónica, particularmente unidades de dosificación oral sólidas tales como píldoras, comprimidos o cápsulas, y más particularmente comprimidos. La dosificación IV es preferida para tratamiento agudo, por ejemplo, para el tratamiento de insuficiencia cardíaca aguda.

Esta invención también proporciona composiciones farmacéuticas comprendidas de un compuesto de Fórmula Ia y un vehículo farmacéuticamente aceptable que está comprendido de uno o más excipientes o aditivos. Un excipiente o aditivo es una sustancia inerte usada para formular el ingrediente de fármaco activo. Para uso oral, las composiciones farmacéuticas de esta invención que contienen el ingrediente activo puede estar en formas tales como píldoras, comprimidos, trociscos, grajeas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos dispersables o gránulos, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones pretendidas para uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Los excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, manitol, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación o disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Las composiciones farmacéuticas también pueden contener otros aditivos habituales, por ejemplo, aunque sin limitación, agentes humectantes, estabilizantes, emulsionantes, dispersantes, conservantes, edulcorantes, colorantes, saborizantes, aromatizantes, espesantes, sustancias tamponantes, disolventes, solubilizantes, agentes para conseguir un efecto de depósito, sales para alterar la presión osmótica, agentes de recubrimiento o antioxidantes.

Pueden emplearse formas de dosificación oral de liberación inmediata o de liberación controlada en el tiempo, así como formas de dosificación oral recubiertas de forma entérica. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden recubrirse por técnicas conocidas con fines estéticos, para enmascarar el sabor o por otras razones. Los recubrimientos también pueden usarse para retardar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de ese modo una acción sostenida sobre un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo en el tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda donde los ingredientes activos se mezclan con agua o solventes miscibles tales como propilenglicol, PEG y etanol, o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas contienen el material activo en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Pueden formularse suspensiones oleosas suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de mani, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes y agentes aromatizantes pueden añadirse para proporcionar una preparación oral agradable. Estas composiciones pueden conservarse por la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico. Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa.

La presente invención también abarca un proceso para preparar una composición farmacéutica, que comprende combinar un compuesto de Fórmula Ia con un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se abarca la composición farmacéutica que se prepara combinando un compuesto de Fórmula Ia con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además, puede usarse una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de esta invención para la preparación de un medicamento útil para inhibir ROMK, para causar diuresis y/o natriuresis, y/o para tratar, prevenir o reducir el riesgo de cualquier afección médica descrita en este documento, en cantidades de

dosificación descritas en este documento.

La cantidad de compuesto activo de Fórmula la y/o sus sales farmacéuticamente aceptables en la composición farmacéutica puede ser, por ejemplo, aunque sin limitación, de 0,1 a 200 mg, particularmente de 0,1 a 100 mg y más particularmente de 0,1 a 50 mg, por dosis en una base en peso de ácido libre/base libre, pero dependiendo del tipo de la composición farmacéutica, potencia del ingrediente activo y/o la afección médica que se está tratando, también podría ser inferior o mayor. Las composiciones farmacéuticas habitualmente comprenden de un 0,5 a un 90 por ciento en peso del compuesto activo sobre una base en peso de ácido libre/base libre.

Los compuestos de Fórmula la inhiben ROMK. Debido a esta propiedad, aparte del uso como compuestos farmacéuticamente activos en medicina humana y medicina veterinaria, también pueden emplearse como una herramienta científica o como auxiliar para investigaciones bioquímicas en que se pretende dicho efecto sobre ROMK, y también con fines de diagnóstico, por ejemplo, en el diagnóstico *in vitro* de muestras celulares o muestras tisulares. Los compuestos de Fórmula la también pueden emplearse como intermedios para la preparación de otros compuestos farmacéuticamente activos.

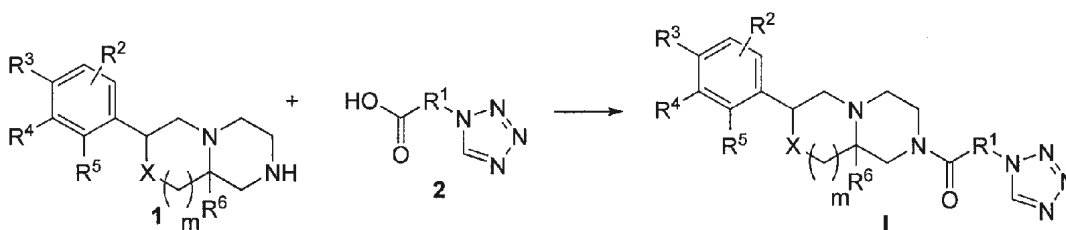
Puede administrarse uno o más principios activos farmacológicos adicionales en combinación con un compuesto de Fórmula la. El agente (o agentes) activo adicional pretende indicar un compuesto que es diferente del compuesto de Fórmula la y que es un agente (o agentes) farmacéuticamente activo que es activo en el organismo, incluyendo profármacos que se convierten en una forma farmacéuticamente activa después de su administración, y también incluye el ácido libre, base libre y sales farmacéuticamente aceptables de dichos principios activos adicionales cuando dichas formas se venden en el mercado o son químicamente posibles de otro modo. Generalmente, cualquier agente o principios activos adicionales adecuados, incluyendo, aunque sin limitación, agentes anti-hipertensivos, diuréticos adicionales, agentes anti-ateroscleróticos tales como un compuesto modificador de lípidos, agentes antidiabéticos y/o agentes anti-obesidad pueden usarse en cualquier combinación con el compuesto de Fórmula la en una única formulación de dosificación (una combinación de fármaco de dosis fija), o pueden administrarse al paciente en una o más formulaciones de dosificación separadas que permite la administración concurrente o secuencial de los principios activos (co-administración de los principios activos separados). Ejemplos de principios activos adicionales que pueden emplearse incluyen, aunque sin limitación, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (por ejemplo, alacepril, benazepril, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, imidapril, lisinopril, moveltipril, perindopril, quinapril, ramipril, espirapril, temocapril, o trandolapril); antagonistas del receptor de angiotensina II también conocidos como bloqueantes del receptor de angiotensina ARB (por ejemplo, losartán es decir, COZAAR®, valsartán, candesartán, olmesartán, telmesartán, eprosartán, irbesartán y cualquiera de estos fármacos usados en combinación con hidroclorotiazida tal como HYZAAR®); diuréticos, por ejemplo hidroclorotiazida (HCTZ); diuréticos moderadores de potasio tales como amilorida HCl, espironolactona, epleranona, triamtereno, cada uno con o sin HCTZ; inhibidores de endopeptidasa neutra (por ejemplo, tiorfano y fosforamidona); antagonistas de aldosterona; inhibidores de la aldosterona sintasa; inhibidores de renina (por ejemplo, derivados de urea de di- y tripéptidos (véase la patente de Estados Unidos n.º 5.116.835), aminoácidos y derivados (patentes de Estados Unidos n.º 5.095.119 y 5.104.869), cadenas de aminoácidos unidas por enlaces no peptídicos (patente de Estados Unidos n.º 5.114.937), derivados de di- y tripéptidos (patente de Estados Unidos n.º 5.106.835), peptidil amino dioles (patentes de Estados Unidos n.º 5.063.208 y 4.845.079) y peptidil beta-aminoacil aminodiol carbamatos (patente de Estados Unidos n.º 5.089.471); también de otros diversos análogos peptídicos descritos en las siguientes patentes de Estados Unidos n.º 5.071.837; 5.064.965; 5.063.207; 5.036.054; 5.036.053; 5.034.512 y 4.894.437 e inhibidores de renina de molécula pequeña (incluyendo sulfonamidas de diol y sulfínulos (patente de Estados Unidos n.º 5.098.924), derivados de N-morfolino (patente de Estados Unidos n.º 5.055.466), alcoholes N-heterocíclicos (patente de Estados Unidos n.º 4.885.292) y pirolimidazonas (patente de Estados Unidos n.º 5.075.451); también, derivados de pepstatina (patente de Estados Unidos n.º 4.980.283) y fluoro- y cloro-derivados de péptidos que contienen estatona (patente de Estados Unidos n.º 5.066.643); enalcreína; RO 42-5892; A 65317; CP 80794; ES 1005; ES 8891; SQ 34017; alisquireno (hemifumarato de 2(S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-carbamoil-2-metilpropil)-5-amino-4-hidroxi-2,7-diisopropil-8-[4-metoxi-3-(3-metoxipropoxi)-fenil]-octanamida) SPP600, SPP630, SPP635); antagonistas del receptor de endotelina; vasodilatadores (por ejemplo, nitroprusido); bloqueantes del canal de calcio (por ejemplo, amlodipina, nifedipina, verapamil, diltiazem, felodipina, gallopamil, niludipina, nimodipina, nicardipina); activadores del canal de potasio (por ejemplo, nicorandil, pinacidil, cromacalim, minoxidil, aprilcalim, loprazolam); simpaticolíticos; fármacos bloqueantes beta-adrenérgicos (por ejemplo, acebutolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, carvedilol, metoprolol, tartato de metoprolol, nadolol, propranolol, sotalol, timolol); fármacos bloqueantes alfa adrenérgicos (por ejemplo, doxazocina, prazocina o alfa metildopa); agonistas centrales alfa adrenérgicos; vasodilatadores periféricos (por ejemplo, hidralazina); agentes reductores de lípidos, por ejemplo, inhibidores de HMG-CoA reductasa tales como simvastatina y lovastatina que están comercializados como ZOCOR® y MEVACOR® en forma de profármaco lactona y funcionan como inhibidores después de su administración, y sales farmacéuticamente aceptables de inhibidores de la HMG-CoA reductasa ácidos de anillo abierto dihidroxi tales como atorvastatina (particularmente la sal de calcio vendida como LIPITOR®), rosuvastatina (particularmente la sal de calcio vendida como CRESTOR®), pravastatina (particularmente la sal de sodio vendida como PRAVACHOL®), y fluvastatina (particularmente la sal de sodio vendida como LESCOL®); un inhibidor de la absorción de colesterol tal como ezetimibe (ZETIA®), y ezetimibe en combinación con cualquier otro agente reductor de lípidos tales como los inhibidores de la HMG-CoA reductasa indicados anteriormente y particularmente con simvastatina (VYTORIN®) o con atorvastatina de calcio; niacina en formas de liberación inmediata o de liberación controlada, y particularmente niacina en combinación con un antagonista DP tal como laropiprant

(TREDAPTIVE®) y/o con un inhibidor de la HMG-CoA reductasa; niacina en formas de liberación inmediata o de liberación controlada, y particularmente niacina en combinación con un antagonista DP tal como laropiprant (TREDAPTIVE®) y/o con un inhibidor de la HMG-CoA reductasa; agonistas del receptor de niacina tales como acipimox y acifrán, así como agonistas parciales del receptor de niacina; agentes de alteración metabólica incluyendo agentes sensibilizantes a insulina y compuestos relacionados para el tratamiento de la diabetes tales como bisguanidas (por ejemplo, metformina), meglitinidas (por ejemplo, repaglinida, nateglinida), sulfonilureas (por ejemplo, clorpropamida, glimepirida, glipizida, gliburida, tolazamida, tolbutamida), tiazolidinedionas también mencionadas como glitazonas (por ejemplo, pioglitazona, rosiglitazona), inhibidores de alfa glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, miglitol), inhibidores de la dipeptidil peptidasa (por ejemplo, sitagliptina (JANUVIA®), alogliptina, vildagliptina, saxagliptina, linagliptina, dutogliptina, gemigliptina), alcaloides ergot (por ejemplo, bromocriptina), medicaciones de combinación tales como JANUMET® (sitagliptina con metformina), y medicaciones inyectables para la diabetes tales como exenatida y acetato de pramlintida; o con otros fármacos beneficiosos para la prevención o el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente incluyendo, aunque sin limitación, diazóxido; e incluyendo las formas de ácido libre, base libre y sal farmacéuticamente aceptable de los principios activos anteriores cuando sea químicamente posible.

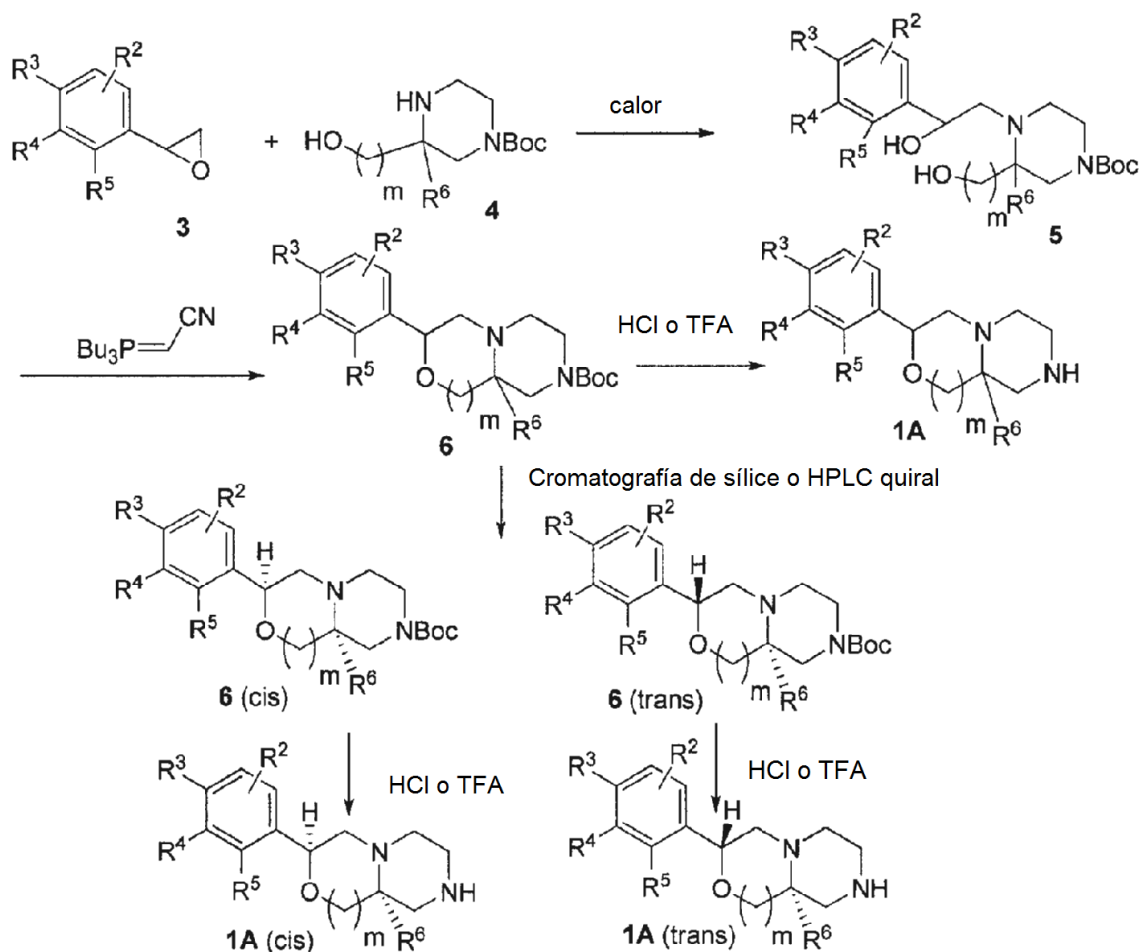
En los ejemplos se describen varios métodos para preparar los compuestos de esta invención. Los materiales de partida e intermedios se adquieren, se preparan a partir de procedimientos conocidos o según se ilustre de otro modo. También se describen mediante los esquemas algunas rutas aplicadas habitualmente para los compuestos de Fórmula la como se indica a continuación. En algunos casos, puede variarse el orden de las etapas de los esquemas de reacción para facilitar la reacción o evitar productos de reacción indeseados.

Los compuestos de esta invención pueden prepararse como se muestra en el Esquema 1 mediante acoplamiento de las piperazinas adecuadamente sustituidas **1** con ácidos carboxílicos de la estructura **2** para formar amidas. Esto puede realizarse de muchos modos bien conocidos para el químico, incluyendo mediante el uso de EDC en presencia o ausencia de HOBt y una base, tal como trietilamina, o mediante el uso de otros diversos reactivos de acoplamiento de amida, tales como HATU.

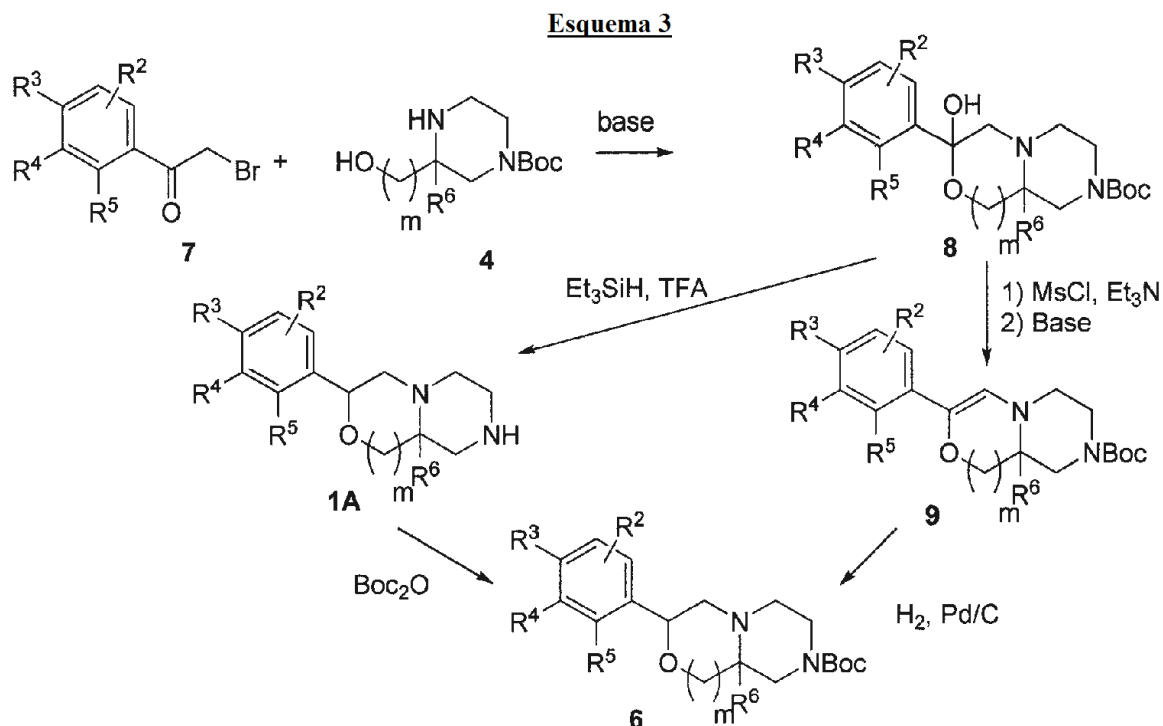
Esquema 1



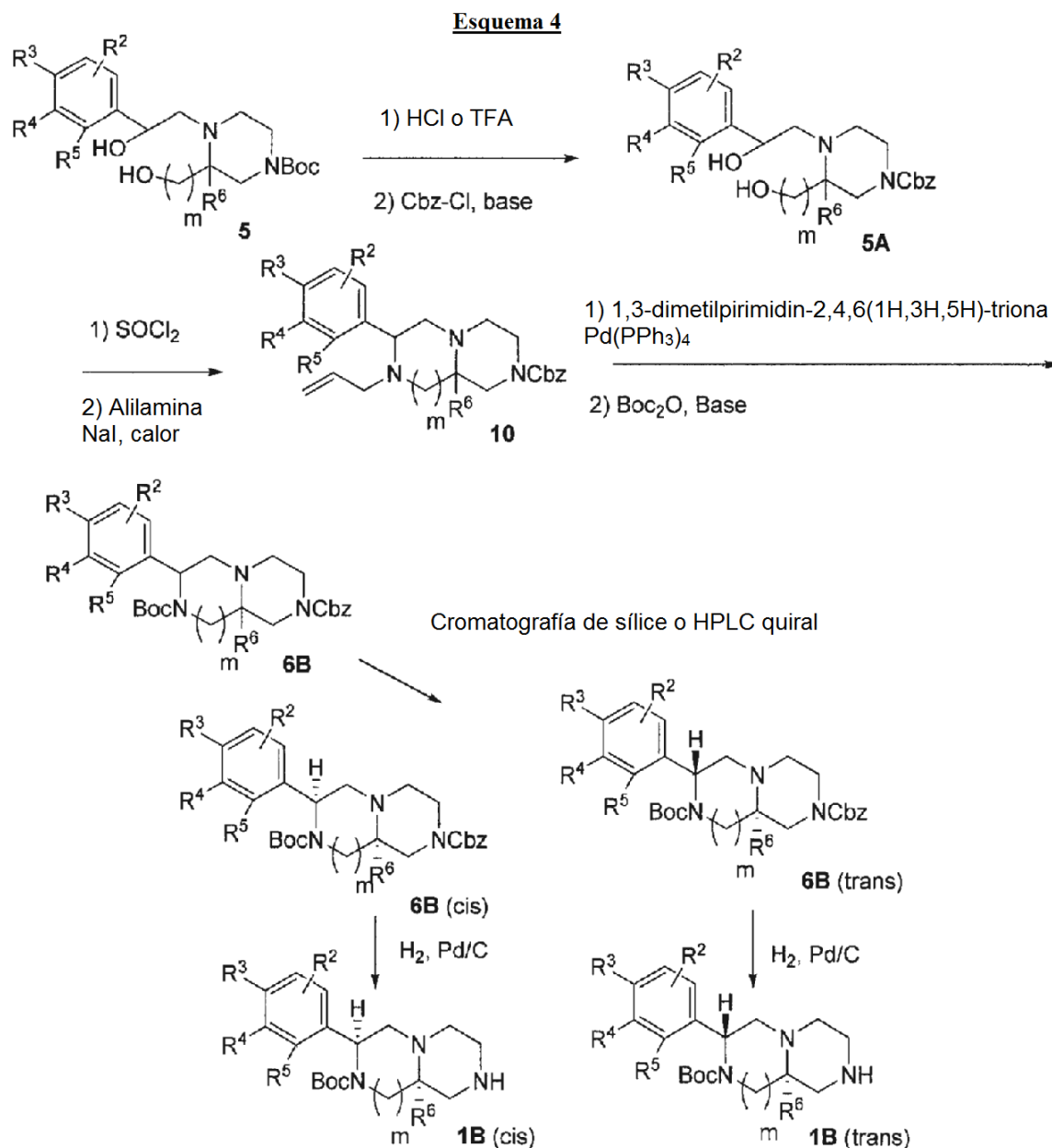
Las piperazinas **1** pueden prepararse de acuerdo con el Esquema 2. Los epóxidos **3** pueden acoplarse con hidroxialquilpiperazinas adecuadamente protegidas **4** por calentamiento en un disolvente, tal como etanol, DMSO o tolueno para proporcionar los dioles **5** (Nomura, Y. et al. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1995, 43(2), 241-6). El calentamiento puede ser mediante un baño térmico convencional o por irradiación de microondas. Los dioles **5** pueden ciclarse para proporcionar anillos de 6 o 7 miembros **6** por diversas maneras, incluyendo por calentamiento con el reactivo cianometileno tri-n-butilfosforano en un disolvente adecuado, tal como benceno o tolueno. El calentamiento puede ser mediante un baño térmico convencional o por irradiación de microondas. Los compuestos resultantes **6** son generalmente mezclas de isómeros *cis* y *trans*. El grupo protector (Greene, T.; Wuts, P. G. M. protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, NY 1991) pueden después retirarse. Por ejemplo, cuando el grupo protector es Boc como se muestra en el Esquema 2, la retirada puede conseguirse por tratamiento con un ácido, tal como TFA o HCl para proporcionar las piperazinas **1A**. Como alternativa, los compuestos **6** pueden separarse por medio de cromatografía de sílice o cromatografía líquida preparativa a alta presión empleando una columna quiral para proporcionar los isómeros *cis* **6** (*cis*) y *trans* **6** (*trans*) separados. El grupo protector de los isómeros *cis* y *trans* puros puede retirarse por tratamiento con un ácido, tal como TFA o HCl, en el caso de un grupo Boc, para proporcionar las piperazinas **1A** como isómeros *cis* y *trans* puros **1A** (*cis*) y **1A** (*trans*). Si se emplea un solo enantiómero de las hidroxialquilpiperazinas **4**, entonces puede obtenerse un solo enantiómero *cis* y *trans*, isómeros **1A** (*cis*) y **1A** (*trans*).

Esquema 2

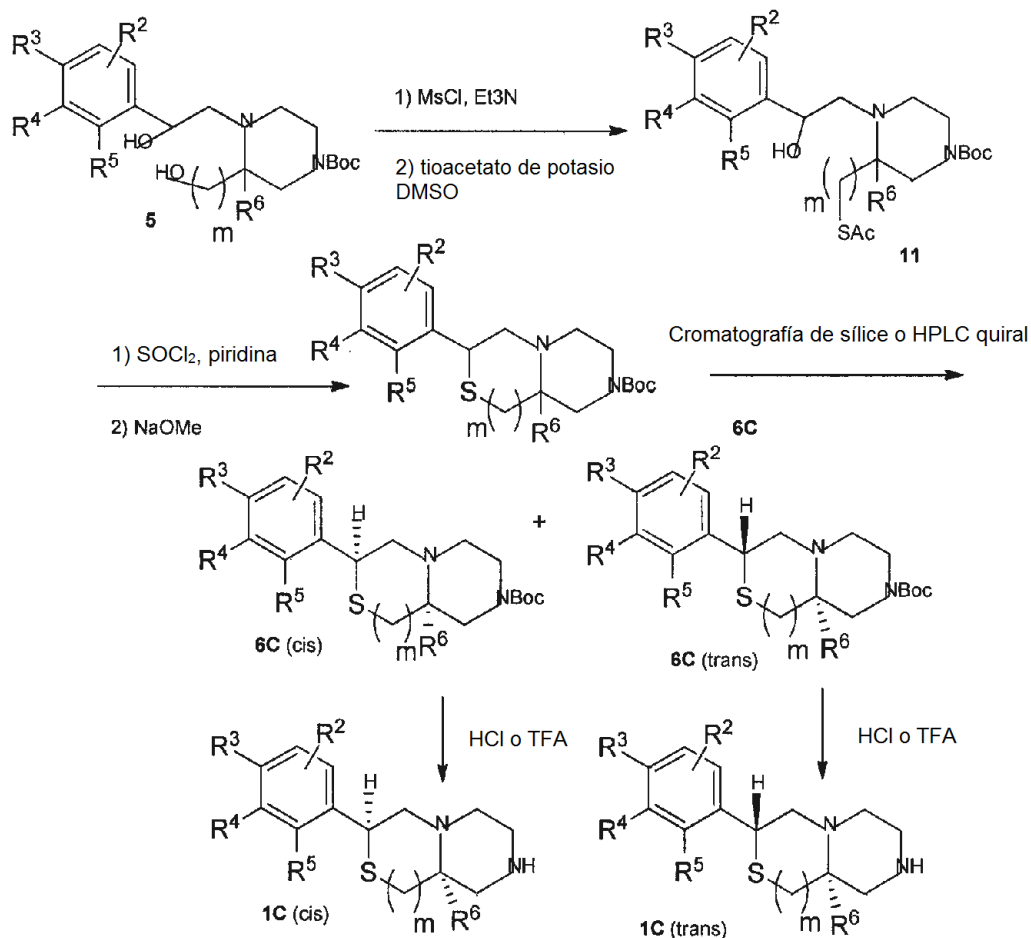
- Las piperazinas protegidas **6** también pueden prepararse de acuerdo con el Esquema 3 acoplado inicialmente las hidroxialquilpiperazinas **4** con bromometilcetonas (o clorometil cetonas) **7** para proporcionar los hemicetales **8**. Esto se consigue normalmente en presencia de una base, tal como trietilamina o dietilisopropilamina. Los hemicetales resultantes **8** pueden convertirse directamente en las piperazinas **1A** por reducción usando, por ejemplo, trietilsilano en presencia de un catalizador ácido, tal como ácido trifluoroacético. Si se desea la separación de los isómeros *cis* y *trans*, puede instalarse un grupo protector, tal como Boc usando, por ejemplo, Boc₂O, para dar los intermedios **6** que pueden separarse en los isómeros *cis* y *trans* como se describe en el Esquema 2. Como alternativa, los hemicetales **8** pueden reducirse mediante una secuencia de tres etapas que implica la formación de un mesilato con cloruro de mesilo y una base, tal como trietilamina, seguido de eliminación en presencia de una base para dar los enol éteres **9**. Después, los enol éteres **9** pueden reducirse por hidrogenación en presencia de un catalizador, tal como paladio sobre carbono, para proporcionar las piperazinas protegidas **6** que pueden separarse en isómeros *cis* y *trans* como se describe en el Esquema 2. Estos pueden después convertirse en los intermedios de piperazina **1A** (*cis*) y **1A** (*trans*) como se describe en el Esquema 2.



Como alternativa, una subclase de intermedios 1, las piperazinas **1B**, puede prepararse como se describe en el Esquema 4. Los grupos protectores Boc de los intermedios **5** (preparados como se describe en el Esquema 2) se intercambian a grupos carbamato de bencilo (Cbz) mediante tratamiento inicial con un ácido, tal como TFA o HCl, seguido de acoplamiento con cloroformiato de bencilo en presencia de una base, tal como trietilamina. Los Cbz-piperazin dioles **5A** resultantes se convierten en los intermedios de dicloro correspondientes por calentamiento con cloruro de tionilo; después, los dicloruros se calientan con alilamina en presencia de yoduro de sodio para proporcionar las piperazinas condensadas sustituidas con alilo **10**. Los grupos alilo pueden retirarse de varias maneras, incluyendo mediante calentamiento con 1,3-dimetilpirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona en presencia de un catalizador, tal como tetraquis trifenilfosfina paladio. Después, las aminas reveladas se protegen de nuevo con grupos *tert*-butoxicarbamato por tratamiento con Boc_2O en presencia de una amina, tal como trietilamina para proporcionar los intermedios **6B**, generalmente en forma de mezclas de isómeros *cis* y *trans*. Los isómeros *cis* y *trans* pueden separarse como se describe en el Esquema 2 por cromatografía de sílice o por HPLC preparativa quiral. Si los intermedios **5** se preparan a partir de enantiómeros individuales de **4** (como se describe en el Esquema 2), entonces los intermedios resultantes **6B** (*cis*) y **6B** (*trans*) también son isómeros individuales. Como alternativa, la separación de los isómeros *cis* y *trans* puede realizarse en una etapa temprana por separación de los isómeros *cis/trans* de los intermedios **10**. Los grupos protectores Cbz de los intermedios **6B** (*cis*) y **6B** (*trans*) pueden retirarse, por ejemplo, mediante hidrogenólisis en presencia de un catalizador, tal como paladio sobre carbono para proporcionar los intermedios **1B** (*cis*) y **1B** (*trans*).



- Como alternativa, una subclase de los intermedios **1 (1C)** puede prepararse de acuerdo con el Esquema 5. Los dioles **5** se convierten inicialmente en sus mono-mesilatos correspondientes por tratamiento con cloruro de metanosulfonilo, una base, tal como trietilamina, y un catalizador, tal como 4-dimetilaminopiridina. La reacción posterior con tiocetato de potasio en un disolvente, tal como dimetilsulfóxido (DMSO) proporciona los intermedios **11**. Después, el grupo hidroxilo restante de **11** se convierte en el intermedio de cloro correspondiente por tratamiento con, por ejemplo, cloruro de tionilo, seguido de la adición de una base, tal como piridina. Después, el intermedio de cloro resultante se trata con metóxido sódico para proporcionar los sulfuros ciclados **6C**. Cuando los dioles de partida **5** usados son isómeros individuales (partiendo de epóxidos enantioméricamente puros **3** e hidroxialquilpiperazinas enantioméricamente puras **4** (Esquema 2)), los intermedios resultantes **6C** pueden obtenerse como isómeros individuales. Como alternativa, cuando se emplean los epóxidos racémicos **3** y las hidroxialquilpiperazinas de enantiómero individual **4**, los intermedios resultantes **6C** se obtienen en forma de una mezcla de dos isómeros (cis y trans), que después puede separarse en isómeros individuales **6C** (cis) y **6C** (trans) por cromatografía de sílice o por HPLC preparativa quiral. Después, la retirada del grupo protector de carbamato de *tert*-butilo puede conseguirse por tratamiento con un ácido, tal como TFA o HCl, para proporcionar las piperazinas **1C** (cis) y **1C** (trans).

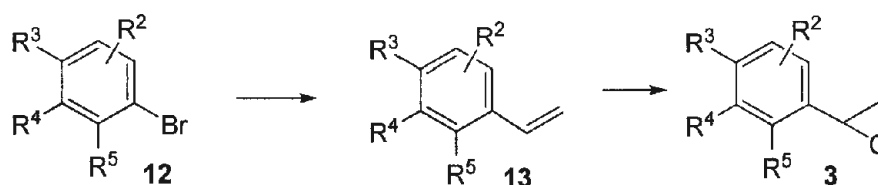
Esquema 5

Los intermedios 2 (en el Esquema 1) pueden prepararse de diversas maneras dependiendo de la estructura de 2; en la sección experimental posterior se muestran varios métodos.

5

Los epóxidos 3 pueden prepararse por diversos métodos. Un enfoque se describe mediante el Esquema 6. Pueden acoplarse haluros de arilo o heterociclo (bromuro 12 mostrado) para formar los productos de alqueno 13 de diversas maneras, por ejemplo por reacción de Heck o por reacción con tetrafluoroborato de vinil (Molander, G.; Luciana, A. *Journal of Organic Chemistry*, 2005, 70(10), 3950-3956) en condiciones de acoplamiento catalizado por paladio con un ligando de fosfina adecuado (Molander, G.; Brown, A. *Journal of Organic Chemistry*, 2006, 71(26), 9681-9686). Después, los alquenos 13 pueden convertirse en los epóxidos correspondientes 3 de varias maneras, incluyendo tratamiento con ácido *meta*-cloroperoxibenzoico (Fringuelli, F. et al. *Organic Preparations and Procedures International*, 1989, 21(6), 757-761).

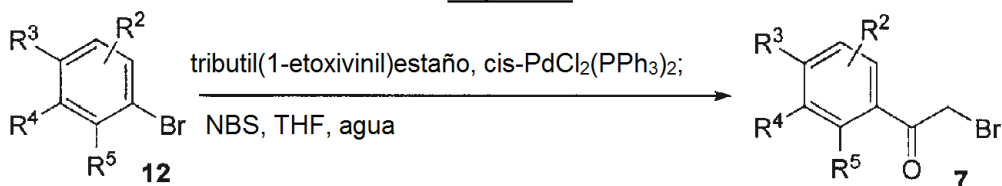
10

Esquema 6

15

Las bromometilcetonas 7 pueden prepararse de diversas maneras; una ruta se representa en el Esquema 7. De acuerdo con el Esquema, pueden hacerse reaccionar haluros de arilo o heterocíclicos (bromuro 12 mostrado) con tributil(1-etoxivinil)estaño en presencia de un catalizador metálico, tal como PdCl₂(PPh₃)₂ para proporcionar un etilenoléter intermedio. Posteriormente, este se trata en el mismo recipiente de reacción con N-bromosuccinimida (NBS) con agua y tetrahidrofurano añadido para proporcionar las bromometilcetonas 7. Pueden prepararse de modo similar clorometilcetonas empleando N-clorosuccinimida en lugar de N-bromosuccinimida.

20

Esquema 7

La síntesis independiente de diastereómeros y enantiómeros o sus separaciones cromatográficas puede conseguirse como se sabe en la técnica mediante modificación adecuada de la metodología desvelada en el presente documento.

5 Sus estereoquímicas absolutas pueden determinarse por cristalografía de rayos X de productos cristalinos o intermedios cristalinos que se derivatizan, si es necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de estereoquímica absoluta conocida.

10 Los compuestos objeto pueden prepararse por modificación de los procedimientos desvelados en los Ejemplos según sea adecuado. Los materiales de partida están disponibles en el mercado o se preparan por procedimientos conocidos o según se ilustra. Los siguientes ejemplos se proporcionan únicamente con el propósito de ilustración adicional y no están destinados a ser limitaciones de la invención desvelada.

15 Las reacciones sensibles a la humedad o al aire se realizaron en una atmósfera de nitrógeno o argón usando disolventes y reactivos anhidros. El progreso de las reacciones se determinó por cromatografía analítica de capa fina (TLC) normalmente realizada con placas de TLC prerrecubiertas de E. Merck, gel de sílice 60F-254, espesor de capa 0,25 mm o cromatografía líquida-espectrometría de masas (CL-EM).

20 Típicamente, el sistema de CL-EM analítico usado consistió en una plataforma Waters ZQ con ionización por electronebulización en modo de detección de ion positivo con una HPLC con automuestreador Agilent serie 1100. La columna fue normalmente una Water Xterra MS C18, 3,0 x 50 mm, 5 μm . El caudal fue 1 ml/min, y el volumen de inyección fue 10 μl . La detección UV fue en el intervalo 210-400 nm. La fase móvil consistió en disolvente A (agua más TFA al 0,06 %) y disolvente B (acetonitrilo más TFA al 0,05 %) con un gradiente de 100 % de disolvente A durante 0,7 min cambiando a 100 % de disolvente B durante 3,75 min, mantenido durante 1,1 min, después revertiendo a 100 % de disolvente A durante 0,2 min.

30 Normalmente, se realizaron purificaciones de HPLC preparativa usando un sistema dirigido de espectrometría de masas. Normalmente, se realizaron en un Waters Chromatography Workstation configurado con un sistema de CL-EM consistente en: un sistema de EM de un solo cuadrupolo Waters ZQ con ionización por electronebulización, una bomba de gradiente Waters 2525, un inyector/recolector Waters 2767, Un detector de PDA Waters 996, las condiciones de EM de: 150-750 uma, electronebulización positiva, recolección accionada por EM y una columna Waters Sunfire C-18, 5 micrómetros, 30 mm (di) x 100 mm. Las fases móviles consistieron en mezclas de acetonitrilo (10-100 %) en agua que contenía TFA al 0,1 %. Los caudales se mantuvieron a 50 ml/min, el volumen de inyección fue 1800 μl y el intervalo de detección UV fue 210-400 nm. Los gradientes de fase móvil se optimizaron para los

35 compuestos individuales.

Las reacciones realizadas usando irradiación de microondas se realizaron normalmente usando un Emrys Optimizer fabricado por Personal Chemistry o un iniciador fabricado por Biotage.

40 La concentración de las soluciones se realizó en un evaporador rotatorio a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida se realizó normalmente usando un aparato de cromatografía ultrarrápida de Biotage (Dyax Corp.) sobre gel de sílice (32-63 mM, tamaño de poro 60 Å) en cartuchos preempaquetados del tamaño indicado. Los espectros de RMN ^1H se adquirieron en espectrómetros a 500 MHz en soluciones de CDCl_3 a menos que se indique otra cosa. Los desplazamientos químicos se indicaron en partes por millón (ppm). Se usó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna en soluciones de CD_3Cl , y se usó un pico de CH_3OH residual o TMS como referencia interna en soluciones de CD_3OD . Las constantes de acoplamiento (J) se indicaron en hertzios (Hz).

45

50 Normalmente, se realizó cromatografía quiral analítica en una de las columnas Chiralpak AS, Chiralpak AD, Chiralcel OD, Chiralcel IA o Chiralcel OJ (250 x 4,6 mm) (Daicel Chemical Industries, Ltd.) con el porcentaje indicado de etanol en hexano (%Et/Hex) o isopropanol en heptano (%IPA/Hep) como sistemas de disolvente isocráticos. Algunas veces, se realizó cromatografía preparativa quiral en una de las columnas Chiralpak AS, Chiralpak AD, Chiralcel OD, Chiralcel IA o Chiralcel OJ (20 x 250 mm) (Daicel Chemical Industries, Ltd.) con sistemas de disolvente isocráticos deseados identificados en cromatografía analítica quiral. Como alternativa, la cromatografía preparativa quiral fue mediante condiciones de fluido supercrítico (SFC) usando una de las columnas Chiralpak AS, Chiralpak AD-H, Chiralcel OD-H, Chiralpak IC o Chiralcel OJ-H (250 x 21,2 mm) (Daicel Chemical Industries, Ltd.). Donde se proporcionan tiempos de retención en los Ejemplos y las Tablas, no se pretende que sean una característica definitiva de un compuesto particular puesto que, como es sabido para los expertos en la materia, los tiempos de retención variarán y la cadencia y/u orden de elución de pico puede cambiar dependiendo de las condiciones cromatográficas, tales como la columna

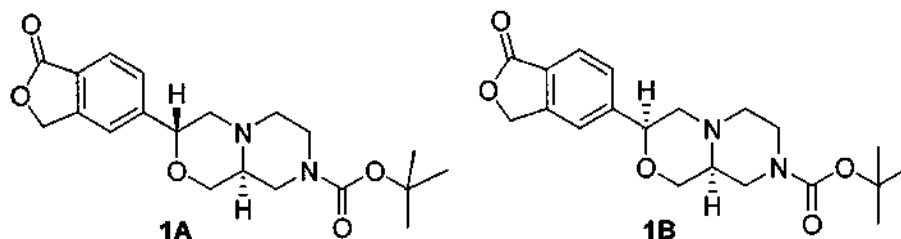
55

utilizada, la condición de la columna y el sistema de disolventes e instrumentos utilizados.

Se realizó cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (malla 230-400). Se obtuvieron espectros de RMN en solución de CDCl_3 a menos que se indique otra cosa. Las constantes de acoplamiento (J) están en hertzios (Hz). Abreviaturas usadas en el presente documento: acetato de etilo (EtOAc), diclorometano (DCM), material de partida (MP), éter dietílico (éter), ácido trifluoroacético (TFA), trietilamina (TEA), *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA, base de Hunig, DIPEA), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropilo), carbodiimida (EDC, EDAC o EDCI), hexafluorofosfato de 2-(7-Aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU), hidrato de 1-hidroxi-benzotriazol (HOBt), metil *tert*-butil éter (MTBE), Ciclopentil metil éter (CPME), 1,3-Bis(difenilfosfino)propano (DPPP), 2-Diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (X-Phos), 1,2-dicloroetano (DCE), N-bromo succinimida (NBS), N-yodosuccinimida (NIS), diisopropilamida de litio (LDA), tetrahidrofurano (THF), dimetilsulfóxido (DMSO), isopropanol (IPA), t-butiloxicarbonilo (Boc o BOC), dicarbonato de di-t-butilo (BOC_2O , Boc_2O), ácido acético (AcOH; HOAc), *N,N*-dimetilformamida (DMF), 4-dimetilaminopiridina (DMAP), mCPBA (ácido 3-cloroperóxibenzoico), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), éter de petróleo (PE), hidruro de litio y aluminio (LAH), diisopropilamina (DIPA), Carbonildiimidazol (CDI), ácido p-toluenosulfónico (TsOH), p-tolueno- SO_2 - (tosilo o Ts), cloruro de metanosulfonilo o cloruro de mesilo (Ms-Cl), ácido metanosulfónico (MsOH), CH_3SO_2 - (mesilo o Ms), dimetoxietano (DME), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ o $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ es 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II) que puede estar complejado con CH_2Cl_2 , hexametilfosforamida (HMPA), acetato de isopropilo (IPAc) matraz de fondo redondo (FR o MFR), acuso saturado (sat.), cromatografía líquida de media presión (MPLC), cromatografía líquida de alta presión (HPLC), cromatografía líquida (CL), cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía líquida-espectrometría de masas (CL-EM o CL/EM), volumen de columna (VC), temperatura ambiente (ta, t.a. o TA), hora(s) (h), minuto(s) (min). Celite es un nombre comercial para tierra de diatomeas y Solka Flocc es un nombre comercial para celulosa en polvo. X o x pueden usarse para expresar el número de veces que se repite una acción (por ejemplo, se lavó con 2 x 200 ml de HCl 1 N) o para expresar una dimensión (por ejemplo, la dimensión de una columna es 30 x 250 mm).

Los siguientes son procedimientos representativos para la preparación de intermedios usados para preparar los productos finales descritos en los Ejemplos que les siguen después. Estos ejemplos se proporcionan únicamente para el propósito de ilustración adicional y no están destinados a ser limitaciones sobre la invención desvelada.

INTERMEDIOS 1A Y 1B



1A: (3R,9aS)-3-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo; **1B:** (3S,9aS)-3-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

Etapa A: 5-etenil-2-benzofuran-1(3H)-ona: Se añadieron 5-bromoftaluro (50 g, 235 mmol), vinil trifluoroborato de potasio (62,9 g, 469 mmol) y aducto de $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$ (9,58 g, 11,7 mmol) a etanol (500 ml) y después se añadió TEA (65,4 ml, 469 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó y después se calentó a reflujo durante 8 h. La reacción se trató diluyendo con acetato de etilo y lavando con salmuera dos veces. La capa orgánica se secó y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por MPLC (sílice, columna de 600 g) con EtOAc al 25 %/hexano (3 l), después con EtOAc al 30 %/Hexano (2 l) para producir el compuesto del título.

Etapa B: 5-(oxiran-2-il)-2-benzofuran-1(3H)-ona: Se disolvió 5-etenil-2-benzofuran-1(3H)-ona (28,4 g, 177 mmol) en DCM (400 ml) y después se añadió mCPBA (47,7 g, 213 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Quedó un poco de olefina de partida. Se añadieron 25 g más de mCPBA y la mezcla se agitó durante una noche. La mezcla se vertió en hielo una solución fría de Na_2SO_3 (saturada). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con una solución al 5 % de NaOH y salmuera, después se secó (MgSO_4). El producto en bruto se purificó por MPLC (columna de 330 g, eluyendo con EtOAc al 40 %/hexano, 2 l, después con EtOAc al 45 %/hexano, 2 l, para proporcionar 5-(oxiran-2-il)-2-benzofuran-1(3H)-ona. **CL-EM:** $M+1=177$.

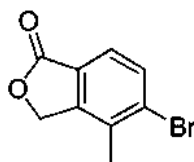
Etapa C: (3S)-3-(hidroximetil)-4-[2-hidroxi-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)etil]piperazino-1-carboxilato de *tert*-butilo: Se combinaron 5-(oxiran-2-il)-2-benzofuran-1(3H)-ona (1,5 g, 8,5 mmol) y (S)-4-N-BOC-2-hidroximetil piperazina disponible en el mercado (2,394 g, 11,07 mmol) en etanol (10 ml) en un tubo de microondas. La mezcla se desgasificó, después se calentó durante 60 min a 150 °C. La CL-EM mostró el pico de producto. La reacción se trató añadiendo acetato de etilo y lavando una vez con salmuera. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró a sequedad. El producto en bruto se purificó por MPLC usando una columna Redi-sep de 80 g y eluyendo con EtOAc al 50 %-100 % /hexano, produciendo el compuesto del título.

Etapa D: (9aS)-3-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de

terc-butilo: Se disolvieron (3S)-3-(hidroximetil)-4-[2-hidroxi-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)etil]piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,3 g, 8,4 mmol) y cianometileno tri-*n*-butilfosforano (3,65 g, 15,1 mmol) en 30 ml de benceno, la solución se desgasificó y después se calentó a 100 °C durante 3 h. La CL-EM mostró el pico de producto (M+1 = 389). La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por MPLC a través de una columna Redi-sep de 330 g y eluyendo con una mezcla de acetona al 15 % / hexano al 85 % para producir una mezcla *cis-trans* del compuesto del título.

Etapa E: (3R,9aS)-3-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3S,9aS)-(1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: La mezcla de isómeros *cis-trans* de la etapa anterior se preparó usando una columna ChiralCEL OD, 4,6 x 250 mm, 10 μ, eluyendo con un sistema de disolventes de IPA al 45 %/heptano al 55 %. El isómero *trans* **1A** se eluyó en primer lugar a 11,46 min y el isómero *cis* **1B** segundo a 17,43 min. **1A**: RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,915 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,52 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,33 (s, 2H), 4,81 (dd, J = 2 Hz, 10,5 Hz, 1H), 4,03-4,07 (m, 2H), 4,00 (dd, J = 3, 11,25 Hz, 1H), 3,51 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 3,04 (a, 1H), 2,96 (dd J = 2, 11,75 Hz, 1H), 2,76 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,57 (a, 1H), 2,21-2,32 (m, 3H), 1,5 (s, 9H). **1B**: RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,95 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 5,37 (s, 2H), 4,91 (t, J = 3,5 Hz, 1H), 3,65-4,07 (a, 2H), 3,64 (dd, J = 3, 11,5 Hz, 1H), 3,40 (t, J = 11,5 MHz, 1H), 3,29 (dd, J = 3,5, 12 Hz, 1H), 3,02 (a, 1H), 2,82 (dd, J = 3,5, 12 Hz, 2H), 2,66-2,67 (a, 1H), 2,50 (t, J = 11 Hz, 2H), 1,5 (s, 9H).

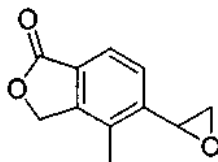
INTERMEDIO 2

5-bromo-4-metil-2-benzofuran-1(3H)-ona

Etapa A: (3-bromo-2-metilfenil)metanol: A una solución de ácido 3-bromo-2-metilbenzoico (35,0 g, 163 mmol) en THF (200 ml) se le añadió complejo de Borano THF (1,0 M, 212 ml, 212 mmol). La mezcla se dejó en agitación durante 24 h. La TLC mostró un solo punto de producto. La reacción se interrumpió con agua. El disolvente THF se retiró a presión reducida. El sólido resultante se disolvió en acetato de etilo (500 ml), se lavó con HCl 1 N, carbonato sódico y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró para proporcionar (3-bromo-2-metilfenil)metanol.

Etapa B: 5-bromo-4-metil-2-benzofuran-1(3H)-ona: En un matraz cargado con (3-bromo-2-metilfenil)metanol (6,0 g, 30 mmol) se añadió una solución 1 M en TFU de trifluoroacetato de talio (16,2 g, 29,8 mmol). La mezcla se agitó a TA durante una noche. El análisis por TLC no mostró ningún material de partida restante. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se bombeó a alto vacío durante 30 min para asegurar la retirada completa del TFA. Después, al residuo se le añadieron cloruro de paladio (II) (529 mg, 2,98 mmol), cloruro de litio (2,53 g, 59,7 mmol), óxido de magnesio (2,41 g, 59,7 mmol) y MeOH (150 ml). La reacción se lavó abundantemente con CO dos veces, y se mantuvo en una atmósfera de CO a temperatura ambiente. El análisis por CL mostró un gran punto de producto en 2 horas. A esta solución se le añadió acetato de etilo para precipitar las sales. La solución se filtró a través de una capa de Celite, se lavó con EtOAc, se absorbió sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para proporcionar el compuesto del título: RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,71 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,25 (s, 2H), 2,37 (s, 3H).

INTERMEDIO 3

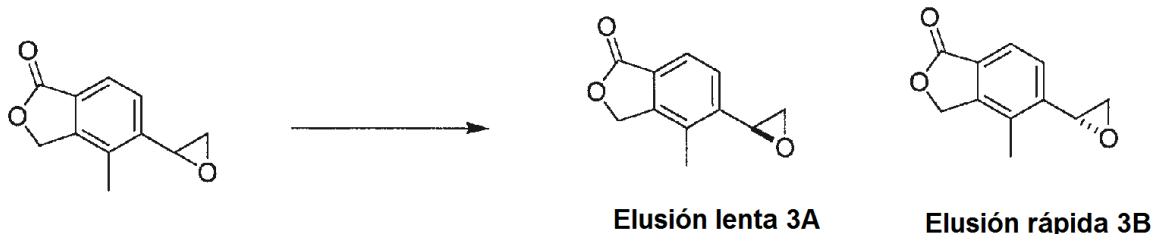
4-metil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona

Etapa A: 5-etenil-4-metil-2-benzofuran-1(3H)-ona: Se añadieron 5-bromo-4-metil-2-benzofuran-1(3H)-ona (598 mg, 4,47 mmol), vinil trifluoroborato de potasio (507 mg, 2,23 mmol), aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (182 mg, 0,223 mmol) y TEA (0,622 ml, 4,47 mmol) a 10 ml de etanol en un tubo para microondas de 20 ml. El tubo se cerró herméticamente y se desgasificó, después se calentó a 140 °C durante 20 min. Los análisis por CL-EM mostraron el pico de producto. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera dos veces, se secó y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía MPLC usando una columna Redi-sep de 120 g y un sistema de disolventes de EtOAc al 0-80 %/Hexano para producir 5-etenil-4-metil-2-benzofuran-1(3H)-ona. CL-EM: M+1= 175.

Etapa B: 4-metil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona: Se añadió 5-etenil-4-metil-2-benzofuran-1(3H)-ona (1,46 g, 8,38 mmol) a DCM (25 ml) a 0 °C después se añadió mCPBA (2,89 g, 16,8 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante

una noche. La mezcla de reacción se lavó una vez con cada uno de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ acuoso saturado, NaHCO_3 y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó a sequedad. El material en bruto se purificó por MPLC a través de una columna Redi-sep de 120 g eluyendo con un sistema de disolventes de EtOAc al 0-80 %/hexano para producir la 4-metil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona diana. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,77 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,43 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,12 (s, 1H), 3,27 (t, $J = 4$ Hz, 1H), 2,735 (dd, $J = 2,2, 5,5$ Hz, 1H), 2,43 (s, 3H); CL-EM: $M+1 = 191$.

INTERMEDIOS 3A Y 3B (Método 1)



3A: 4-metil-5-[(2S)-oxiran-2-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona y **3B:** 4-metil-5-[(2R)-oxiran-2-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona: Se resolvió 4-metil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona racémica en una columna ChiralPak® AD-H (5 x 25 cm) en condiciones de cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) en un instrumento de SFC preparativa Berger MGIII. El racemato se diluyó a 50 mg/ml en 1:1 de DCM:MeOH. La separación se completó usando EtOH al 10 %/ CO_2 , caudal 200 ml/min, 100 bar, 25 °C. Se espaciaron inyecciones de 500 μl cada 2,12 min. El epóxido de elusión más rápida 3B eluyó a 5,2 min, y el epóxido de elusión más lenta 3A eluyó a 5,6 min.

Como alternativa, la resolución también pudo conseguirse usando una fase móvil de MeOH al 8 %/ CO_2 al 98 % con un caudal de 100 ml/min. En ese caso, la muestra se preparó disolviendo en metanol, 20 mg/ml, y usando un volumen de 1 ml por inyección. Después de la separación, las fracciones se retiraron por secado con un evaporador rotatorio a una temperatura de baño de 40 °C.

La estereoquímica absoluta de cada enantiómero 3A y 3B se dedujo basándose en la determinación de estructura cristalina de rayos X de un compuesto final hecho con 3B, y por análisis de RMN H de un éster de Mosher éster y un éster de Trost de éteres hechos a partir de 3B (se usó 4-[(2R)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)etil]piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo).

INTERMEDIO 3B (Método 2)

Etapa A: 3-hidroximetil-2-metil fenol: En un matraz de FR de 3 bocas y 5 l, equipado con un agitador en su parte superior, se cargaron NaBH_4 (87,0 g, 2,30 mol) y THF (3,0 l) y la suspensión resultante se enfrió a 10 °C. Después, a la suspensión se le añadió en porciones ácido 3-hidroxi-2-metilbenzoico (175 g, 1,15 mol) durante 20 min ($T_{\text{máx}} 17$ °C). Se formó una suspensión agitable, y se maduró durante 45 min más a 10-15 °C, después de lo cual se añadió lentamente $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (321 ml, 2,53 mol) durante 1,5 horas. La suspensión se maduró a 10 °C-15 °C durante 2 h, después se ensayó la finalización de la reacción (conversión del 98,5 %). La suspensión se enfrió a < 10 °C y se inactivó con 931 ml de MeOH lentamente durante 1,5 h (desprendimiento de gas). La suspensión resultante se maduró durante una noche a TA. El lote se enfrió a < 10 °C, después se inactivó con HCl 1 N (1,5 l) para obtener una solución homogénea (solución de pH ~1), que se maduró durante 30 min, y después los disolventes orgánicos se retiraron por evaporación rotatoria a aproximadamente 1,8 l del volumen total de reacción (la temperatura del baño se ajustó a 50 °C; la temperatura interna de concentrado después de evaporación rotatoria fue ~40 °C). La suspensión se mantuvo a 45 °C durante 30 min, después se enfrió lentamente a 15 °C. Los sólidos se filtraron y se lavaron con agua (2 x 300 ml) fría (15 °C), proporcionando 3-hidroximetil-2-metil fenol.

Etapa B: 4-Bromo-3-hidroximetil-2-metil fenol: Se disolvió 3-hidroximetil-2-metil fenol (113,9 g, 824,0 mmol) en una mezcla de acetonitrilo (850 ml) y ácido trifluoroacético (750,0 ml, 9,735 mmol) en un matraz de 5 l y 3 bocas en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió a -33 °C. Se añadió N-bromosuccinimida (141 g, 791 mmol) durante 15 minutos, con la temperatura durante la adición en el intervalo de -35 a -33 °C. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 15 min más, tiempo durante el cual la temperatura disminuyó a -40 °C. El baño de refrigeración se retiró y se añadió carbonato potásico (741,0 g, 5,358 mmol) diluido con agua a un total de 1,0 l. Se observó desgasificación, y la temperatura se elevó a 25 °C. Se añadió MTBE (1,5 l) y la mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación. Las capas se separaron. La capa acuosa se diluyó con agua (500 ml) y se extrajo con MTBE (1 l) + EtOAc (500 ml), y después MTBE (500 ml) + EtOAc (250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (240 ml) y se secaron sobre sulfato sódico. El sulfato sódico se retiró por filtración, se lavó con más cantidad de MTBE y se concentró a presión reducida. Se añadió MTBE (684 ml, 2 volúmenes) y la suspensión se calentó a 40 °C para producir una solución homogénea. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadieron seis volúmenes de heptano y la suspensión se agitó durante una noche. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con 4:1 de heptano: MTBE (500 ml), seguido de heptano (500 ml). El sólido se secó al vacío, proporcionando 4-bromo-3-hidroximetil-2-metil fenol.

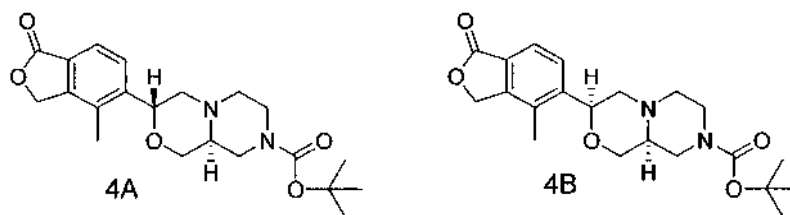
Etapa C: 5-Hidroxi-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona: En un matraz de 3 bocas y 2 l 3, equipado con un agitador en su parte superior, una entrada de N₂ y un condensador se cargaron 4-bromo-3-hidroximetil-2-metil fenol (100 g, 461 mmol), CuCN (83,0 g, 921 mmol) y DMF (500 ml). La solución se roció con N₂ durante 15 min, después se calentó a 145 °C para obtener una solución homogénea. La solución se maduró a 145 °C durante 2 h, después la mezcla de reacción se enfrió a 95 °C. Se añadieron 41,5 ml de agua (rociada con N₂) y la reacción se maduró durante 20 h. La reacción se enfrió a TA, después los sólidos se filtraron a través de Solka Flok y la torta se lavó con 50 ml de DMF. En un matraz de 3 l que contenía 1 l de EtOAc se añadió el filtrado de DMF. Se formó un recubrimiento de precipitado en la parte inferior del matraz. La suspensión de DMF/EtOAc se filtró a través de Solka Flok y la torta se lavó con 250 ml de EtOAc. El filtrado resultante se lavó con una solución al 5 % de salmuera (3 x 500 ml). Las capas acuosas se extrajeron con 500 ml de EtOAc y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron. Los sólidos se suspendieron en 250 ml de MTBE a TA, después se filtraron y se lavaron con 100 ml de MTBE. Los sólidos se secaron al vacío a TA, proporcionando 5-hidroxi-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona.

Etapa D: 4-Metil-1-oxo-1,3-dihidro-isobenzofuran-5-il éster del ácido trifluorometanosulfónico: Se suspendió 5-hidroxi-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona (46,8 g, 285 mmol) en diclorometano (935 ml) en un matraz de fondo redondo de 2 l equipado con un agitador en su parte superior en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió trietilamina (59,5 ml, 427 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo a 3,8 °C. Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (67,4 ml, 399 mmol) mediante un embudo de adición durante 50 min, manteniendo la temperatura < 10 °C. Después de agitar la mezcla de reacción durante 15 min más, la mezcla de reacción se inactivó con agua (200 ml), después se agitó con DARCO® KB (carbono activado, 25 g) durante 15 min. La mezcla bifásica se filtró sobre Solka Flok, lavando con más cantidad de diclorometano y se transfirió a un embudo de decantación, momento en el que se diluyó con más cantidad de agua (300 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (500 ml) y salmuera al 10 % (200 ml). La solución de diclorometano se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó. El sólido se absorbió sobre gel de sílice (27,5 g) y se eluyó a través de una capa de gel de sílice (271 g) con acetato de etilo al 25 %/hexanos. La solución resultante se concentró al vacío, precipitándose el producto durante la concentración. La suspensión se filtró, el sólido se lavó con heptano y se secó al vacío y con nitrógeno, proporcionando el compuesto del título.

Etapa E: 5-(1-Butoxi-vinil)-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona: En un matraz de 3 bocas y 1 l se cargaron 4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-isobenzofuran-5-il éster del ácido trifluorometanosulfónico (63,0 g, 213 mmol), DMF (315 ml), butil vinil éter (138 ml, 1063 mmol) y después Et₃N (35,6 ml, 255 mmol). La solución se roció con N₂ durante 20 min. A la solución se le añadieron Pd(OAc)₂ (1,19 g, 5,32 mmol) y DPPP (2,41 g, 5,85 mmol) y se roció durante 10 min más, después se calentó a 80 °C. Después de madurar 1 h, la solución se enfrió a < 10 °C, después se inactivó con 630 ml de EtOAc y se lavó con NH₄Cl al 5 % (2 x 315 ml), salmuera al 10 % (2 x 315 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró por evaporación rotatoria y se lavó abundantemente con EtOAc (3 x 100 ml) para retirar el exceso de butil vinil éter, proporcionando 5-(1-butoxi-vinil)-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona en bruto.

Etapa F: 5-(2-Bromo-acetil)-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona: En un matraz de 3 bocas y 1 l, equipado con un agitador en su parte superior se añadieron 5-(1-butoxi-vinil)-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona en bruto (55,8 g) y THF (315 ml). La solución se enfrió a < 5 °C, después de lo cual se añadió agua (79 ml) y la solución se mantuvo a < 5 °C. Después, se añadió en porciones NBS (41,6 g) mientras se mantenía T_{máx} = 19 °C. Después, la solución se calentó a TA durante 30 minutos. Se añadió HBr (48 %, 0,241 ml) y la reacción se maduró a TA durante aproximadamente 1 h, después de lo cual se añadieron 236 ml de agua al lote. Se usó un baño de agua para mantener la temp. a 20 °C. Se añadieron 315 ml más de agua (composición del disolvente 1:2 de THF:agua) y la suspensión se enfrió a 15 °C. Los sólidos resultantes se filtraron y se lavaron con 1:2 de THF:agua fría (15 °C): lavado de desplazamiento de 150 ml, seguido de lavado de suspensión de 100 ml. Los sólidos se secaron al vacío a TA para proporcionar 5-(2-bromo-acetil)-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona.

Etapa G: 4-metil-5-[(2R)-oxiran-2-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona: Se cargó 5-(2-bromo-acetil)-4-metil-3H-isobenzofuran-1-ona (48,8 g, 181 mmol) en un matraz de FR de 3 bocas y 5 l, equipado con un agitador en su parte superior, un termopar y un manto térmico. Se añadió 2-propanol (1,22 l), seguido de 610 ml de tampón fosfato de potasio 1 M de pH 7. Se cargó solución tampón (610 ml) en un matraz Erlenmeyer de 1,0 l y se añadieron 2,44 g de NADP en el matraz Erlenmeyer y se agitó para disolver. Se añadió una enzima de reducción, KRED MIF-20 (2,44 g) (disponible de Codexis, Inc., 200 Penobscot Drive, Redwood City, CA 94063, www.codexis.com, tel. 1-650-421-8100) en el matraz Erlenmeyer y la mezcla se agitó para disolver los sólidos. La solución resultante se añadió al matraz de fondo redondo de 5 l, que después se calentó a 28 °C y se maduró durante 6 horas, momento en el que la reacción se enfrió a TA y se añadió trietilamina (50,2 ml, 360 mmol). La solución resultante se maduró a 40 °C durante 1 h. La solución de suspensión ligera se enfrió a TA, después de lo cual se añadieron 122 g de NaCl. La solución se maduró a TA, después se extrajo con 1,22 l de acetato de isopropilo (IPAc). La capa acuosa se extrajo de nuevo con 400 ml de IPAc y los extractos orgánicos combinados se lavaron con 400 ml de solución al 20 % de salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria. Los sólidos resultantes se recogieron en 100 ml de IPAc (suspensión espesa). Se añadieron hexanos (400 ml) y la suspensión se maduró a TA, después se filtró y se lavó con una solución 5:1 de Hexanos:IPAc (150 ml). Los sólidos se secaron al vacío a TA para proporcionar 4-metil-5-[(2R)-oxiran-2-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,75 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 4,10 (dd, J = 4,0, 2,8, 1H), 3,26 (dd, J = 5,6, 4,0, 1H), 2,72 (dd, J = 5,6, 2,8, 1H), 2,42 (s, 3H).



4A: (3R,9aS)-3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y

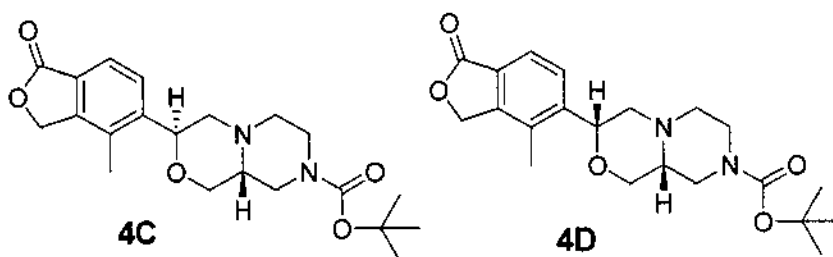
5 **4B:** (3S,9aS)-3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

10 Etapa A: (3S)-3-(hidroximetil)-4-[2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)etil]piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se suspendieron 4-metil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona (3,00 g, 15,8 mmol) y (S)-4-N-BOC-2-hidroximetilpiperazina (5,12 g, 23,7 mmol) en etanol (10 ml) en un tubo para microondas de 20 ml. La mezcla de reacción se desgasificó y se calentó en un aparato de microondas durante 30 min a 150 °C. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad, después se sometió a cromatografía a través de una columna Redi-sep de 330 g y se eluyó con un sistema de disolventes de 1:1 de EtOAc/hexano a EtOAc al 100 % para producir el compuesto del título. CL-EM : M+1 = 407.

15 Etapa B: (9aS)-3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron (3S)-3-(hidroximetil)-4-[2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)etil]piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,3 g, 8,2 mmol) y cianometileno tri-n-butilfosforano (2 equivalentes) en 45 ml de benceno en un tubo desgasificado y cerrado herméticamente. La mezcla se calentó a 100 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 330 g y se eluyó con una mezcla de acetona al 30 %/hexano al 70 % para producir el compuesto del título en forma de una mezcla *cis-trans*. CL-EM: M+1 = 389.

20 Etapa C: Intermedios **4A** y **4B**: La mezcla *cis/trans* del producto de la Etapa B se separó usando una columna Chiralpak AD, 4,6 x 250 mm, 10 μ, con un sistema de disolventes de IPA al 30 %/heptano al 70 %. El isómero *trans* **4A** se eluyó en primer lugar a 15,7 min y el isómero *cis* **4B** segundo a 24,9 min. **4A:** RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,82 (d, J = 8 Hz, 1H) 7,73 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 4,97 ppm (dd, J = 2,5, 10 Hz, 1H), 4,02 (dd, J = 2,5, 11 Hz, 1H), 3,87-4,18 ppm (a, 2H) 3,53 ppm (t, J = 11 Hz, 1H), 3,04 (a, 1H), 2,88 ppm (d, J = 12 Hz, 1H), 2,76 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 2,54-2,59 (a, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,22-2,34 (m, 3H), 1,50 (s, 9H); CL-EM: M+1=389. **4B:** RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,12 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,29 (s, 2H), 5,01 (t, J = 4 Hz, 1H), 3,69-4,03 (a, 2H), 3,62 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 3,38 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,23 (dd, J = 4, 12 Hz, 1H), 3,09-3,20 ppm (a, 1H), 2,81 (dd, J = 4, 12 Hz, 1H), 2,69-2,90 ppm (a, 2H), 2,55-2,58 (a, 2H), 2,38 ppm (s, 3H), 1,50 ppm (s, 9H); CL-EM: M+1 = 389.

INTERMEDIOS 4C y 4D

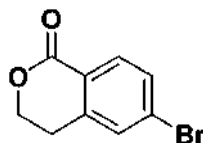


35 **4C:** (3S,9aR)-3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilatos de *terc*-butilo

40 **4D:** (3R,9aR)-3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

45 Los intermedios **4C** y **4D** se prepararon de una manera similar a la descrita anteriormente para **4A** y **4B**, excepto porque se usó (R)-4-N-BOC-2-hidroximetilpiperazina en lugar de (S)-4-N-BOC-2-hidroximetilpiperazina. Los isómeros *cis-trans* **4C** y **4D** se separaron usando una columna ChiralCEL OD, 4,6 x 250 mm, 10 μ, con el sistema de disolventes IPA al 20 %/heptano al 80 %. El isómero *trans* **4C** se eluyó en primer lugar a 22,8 min y el isómero *cis* **4D** se eluyó a 37,8 min: **4C:** RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,82 (d, J = 8 Hz, 1H) 7,73 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 4,97 (dd, J = 2,5, 10 Hz, 1H), 4,02 (dd, J = 3, 11 Hz, 1H), 4,05-4,20 (a, 2H) 3,53 (t, J = 4 Hz, 1H), 3,05 (a, 1H), 2,88 (dd, J = 2, 11,7 Hz, 1H), 2,75 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,55 (a, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,22-2,36 (m, 3H), 1,51 (s, 9H); CL-EM: M+1 = 389. **4D:** RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,12 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,30 (d, J = 1,8, 2H), 5,02 (t, J = 3,85 Hz, 1H), 3,70-4,05 (a, 2H), 3,62 (dd, J = 3, 11,65 Hz, 1H), 3,37 (t, J = 9 Hz, 1H), 3,23 (dd, J = 4, 12 Hz, 1H), 3,10 (a, 1H), 2,80-2,86 (m, 3H), 2,57 (a, 2H), 2,38 ppm (s, 3H), 1,50 ppm (s, 9H); CL-EM: M+1=389.

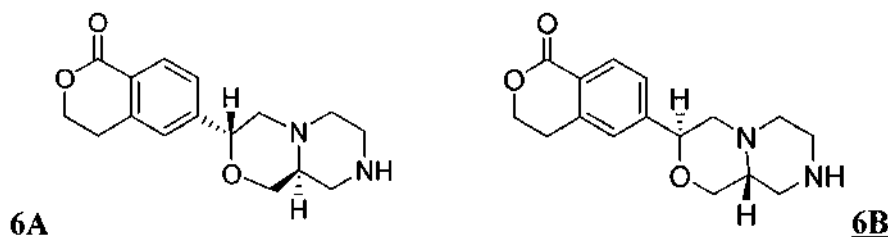
INTERMEDIO 5

5 6-Bromo-3,4-dihidro-1H isocromen-1-ona

Método A: Un matraz de fondo redondo, de tres bocas y 250 ml, equipado con un septo, una entrada aguja de nitrógeno y un termopar se cargó con diisopropilamina (3,10 g, 30,6 mmol) y 30 ml de THF. La mezcla de reacción se enfrió a -20 °C mientras se añadía gota a gota n-BuLi (2,5 M, 12,2 ml, 30,6 mmol) mediante una jeringa manteniendo la temperatura interna por debajo de 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 0 °C durante 15 min. Después, la mezcla de reacción se enfrió a -40 °C mientras se añadía gota a gota 4-bromo-2-metilbenzonitrilo (4,00 g, 20,4 mmol) en 10 ml de THF mediante una jeringa durante 1 h. Una temperatura interna de aprox. -40 °C se mantuvo durante la adición. La mezcla de reacción resultante se agitó a -40 °C durante 30 min y después se cargó con DMF (2,98 g, 40,8 mmol, aprox. 50 ppm de agua) en una porción. La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 15 min. La mezcla de reacción se inactivó con MeOH (5 vol., 20 ml) y después se cargó con NaBH₄ (0,770 g, 20,4 mmol) en una porción y se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de la reducción completa del aldehído intermedio (según se juzgó por análisis de HPLC), la mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con HCl 5 M (con refrigeración) para ajustar el pH a 2-3. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc y después el disolvente se cambió a EtOH (40 ml). Se añadió H₂SO₄ (98 %, 20,0 g, 204 mmol) en una porción y la mezcla de reacción resultante se agitó a la temperatura de reflujo durante 24 h. Después de la ciclación completa (supervisada por análisis de HPLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después el disolvente se cambió a EtOAc. La capa orgánica resultante se lavó con agua y salmuera y el disolvente se cambió a MTBE. La precipitación en 1:1 de MTBE:heptano proporcionó 6-bromo-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona.

Método B: Una solución de DIPA (4 M, 270 ml, 1080 mmol) en THF (900 ml) se enfrió a -65 °C y se añadió gota a gota hexil litio (2,1 M, 505 ml, 1060 mmol) durante 15 min, manteniendo la temp. interna < -55 °C. Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta -40 °C, donde se agitó durante 30 min. A la solución resultante de LDA se le añadió lentamente (durante 15 min) ácido 4-bromo-2-metilbenzoico (90 g, 419 mmol) en forma de una solución en THF (400 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a -40 °C y después se calentó a 15 °C, punto en el que se añadió paraformaldehído (50,30 g, 1674 mmol) en 3 porciones en forma de un sólido, manteniendo la temperatura interna (baño de hielo agua) por debajo de <18 °C. Después, se continuó agitando a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de una segunda hora de agitación, el recipiente se sumergió en un baño de agua enfriada con hielo y se añadió HCl 3 N (650 ml) a una velocidad tal para mantener la temperatura interna inferior a 30 °C. Posteriormente, los contenidos del recipiente de reacción se transfirieron a un embudo de decantación, donde se extrajeron con 3 x 400 ml de EtOAc y después las fases orgánicas combinadas se concentraron a un volumen total de ~800 ml. A esto se añadió resina Amberlyst 15 (12 g) y la mezcla resultante se agitó a 48 °C durante una noche (~14 h). El análisis de HPLC a la mañana siguiente indicó que la ciclación en la 6-bromo-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona deseada estaba casi completa. La resina se retiró por filtración y la solución se concentró a un volumen total de ~200 ml, punto en el que el producto deseado comenzó a precipitar y después los sólidos se recogieron por filtración. Posteriormente, la torta se lavó con MTBE (2 x 80 ml) para dar el primer cultivo de producto. Se rescató material adicional lavando el sobrenadante recogido 2x con 200 ml de K₂CO₃ ac. al 10 %, seguido de 200 ml de H₃PO₄ 1 M. Después de concentración a ~100 ml, el material precipitado se recogió por filtración, se lavó con MTBE y después se combinó con el primer cultivo de 6-bromo-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona y se secó.

INTERMEDIO 6A y 6B

50 6A: 6-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona

Etapa A: 6-(bromoacelil)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Se ponderaron 6-bromo-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona (6,90 g, 30,4 mmol), tributil(1-etoxietenil)estano (10,8 ml, 31,9 mmol, 1,05 equiv.) y PdCl₂(PPh₃)₂ (1,07 g, 1,52 mmol, 0,05 equiv.) en un matraz de fondo redondo de 250 ml. A esto se añadió dioxano (70 ml) y la mezcla

resultante se agitó a 80 °C durante 4 h. La reacción no estaba completa según HPLC, por tanto se añadieron 0,1 equiv, más de reactivo de estaño. Después de 30 min, la 6-bromo-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona se había consumido por completo según se indicó por HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadieron 35 ml de THF, seguido de 14 ml de H₂O. En esto se introdujo *N*-bromosuccinimida sólida (5,68 g, 31,9 mmol, 1,05 equiv.), añadida en porciones durante 5 min. Después de agitar durante 30 min todavía había evidencias de enol éter restante, por tanto se añadió NBS en pequeñas porciones (~300 mg adicionales añadidos) hasta que se consumió según se comprobó por HPLC. Después, se añadió agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. La capa acuosa se extrajo 2 veces más con EtOAc, los extractos orgánicos combinados se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. Esto se transfirió con EtOAc a un matraz de fondo redondo de 100 ml, la solución resultante se concentró a un volumen total de ~25 ml, punto en el que se añadió gota a gota hexano (50 ml). Cuando se completó, la mezcla heterogénea se agitó durante 30 min, después se enfrió a 0 °C y se agitó durante 10 min, después se filtró y se lavó dos veces con hexanos. El producto deseado se secó en una atmósfera de bolsa de nitrógeno, después se purificó por cromatografía ultrarrápida (EtOAc del 12 al 100 %/Hex) para proporcionar el compuesto del título.

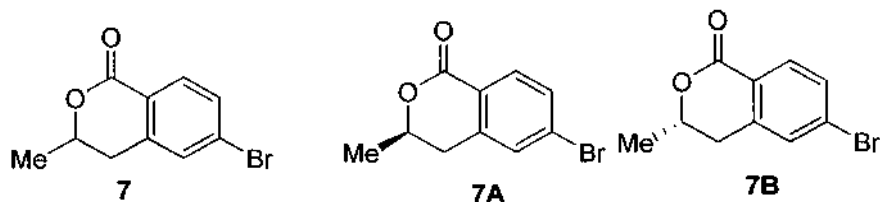
Etapa B: (9aS)-3-hidroxi-3-(1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo. Se añadieron 6-(bromoacetil)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona (~1,54 g, ~5,72 mmol, se indicó presencia de α -clorocetona, ~10 %) y (S)-4-N-BOC-2-hidroxi metilpiperazina disponible en el mercado (1,24 g, 5,72 mmol) a un matraz de fondo redondo y se diluyeron con THF (50 ml). Después, se introdujo diisopropiletilamina (1,30 ml, 7,44 mmol) y la mezcla se dejó en agitación durante 14 h a TA, tiempo durante el cual se había formado una cantidad considerable de sólido (presumiblemente sal HBr de DIPEA). La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, después se lavó con NH₄Cl ac. saturado, seguido de H₂O. Ambas capas acuosas se extrajeron de nuevo secuencialmente una vez otra porción de EtOAc, después los extractos orgánicos se combinaron, se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto en bruto recuperado se sometió a purificación por cromatografía ultrarrápida (Biotage, EtOAc al 50 %/Hex) para proporcionar el compuesto del título.

Etapa C: 6-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona. Se diluyó (9aS)-3-hidroxi-3-(1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo (1,84 g, 4,55 mmol) con TFA (18 ml, 234 mmol) y se enfrió a 0 °C. Fue evidente un poco de desgasificación y después de unos pocos minutos había formado una solución homogénea. Aproximadamente 5 minutos después de la adición de TFA, se añadió Et₃SiH (5,09 ml, 31,8 mmol) y la mezcla de reacción se dejó calentar lentamente a TA (se dejó calentar de forma natural en el baño de hielo) donde se agitó durante 18 h. La proporción diastereomérica trans:cis pareció ser ~95:5. El recipiente de reacción se transfirió a un evaporador rotatorio y se concentró al vacío en un líquido de dos fases. Este material en bruto se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con NaHCO₃ ac. y después agua. Posteriormente, las capas acuosas mantenidas por separado se extrajeron una vez con la misma porción de CH₂Cl₂, los extractos orgánicos combinados se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se secó al vacío doméstico y después la mezcla se purificó adicionalmente por cromatografía ultrarrápida (MeOH al 2 %, Et₃N al 2 % en CH₂Cl₂) para proporcionar el compuesto del título.

6B: 6-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona

El mismo procedimiento descrito anteriormente para preparar 6-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona se usó para preparar el compuesto del título partiendo de 6-(bromoacetil)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona y (R)-4-N-BOC-2-hidroxi metilpiperazina disponible en el mercado; **CL-EM** (IE, m/z): 289,1 [M+1]⁺.

INTERMEDIO 7 e ISÓMEROS 7A Y 7B



6-Bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona e isómeros individuales (3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona y (3S)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Una solución a -78 °C de diisopropilamina (13,3 ml, 93,0 mmol) en THF (155 ml) se trató con *n*-BuLi (1,6 M en Hexanos; 58 ml, 93 mmol) durante un periodo de 15 minutos usando una bomba de jeringa. En un matraz separado, una solución de ácido 2-metil-4-bromobenzoico (10,0 g, 46,5 mmol) y HMPA (8,33 ml, 46,5 mmol) en THF (155 ml) se enfrió a -78 °C. Se añadió lentamente metil-litio (29,1 ml, 46,5 mmol) mediante una jeringa a la solución enfriada. La solución resultante se agitó durante 10 minutos y después se transfirió mediante una cánula a la solución de LDA a -78 °C. La solución resultante se agitó a -78 °C durante 1 h más antes de inactivarse con acetaldehído anhidro (7,88 ml, 140 mmol) y después la reacción se retiró del baño de hielo seco y acetona y se dejó en agitación durante 1 h más. Después, el matraz que contenía la mezcla de reacción se sumergió de nuevo en el baño de hielo seco y acetona antes de

inactivarse con HCl 4 M en dioxano (50 ml), seguido de 25 ml de MeOH. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h más. La mezcla de reacción en bruto se repartió entre 200 ml de acetato de etilo y 200 ml de agua. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La purificación mediante MPLC (DCM al 30-70 %/Hexanos) proporcionó **7** en forma de una mezcla racémica que pudo separarse por HPLC quiral de SFC usando, por ejemplo, una columna Chiralpak AS para obtener **7A** y **7B**. RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): δ 7,98 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,56 (dd, J = 1,5, 8,2 Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 4,71 (m, 1H), 2,94 (m, 2H), 1,55 (d, J = 6,3 Hz, 3H); CL-EM (IE, m/z): 241 [M+1]⁺.

INTERMEDIO 7A (Método 2)

(3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona

Etapa A: 4-bromo-N,N-dietil-2-metilbenzamida: Una solución de ácido 4-bromo-2-metilbenzoico (25,0 g, 116 mmol) en DCM (400 ml) se trató con cloruro de oxalilo (11,7 ml, 134 mmol) y una cantidad catalítica de DMF seca (0,1 ml). La reacción se dejó en agitación en una atmósfera de nitrógeno durante 2 horas a temperatura ambiente. La retirada del exceso de disolvente dio cloruro de ácido en bruto, que se disolvió de nuevo en DCM (400 ml). Después, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió trietilamina (40,5 ml, 291 mmol), seguido de la adición lenta de dietilamina (24,3 ml, 233 mmol). Después, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla en bruto después se diluyó con 400 ml de agua y se extrajo con DCM (3 x 500 ml). Después, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y después se concentraron. El material en bruto se purificó mediante MPLC (EtOAc al 10 %/Hex) para proporcionar 4-bromo-N,N-dietil-2-metilbenzamida: **CL-EM:** (M+H)⁺ 270.

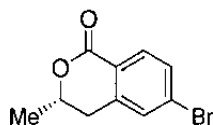
Etapa B: 4-bromo-N,N-dietil-2-(2-oxopropil)benzamida: Una solución 2 M de LDA (35,2 ml, 70,3 mmol) en THF (176 ml) enfriada a -78 °C se trató con adición lenta de 4-bromo-N,N-dietil-2-metilbenzamida (19 g, 70,3 mmol) en THF seco (176 ml). La reacción se dejó en agitación a -78 °C durante 1 hora antes de interrumpirse con N-metoxi-N-metilacetamida (22,43 ml, 211 mmol) y se dejó calentar lentamente a temp. ambiente. La reacción se agitó durante una noche y después se repartió entre HCl 1 N (200 ml) y EtOAc (400 ml). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (2 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El material en bruto fue un aceite del que se precipitó el producto. El aceite se retiró por decantación y el sólido se lavó con hexanos y se secó usando un embudo Büchner para proporcionar 4-bromo-N,N-dietil-2-(2-oxopropil)benzamida: **CL-EM:** (M+H)⁺ 312.

Etapa C: 4-bromo-N,N-dietil-2-[(2R)-2-hidroxiopropil]benzamida: Un matraz equipado con un agitador en su parte superior se cargó con tampón fosfato de pH = 8 (156 ml, 31,2 mmol), seguido de D-glucosa (1,298 g, 7,21 mmol) y después se calentó a 30 °C. Después, se añadieron en una sola vez 135 mg de glucosa deshidrogenasa y 270 mg de NADP + disodio a la solución de glucosa/tampón, se obtuvo una solución homogénea después de 1 min agitando. Después, se añadieron 577 mg de enzima de cetoreductasa KRED P1B2 (disponible de Codexis, Inc., 200 Penobscot Drive, Redwood City, CA 94063, www.codexis.com, tel. 1-650-421-8100) al recipiente de reacción y se agitó a 500 rpm a 30 °C hasta que la enzima se humedeció (aproximadamente 40 min). Por último, se añadió a la reacción una solución de 4-bromo-N,N-dietil-2-(2-oxopropil)benzamida (1,5 g, 4,80 mmol) disuelta en DMSO (14,56 ml) (precalentado en una placa de agitación a 30 °C) durante ~3 min y se agitó a 30 °C (400 rpm) durante una noche.

Después de 48 horas, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se añadieron en porciones 75 g de carbonato potásico a la reacción y se agitó durante 15 minutos hasta que la enzima se aglomeró cuando se detuvo la agitación. Después, se vertió acetonitrilo (50 ml) en el matraz de reacción y las capas se mezclaron concienzudamente. La agitación se detuvo después de 15-20 minutos, se dejó que se separaran las capas y la capa superior se retiró por decantación. Esto se repitió dos veces más con 50 ml más de acetonitrilo. Después, las capas orgánicas combinadas se filtraron a través de un embudo de porosidad media, se concentraron y después se añadieron 50 ml de MTBE al concentrado y se agitaron durante 5 min y después se transfirieron a un embudo de decantación y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con 50 ml más de MTBE. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación mediante MPLC (EtOAc al 30-70 %/Hex) proporcionó 4-bromo-N,N-dietil-2-[(2R)-2-hidroxiopropil]benzamida.

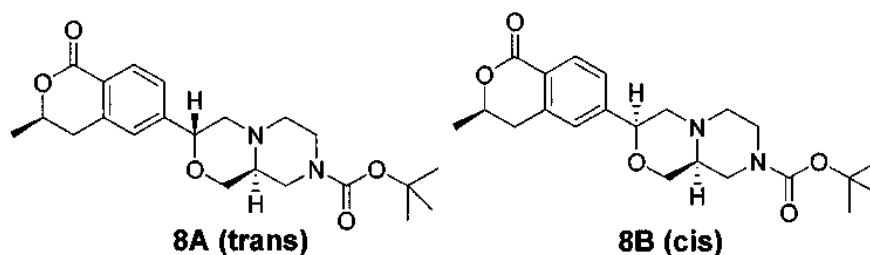
Etapa D: (3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Una solución de 4-bromo-N,N-dietil-2-[(2R)-2-hidroxiopropil]benzamida (12,2 g, 38,8 mmol) disuelta en HCl 4 N en dioxano (200 ml) se agitó a temperatura ambiente y se supervisó por TLC. Después de 3 días, la reacción se repartió entre EtOAc (300 ml) y agua (300 ml). La fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (2 x 250 ml). Después, las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (200 ml) y salmuera (200 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Después, el material en bruto se purificó mediante MPLC (EtOAc al 15-30 %/Hexano) para proporcionar (3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: **RMN** ¹H (500 MHz; CDCl₃): 7,98 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,56 (dd, J = 1,5, 8,2 Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 4,71 (m, 1H), 2,94 (m, 2H), 1,55 (d, J = 6,3 Hz, 3H); CL-EM: (M+1)⁺ 241.

INTERMEDIO 7B (Método 2)



- 5 (3S)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Se preparó (3S)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona de una manera similar a (3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona, excepto porque se usó enzima ceto-reductasa KRED P1H9 (disponible de Codexis, Inc., 200 Penobscot Drive, Redwood City, CA 94063, www.codexis.com, tel. 1-650-421-8100) en la Etapa C, que dio el enantiómero opuesto del alcohol resultante.

10 INTERMEDIOS 8A y 8B



15 **8A:** (3R,9aS)-3-[(3R)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-(1H)-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

8B: (3S,9aS)-3-[(3R)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

20 Etapa A: (3R)-6-etenil-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Una solución de (3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona (2,4 g, 9,96 mmol) y trietilamina (2,78 ml, 19,91 mmol) en EtOH (39,8 ml) se añadió a un vial para microondas que contenía PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (0,406 g, 0,498 mmol) y viniltrifluoroborato de potasio (2,000 g, 14,93 mmol). Los contenidos del vial se calentaron a 100 °C durante 1 hora, después de lo cual la mezcla se enfrió, se diluyó con cloroformo (50 ml) y se lavó con cloruro de amonio acuoso (25 ml). Después, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. La purificación de MPLC (EtOAc al 15-60 %/Hex) dio el compuesto del título.

25 Etapa B: (3R)-3-Metil-6-(oxiran-2-il)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Una solución de 6-etenil-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona (1,69 g, 8,98 mmol) en DCM (60 ml) se trató con mCPBA (3,100 g, 17,96 mmol) durante una noche a temperatura ambiente. Después, la reacción se diluyó con agua (50 ml) y DCM (50 ml). La capa orgánica adicionalmente se lavó sucesivamente con bicarbonato sódico acuoso saturado (30 ml), agua (30 ml) y salmuera (30 ml). Después, la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante MPLC (EtOAc al 15-40 %/Hex) para dar el compuesto del título.

30 Etapa C: (3S)-3-(hidroximetil)-4-{2-hidroxi-2-[(3R)-3-metil-1-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]etil}piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Una solución de (3R)-3-metil-6-(oxiran-2-il)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona (325 mg, 1,59 mmol) y (3S)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (345 mg, 1,59 mmol disueltos en EtOH) (7 ml) se calentó en un tubo cerrado herméticamente a 155 °C durante 3 horas en el microondas. La reacción se enfrió y se concentró para dar un producto en bruto que se purificó mediante MPLC (EtOAc al 40-100 %/Hexano) para dar el compuesto del título en forma de una mezcla de diastereómeros.

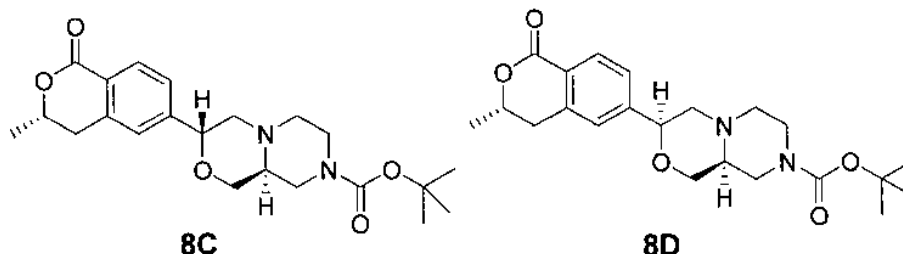
35 Etapa D: (3R,9aS)-3-[(3R)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3S,9aS)-3-[(3R)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Un tubo cerrado herméticamente que contenía (3S)-3-(hidroximetil)-4-{2-hidroxi-2-[(3R)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]etil}piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo en forma de una mezcla de diastereómeros (530 mg, 1,26 mmol) y cianometileno tributilfosforano (304 mg, 1,26 mmol) disuelto en benceno anhidro (8 ml) se desgasificó dos veces con nitrógeno y después se calentó usando un microondas a 135 °C durante 2,5 horas. La reacción se dejó enfriar y la mezcla en bruto se concentró y se purificó en una MPLC (EtOAc al 20-65 %/Hex) para proporcionar una mezcla de diastereómeros, así como material de partida recuperado. La mezcla *cis/trans* se purificó mediante HPLC quiral (EtOH al 10 %/Heptano) usando una columna AS para dar el isómero *trans* como el pico de elusión más rápida y el isómero *cis* como el pico de elusión más lenta. Como alternativa, la mezcla puede separarse por SFC-HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 40 %/CO₂) usando una columna IC.

40 **8A:** RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): 8,08 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 4,70 (m, 2H), 4,00 (s, 2H), 3,96 (dd, *J* = 3,0, 11,3 Hz, 2H), 3,48 (t, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,95 (m, 4H), 2,74 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 2,2 (m, 3H), 1,53 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,49 (s, 9H);

CL-EM: (M+1)⁺ 403; **8B:** RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): 8,10 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,40 (s, 1H),

4,81 (t a, 1H), 4,71 (m, 1H), 3,62 (dd, $J = 2,8, 11,5$ Hz, 1H), 3,41 (m, 1H), 3,25 (dd, $J = 3,7, 12,1$ Hz, 1H), 2,95 (m, 4H), 2,76 (m, 3H), 2,50 (m, 2H), 2,28 (m, 1H), 1,54 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,49 (s, 9H); CL-EM: (M+1)⁺ 403.

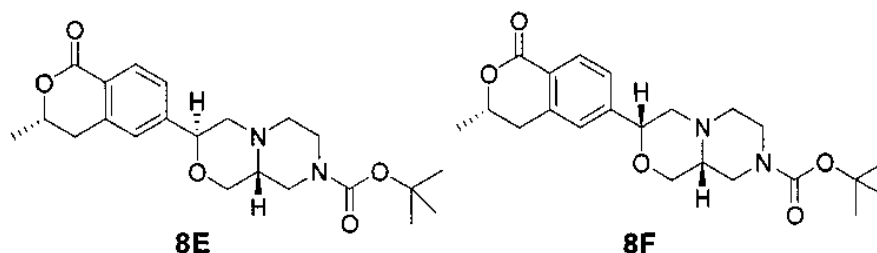
INTERMEDIOS 8C y 8D



8C: (3R,9aS)-3-[(3S)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

8D: (3S,9aS)-3-[(3S)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: Se prepararon **8C** y **8D** de una manera similar a los Intermedios **8A** y **8B** excepto porque se usó (3S)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona como el material de partida. La mezcla cis/trans se purificó mediante HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 30 %/CO₂) en una columna AD. El diastereómero de elusión más rápida fue el isómero *trans*. **8C:** RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): 8,07 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 4,72 (dd, $J = 1,8, 10,5$ Hz, 1H), 4,68 (m, 1H), 4,1-3,8 (s a, 2H), 3,96 (dd, $J = 3,0, 11,3$ Hz, 2H), 3,48 (t, $J = 10,7$ Hz, 1H), 2,95 (m, 4H), 2,74 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 2,2 (m, 3H), 1,54 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,49 (s, 9H); CL-EM: (M+1)⁺ 403; **8D:** RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): 8,10 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,54 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 4,81 (t a, 1H), 4,71 (m, 1H), 3,62 (dd, $J = 2,8, 11,5$ Hz, 1H), 3,41 (m, 1H), 3,25 (dd, $J = 3,7, 12,1$ Hz, 1H), 2,95 (m, 4H), 2,76 (m, 3H), 2,50 (m, 2H), 2,28 (m, 1H), 1,54 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,48 (s, 9H); CL-EM: (M+1)⁺ 403.

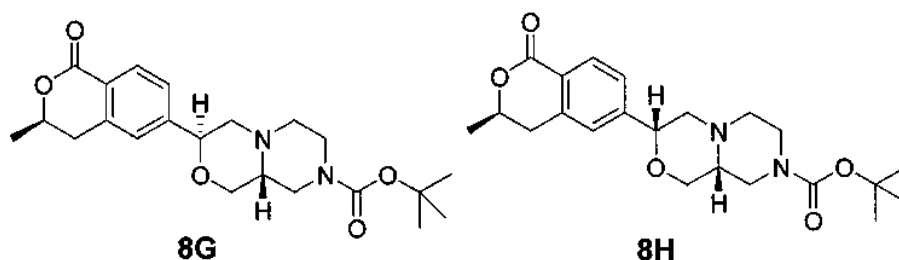
INTERMEDIOS 8E y 8F



8E: (3S,9aR)-3-[(3S)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo:

8F: (3R,9aR)-3-[(3S)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: Los Intermedios **8E** y **8F** se prepararon de una manera similar a los Intermedios **8A** y **8B** excepto porque se usaron (3S)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona y (3R)-3-(hidroximetil)piperazino-1-carboxilato de *tert*-butilo como los materiales de partida. La mezcla cis/trans se purificó mediante MPLC (EtOAc al 20-65 %/Hex). El diastereómero de elusión más rápida fue el isómero *trans*: **8E:** RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): 8,07 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 4,71 (dd, $J = 2,0, 10,7$ Hz, 1H), 4,68 (m, 1H), 4,0 (s a, 2H), 3,97 (dd, $J = 3,1, 11,1$ Hz, 2H), 3,48 (t, $J = 10,8$ Hz, 1H), 2,99 (m, 4H), 2,74 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 2,2 (m, 3H), 1,53 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,49 (s, 9H). (M+1)⁺ 403. **8F:** RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): 8,09 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 4,81 (t, $J = 3,6$ Hz, 1H), 4,69 (m, 1H), 3,62 (dd, $J = 3,0, 11,5$ Hz, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,24 (dd, $J = 3,6, 12,1$ Hz, 1H), 2,97 (m, 4H), 2,76 (m, 3H), 2,50 (m, 2H), 2,28 (m, 1H), 1,54 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,47 (s, 9H). (M+1)⁺ 403.

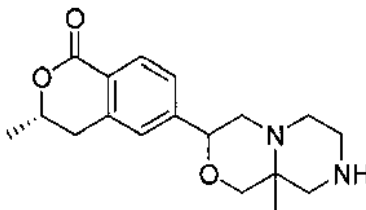
INTERMEDIOS 8G y 8H



8G: (3S,9aR)-3-[(3R)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

8H: (3R,9aR)-3-[(3R)-3-Metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: Se prepararon **8G** y **8H** de una manera similar a **8A** y **8B** excepto porque se usaron (3R)-6-bromo-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona y (3R)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo como los materiales de partida. La mezcla *cis/trans* se purificó mediante HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 20 %/CO₂) en una columna OJ. El diastereómero de elusión más lenta fue el isómero *trans*: **CL-EM** de **8G**: (M+1)⁺ 403; **8H**: **CL-EM**: (M+1)⁺ 403.

INTERMEDIO 9



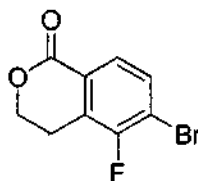
15 (3S)-3-Metil-6-(9a-metiloctahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)isocroman-1-ona

Etapa A: 4-(2-Hidroxi-2-((S)-3-metil-1-oxoisocroman-6-il)etil)-3-(hidroximetil)-3-metilpiperazin-1-carboxilato de bencilo: A una solución de 3-(hidroximetil)-3-metilpiperazin-1-carboxilato de bencilo racémico (1,0 g, 3,8 mmol) (preparada como se describe en la publicación de Patente de Estados Unidos N.º US2007/0088039A1, Ejemplo 10) en EtOH (13 ml) se le añadió (3S)-3-metil-6-(oxiran-2-il) isocroman-1-ona (773 mg, 3,80 mmol), la mezcla resultante se calentó a 80 °C durante 16 h, la mezcla de reacción se concentró a sequedad y se purificó sobre gel de sílice para proporcionar el compuesto del título: **CL/EM**: *m/e* 469,2 (M+H)⁺.

Etapa B: 9a-Metil-3-((S)-3-metil-1-oxoisocroman-6-il) hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de bencilo: La mezcla de 4-(2-hidroxi-2-((S)-3-metil-1-oxoisocroman-6-il)etil)-3-(hidroximetil)-3-metilpiperazin-1-carboxilato de bencilo (762 mg, 1,60 mmol) y cianometileno tributilfosforano (471 mg, 1,90 mmol) en benceno seco se desgasificó y se calentó a 135 °C en un reactor de microondas durante 3,5 h. Después de ese punto, la mezcla de reacción se enfrió a ta, se concentró a sequedad y se purificó sobre gel de sílice para proporcionar el compuesto del título (*cis* o *trans*): **EM**: *m/e* 451,2(M+H)⁺.

Etapa C: (3S)-3-Metil-6-(9a-metiloctahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)isocroman-1-ona: La mezcla de 9a-metil-3-((S)-3-metil-1-oxoisocroman-6-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de bencilo (215 mg, 0,500 mmol) y Pd al 10 %-C (56 mg, 0,05 mmol) en MeOH (10 ml) se agitó en una atmósfera de globo de hidrógeno durante 16 h. Después de ese punto, la solución se filtró a través de Celite y el filtrado resultante se concentró para proporcionar el compuesto del título: **CL/EM**: *m/e* 317,2(M+H)⁺.

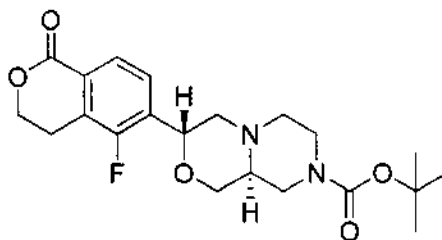
35 INTERMEDIO 10



40 6-Bromo-5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona

Etapa A: 4-Bromo-N-*tert*-butil-3-fluoro-2-(2-hidroxietil)benzamida: Una solución de diisopropilamina (6,2 ml, 44 mmol) en THF (200 ml) se trató con n-butil-litio (17,4 ml, 44,0 mmol) a 0 °C. La solución se agitó durante 30 min antes de enfriarse a -78 °C. Después, se añadió una solución de 4-bromo-N-*tert*-butil-3-fluorobenzamida (4,8 g, 17 mmol) en THF (100 ml). Después, la solución se calentó a -40 °C y se mantuvo ahí durante 1 h. Después, se añadió óxido de etileno (10 ml, 200 mmol) y la solución se calentó a 0 °C. Después de 1 h, el baño de hielo se retiró y la solución se dejó calentar a ta. La CL/EM indicó la presencia de producto deseado. La solución se inactivó con MeOH, se diluyó con salmuera (200 ml) y se extrajo con EtOAc (300 ml). La capa orgánica se retiró, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó usando un cartucho de 340 g Biotage SNAP (Hexanos al 0-60 %:EtOAc) para producir el compuesto del título: **CL-EM**: *m/z* 319,98 (M+H)⁺.

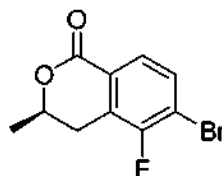
Etapa B: 6-Bromo-5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Una solución de 4-bromo-N-*tert*-butil-3-fluoro-2-(2-hidroxietil)benzamida. (1,8 g, 5,7 mmol) y TsOH (1,3 g, 6,9 mmol) en tolueno (100 ml)/THF (10 ml) se calentó a reflujo. Después de 1 h, los análisis de TLC y CL/EM indicaron la conversión completa. La solución se concentró a sequedad, seguido de dilución con Et₂O (150 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró, proporcionando el compuesto del título: **CL-EM**: *m/z*

246,92 (M+H)⁺.INTERMEDIO 11A (*trans*)

5

3-(5-Fluoro-1-oxoisocroman-6-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (3R,9aS)-terc-butilo: El compuesto del título se preparó a partir de 6-bromo-5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona usando un procedimiento análogo al descrito para (3R,9aS)-3-[(3R)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo anteriormente. El isómero *trans* principal se aisló mediante MPLC (EtOAc al 30-100 %/Hex) como el isómero de elusión más rápida: **RMN ¹H** (500 MHz, DMSO): δ 1,39 (s, 9H), 2,03-2,21 (m, 3H), 2,62-3,07 (m, 6H), 3,71-3,88 (m, 2H), 3,95 (dd, *J* = 2,5, 11 Hz, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,53 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 4,88 (d, *J* = 10,0, 1H), 7,50 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); **CL/EM**: *m/e* 317,2 (M+H)⁺.

15 INTERMEDIO 12A

20 3-(R)-6-Bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona

20

Etapa A: 4-Bromo-N-terc-butil-3-fluorobenzamida: A una suspensión de ácido 4-bromo-3-fluorobenzoico (19 g, 87 mmol) en DCM (200 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (9,10 ml, 104 mmol), seguido de 1 gota de DMF. La mezcla se dejó en agitación a ta durante 2 h. Después del aclarado de la suspensión, la solución se concentró a sequedad. El residuo se disolvió de nuevo en DCM (200 ml) y se enfrió a 0 °C. A continuación, la solución se trató con TEA (30,2 ml, 217 mmol), seguido de *terc*-butilamina (12,0 ml, 113 mmol). La solución se dejó en agitación durante 12 h. La reacción se diluyó con HCl 1 N (200 ml). Después, la capa orgánica se retiró y se lavó con NaOH 1 N. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título.

25

Etapa B: 4-Bromo-N-terc-butil-3-fluoro-2-[(2R)-2-hidroxiopropil]benzamida: Una solución de diisopropilamina (11,7 ml, 82,0 mmol) en THF (200 ml) se trató con *n*-butil-litio (33 ml, 82 mmol) a 0 °C. La solución se agitó durante 30 min antes de enfriarse a -78 °C. Después, se añadió una solución de 4-bromo-*N*-terc-butil-3-fluorobenzamida (9,0 g, 33 mmol) en THF (100 ml). Después, la solución se calentó a -40 °C y se mantuvo ahí durante 1 h. Después, se añadió óxido de (R)-(+)-propileno (6,9 ml, 98 mmol) y la solución se calentó a 0 °C. Después de 1 h, el baño de hielo se retiró y la solución se dejó calentar a ta. La CL/EM indicó la presencia de producto deseado. La solución se inactivó con MeOH, se diluyó con salmuera (200 ml) y se extrajo con EtOAc (300 ml). La capa orgánica se retiró, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó usando un cartucho de 340 g Biotage SNAP (Hexanos al 0-60 %:EtOAc) para producir el compuesto del título. **CL-EM**: *m/z* 332,08 (M+H)⁺.

30

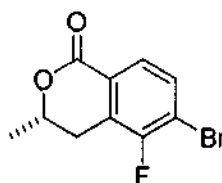
35

Etapa C: 3-(R)-6-Bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: Una solución de 4-bromo-*N*-terc-butil-3-fluoro-2-[(2R)-2-hidroxiopropil]benzamida (4,60 g, 13,8 mmol) y TsOH (2,60 g, 13,8 mmol) en tolueno (100 ml) se calentó a reflujo. Después de 1 h, los análisis de TLC y CL/EM indicaron una conversión completa. La solución se concentró a sequedad, seguido de dilución con Et₂O (150 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para producir el compuesto del título: **RMN ¹H** (500 MHz, (CD₃)₂CO) δ ppm 7,76 (m, 2H), 4,80 (m, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,91 (m, 1H), 1,52 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H); **CLEM**: *m/z* 257,95 (M+H)⁺.

40

45

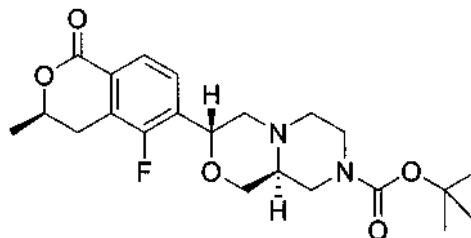
INTERMEDIO 12B



3-(S)-6-Bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito para 3-(R)-6-bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona, excepto porque se usó óxido de (S)-(+)-propileno en la Etapa B: **RMN ¹H** (500 MHz, (CD₃)₂CO) δ ppm 7,76 (m, 2H), 4,80 (m, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,91 (m, 1H), 1,52 (d, J = 6,0 Hz, 3H); **CLEM**: m/z 257,95 (M+H)⁺.

5

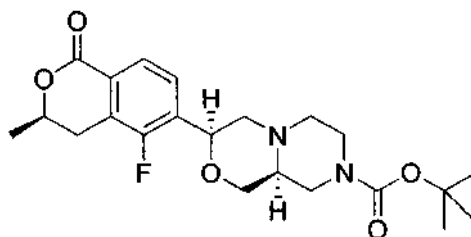
INTERMEDIO 13A (*trans*)



10 (3R,9aS)-3-[(3R)-5-Fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de terc-butilo: El compuesto del título se preparó a partir de 3-(R)-6-bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona usando un procedimiento similar al descrito para (3R,9aS)-3-[(3R)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butil (anteriormente). La mezcla *cis/trans* se purificó mediante HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 30 %/CO₂) en la columna AD. El diastereómero de elusión más lenta fue el isómero *trans*. **CL-EM**: (M+1)⁺ 421.

15

INTERMEDIO 13B (*cis*)

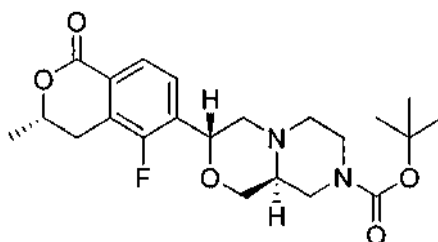


20

(3S,9aS)-3-[(3R)-5-Fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de terc-butilo: El compuesto del título se aisló como el pico de elusión más rápida durante la purificación de HPLC quiral de (3R,9aS)-3-[(3R)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: **CL-EM**: (M+1)⁺ 421.

25

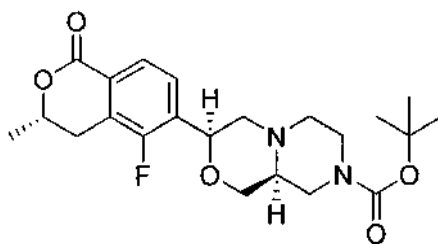
INTERMEDIO 13C (*trans*)



30 (3R,9aS)-3-[(3S)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de terc-butilo: El compuesto del título se preparó a partir de 3-(S)-6-bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona usando un procedimiento similar al descrito para (3R,9aS)-3-[(3R)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo (anteriormente). La mezcla *cis/trans* se purificó mediante SFC-HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 30 %/CO₂) en una columna OJ. El diastereómero de elusión más rápida fue el isómero *trans*. **CL-EM**: (M+1)⁺ 421.

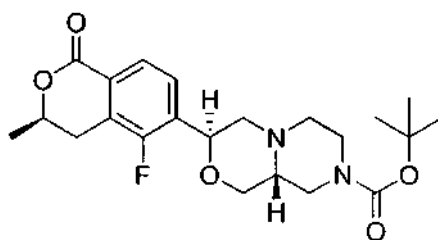
35

INTERMEDIO 13D (*cis*)



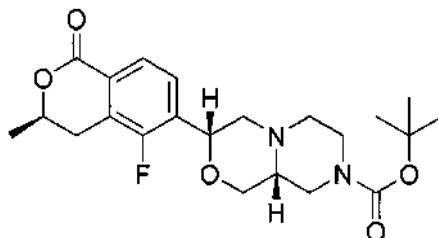
- 5 (3S,9aS)-3-[(3S)-5-Fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: El compuesto del título se aisló como el pico de elusión más lenta durante purificación de SFC-HPLC quiral de (3R,9aS)-3-[(3S)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: **CL-EM:** (M+1)⁺ 421.

INTERMEDIO 13E (*trans*)



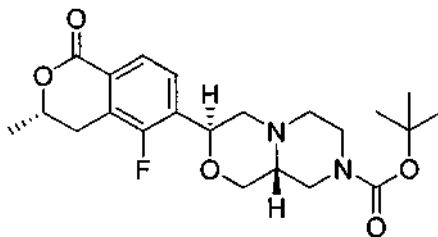
- 10
15 (3S,9aR)-3-[(3R)-5-Fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: El compuesto del título se preparó a partir de 3-(R)-6-bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona usando un procedimiento similar al descrito para (3R,9aS)-3-[(3R)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo (anteriormente), sustituyendo (3R)-3-(hidroximetil)piperazino-1-carboxilato de *terc*-butilo como el amino alcohol en la Etapa C. La mezcla *cis/trans* se purificó mediante HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 40 %/CO₂) en una columna AD. El diastereómero de elusión más rápida fue el isómero *trans*. **CL-EM:** (M+1)⁺ 421.

20 INTERMEDIO 13F (*cis*)



- 25 (3R,9aR)-3-[(3R)-5-Fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: El compuesto del título se aisló como el pico de elusión más lenta durante la purificación de SFC-HPLC quiral de (3S,9aR)-3-[(3R)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: **CL-EM:** (M+1)⁺ 421.

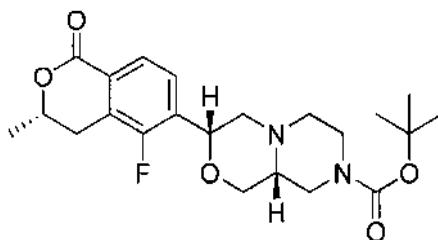
30 INTERMEDIO 13G (*trans*)



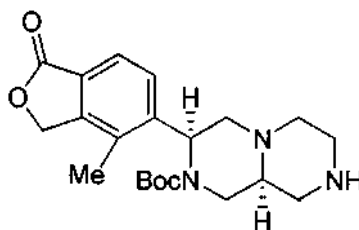
- 35 (3S,9aR)-3-[(3S)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: El compuesto del título se preparó a partir de 3-(S)-6-bromo-5-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona usando un procedimiento similar al descrito para

(3R,9aS)-3-[(3R)-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo (anteriormente), sustituyendo (3R)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo como el amino alcohol en la Etapa C. La mezcla *cis/trans* se purificó mediante SFC-HPLC quiral (2:1 de MeOH:MeCN al 30 %/CO₂) en una columna OJ. El diastereómero de elusión más rápida fue el isómero *trans*. **CL/EM:** (M+1)⁺ 421.

5

INTERMEDIO 13H (*cis*)

10 (3R,9aR)-3-[(3S)-5-Fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: El compuesto del título se aisló como el pico de elusión más lenta durante la purificación de SFC-HPLC de (3S,9aR)-3-[(3S)-5-fluoro-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1H-isocromen-6-il]hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo (anteriormente): **CL/EM:** (M+1)⁺ 421.

15 INTERMEDIO 14B (*cis*)

20 3-(4-Metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aS)-*tert*-butilo

25 Etapa A: 4-((S)-2-Hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*tert*-butilo: Se calentaron (S)-4-metil-5-(oxiran-2-il)isobenzofuran-1(3H)-ona (0,75 g, 3,95 mmol) y 3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*tert*-butilo (1,02 g, 4,73 mmol) en etanol (12 ml) en un microondas a 150 °C durante 1,5 h. La solución de reacción se concentró y el residuo se purificó por MPLC en un sistema Biotage usando acetato de etilo al 40-100 %/hexano para dar el compuesto del título. **CL/EM:** (M+1)⁺: 407,15.

30 Etapa B: 4-((S)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-bencilo: A una solución de 4-((S)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*tert*-butilo (2,57 g, 6,32 mmol) en cloruro de metileno (3 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (10 ml, 130 mmol) a ta durante 1 h. Después de retirar los volátiles a presión reducida, el residuo se disolvió en cloruro de metileno (100 ml). A la solución anterior se le añadió trietilamina (4,40 ml, 31,6 mmol) y cloroformiato de bencilo (0,95 ml, 6,64 mmol) a 0 °C durante 0,5 h. La reacción se interrumpió con agua, seguido de la adición de carbonato sódico saturado. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno, se secó sobre sulfato sódico, se concentró y el residuo se purificó por MPLC en un sistema Biotage usando EtOAc al 40-100 %/hexano para dar el compuesto del título. **CL/EM:** (M+1)⁺: 441,11.

35 Etapa C: 8-alil-7-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (9aR)-bencilo: Una solución de 4-((S)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-bencilo (1,4 g, 3,2 mmol) en cloruro de tionilo (20 ml, 274 mmol) se calentó a reflujo durante 1 h. Después de retirar los volátiles, el residuo se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (20 ml) y se trató con aillamina (1,31 ml, 17,48 mmol) a 0 °C. La solución resultante se trató con yoduro de sodio (0,088 g, 0,318 mmol) y se calentó a 90 °C durante 1 h. La solución se diluyó en acetato de etilo (300 ml) y se lavó tres veces con bicarbonato sódico saturado, se secó sobre sulfato sódico, se concentró y el residuo se purificó por MPLC en un sistema Biotage usando acetato de etilo al 40-100 %/hexano para dar el compuesto del título. **CL/EM:** (M+1)⁺: 462,12.

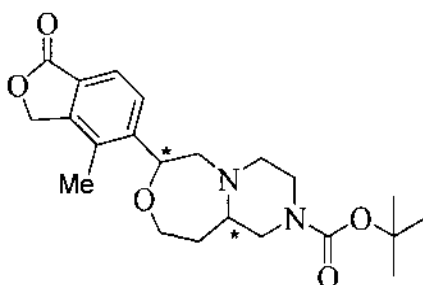
45 Etapa D: 3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)tetrahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2,8(9H,9aH)-dicarboxilato de (3S,9aS)-8-bencil 2-*tert*-butilo: Una mezcla de 8-alil-7-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (9aR)-bencilo (0,98 g, 2,12 mmol), 1,3-dimetilpirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (0,995 g, 6,37 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (123 mg, 0,106 mmol) en cloruro de metileno (10 ml) se calentó a 35 °C durante 4 h. Después de enfriar a ta, se añadieron dicarbonato de di-*tert*-butilo (556 mg, 2,55 mmol) y trietilamina (1194 µl, 8,49 mmol), y la solución resultante se agitó a ta durante una noche. Después de concentración, el residuo se purificó y se resolvió por MPLC en un

50

sistema Biotage usando EtOAc al 20-100 %/hexano para dar el compuesto del título (menos polar). CL/EM: (M+1)⁺: 522,12; y el isómero (3R,9aS) correspondiente del compuesto del título (más polar). CL/EM: (M+1)⁺: 522,12.

Etapa E: 3-(4-Metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aS)-*terc*-butilo: A una solución del compuesto del título de la Etapa D ((0,46 g, 0,88 mmol) en metanol (30 ml) se le añadió paladio sobre carbono (10 %, 0,094 g, 0,088 mmol) y la mezcla se sometió a hidrogenación a ta durante una noche. Después de la filtración, el filtrado se concentró para dar el compuesto del título. CL/EM: (M+1)⁺: 388,10.

INTERMEDIO 15



7-(4-Metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)octahidro-2H-pirazino[1,2-d][1,4]oxazepin-2-carboxilato de *terc*-butilo, y cuatro isómeros separados

Etapa A: 3-(2-hidroxi-etil) piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvió 3-(2-metoxi-2-oxoetil) piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (7,28 g, 28,2 mmol) en THF (100 ml) a 0 °C y después se añadió LAH (21,14 ml, 21,14 mmol). La reacción se controló por TLC. Después de 30 min, la reacción se interrumpió en primer lugar con 0,8 ml de agua, después se añadieron 1,6 ml de NaOH 2 N, seguido de 4 ml de agua. La suspensión anterior se diluyó con acetato de etilo y se añadió MgSO₄. La mezcla se agitó a TA durante 1/2 h, después se filtró y se concentró para producir el compuesto del título: CL-EM (IE, m/z): 231 [M+1]⁺.

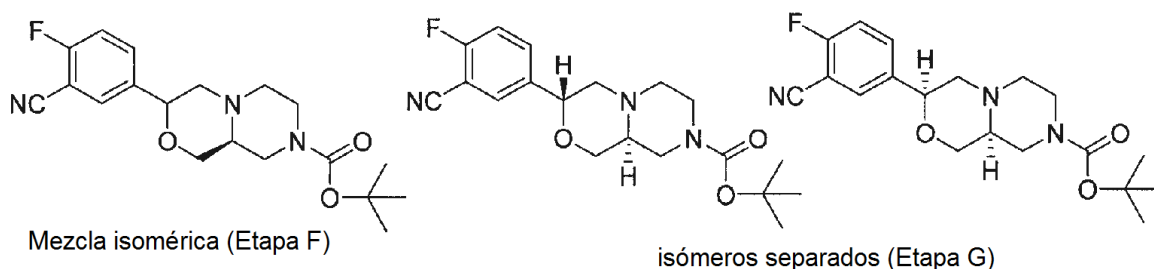
Etapa B: 3-(2-hidroxi-etil)-4-(2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)-2-oxoetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron 3-(2-hidroxi-etil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,91 g, 30,0 mmol) y 5-(2-bromoacetil)-4-metilisobenzofuran-1(3H)-ona (6,73 g, 25 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), después se añadió base de Hunig (8,73 ml, 50,0 mmol) y se agitó a TA durante una noche. La reacción se vertió en salmuera y se extrajo con EtOAc (2 x). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO Redi-Sep de 330 g y se eluyó con un sistema de disolventes de MeOH al 5 %/DCM para dar el compuesto del título. CL-EM (IE, m/z): 419 [M+1]⁺.

Etapa C: 4-(2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(2-hidroxi-etil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvió 3-(2-hidroxi-etil)-4-(2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)-2-oxoetil) piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,16 g, 14,7 mmol) en metanol (100 ml) a 0 °C y después se añadió NaBH₄ (1,67 g, 44,2 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta TA. Después de diez minutos, la TLC no mostró MP restante. El metanol se evaporó y el residuo se recogió con salmuera y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron con MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 330 g y se eluyó con MeOH al 5 %/DCM para producir el compuesto del título: CL-EM (IE, m/z): 421 [M+1]⁺.

Etapa D: 7-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidro-2-benzofuran-5-il)octahidro-2H-pirazino[1,2-d][1,4]oxazepin-2-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvió 4-(2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(2-hidroxi-etil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,22 g, 5,30 mmol) en benceno (30 ml) y después se añadió cianometileno tributil fosforano (2,31 g, 9,55 mmol), que después se calentó a 100 °C durante una noche. El benceno se retiró por evaporación rotatoria y el residuo se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO redi-sep de 330 g y se eluyó con acetona al 15 %/DCM al 85 %. Esto separó los *cis*-diastereómeros de los *trans*-diastereómeros del compuesto del título. Los *cis*-diastereómeros se separaron adicionalmente en diastereómeros S,S y R,R usando las siguientes condiciones: columna Chiralpak AD: 30 x 250 mm, (2:1 de MeOH:CH₃CN) al 30 %/CO₂, 70 ml/min, 100 bar, 41 mg/ml en MeOH/MeCN/DCM, 35 °C, 254 nm: ***cis*-diastereómero A** (tiempo de retención 3,2 min): RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,83 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,27 (s, 2H), 4,97 (dd, J = 4,75, 2,8 Hz, 1H), 4,13 (t, J = 3,45 Hz, 0,5H), 4,10 (t, J = 3,45 Hz, 0,5H), 3,91 (t, J = 12 Hz, 1H), 3,82 (a, 2H), 3,17 (d, J = 5,3 Hz, 0,5H), 3,13 (d, J = 5,1 Hz, 0,5H), 2,93 (d, J = 2,9 Hz, 0,5H), 2,90 (d, J = 2,9 Hz, 0,5H), 2,88 (a, 1H), 2,69 (a, 4H), 2,31 (s, 3H), 1,89-1,92 (m, 2H), 1,49 (s, 9H): ***cis*-diastereómero B** (tiempo de retención 4,21 min): RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,83 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,27 (s, 2H), 4,97 (dd, J = 4,75, 2,75 Hz, 1H), 4,13 (t, J = 3,45 Hz, 0,5H), 4,10 (t, J = 3,45 Hz, 0,5H), 3,91 (t, J = 10,12 Hz, 1H), 3,82 (a, 2H), 3,17 (d, J = 5,1 Hz, 0,5H), 3,14 (d, J = 5,1 Hz, 0,5H), 2,93 (d, J = 2,9 Hz, 0,5H), 2,90 (d, J = 2,9 Hz, 0,5H), 2,88 (a, 1H), 2,69 (a, 4H), 2,31 (s, 3H), 1,89-1,92 (m, 2H), 1,49 (s, 9H): Los diastereómeros *trans*-diastereómeros se separaron adicionalmente en los diastereómeros S,R y R,S usando la siguiente condición: columna Chiralpak AD: 30 x 250 mm, (2:1 de MeOH: CH₃CN) al 20 %/CO₂, 70 ml/min, 100 bar, 33 mg/ml en MeOH/MeCN/DCM, 35 °C, 254 nm. Los tiempos de retención del *trans*-diastereómero A y el *trans*-diastereómero B fueron 6,68 min y 8,08 min en la columna analítica Chiralpak AD: 4,6 x 250 mm, (2:1 MeOH: CH₃CN) al 15 %/CO₂, 2,1 ml/min, 100 bar, 35 °C

254 nm: **trans**-diastereómero A: RMN ¹H (500 MHz, CDC13) δ ppm 7,78 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,27 (s, 2H), 5,13 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 3,99-4,12 (m, 2H), 3,78-3,95 (a,2H), 3,02 (a, 1H), 2,87 (d, J = 9,1 Hz, 0,5H), 2,84 (d, J = 9,0 Hz, 0,5H), 2,77 (a, 2H), 2,65 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 2,40-2,44 (m,2H), 2,34 (s, 3H), 2,02-2,08 (m, 1H), 1,92-1,98 (m, 1H), 1,50 (s, 9H); **trans**-diastereómero B: RMN ¹H (500 MHz, CDC13) δ ppm 7,78 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 8 Hz, 1H), 5,27 (s, 2H), 5,13 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,00-4,12 (m, 2H), 3,98 (a,2H), 3,01 (a, 1H), 2,86 (d, J = 9,1 Hz, 0,5H), 2,83 (d, J = 9,0 Hz, 0,5H), 2,76 (a, 2H), 2,65 (d, J = 13 Hz, 1H), 2,40-2,44 (m,2H), 2,34 (s, 3H), 2,03-2,08 (m, 1H), 1,94-1,97 (m, 1H), 1,50 (s, 9H).

INTERMEDIOS 16 (mezcla de isómeros), 16A y 16B



(3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

Etapa A: 2-Fluoro-5-(1-hidroxi-etil)benzonitrilo: Se disolvió 3-ciano-4-fluorobenzaldehído (2,17 g, 14,7 mmol) en THF (50 ml) y después se enfrió a -70 °C. A esta mezcla se le añadió bromuro de metilmagnesio (5,34 ml, 16,0 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h, después se inactivó con salmuera y se extrajo con éter. La capa etérea se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 120 g usando un eluyente de EtOAc al 0-50 %/hexano para producir 2-fluoro-5-(1-hidroxi-etil)benzonitrilo: **CL-EM:** M+1 = 166.

Etapa B: 5-Acetil-2-fluorobenzonitrilo: Se disolvió 2-fluoro-5-(1-hidroxi-etil)benzonitrilo (0,80 g, 4,8 mmol) en DCM (50 ml). A esta mezcla se le añadió dicromato de piridinio (2,73 g, 7,27 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante una noche. Se añadió florisilo (26 g) a la mezcla de reacción que después se diluyó con 50 ml de éter y se filtró a través de una capa de Celite. El filtrado se evaporó a sequedad y el residuo se purificó por MPLC a través de una columna Redi-sep de 120 g, eluyendo con EtOAc al 0-100 %/hexano para producir 5-acetil-2-fluorobenzonitrilo.

Etapa C: 5-(Bromoacetil)-2-fluorobenzonitrilo: Se disolvió 5-acetil-2-fluorobenzonitrilo (400 mg, 2,45 mmol) en THF (20 ml), después se añadió bromuro de cobre (II) (1,10 g, 4,90 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 48 h. La mezcla de reacción se diluyó con 20 ml de éter, después se lavó con agua, seguido de salmuera. La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se evaporó a sequedad, después se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de con un eluyente de acetato de etilo al 0-50 %/hexano para producir 5-(bromoacetil)-2-fluorobenzonitrilo: **CL-EM:** M+1 = 244.

Etapa D: (3S)-4-[2-(3-Ciano-4-fluorofenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo: Se disolvieron 5-(bromoacetil)-2-fluorobenzonitrilo (590 mg, 2,44 mmol) y (S)-4-N-BOC-2-hidroximetil-piperazina (527 mg, 2,44 mmol) en THF (40 ml) a 0 °C y después se añadió TEA (247 mg, 2,44 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h, después se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por MPLC a través de una columna Redi-sep de 80 g usando EtOAc al 0-100 %/hexano para producir el compuesto del título.

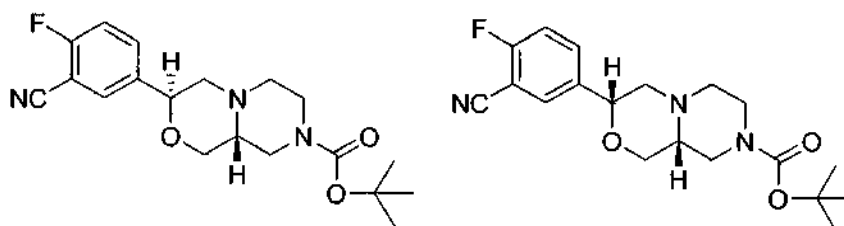
Etapa E: (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo: Se disolvió (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (800 mg, 2,12 mmol) en etanol (50 ml), después se añadió borohidruro sódico (321 mg, 8,48 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 16 h. El análisis de CL-EM mostró que el producto estaba presente. El etanol se retiró y el residuo se disolvió de nuevo en EtOAc y se agitó con HCl 1 N durante 5 min. Después, la mezcla se neutralizó con NaHCO₃ acuoso saturado y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron a sequedad para producir el compuesto del título. **CL-EM:** M+1 = 280.

Etapa F: (9aS)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: Se disolvió (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (358 mg, 0,944 mmol) en DCM (25 ml) y se enfrió a 0 °C. A esta mezcla se le añadió TEA (0,197 ml, 1,42 mmol), seguido de cloruro de metanosulfonilo (0,096 ml, 1,2 mmol). La mezcla se calentó a TA y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se lavó dos veces con salmuera, se secó y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 40 g, eluyendo con EtOAc/Hex al 0-100 % para producir el cloruro intermedio (470 mg, 1,81 mmol). Después, este cloruro se disolvió en THF (25 ml) y se añadió cloruro de tetrabutilamonio (436 mg, 1,18 mmol) a 0 °C, seguido de NaH (47,2 mg, 1,18 mmol) y después la mezcla se agitó a la temperatura de reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo en bruto se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 40 g, eluyendo con acetato de etilo al 0-100 % para

producir el compuesto del título en forma de una mezcla de dos isómeros: **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,86 (d, *J* = 5,5 Hz, 0,5 H), 7,75-7,81 (m, 0,5H), 7,65 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 7,58-7,61 (m, 0,5 H), 7,19-7,24 (c, 1H), 4,79 (s, 0,5H), 4,66 d, *J* = 10,5 Hz, 0,5H), 3,96 (dd, *J* = 3, 11 Hz, 1H), 3,55-4,0 (a, 2H), 3,54 (dd, *J* = 2,5, 11,5 Hz, 0,5 H), 3,46 (t, *J* = 10,5 Hz, 0,5H), 3,24 (t, *J* = 8,5 Hz, 0,5 H), 3,18 (d, *J* = 2,5 Hz, 0,5 H) 3. (a, 2H), 2,89 (dd, *J* = 2,1, 11,5 Hz, 0,5 H), 2,7-2,8 (m, 2H), 2,5 (a, 1H), 2,38-2,45 (m, 1H), 2,25 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H), 2,17 (t, *J* = 11 Hz, 1H), 1,48 (s,9H); **CL-EM**: M+1 = 362.

Etapa G: (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *y* (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)carboxilato de *terc*-butilo: Los compuestos del título se obtuvieron por separación de HPLC preparativa de la mezcla de isómeros obtenidas en la etapa anterior.

INTERMEDIOS 16C y 16D



(3S,9aR)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3R,9aR)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

Etapa A: 3-bromo-4-fluoro-*N*-metoxi-*N*-metilbenzamida: Una solución de ácido 3-bromo-4-fluorobenzoico (100 g, 0,456 mol) y CDI (77,2 g, 0,547 mol) en 1 l de DCM seco se agitó a t.a. durante 30 min y después se añadió *O,N*-dimetil-hidroxilamina (53,4 g, 0,547 mol). La mezcla resultante se agitó durante una noche. Los disolventes se retiraron al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar 3-bromo-4-fluoro-*N*-metoxi-*N*-metil- benzamida.

Etapa B: 1-(3-bromo-4-fluorofenil)etanona: Una solución de 3-bromo-4-fluoro-*N*-metoxi-*N*-metilbenzamida (50 g, 0,19 mol) en 500 ml de THF se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y después a la mezcla se le añadió gota a gota MeMgCl (27,3 g, 0,21 mol). La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de N₂ durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH₄Cl sat. y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó con cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 1-(3-bromo-4- fluorofenil)etanona.

Etapa C: 5-acetil-2-fluorobenzonitrilo: A una solución de 1-(3-bromo-4-fluorofenil)etanona (81,3 g, 0,344 mol) en 300 ml de DMF se le añadió CuCN (67,4 g, 0,749 mol) y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó en una atmósfera de N₂ durante 10 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo con éter. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice para dar el producto 5-acetil-2-fluorobenzonitrilo.

Etapa D: 5-(bromoacetil)-2-fluorobenzonitrilo: Una solución de 5-acetil-2-fluorobenzonitrilo (20,0 g, 0,123 mol) en 500 ml de DCM se calentó a reflujo durante 2 h y después se añadió gota a gota una solución de bromo en 300 ml de DCM en la mezcla en ebullición. La mezcla de reacción se calentó a reflujo y se agitó en una atmósfera de protección de N₂ durante una noche. La mezcla de reacción se lavó con agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 5-(bromoacetil)-2-fluorobenzonitrilo.

Etapa D: (3R)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butil: A una solución de 5-(bromoacetil)-2-fluorobenzonitrilo (13,1 g, 0,054 mol) en DMF (160 ml) se le añadió (3R)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (13,1 g, 0,065 mol) y K₂CO₃ (11,77 g, 0,075mol), y la mezcla se agitó a TA durante 3 h. La mezcla se lavó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para dar el compuesto del título que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

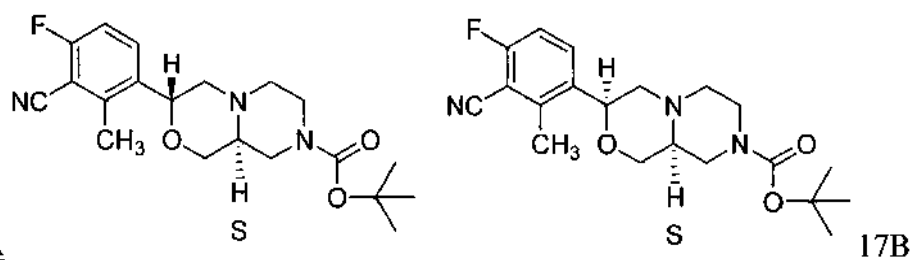
Etapa E: (3R)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxietyl]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: A una solución de (3R)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (20 g, 0,053 mol) en MeOH (400 ml) se le añadió en porciones NaBH₄ (15,6 g, 0,424 mol) a 0 °C y la mezcla se agitó a t.a durante una noche. La mezcla de reacción se añadió agua, se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se combinó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título.

Etapa F: (9aR)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Una solución de (3R)-4-[2-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxietyl]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,0 g, 13,2 mmol) en 100 ml de THF se agitó a 0 °C durante 10 min y después se añadió NaH (60 %) (1,32 g, 33,0 mmol) a 0 °C. La suspensión de color blanco resultante se agitó vigorosamente a 0 °C durante 5 min, después a t.a durante 1 h. Después, la suspensión de reacción se enfrió de nuevo a 0 °C, se añadió *N*-tosilimidazol y la solución resultante se agitó durante 10 min más a 0 °C antes de calentarse de nuevo a t.a y se agitó durante 1 h. Después, la solución de reacción se enfrió de nuevo una vez más a 0 °C y el exceso de hidruro sódico se inactivó

cuidadosamente mediante la adición lenta de una solución sat. de NH₄Cl. La solución bifásica resultante se repartió entre NH₄Cl sat. y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó con cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar el compuesto del título: **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ 7,76 ~ 7,79 (m, 1H), 7,49 ~ 7,58 (m, 1H), 7,11 ~ 7,15 (m, 1H), 7,16 ~ 7,12 (m, 1H), 3,86 ~ 4,06 (m, 2H), 3,33 ~ 3,48 (m, 1H), 3,08 ~ 3,17 (m, 1H), 2,80 ~ 2,94 (m, 2H), 2,64 ~ 2,74 (m, 2H), 2,29 ~ 2,46 (m, 2H), 2,09 ~ 2,20 (m, 1H), 1,40 (d, J = 3,0 Hz, 9H).

Etapa G: (3S,9aR)-3-(3-Ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3R,9aR)-3-(3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Los isómeros individuales se obtuvieron por separación de HPLC preparativa de la mezcla de isómeros obtenida en la etapa anterior.

INTERMEDIOS 17A y 17B (Método 1)



17A: (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

17B: (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

Etapa A: 3-bromo-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo (Método A): Se disolvió 2-fluoro-6-metilbenzonitrilo disponible en el mercado (Apollo Scientific, 15,0 g, 111 mmol) en ácido trifílico (75 ml) a 0 °C y después se añadió NBS (20,7 g, 117 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 1 h, después se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo dos veces con DCM. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, después se filtró y se evaporó a sequedad para producir 3-bromo-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo: **CL-EM:** M+1 = 214, 216.

Etapa alternativa A (Método B): En un matraz de FR de 3 bocas y 3 l, equipado con un agitador en su parte superior se cargó 2-fluoro-6-metil-benzonitrilo (191,8 g., 1419 mmol) y MsOH (563 ml, 8516 mmol). Se añadió en porciones NBS (265 g, 1490 mmol) a esta solución en agitación durante 30 minutos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 33 horas. En ese momento, la HPLC mostró que la reacción estaba completa, por lo que la reacción se vertió en 1 l de hielo (exotermina observada), se diluyó con 700 ml de EtOAc al 30 %/Hexanos y se agitó. La capa acuosa se recortó y los extractos orgánicos se lavaron 2x con NaOH 1 N y con agua. Se observó que los recortes acuosos estaban sustancialmente enriquecidos con impurezas. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se concentraron, después se almacenaron en un refrigerador a -10 °C durante una noche. Se formó un precipitado durante este periodo y se filtró y se lavó con EtOAc al 5 %/Hexanos. Un segundo cultivo de precipitado se combinó con el primer cultivo para proporcionar 3-bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo.

Etapa B: 3-etenil-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo: Se añadieron 3-bromo-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo (23,6 g, 110 mmol), vinil trifluoroborato de potasio (29,5 g, 221 mmol), aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (4,03 g, 5,51 mmol) y TEA (30,7 ml, 221 mmol) a 250 ml de etanol. La mezcla de reacción se desgasificó y después se agitó a reflujo durante 4 h. La CL-EM confirmó la presencia de producto. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó dos veces con salmuera, se secó y se evaporó a sequedad. Después, el material en bruto se purificó por cromatografía de MPLC usando una columna Redi-sep de 330 g y eluyendo con un sistema de disolventes de EtOAc al 10 %/Hexano para producir 3-etenil-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo.

Etapa C: 6-fluoro-2-metil-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo: Se añadió 3-etenil-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo (14,9 g, 92,0 mmol) a DCM (400 ml) a 0 °C, después se añadió mCPBA (47,85 g, 277,5 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 72 h. La mezcla de reacción se lavó con Na₂S₂O₃ acuoso saturado, después con NaOH 1 N y salmuera. La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 330 g, eluyendo con un sistema de disolventes de hexano al 0-100 %/DCM para proporcionar 6-fluoro-2-metil-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo. **CL-EM:** M+1 = 178.

Etapa D: (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se suspendieron 6-fluoro-2-metil-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo (12,0 g, 67,7 mmol) y (S)-4-N-BOC-2-hidroxi-etil-piperazina (22,0 g, 102 mmol) en etanol (100 ml), después se calentó en un aparato de microondas durante 30 minutos a 150 °C. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 330 g eluyendo con un sistema de disolventes de MeOH al 5 %/EtOAc al 95 % para producir el compuesto del título. **CL-EM:** M+1 = 394.

Etapa E: (9aS)-3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (18,5 g, 47,0 mmol) y cianometiltri-n-butilfosforano (20,4 g, 85,0 mmol) en 180 ml de benceno. La mezcla de reacción se desgasificó y se calentó a 100 °C durante 16 h. El análisis de CL-EM indicó pico de producto (M+1 = 376). La reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por

cromatografía a través de una columna Redi-sep de 330 g, eluyendo con una mezcla de acetona al 20 %/hexano al 80 % para producir una mezcla cis-trans del compuesto del título.

Etapa F: (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: Los isómeros cis-trans del producto de la Etapa E se separaron usando una columna Chiralpak AD, 4,6 x 250 mm, 10 μ , con un sistema de disolventes de IPA al 20 %/heptano al 80 %: **17A** (isómero *trans* eluido en primer lugar): **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,74 (dd, $J = 6, 8,5$ Hz, 1H), 7,095 (t, $J = 8,5$ Hz, 1H), 4,838 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 3,98 (dd, $J = 3, 11,5$ Hz, 1H), 3,84-4,21 (a, 2H), 3,50 (t, $J = 11$ Hz, 1H), 2,98-3,18 (a, 1H), 2,85 (dd, $J = 2, 11,5$ Hz, 1H), 2,75 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 2,6 ppm (s, 3H), 2,45-2,68 (a, 1H), 2,24-2,31 (m, 2H), 2,16 (t, $J = 11$ Hz, 1H), 1,50 ppm (s, 9H); **CL-EM:** M+1 = 376; **17B** (isómero cis eluido segundo): **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,20 (t, $J = 6,95$ Hz, 1H), 7,06 (t, $J = 8,5$ Hz, 1H), 4,91 (t, $J = 3,5$ Hz, 1H), 3,70-4,07 (a, 2H), 3,55 (d, $J = 11$ Hz, 1H), 3,26 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 3,15 (dd, $J = 3, 12$ Hz, 1H), 2,98-3,11 (a, 1H), 2,82 (dd, $J = 4, 12$ Hz, 2H), 2,63 (s, 3H), 2,59-2,7 (a, 1H), 2,44-2,49 (m, 2H), 1,50 (s, 9H); **CL-EM:** M+1 = 376.

15 INTERMEDIO 17B (Método 2)

Etapa A: 2-Fluoro-6-metil-benzonitrilo: Un matraz de fondo redondo de 10 l equipado con adaptador, un termopar y una barra de agitación se cargó con DMA (6 l) y se desgasificó al vacío y se purgó con N₂ tres veces. A la mezcla se le añadió tetraquis trifenilfosfina paladio (87,5 g, 72,0 mmol) y la mezcla se desgasificó al vacío y se purgó con N₂ tres veces. La reacción se calentó a 80 °C durante 30 min. Se añadieron 3-fluoro-2-yodotolueno (575 g, 2,4 mol) y cianuro de cinc (171,7 g, 1,46 mol) y la mezcla se desgasificó al vacío y se purgó con N₂ tres veces. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 h y después se dejó enfriar a TA. La solución se añadió a 2,0 l de una solución acuosa de NH₄OH 1 N y se extrajo tres veces con 1,5 l de EtOAc. Los extractos se lavaron con 2 l de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se trató con mCPBA en DCM enfriado y después se purificó por cromatografía (PE/EA = 10:1) para obtener el compuesto del título.

Etapa B: 3-Bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo: En un matraz de fondo redondo de 3 bocas y 3 l equipado con un agitador en su parte superior se cargó 2-fluoro-6-metil-benzonitrilo (191,8 g., 1419 mmol) y MsOH (563 ml, 8516 mmol). Se añadió en porciones NBS (265 g, 1490 mmol) a esta solución en agitación durante 30 minutos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 33 horas. En ese momento, la HPLC mostró que la reacción estaba casi completa, por lo que la reacción se vertió en 1 l de hielo (exotermia observada), se diluyó con 700 ml de EtOAc al 30 %/Hexanos y se agitó. La capa acuosa se recortó y los extractos orgánicos se lavaron 2x con NaOH 1 N y con agua. Se observó que los cortes acuosos estaban sustancialmente enriquecidos con impurezas. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se concentraron, después se almacenaron en un congelador a -10 °C durante una noche. Se formó un precipitado durante este periodo y se filtró y se lavó con EtOAc al 5 %/Hexanos, proporcionando un primer cultivo de producto. Un segundo cultivo de precipitado proporcionó más cantidad de 3-bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo.

Etapa C: 3-(2-Bromo-acetil)-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo: Se añadió tributil(1-etoxivinil)estaño desgasificado (200 ml, 591 mmol) a una mezcla agitada a temperatura ambiente de 3-bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo (115 g, 537 mmol) y cis-PdCl₂(PPh₃)₂ (18,9 g, 26,9 mmol) en dioxano desgasificado (1149 ml) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 22 horas. En este momento, la HPLC mostró la conversión completa del material de partida (requiere al menos 12 horas), la finalización de la reacción pudo observarse mediante un metalizado de metal de paladio sobre el lateral del matraz. En ese momento, la reacción se enfrió a 0 °C y se añadieron THF (575 ml) y agua (230 ml), seguido de NBS (110 g, 618 mmol) (añadido en porciones durante 15 min, manteniendo la temperatura interna < 5 °C). Después de 30 minutos, la HPLC mostró el consumo completo del enol éter intermedio. La solución se diluyó con MTBE (1000 ml) y se lavó con HBr acuoso al 0,5 % (3 x 500 ml), después se lavó con agua. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. Se generó un precipitado y el sólido se filtró y se lavó varias veces con hexanos. Se secó con un barrido de nitrógeno, proporcionando 3-(2-Bromo-acetil)-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo.

Etapa D: Éster *tert*-butílico del ácido (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-3-hidroxi-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico: Se añadió diisopropiletilamina (44,0 ml, 252 mmol) a una mezcla agitada a temperatura ambiente de 3-(2-Bromo-acetil)-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo al 72 %p (69 g, 194 mmol) y (S)-4-N-Boc-2-hidroximetil-piperazina (42,0 g, 194 mmol) en THF (1000 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La reacción se diluyó con 1 l de EtOAc, se lavó 2x con 500 ml de una solución acuosa al 10 %p/p de NaHCO₃, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc al 40-80 %/Hexanos, gradiente lineal), para dar el compuesto del título.

Etapa E: Éster *tert*-butílico del ácido (S)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-6,7,9a-tetrahidro-1H-pirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico: Se añadió gota a gota Mesil-Cl (17,2 ml, 221 mmol) a una mezcla agitada con una temperatura interna < 5 °C de éster *tert*-butílico del ácido (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-3-hidroxi-hexahidro-pirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico (66,6 g, 170 mmol) y trietilamina (71,1 ml, 510 mmol) en CH₂Cl₂ (1000 ml) (aparece exotermia, por lo que debe mantenerse lenta la adición) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 minutos, momento en el que la reacción se completó. La solución se lavó con 500 ml de una solución acuosa al 10 %p/p de NaHCO₃. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material resultante se recogió en una cantidad mínima de EtOAc (125 ml) con un poco de calentamiento (solución mantenida a < 50 °C) hasta que todos los sólidos se disolvieron. La solución se dejó enfriar con agitación, después se añadieron gota a gota durante una noche 350 ml de hexanos. A la mañana siguiente, la solución se había aclarado y había un polvo

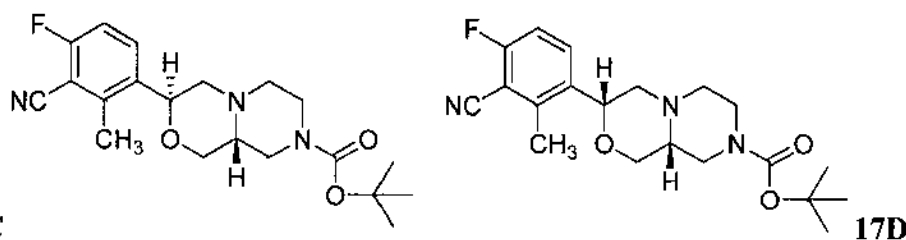
considerable. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con EtOAc al 20 %/Hexanos, proporcionando el producto. Las aguas madre se concentraron hasta que apareció un precipitado, que se filtró para dar más cantidad de éster *terc*-butílico del ácido (S)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-6,7,9,9a-tetrahidro-1H-pirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico.

5 Etapa F: Éster *terc*-butílico del ácido (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico: En un matraz de FR de 3 bocas y 1 l se cargaron Pd al 5 %/CaCO₃ (10,0 g., 4,02 mmol), MeOH (405 ml), y éster *terc*-butílico del ácido (S)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-6,7,9,9a-tetrahidro-1H-pirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico (15,0 g., 40,2 mmol). La solución se roció con N₂ durante 5 min, después se puso en una atmósfera de hidrógeno con una presión de globo y se calentó a 40 °C con agitación. Después de 38 h, la HPLC mostró la conversión completa de la olefina, con una proporción 5:1 de diastereómeros *cis:trans*. La suspensión se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una capa de Celite y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 60-100 %/Hexanos, gradiente lineal), para proporcionar el compuesto del título. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 8,18 (m, 1H), 7,03 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 4,87 (s, 1H), 4,10-3,60 (m, 2H), 3,56 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 3,25-2,88 (m, 3H), 2,80-2,35 (m, 8H), 1,50 (s, 9H).

INTERMEDIO 17A (Método 2)

Un matraz de fondo redondo de tres bocas, equipado con un adaptador de entrada de nitrógeno, un termopar y un septo se cargó con éster *terc*-butílico del ácido (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-3-hidroxi-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8-carboxílico (330 g, 840 mmol), TFA (1,65 l, 21 mol) y 3300 ml de DCM. Se añadió en una porción Et₃SiH (292 g, 2,52 mol, 3 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró y se destiló azeotrópicamente con tolueno (100 ml) para retirar el TFA. El material resultante se disolvió en DCM (1,7 l) y se cargó cuidadosamente con Na₂CO₃ 2,5 M (pH debe ser básico). Se añadió en una porción Boc₂O (218 g, 1,2 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La capa orgánica se separó, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (acetona al 0-30 %-hexanos) para dar una mezcla de isómeros *cis/trans* de producto. La purificación por SFC quiral (columna Berger MultiGramTM SFC, Mettler Toledo Co, Ltd, AD 250 mm*50 mm, 5 μm, A: CO₂ supercrítico, B: metanol, A:B = 85:15 a 150 ml/min) proporcionó el diastereómero *trans* principal 17^a, así como el diastereómero *cis* 17B.

INTERMEDIOS 17C y 17D (Método 1)



17C: (3S,9aR)-3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

17D: (3R,9aR)-3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

Etapa A: (3R)-4-[2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi-etil]-1-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se suspendieron 6-fluoro-2-metil-3-(oxiran-2-il)benzocarbonitrilo (preparado como se ha descrito anteriormente para I-17A y I-17B, Método 1, Etapas A-C) (4,80 g, 27,1 mmol) y (R)-4-N-BOC-2-hidroximetil-piperazina (disponible en el mercado, por ejemplo de Acesys Pharmatech, N.º de catálogo A1612R; y también descrito en J. Org. Chem, 2007, 72(22), p. 8591-8592) (8,79 g, 40,6 mmol) en EtOH (30 ml) y se calentaron en un aparato de microondas a 150 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 330 g, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo a MeOH al 5 %/acetato de etilo para producir el compuesto del título. **CL-EM:** M+1 = 394;

Etapa B: (3S,9aR)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3R,9aR)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron (3R)-4-[2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi-etil]-1-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (7,14 g, 18,2 mmol) y cianometileno tributilfosforano (7,88 g, 32,7 mmol) en benceno (60,0 ml) y después se calentó a 100 °C durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 330 g, eluyendo con un gradiente de acetona al 10 %/DCM a acetona al 20 %/DCM para producir la mezcla *trans-cis*. Los isómeros se resolvieron por HPLC quiral (70 ml/min de 2:1 de MeOH:MeCN al 15 %:CO₂ en una columna Chiralpak IC de 30 x 250 mm (Diacel Chemical Industries, LTD.) a 100 bar y 35 °C, 230 nM). **Isómero 17C** (elusión más rápida): **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,73 (dd, J = 9,0, 6,0 Hz, 1H), 7,09 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,83 (d, J = 9,3 Hz, 1MHz, 1 H), 4,05 (a, 2H), 3,98 (dd, J = 11,25, 2,7, 1H), 3,49 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 3,031 (a, 1H), 2,84 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 2,74 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 2,59 (s, 3H), 2,54 (a, 1H), 2,22-2,30 (m, 2H), 2,146 (t, J = 11,0 Hz, 1H), 1,5 (s, 9H); **Isómero 17D**

(elusión más lenta): **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,19 (a, 1H), 7,05 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,90 (s, 1H), 3,98 (a, 3H), 3,54 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,24 (a, 1H), 3,14 (dd, *J* = 12, 2,5 Hz, 1H), 3,05 (a, 1H), 2,80 (dd, *J* = 11,25, 2,5 Hz, 2H), 2,68 (a, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,46 (a, 1H), 1,5 (s, 9H).

5 INTERMEDIOS 17C y 17D (Método 2)

Etapa A: 2-Fluoro-6-metil-benzonitrilo: Un matraz de fondo redondo de 10 l equipado con un adaptador, un termopar y una barra de agitación se cargó con DMA (6 l) y se desgasificó al vacío y se purgó con N₂ tres veces. A la mezcla se le añadió tetraquis trifenilfosfina paladio (87,5 g, 72,0 mmol) y la mezcla se desgasificó al vacío y se purgó con N₂ tres veces. La reacción se calentó a 80 °C durante 30 min. Se añadieron 3-fluoro-2-yodotolueno (575 g, 2,4 mol) y cianuro de cinc (171,7 g, 1,46 mol) y la mezcla se desgasificó al vacío y se purgó con N₂ tres veces. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 h y después se dejó enfriar a TA. La solución se añadió a una solución acuosa de 2,0 l de NH₄OH 1 N, que se extrajo tres veces con 1,5 l de EtOAc, se lavó con 2 l de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto en bruto se trató con mCPBA (~0,2 equivalentes) en DCM enfriado para oxidar la trifenilfosfina y facilitar la purificación, y después se purificó por cromatografía (PE/EA = 10:1) para obtener el compuesto del título.

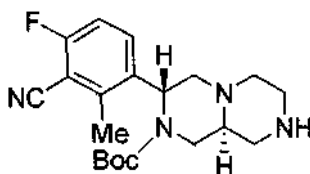
Etapa B: 3-Bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo: En un matraz de fondo redondo de 3 bocas y 3 l equipado con un agitador en su parte superior se cargaron 2-fluoro-6-metil-benzonitrilo (191,8 g., 1419 mmol) y MsOH (563 ml, 8516 mmol). Se añadió en porciones NBS (265 g., 1490 mmol) a esta solución en agitación durante 30 minutos y la mezcla se agitó a 50 °C durante 33 horas. La reacción se vertió en 1 l de hielo, se diluyó con 700 ml de EtOAc al 30 %/Hexanos y se agitó. La capa acuosa se recortó y los extractos orgánicos se lavaron dos veces con NaOH 1 N y después con agua. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se concentraron, después se almacenaron en un congelador a -10 °C durante una noche. Se formó un precipitado durante este periodo, y se filtró y se lavó con EtOAc al 5 %/Hexanos, proporcionando un primer cultivo de producto. Un segundo cultivo de precipitado proporcionó más cantidad de 3-bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo.

Etapa C: 3-(2-Bromo-acetil)-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo: Se añadió tributil(1-etoxivinil)estaño desgasificado (200 ml, 591 mmol) a una mezcla agitada a temperatura ambiente de 3-bromo-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo (115 g, 537 mmol) y *cis*-PdCl₂(PPh₃)₂ (18,9 g, 26,9 mmol) en dioxano desgasificado (1149 ml) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 22 horas. La finalización de la reacción pudo observarse por un metalizado de metal de paladio sobre el lateral del matraz. La reacción se enfrió a 0 °C y se añadieron THF (575 ml) y agua (230 ml), seguido de NBS (110 g, 618 mmol) (añadido en porciones durante 15 min, manteniendo la temperatura interna < 5 °C). Después de 30 minutos, la HPLC mostró el consumo completo del enol éter intermedio. La solución se diluyó con MTBE (1000 ml) y se lavó con HBr acuoso al 0,5 % (3 x 500 ml), después se lavó con agua. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. Se generó un precipitado y el sólido se filtró y se lavó varias veces con hexanos. Se secó con un barrido de nitrógeno, proporcionando 3-(2-bromo-acetil)-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo.

Etapa D: Éster *terc*-butílico del ácido (3*S*,9*a*R)-3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metil-fenil)-3-hidroxi-hexahidro-pirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8-carboxílico: Se añadió diisopropiletilamina (156 ml, 894 mmol) a una mezcla agitada a temperatura ambiente de 3-(2-bromo-acetil)-6-fluoro-2-metil-benzonitrilo (176 g, 688 mmol) y (R)-4-N-Boc-2-hidroximetil-piperazina (149 g, 688 mmol) en THF (3500 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La reacción se diluyó con 3 l de EtOAc, se lavó dos veces con 1500 ml de una solución acuosa al 10 % de NaHCO₃, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc al 40-80 %/Hexanos, gradiente lineal), para proporcionar el compuesto del título.

Etapa E: 17C y 17D: Un matraz de fondo redondo, de tres bocas y 5000 ml, equipado con un adaptador de entrada de nitrógeno, un termopar y un septo se cargó con el producto de la Etapa D (273 g, 696,2 mmol), TFA (1340 ml, 17,45 mol, 25 equiv.) y 1300 ml de DCM. Se añadió en una porción Et₃SiH (333 ml, 2,1 mol, 3 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró para retirar el TFA. El material resultante se disolvió en DCM (600 ml) y se cargó cuidadosamente con Na₂CO₃ 2,5 M (1400 ml, 3,5 mol, 5 equiv.) (el pH debe ser básico). Se añadió en una porción Boc₂O (243 ml, 1,05 mol, 1,5 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La capa orgánica se separó, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (acetona al 0-30 %-hexanos) para dar el producto (aproximadamente 2:1 de *trans*:*cis*), que se separó por SFC quiral para dar ambos isómeros individuales: Condiciones de separación de SFC HPLC quiral: Instrumento: Berger MultiGram SFC, Mettler Toledo Co, Ltd.; Columna: columna Chiralpak AD (Diacel Chemical Industries, LTD.) 250 mm X 50 mm, 5 µm; Fase móvil: A: CO₂ supercrítico, B: MeOH, A:B = 85:15 a 150 ml/min.; Temp. de la Columna: 38 °C; Presión de la boquilla: 100 Bar; Temp. de la boquilla: 60 °C; Temp. del evaporador: 20 °C; Temp. del regulador: 25 °C.; Longitud de onda: 235 nm. **RMN ¹H de isómero *trans* 17C** 400 MHz, CDCl₃ δ: 7,720-7,683 (dd, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,056 (t, *J* = 8 Hz, 1H), 4,811-4,787 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 3,962-3,928 (dd, *J* = 9,6 Hz, 3H), 3,465 (t, *J* = 10 Hz 1H), 3,002 (s, 1H), 2,826-2,797 (d, *J* = 11 Hz, 1H), 2,719 (s, 1H), 2,638-2,559 (m, 4H), 2,091-2,253 (m, 3H), 1,469 (s, 9H); **RMN ¹H de isómero *cis* 17D** 400 MHz, CDCl₃ δ: 8,182-8,146 (t, *J* = 7 Hz, 1H), 7,019 (t, *J* = 9 Hz, 1H), 4,873 (s, 1H), 3,952-3,711 (m, 2H), 3,530-3,503 (d, *J* = 11 Hz, 1H), 3,215-3,020 (m, 3H), 2,801-2,761 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 2,593 (s, 4H), 2,452-2,430 (m, 3H), 1,463 (s, 9H).

INTERMEDIO 18A



3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3R,9aS)-terc-butilo

5 Etapa A: 4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxietil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo:
Una mezcla de 6-fluoro-2-metil-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo (785 mg, 4,43 mmol) y 3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (1340 mg, 6,2 mmol) en etanol (10 ml) se calentó en un microondas a 150 °C durante 3 h. El material volátil se evaporó y el residuo se purificó en un sistema Biotage acetato de etilo al 40-100 %/hexano para dar el compuesto del título: **CL/EM:** (M+1)⁺: 394,19.

10 Etapa B: 4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxietil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo: A una solución de 4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxietil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo (2,87 g, 7,32 mmol) en cloruro de metileno (20 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (20 ml) a ta, y la solución resultante se agitó a ta durante 1 h. Después de retirar los disolventes volátiles, el residuo se disolvió en cloruro de metileno (50 ml). A la solución anterior se le añadió gota a gota trietilamina (6,12 ml, 43,9 mmol) y cloroformiato de bencilo (1,1 ml, 7,3 mmol) a 0 °C. La solución de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h antes de inactivar con una solución saturada de bicarbonato sódico (200 ml). Después, la mezcla se extrajo con cloruro de metileno (3 x 100 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico y se concentró para dar el compuesto del título. **CL/EM:** (M+1)⁺: 428,18.

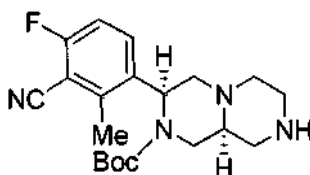
15 Etapa C: 8-alil-7-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (7R,9aR)-bencilo y 8-alil-7-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (7S,9aR)-bencilo: Una solución de 4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxietil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-bencilo (1,68 g, 3,93 mmol) en cloruro de sulfonilo (14,0 g, 118 mmol) se calentó a 90 °C durante 1 h. Después de retirar el material volátil, el residuo se disolvió en DMF (16 ml), se trató con alilamina (1,726 ml, 23,58 mmol) y yoduro de sodio (0,059 g, 0,39 mmol) en un tubo cerrado herméticamente a 0 °C y la mezcla resultante se calentó a 90 °C durante 1 h. La mezcla se diluyó en acetato de etilo (300 ml), se lavó con bicarbonato sódico saturado (3 x 200 ml), se secó sobre sulfato sódico, se concentró y el residuo se purificó en un sistema Biotage con acetato de etilo al 40-80 %/hexano para dar el compuesto del título (más polar en TLC). **CL/EM:** (M+1)⁺: 449,24.

20 Etapa D: 2-terc-butil-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)tetrahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2,8(9H,9aH)-dicarboxilato de (3R,9aS)-8-bencilo: Una mezcla de 8-alil-7-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (7R,9aR)-bencilo (1260 mg, 2,81 mmol), 1,3-dimetilpirimidin-2,4,6(1H,3H,3H)-triona (1316 mg, 8,430 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (162 mg, 0,140 mmol) en cloruro de metileno (10 ml) se calentó a 35 °C durante 4 h. Después de enfriar a ta, se añadieron dicarbonato de di-terc-butilo (736 mg, 3,37 mmol) y trietilamina (1579 µl, 11,24 mmol) y la solución resultante se agitó a ta durante una noche. Después de concentración, el residuo se purificó en un sistema Biotage con EtOAc al 40 %/hexano para dar el compuesto del título. **CL/EM:** (M+1)⁺: 509,32.

25 Etapa E: 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3R,9aS)-terc-butilo: A una solución de 2-terc-butil-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)tetrahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2,8(9H,9aH)-dicarboxilato de (3R,9aS)-8-bencilo (600 mg, 1,180 mmol) en MeOH (100 ml) se le añadió paladio sobre carbono (10 %, 126 mg, 0,118 mmol) y la mezcla resultante se sometió a hidrogenación a ta durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se lavó con mezcla de metanol y cloruro de metileno (1:1) y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título: **CL/EM:** (M+1)⁺: 375,28.

INTERMEDIO 18B

45



3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aS)-terc-butilo

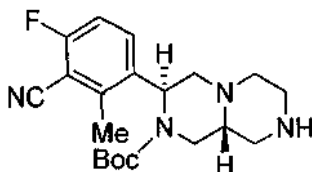
50 Etapa A: 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)tetrahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2,8(9H,9aH)-dicarboxilato de 2-terc-butil (3S,9aS)-8-bencilo: Una mezcla de 8-alil-7-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (7S,9aR)-bencilo (518 mg, 1,155 mmol), 1,3-dimetilpirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (518 mg, 1,16 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (66,7 mg, 0,058 mmol) en cloruro de metileno (10 ml) se calentó a 35 °C durante 4 h. Después de enfriar a ta, se añadieron dicarbonato de di-terc-butilo (302 mg, 1,39 mmol) y trietilamina (649 µl, 4,62 mmol) y la solución resultante se agitó

55

a ta durante una noche. Después de concentración, el residuo se purificó en un sistema Biotage con EtOAc al 40 %/hexano para dar el compuesto del título: **CL/EM:** (M+1)⁺: 509,26.

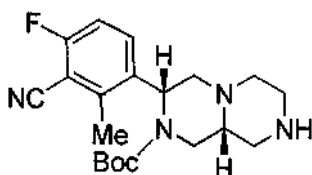
Etapa B: 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aS)-*terc*-butilo: A una solución de 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)tetrahydro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2,8(9H,9Ah)-dicarboxilato de 2-*terc*-butil (3S,9aS)-8-bencilo (0,78 g, 1,534 mmol) en MeOH (100 ml) se le añadió paladio sobre carbono (10 %, 0,163 g, 0,153 mmol) y la mezcla resultante se sometió a hidrogenación a ta durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se lavó con mezcla de metanol y cloruro de metileno (1:1) y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título: **CL/EM:** (M+1)⁺: 375,28.

INTERMEDIO 18C



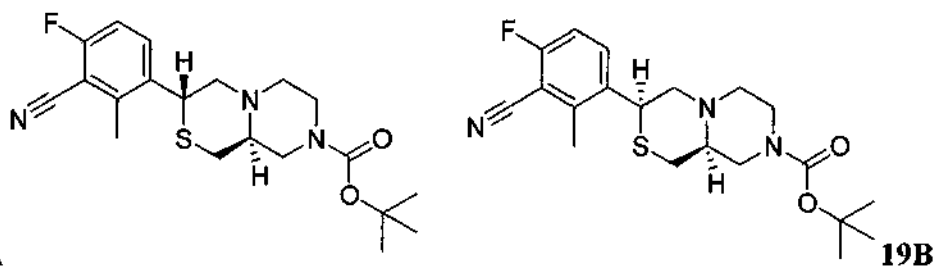
3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aR)-*terc*-butilo: El compuesto del título se preparó de una manera similar a la descrita para la síntesis de 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3R,9aS)-*terc*-butilo, partiendo de 6-fluoro-2-metil-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo y 3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (R)-*terc*-butilo. **CL/EM:** 375,16 (M+1)⁺.

INTERMEDIO 18D



3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3R,9aR)-*terc*-butilo: El compuesto del título se preparó de una manera similar a la descrita para la síntesis de 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aS)-*terc*-butilo, partiendo de 8-alil-7-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (7R,9aS)-bencilo (obtenido de la síntesis de 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3S,9aR)-*terc*-butilo). **CL/EM:** 375,14 (M+1)⁺.

INTERMEDIOS 19A y 19B



3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-8(1H)-carboxilato de (3S,9aS)-*terc*-butilo y 3-(3-Ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-8(1H)-carboxilato de (3R,9aS)-*terc*-butilo

Etapa A: 3-(Acetiltiometil)-4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi-etil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-*terc*-butilo: Se disolvió 4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi-etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-*terc*-butilo (síntesis descrita anteriormente, 0,090 g, 0,23 mmol) en THF (2,3 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió trietilamina (0,038 ml, 0,274 mmol), seguido de la adición de Ms-Cl (0,020 ml, 0,252 mmol) y DMAP (2,79 mg, 0,023 mmol). El baño de hielo se retiró y se continuó agitando durante 2 horas. Después, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material resultante se re-disolvió en DMSO (2 ml) y se trató con tioacetato potásico (0,035 g, 0,306 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante una noche y después se calentó a 45 °C durante 2 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua (3 veces) y salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El producto en

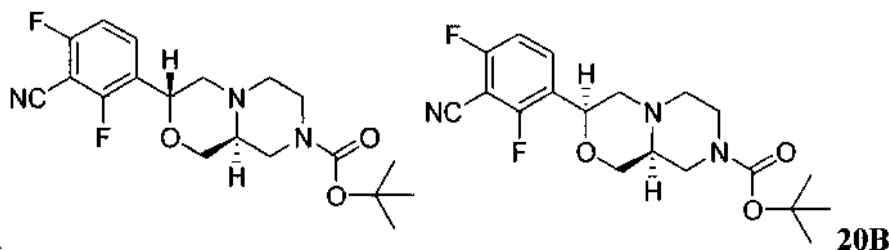
bruto se purificó por cromatografía en columna (de hexano al 100 % a EtOAc al 80 %/Hexano) para dar el producto deseado **CL/EM**: M+1 = 452,3.

Etapa B: 3-(Acetiltiometil)-4-(2-cloro-2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)etil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo:

A una solución de 3-(acetiltiometil)-4-(2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-2-hidroxi)etilpiperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo (30,8 mg, 0,0680 mmol) en tolueno (0,62 ml) se le añadió cloruro de tionilo (14,9 μ l, 0,205 mmol). La mezcla se enfrió con un baño de hielo y después se añadió gota a gota piridina (22,1 μ l, 0,273 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 20 min y después se dejó calentar a temperatura ambiente durante una hora, y finalmente se calentó a 70 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se diluyó con acetato de etilo, se lavó con una cantidad mínima de solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y después salmuera. La capa orgánica se separó, se filtró a través de una capa de sulfato sódico anhidro y se concentró. Se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa C: 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-8(1H)-carboxilato de (3S,9aS)-terc-butilo y 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-8(1H)-carboxilato de (3R,9aS)-terc-butilo: Se trató 3-(acetiltiometil)-4-(2-cloro-2-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)etil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo (320 mg, 0,681 mmol) en THF (34 ml) con metóxido sódico (441 mg, 2,04 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de N₂ durante 3 h. La CL-EM mostró la formación del producto deseado en forma de un par de diastereómeros. La mezcla de reacción se concentró y se repartió entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (hexano al 100 % durante 2 VC, de hexano al 100 % a EtOAc al 35 %/Hexano durante 4 VC, después mantenido a 35 % durante 4 VC, después aumentado a EtOAc al 80 %/hexano a través de 4 VC. (VC = volúmenes de columna) para dar el compuesto del título. **RMN ¹H para 19B** (500 MHz, CD₃OD) δ ppm 8,76 (c, J = 6,5 Hz, 9,0 Hz, 1H), 7,13 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 4,05 (s a, 1H), 3,90-4,00 (c, 2H), 3,35 (c, J = 2,5 Hz, 13,0 Hz, 1H), 3,06 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,64-2,77 (m, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,43 (m, 1H), 2,31 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,47 (s, 9H). **CL-EM: M+1 = 392,4; RMN ¹H para 19A** (500 MHz, CD₃OD) δ ppm 7,72 (c, J = 6,0 Hz, 9,0 Hz, 1H), 7,23 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 4,49 (doblete doble, J = 10,5 Hz, 1H), 4,14 (m, 2H), 3,46 (m, 1H), 3,14-3,23 (m, 3H), 2,83-2,98 (m, 5H), 2,66 (s, 3H), 1,48 (s, 9H); **CL-EM: M+1 = 392,4.**

INTERMEDIOS 20A Y 20B



20A: (3R,9aS)-3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo; **20B:** (3S,9aS)-3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

Etapa A: 2,6-difluoro-3-hidroxi-benzonitrilo: Se 2,6-difluoro-3-metoxibenzonitrilo (4,42 g, 26,1 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C y después se añadió BBr₃ 1 M (52,2 ml, 52,2 mmol). Después, la mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con más DCM. La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad para producir 2,6-difluoro-3-hidroxi-benzonitrilo: **CL-EM**: M+1 = 156.

Etapa B: trifluorometanosulfonato de 3-ciano-2,4-difluorofenilo: Se disolvió 2,6-difluoro-3-hidroxi-benzonitrilo (3,50 g, 22,6 mmol) en DCM (50 ml), se enfrió a 0 °C y se añadió TEA (7,87 ml, 56,4 mmol) seguido de anhídrido triflico (7,63 ml, 45,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, después se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con más DCM. La capa orgánica se separó y se lavó con NaHCO₃ acuoso sat., después salmuera, después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El material en bruto se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 330 g eluyendo con EtOAc al 0-80 %/hexano para producir trifluorometanosulfonato de 3-ciano-2,4-difluorofenilo.

Etapa C: 3-etenil-2,6-difluorobenzonitrilo: Se añadieron trifluorometanosulfonato de 3-ciano-2,4-difluorofenilo (5,20 g, 18,1 mmol), vinil trifluoroborato de potasio (4,85 g, 36,2 mmol), aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (0,662 g, 0,905 mmol) y TEA (5,05 ml, 36,2 mmol) a 75 ml de etanol. La mezcla de reacción se desgasificó, después se calentó a reflujo durante 4 h. El análisis de CL-EM confirmó el pico de producto. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó dos veces con salmuera, se secó y se evaporó a sequedad. Después, el material en bruto se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 330 g eluyendo con un sistema de disolventes de EtOAc al 10 %/Hexano para producir 3-etenil-2,6-difluorobenzonitrilo.

Etapa D: 2,6-difluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo: Se añadió 3-etenil-2,6-difluorobenzonitrilo (1,70 g, 10,3 mmol) a DCM (10 ml) a 0 °C. Después se añadió mCPBA (5,33 g, 30,9 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 48 h. La mezcla de reacción se lavó con Na₂S₂O₃ acuoso saturado, después con NaOH 1 N y salmuera. La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 120 g, eluyendo con un sistema de disolventes de

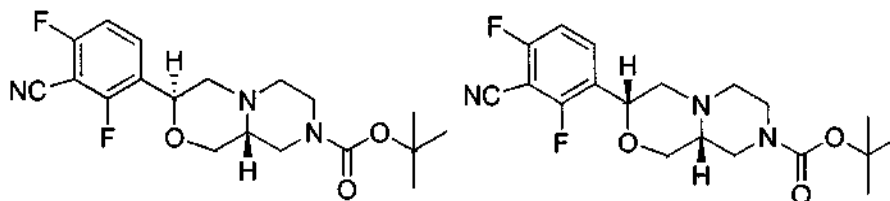
EtOAc al 0-100 %/hexano. Se aisló 2,6-difluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo.

Etapa E: (3S)-4-[2-(3-ciano-2,4-difluorofenil)-2-hidroxietil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se suspendieron 2,6-difluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo (1,50 g, 8,28 mmol) y (S)-4-N-BOC-2-hidroximetilpiperazina (2,40 g, 11,1 mmol) en etanol (15 ml) y después se calentó en un aparato de microondas durante 30 min a 150 °C. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 120 g eluyendo con MeOH al 5 %/EtOAc al 95 % para producir el compuesto del título **CL-EM**: M+1 = 398.

Etapa F: (9aS)-3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron (3S)-4-[2-(3-ciano-2,4-difluorofenil)-2-hidroxietil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,2 g, 3,0 mmol) y cianometileno-*n*-butilfosforano (1,31 g, 5,44 mmol) en 5 ml de benceno. La mezcla de reacción se desgasificó y se calentó a 100 °C durante 16 h. El análisis de CL-EM mostró un pico de producto a 2,07 min (M+1 = 380). La reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de MPLC a través de una columna Redi-sep de 80 g eluyendo con una mezcla de EtOAc al 40 %/hexano al 60 % para producir una mezcla *cis-trans* del compuesto del título.

Etapa G: Isómeros 20A y 20B: Los isómeros del producto de la Etapa F se separaron por HPLC quiral usando una columna Chirapak AD 4,6 x 250 mm, 10 μ, y eluyendo con IPA al 25 %/heptano al 75 %. El isómero *trans* (3R,9aS) **20A** se eluyó en primer lugar y el isómero *cis* (3S,9aS) **20B** se eluyó segundo: **31A: RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,79-7,84 (c, 1H), 7,08 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,94 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 4,0 (a, 2H), 3,96 (d, J = 11 Hz, 1H), 3,48 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 3,02 (a, 1H), 2,97 (d, J = 11 Hz, 1H), 2,75 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,53 (a, 1H), 2,25-2,29 (c, 2H), 2,13 (t, J = 11 Hz, 1H), 1,51 (s, 9H); **CL-EM**: M+1 = 380. **31B: RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,29 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 7,08 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 5,0 (s, 1H), 3,70-4,10 ppm (a, 2H), 3,61 (d, J = 11 Hz, 1H), 3,34 (a, 1H), 3,12 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 3,03 (a, 1H), 2,84 (d, J = 12 Hz, 1H), 2,79 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 2,68 (a, 1H), 2,44-2,5 (m, 2H), 1,50 (s, 9H); **CL-EM**: M+1=380.

25 INTERMEDIOS 20C y 20D

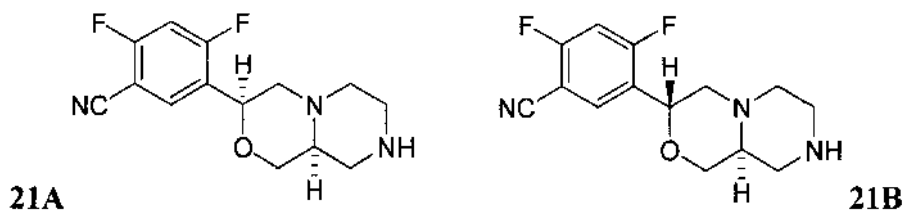


20C: 3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (3S,9aR)-*terc*-butilo y **20D:** 3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (3R,9aR)-*terc*-butilo

Etapa A: 4-(2-(3-ciano-2,4-difluorofenil)-2-hidroxietil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3R)-*terc*-butilo: Se disolvieron 2,6-difluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo (3,70 g, 20,4 mmol) y 3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (R)-*terc*-butilo (6,63 g, 30,6 mmol) en etanol (36,0 ml), después se pusieron en tubos cerrados herméticamente de 3-20 ml y se sometieron a microondas a 140 °C durante 1 h. Los disolventes se evaporaron y el residuo combinado se purificó por cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 120 g con un sistema de disolventes de acetato de etilo del 50 % al 100 %/hexano para producir el compuesto del título CL-EM (IE, *m/z*): 398 [M+1]⁺.

Etapa B: 3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (9aR)-*terc*-butilo y 3-(3-ciano-2,4-difluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (3S,9aR)-*terc*-butilo: Se disolvió 4-(2-(3-ciano-2,4-difluorofenil)-2-hidroxietil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3R)-*terc*-butilo (7,30 g, 18,4 mmol) en benceno (90 ml) y se añadió cianometileno-tributil fosforano (7,98 g, 33,1 mmol). La mezcla se puso en cinco tubos para microondas separados de 20 ml, se desgasificó y se calentó a 100 °C durante una noche. La CL-EM mostró un pico de producto. Se combinaron todas las mezclas de reacción y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía usando una columna ISCO Redi-Sep de 330 g con un sistema de disolventes de acetona al 10 %/hexano para producir el compuesto del título. Los diastereómeros se resolvieron por SFC prep. usando las siguientes condiciones: MeOH al 15 % con DEA al 0,2 %/CO₂ en una columna Chiral OJ, 21 x 250 mm, 50 ml/min, 191 mg/ml en MeOH/MeCN caliente, 35 °C, 220 nm. **20C: RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,788 (t, J = 7,9 Hz, 0,5H), 7,777 (t, J = 7,9 Hz, 0,5H), 7,066 (t, J = 8,35 Hz, 1H), 4,93 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 3,943 (dd, J = 9,25, 3,15 Hz, 1H), 4,097-3,80 (a, 2H), 3,469 (t, J = 10,7 Hz, 1H), 3,01 (a, 1H), 2,94 (dd, J = 10, 1,7 Hz, 1H), 2,733 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 2,51-2,52 (a, 1H), 2,202-2,264 (m, 2H), 2,115 (t, J = 10,9 Hz, 1H), 1,476 (s, 9H). **20D: RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,259 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 7,045 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 5,031 (s, 1H), 3,64-4,04 (a, 2H), 3,589 (dd, J = 11,4, 2,8 Hz, 1H), 3,30 (a, 1H), 3,085 (dd, J = 12, 3,1 Hz, 1H), 3,001 (a, 1H), 2,802 (dd, J = 12,4, 15 Hz, 1H), 2,757 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 2,638 (a, 1H), 2,401-2,46 (m, 2H), 1,476 (s, 9H).

55 INTERMEDIOS 21A y 21B



21A: 2,4-difluoro-5-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo y

5 **21B: 2,4-difluoro-5-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo**

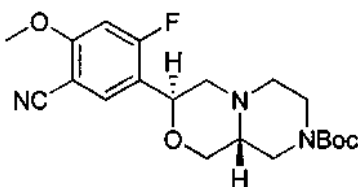
Etapa A: ácido 5-ciano-2,4-difluorobenzoico: A una solución de 5-bromo-2,4-difluorobenzonitrilo (6,00 g, 27,5 mmol) en 80 ml de THF y 20 ml de agua se le añadió TEA (3,00 g, 29,7 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,8 g). La reacción se calentó a 100 °C a 2 MPa de CO durante 18 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se vertió en 500 ml de agua. El sólido de color pardo precipitado se filtró. La torta de filtro se lavó con agua y después se purificó mediante una columna de gel de sílice para dar ácido 5-ciano-2,4-difluorobenzoico.

Etapa B: 5-(bromoacetil)-2,4-difluorobenzonitrilo: Se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (5 ml) a 0 °C a una suspensión de ácido 5-ciano-2,4-difluorobenzoico (2,00 g, 10,9 mmol) en 30 ml de DCM con 0,5 ml de DMF. La mezcla se agitó a 25 °C durante 45 minutos y la solución transparente se concentró a sequedad a presión reducida. Este cloruro de ácido se recogió en 70 ml de THF y se enfrió a 0 °C con hielo/agua. Se añadió gota a gota una solución de CH₂N₂ (70 mmol en ~ 150 ml de éter) y se agitó a 0 °C durante 2 horas antes de añadir 15 ml de HBr concentrado (47 %). La mezcla se agitó a 0 °C durante 20 minutos después se diluyó con 600 ml de EtOAc. Después, la mezcla se lavó posteriormente con agua (30 ml), NaHCO₃ saturado (30 ml) y salmuera (30 ml). La capa de EtOAc se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar 5-(bromoacetil)-2,4-difluorobenzonitrilo.

Etapa C: (3S)-4-[2-(5-ciano-2,4-difluorofenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Una suspensión de 5-(bromoacetil)-2,4-difluorobenzonitrilo (2,5 g, 9,6 mmol), (3S)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,1 g, 9,6 mmol) y DIEA (1,90 g, 14,4 mmol) en 50 ml de THF se agitó a 20 °C durante 10 horas. La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con MeOH al 5 % en DCM para proporcionar el compuesto del título.

Etapa D: **21B: 2,4-difluoro-5-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo y 21A: 2,4-difluoro-5-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo**: A una solución de (3S)-4-[2-(5-ciano-2,4-difluorofenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,1 g, 7,8 mmol) en 50 ml de TFA se le añadió Et₃SiH (10,4 g, 89,0 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 90 minutos y se concentró a sequedad a presión reducida. El residuo se lavó con éter y el aceite resultante se purificó y los isómeros se separaron por SFC (Columna: Chiralpak AD-H, D.I.100 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil: metanol (DEA al 0,05 %) en CO₂ del 5 % al 40 %; Caudal: 4,5 ml/min; Longitud de onda: 220 nm; Temp.: 40. Gradiente: 5 % 0 min, 5 % 0,5 min, 40 % 2,25 min, 40 % 3,65 min, 5 % 4,0 min, 5 % 5,0 min) para dar los compuestos del título: **RMN ¹H de Isómero A** (MeOD, 400 MHz) δ 8,24-8,28 (m, 1H), 7,27-7,32 (m, 1H), 5,03 (s, 1H), 3,66-3,68 (m, 1H), 3,48-3,50 (m, 3H), 3,34-3,37 (m, 1H), 3,14-3,17 (m, 3H), 2,84-2,88 (m, 3H); **EM m/z 280 (M+1)⁺**; **RMN ¹H de Isómero B** (MeOD, 400 MHz) δ 7,87-7,91 (m, 1H), 7,26-7,31 (m, 1H), 4,91 (s, 1H), 4,02-4,04 (m, 1H), 3,49-3,51 (m, 1H), 3,37-3,42 (m, 1H), 3,14-3,28 (m, 5H), 3,00-3,07 (m, 2H), 2,78-2,82 (m, 1H), 2,61-2,67 (m, 1H), 2,49-2,56 (m, 1H), 2,24-2,51 (m, 1H); **EM m/z 280 (M+1)⁺**.

40 INTERMEDIO 22



45 **(3S, 9aR)-3-(5-Ciano-2-fluoro-4-metoxifenil) hexahidropirazino[2, 1-c][1,4] oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo**

Etapa A: 1-bromo-4-fluoro-2-metoxibenceno: A una solución de 2-bromo-5-fluorofenol (50 g, 0,26 mol) en 300 ml de DMF se le añadió en una porción K₂CO₃ (72,8 g, 0,520 mol) y se añadió gota a gota MeI (44,6 g, 0,310 mol) a 0 °C. Después de agitar la mezcla a t.a. durante 3 horas, la reacción se vertió en 1 l de agua y se extrajo con EtOAc (300 ml X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron y se concentraron para proporcionar 1-bromo-4-fluoro-2-metoxibenceno.

Etapa B: 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo: A una solución de 1-bromo-4-fluoro-2-metoxibenceno (25 g, 0,12 mol) en 250 ml de DMF se le añadieron en una porción Zn(CN)₂ (28,6 g, 0,240 mol) y Pd(PPh₃)₄ (7,05 g, 6,10 mmol) y la reacción se cargó con Ar y se calentó a 100 °C durante 10 horas. Después, la reacción se vertió en 1 l de EtOAc y

se filtró a través de un lecho Kieselguhr. El filtrado se lavó con agua y salmuera, se secó y se concentró a un sólido, que se purificó mediante columna de gel de sílice para dar 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo.

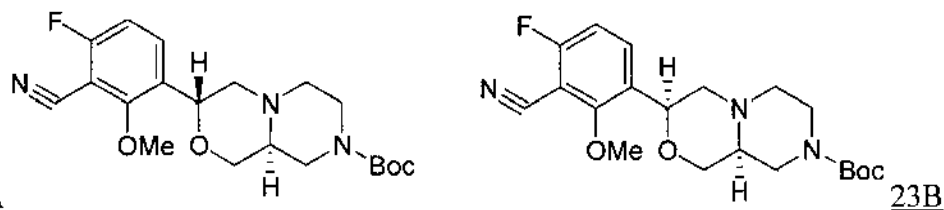
Etapa C: 5-bromo-4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo: A una solución de 4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (35 g, 0,23 mol) en 300 ml de H₂SO₄ concentrado se le añadió en porciones NBS (42 g, 0,23 mol) a -10 °C y la reacción se agitó a t.a. durante 2 horas. Después, la reacción se vertió en porciones en 2 l de hielo, y el sólido precipitado se filtró. La torta de filtro se lavó con agua, después el sólido se secó al vacío para dar 5-bromo-4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo.

Etapa D: 5-(bromoacetil)-4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo: En un matraz de 500 ml se añadió 5-bromo-4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (4,00 g, 17,4 mmol), cloruro de Bis(Trifenilfosfina)paladio(II) (0,61 g, 0,87 mmol), tributil(1-etoxi-vinil)estaño (9,42 ml, 26,1 mmol), seguido de la adición de 1,4-dioxano (40 ml). La mezcla resultante se agitó a 95 °C durante 3 h; el matraz se retiró del baño de aceite y se enfrió a ta, seguido de tratamiento con una mezcla de THF/H₂O (50/25 ml) y se puso en un baño de hielo. En el matraz se añadió NBS (6,19 g, 34,8 mmol) en pequeñas porciones; después de agitar durante 0,5 h a 0 °C, la CL indicó la formación del producto deseado. La mezcla de reacción se recogió del baño de hielo y se calentó lentamente hasta ta. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (3 X 100 ml), se lavó con salmuera y agua, después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a sequedad, seguido de separación sobre gel de sílice con el sistema de disolventes de hexanos/EtOAc (1/0,5) para dar el producto deseado. **CL/EM:** [(M+2)]⁺ =274.

Etapa E: (3R,4-[5-Ciano-2-fluoro-4-metoxifenil]-2-oxoetil]-3-(hidroximetil) piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: En un matraz de 250 ml se añadieron 5-(bromoacetil)-4-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (2,00 g, 7,35 mmol), (R)-N-Boc-2-hidroximetil-piperazina (3,18 g, 14,7 mmol), DIEA (2,57 ml, 14,7 mmol) y THF (50 ml) y se agitó a ta durante 1 h; El análisis de CL de la mezcla de reacción indicó la finalización de la reacción. La solución se trató con EtOAc (100 ml), se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a sequedad. Después, el residuo se purificó sobre gel de sílice con el sistema de disolventes de MeOH al 5 % en DCM para formar el producto deseado. **CL/EM:** [(M+1)]⁺ =408.

Etapa F: (3S,9aR)-3-(5-Ciano-2-fluoro-4-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: En un matraz de 500 ml se añadieron (3R)-4-[5-ciano-2-fluoro-4-metoxifenil]-2-oxoetil]-3-(hidroximetil) piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,20 g, 5,40 mmol), trietilsilano (4,31 ml, 27,0 mmol) y una mezcla de DCM/TFA (50/20 ml). Después, la mezcla resultante se agitó durante una noche a ta. El análisis de CL de la mezcla de reacción indicó la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró a sequedad y el residuo resultante se disolvió en DCM (20 ml) y NaHCO₃ ac. y BOC₂O (1,2 g, 5,4 mmol) y se agitó a ta durante 2 h. El análisis de la mezcla de reacción por CL indicó la reacción finalizada. La mezcla de reacción se diluyó adicionalmente con DCM (50 ml) y la se transfirió en un embudo de decantación y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera, agua, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se purificó sobre gel de sílice con el sistema de disolventes de MeOH al 5 % en DCM para formar el compuesto del título. Nota: Se formó exclusivamente el isómero *trans*. **CL/EM:** [(M+1)]⁺ = 392; **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,75 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,67 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 4,88 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,51-3,45 (m, 2H), 2,94-2,91 (m, 2H), 2,78-2,25 (m, 1H), 2,28-2,13 (m, 4H), 2,17-2,13 (m, 2H), 1,5 (s, 9H).

INTERMEDIOS 23A y 23B



23A: (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y **23B:** (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

Etapa A: 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (Método 1): Se disolvió 2-fluoro-6-metoxibenzonitrilo (8,30 g, 54,9 mmol) en ácido trifílico (75 ml) a 0 °C, después se añadió NBS (10,3 g, 57,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 1 h. La CL-EM no mostró ningún pico de material de partida. La mezcla de reacción se vertió en hielo y se extrajo dos veces con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-Sep de 330 g y se eluyó con un sistema de disolventes de EtOAc del 10 % al 50 %/hexano para producir el compuesto del título.

Etapa B: 3-etenil-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo: Se añadieron 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (4,40 g, 19,1 mmol), vinil trifluoroborato de potasio (5,12 g, 38,3 mmol), aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (0,7 g, 1 mmol) y TEA (5,33 ml, 38,3 mmol) a 80 ml de etanol en un matraz de 200 ml. La mezcla de reacción se desgasificó y se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió y después la mayoría del EtOH se retiró. El residuo se diluyó con acetato de etilo. La mezcla se lavó con salmuera dos veces. La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó a través de una columna RediSep de 330 g y se eluyó con un sistema de disolventes de EtOAc al 10 %/hexano para producir el compuesto del título.

Etapa C: 6-fluoro-2-metoxi-(oxiran-2-il)benzonitrilo: Se añadió 3-etenil-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo (1,67 g,

9,43 mmol) a DCM (50 ml) a 0 °C, después se añadió mCPBA (4,88 g, 28,3 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. La mezcla de reacción se lavó con Na₂S₂O₃ acuoso saturado, después con NaOH 1 N, seguido de salmuera. La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 120 g y eluyendo con un sistema de

5 disolventes de EtOAc al 0-100 %/hexano. Se aisló 6-fluoro-2-metoxi-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo.
Etapa D: (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluoro-2-metoxifenil)-2-hidroxietyl]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Se suspendieron 6-fluoro-2-metoxi-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo (1,4 g, 7,3 mmol) y (S)-4-N-BOC-2-hidroximetilpiperazina (3,13 g, 14,5 mmol) en etanol (15 ml), después se calentaron en un aparato de microondas durante 60 min a 150 °C. La mezcla de reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 40 g y eluyendo con MeOH al 5 %/EtOAc al 95 % para producir el compuesto del título: **CL-EM**: M+1 = 410;

10 Etapa E: (9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron (3S)-4-[2-(3-ciano-4-fluoro-2-metoxifenil)-2-hidroxietyl]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2 g, 4,88 mmol) y cianometilenotri-n-butilfosforano (2,122 g, 8,79 mmol) en 15 ml benceno. La mezcla de reacción se desgasificó y se calentó a 100 °C durante 16 h. La CL-EM mostró un pico de producto a 2,07 (M+1= 380). La reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se sometió a cromatografía a través de una columna Redi-sep de 80 g y eluyendo con una mezcla de EtOAc al 40 %/hexano al 60 % para producir la mezcla *cis-trans* del compuesto del título.

20 Etapa F: Isómero Trans (3R,9aS) 23A e Isómero Cis (3S,9aS) 23B: Los isómeros separaron mediante Chirapak AD- H, D.I. 250 mm X 30 mm con SFC de CO₂ al 85 % y EtOH al 15 %. El isómero *trans* se eluyó en primer lugar, después el isómero *cis*. **23A: RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,72 ppm (t, J = 8 Hz, 1H), 6,96 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,92 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 4,17 (s, 3H), 4,03 (a, 2H), 3,96 (d, J = 11 Hz, 1H), 3,49 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 3,05 (a, 1H), 2,95 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,74 (s, 1H), 2,54 (a, 1H), 2,24 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 2,07 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 1,50 (s, 9H); **CL-EM**: M+1 = 392; **23B: RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,28 (a, 1H), 6,96 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,16 (s, 3H), 3,80-4,05 ppm (a, 2H), 3,80 (s, 1H), 3,74 (s, 1H), 3,423 (a, 1H), 3,04 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,81 (a, 3H), 2,56 (a, 2H) 2,68, 1,50 (s, 9H); **CL-EM**: M+1=392.

Método 2 para preparar 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo:

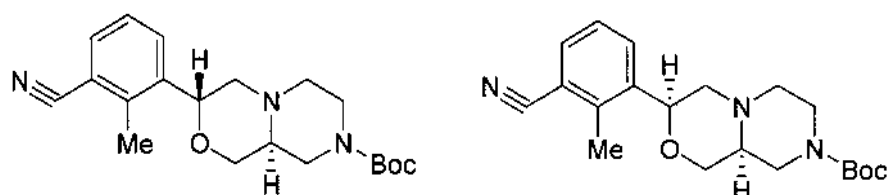
30 Etapa A: 1-bromo-4-fluoro-2-metoxibenceno: A una solución de 2-bromo-5-fluorofenol (15 g, 79 mmol) en 125 ml de DMF anhidra se le añadieron K₂CO₃ (17,0 g, 138 mmol) y MeI (14,0 g, 102 mmol) con refrigeración, después la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla se vertió en agua, se extrajo con éter dietílico, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar 1-bromo-4-fluoro-2-metoxibenceno.

35 Etapa B: ácido 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzoico: Una solución de diisopropilamina seca (10 g, 99 mmol) en THF seco en una atmósfera de nitrógeno se enfrió con un baño a -78 °C, se añadió n-butil-litio (2,50 M en hexano, 40 ml, 99 mmol) y la solución se agitó a -78 °C durante 20 minutos. Se añadió 1-bromo-4-fluoro-2-metoxibenceno (17,0 g, 82,5 mmol). Después de agitar a -78 °C durante 2 horas, la solución se burbujeó con CO₂ y después se calentó a 0 °C. Después, se añadió HCl 1 N hasta pH = 3-4 y la mezcla se extrajo con AcOEt. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron para proporcionar ácido 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzoico.

40 Etapa C: 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzamida: Se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (15 ml) a 0 °C a una suspensión de ácido 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzoico (15 g, 60 mmol) en 100 ml de DCM con 0,5 ml de DMF. La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas y la solución transparente se concentró a sequedad a presión reducida. El residuo se disolvió en 60 ml de acetonitrilo anhidro, se añadió a 600 ml de NH₃ acuoso. H₂O a 0 °C y se agitó durante 2 horas, después se filtró para dar 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzamida.

45 Etapa D: 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo: A una solución de 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzamida (14 g, 61 mmol) en 100 ml de DMF se le añadió en porciones 2,4,6-tricloro-[1,3,5]triazina (12,3 g, 67,0 mmol) a 0 °C y se agitó durante 2 horas antes de verse en hielo/agua. El sólido de color blanco se recogió por filtración y se lavó con agua, se disolvió en DCM, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proporcionar 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,71-7,74 (m, 1H), 6,84-6,88 (m, 1H), 4,09 (s, 3H);

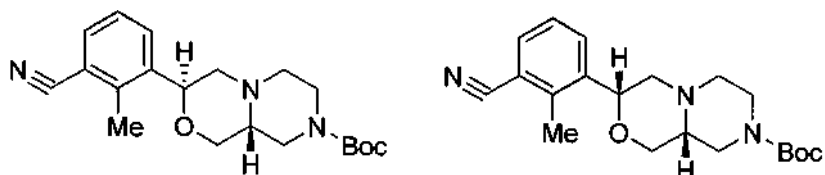
55 INTERMEDIOS 24A y 24B



60 (3R,9aS)-3-(3-Ciano-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3S,9aS)-3-(3-ciano-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Parte A: Se

preparó 3-bromo-2-metilbenzonitrilo partiendo de ácido 3-bromo-2-metilbenzoico disponible en el mercado, usando una secuencia análoga a la descrita en el Método 2, Etapas C y D, para preparar 3-bromo-6-fluoro-2-metoxibenzonitrilo. Parte B: La preparación de los compuestos del título se completó de una manera análoga a la descrita para preparar los Intermedios 17A y 17B (Método 1), partiendo de 3-bromo-2-metilbenzonitrilo en lugar de 3-bromo-6-fluoro-2-metilbenzonitrilo. Los isómeros *trans* y *cis* se separaron con una columna AD-H, 30 x 250 mm, IPA al 25 % (DEA al 0,2 %)/CO₂, 70 ml/min, 100 bar, 50 en MeOH, 35C, 220 nm. **Isómero S-trans** (eluido en primer lugar) - **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,74 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,34-7,32 (m, 1H), 4,87 (d, *J* = 10 Hz, 1H), 4,07-4,02 (m, 2H), 3,98-3,96 (m, 2H), 3,52-3,48 (m, 1H), 2,86 (d, *J* = 10 Hz, 1H), 2,75-2,73 (m, 1H), 2,59 (s, 3H), 2,29-2,24 (m, 2H), 2,19-2,15 (m, 2H), 1,49-1,48 (m, 9H); **CL/EM:** [(M+1)]⁺ = 358; **Isómero S-cis** (eluido segundo) - **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,14 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 7,59 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,32-7,31 (m, 1H), 4,93 (s, 1H), 4,08-4,03 (m, 2H), 3,59-3,56 (m, 2H), 3,31 (s, 1H), 3,18-3,15 (m, 2H), 2,82-2,87 (m, 2H), 2,65 (s, 3H), 2,53-2,49 (m, 2H), 1,49 (s, 9H); **CL/EM:** [(M+1)]⁺ = 358

INTERMEDIOS 24C y 24D



(3S,9aR)-3-(3-ciano-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y (3R,9aR)-3-(3-ciano-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo:

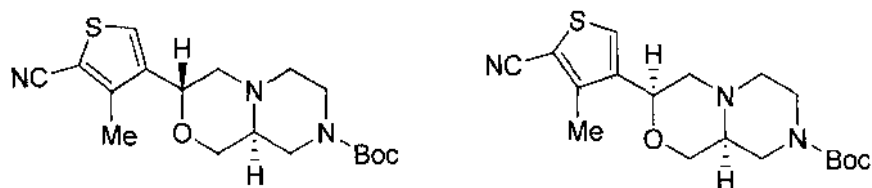
Etapa A: 3-(2-Cloroacetil)-2-metilbenzonitrilo

A una solución de 3-yodo-2-metilbenzonitrilo (7,71 g, 31,7 mmol) y 2-cloro-*N*-metoxi-*N*-metilacetamida (6,55 g, 47,6 mmol) en THF (100 ml) a -78 °C se le añadió gota a gota *n*-butil-litio (2,5 M en hexanos, 14,0 ml, 34,9 mmol). Después de que se completara la adición, la mezcla se agitó 15 min a -78 °C, después se inactivó con la adición gota a gota de HCl 1 N. La mezcla se repartió entre EtOAc/agua y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (sulfato de magnesio), se filtraron y se concentraron. La recristalización del residuo resultante en hexanos proporcionó 3-(2-cloroacetil)-2-metilbenzonitrilo: RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), δ 7,76 (m, 2H), 7,41 (m, 1H), 4,55 (s, 2H), 2,68 (s, 3H).

Etapa B: (3R)-4-(2-(3-ciano-2-metilfenil)-2-oxoetil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo: A una solución de 3-(cloroacetil)-2-metilbenzonitrilo (1,7 g, 8,8 mmol) en THF (17,6 ml) se le añadió (R)-4-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-2-hidroximetil-piperazina (2,279 g, 10,54 mmol) y DIPEA (3,07 ml, 17,56 mmol) a ta. La mezcla de reacción se agitó a ta durante el fin de semana. Después de concentración, el residuo se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso (saturado). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se filtró. La concentración se siguió de purificación por TLC prep. (gel de sílice; MeOH al 10 %/DCM) para dar el compuesto del título: **CL/EM** (M+1)⁺ = 374,14.

Etapa C: 2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo y 2-metil-3-[(3R,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo: A una solución de (3R)-4-[2-(3-ciano-2-metilfenil)-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (2,38 g, 6,37 mmol) en DCM (21,24 ml) y TRIETILSILANO (5,09 ml, 31,9 mmol) se le añadió gota a gota TFA (10,62 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 5 h. Después de concentración, el residuo se repartió entre DCM y NaHCO₃ acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo con DCM (2 x). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se filtró. Después de concentración, el residuo se disolvió de nuevo en 20 ml de DCM y se añadió BOC₂O (3,70 ml, 15,9 mmol) a ta. La mezcla se dejó en agitación a ta durante 2 h. Después de concentración, el residuo se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se filtró. Después de concentración, la mezcla se purificó por TLC prep. (gel de sílice; MeOH al 10 %/DCM) para dar una mezcla de productos *cis* y *trans*. La mezcla se resolvió por SFC prep. con MeOH al 15 %:MeCN a 35 °C en una columna OD-H para dar dos diastereómeros individuales.

INTERMEDIOS 25A y 25B



(3R,9aS)-3-(5-ciano-4-metilfeno-3-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y (3S,9aS)-3-(5-ciano-4-metilfeno-3-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

Etapa A: 2,4-dibromo-3-metiltiofeno: A una solución de 2,3,5-tribromo-4-metiltiofeno (46,2 g, 138 mmol) en 500 ml de THF se le añadió gota a gota n-BuLi (55,2 ml, 138,0 mmol) a -70 °C. La mezcla se agitó a -70 °C durante 15 minutos y se añadieron lentamente 50 ml de agua. La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron para dar 2,4-dibromo-3-metiltiofeno en bruto.

Etapa B: 4-bromo-3-metiltiofeno-2-carbonitrilo: Una mezcla de 2,4-dibromo-3-metiltiofeno (20,0 g, 78,1 mmol) y CuCN (6,30 g, 70,3 mmol) en 150 ml de DMF se agitó a la temperatura de reflujo durante 4 horas antes de enfriarse. La mezcla de reacción se vertió en 1 l de éter con agitación y el precipitado se retiró por filtración. El filtrado se lavó con agua (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (éter de petróleo: EtOAc = 50:1) para proporcionar 4-bromo-3-metiltiofeno-2-carbonitrilo.

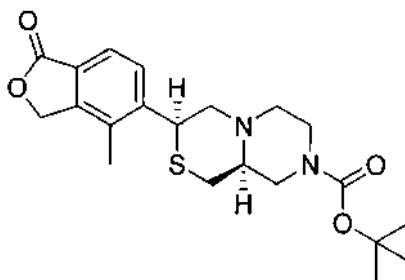
Etapa C: 4-etenil-3-metiltiofeno-2-carbonitrilo: Una mezcla de 4-bromo-3-metiltiofeno-2-carbonitrilo (3,00 g, 14,8 mmol), viniltrifluoroborato de potasio (2,40 g, 17,8 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,5 g) en 30 ml de EtOH y 30 ml de TEA se calentó a reflujo en una atmósfera de Ar durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo: EtOAc = 50:1) para proporcionar 4-etenil-3-metiltiofeno-2-carbonitrilo.

Etapa D: 3-metil-4-(oxiran-2-il)tiofeno-2-carbonitrilo: A una suspensión de 4-etenil-3-metiltiofeno-2-carbonitrilo (1,70 g, 11,4 mmol) en 30 ml de *t*-Bu-OH y 60 ml de agua se le añadió en porciones NBS (2,40 g, 13,7 mmol). La mezcla se agitó a 90 °C durante 1 hora y después se enfrió a 10 °C. Después, se añadió gota a gota una solución de NaOH (0,7 g en 10 ml de agua, 17,5 mmol) y se agitó durante 15 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc dos veces y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (éter de petróleo: EtOAc = 20:1) para proporcionar 3-metil-4-(oxiran-2-il)tiofeno-2-carbonitrilo.

Etapa E: (3S)-4-[2-(5-ciano-4-metil-3-il)-2-hidroxietil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo: Una mezcla de 3-metil-4-(oxiran-2-il)tiofeno-2-carbonitrilo (1,3 g, 7,9 mmol) y (3S)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,0 g, 9,5 mmol) en 5 ml de EtOH se calentó en un aparato de microondas a 140 °C durante 90 minutos y después se enfrió. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (DCM:MeOH = 10:1) para proporcionar el compuesto del título.

Etapa F: (3R,9aS)-3-(5-ciano-4-metil-3-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y (3S,9aS)-3-(5-ciano-4-metil-3-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo: Se disolvieron (3S)-4-[2-(5-ciano-4-metil-3-il)-2-hidroxietil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,40 g, 3,67 mmol) y cianometileno tributilfosforano (1,59 g, 6,61 mmol) en benceno (15 ml) en un tubo de microondas, después se cerró herméticamente, se desgasificó y se calentó a 100 °C durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió y el benceno se retiró por evaporación. Después, el residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 80 g eluyendo con acetona:DCM (5:95). El isómero *cis* *terc*-butil (3S,9aS) se eluyó en primer lugar; el isómero *trans* (3R, 9aS) se eluyó segundo: **Isómero 1:** RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,06 (s, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,00 (a, 1H), 3,79 (d, *J* = 11 Hz, 0,5H), 3,70 (d, *J* = 10 Hz, 0,5 H), 3,42 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 3,15 (t, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,10 (s, 0,5H), 3,08 (s, 0,5H), 2,99 (a, 1H), 2,75 (t, *J* = 13,0 Hz, 2H), 2,46 (a, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,24-2,40 (m, 2H), 1,45 (s, 9H); **CL-EM:** M+1 = 264; **Isómero 2:** RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,50 (s, 1H), 4,66 (d, *J* = 10 Hz, 1H), 3,80-4,15 (m, 3H), 3,45 (t, *J* = 10 Hz, 1H), 3,02 (a,1H), 2,89 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 2,75 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 2,53 (a, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,27 (t, *J* = 10,5 Hz, 3H), 1,49 (s, 9H); **CL-EM:** M+1=264.

INTERMEDIO 26A



3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-8(1H)-carboxilato de (3S,9aS)-*terc*-butilo

Etapa A: 4-((R)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo: Se preparó 4-((R)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo partiendo de 4-metil-5-[(2R)-oxiran-2-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de 4-(2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo.

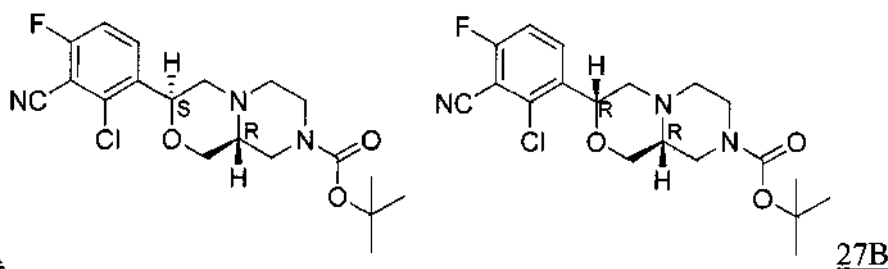
Etapa B: 3-(acetiltiometil)-4-((R)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo: A la solución de 4-((R)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo (817 mg, 2,01 mmol) en THF

anhidro (20 ml) en una atmósfera de nitrógeno a 0 °C se le añadió trietilamina anhidra (0,560 ml, 4,02 mmol), seguido de la adición de cloruro de metanosulfonilo (0,234 ml, 3,01 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (24,6 mg, 0,201 mmol). El baño de hielo se retiró y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. Después, la mezcla resultante se concentró a presión reducida. El aceite resultante se disolvió de nuevo en DMSO anhidro (13 ml) y se trató con tioacetato de potasio (1235 mg, 10,81 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 2 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua (3 veces) y salmuera y se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó en un aparato Biotage SP1 (equilibrado a 40+M), eluyendo con acetato de etilo al 20-80 %/hexanos, 20 VC. **CL/EM:** [(M+1)]⁺ = 465,2.

Etapa C: 3-(Acetiltiometil)-4-(2-cloro-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo: A una solución enfriada con un baño de hielo de 3-(acetiltiometil)-4-((R)-2-hidroxi-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)piperazin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (573 mg, 1,233 mmol) en tolueno anhidro (12,3 ml) se le añadió cloruro de tionilo (0,268 ml, 3,70 mmol). Después, se añadió gota a gota piridina anhidra (0,399 ml, 4,93 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a 0 °C durante 20 min, después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La TLC mostró el consumo del material de partida. La reacción se concentró a presión reducida y se secó a alto vacío durante una noche. Se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa D: (3-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-8(1H)-carboxilato de 3S,9aS)-terc-butilo: Una solución de 3-(acetiltiometil)-4-(2-cloro-2-(4-metil-1-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)etil)piperazin-1-carboxilato de (3S)-terc-butilo (596 mg, 1,234 mmol) en THF anhidro (20 ml) se trató gota a gota con metóxido sódico, solución al 25 % en metanol (0,846 ml, 3,70 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La CLEM mostró la formación del producto deseado. El disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió de nuevo en diclorometano y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó en un aparato Biotage SP1, eluyendo con acetato de etilo al 20 - 80 %/hexanos, 16 VC: **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 8,64 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,29 (s, 2H), 3,81 - 4,20 (m, 3H), 3,38 (dd, J = 2,3, 12,6 Hz), 3,00 - 3,22 (m, 2H), 2,57 - 2,82 (m, 2H), 2,24 - 2,56 (m, 7H), 1,51 (s, 9H).

INTERMEDIOS 27A y 27B



27A: (3S,9aR)-3-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo y
27B: (3R,9aR)-3-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)hexahidro-pirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

Etapa A: 3-bromo-2-cloro-6-fluorobenzonitrilo: Se disolvió 2-cloro-6-fluorobenzonitrilo (15,6 g, 100 mmol) en ácido triflúrico (75 ml) a 0 °C, después se añadió NBS (17,8 g, 100 mmol). La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se vertió en hielo y se extrajo con DCM (2 x). Las capas de DCM se lavaron con NaHCO₃ y salmuera. El DCM se secó sobre Na₂SO₄, después se filtró y se concentró. El producto se purificó por cromatografía a través de una columna ISCO Redi-Sep de 330 g con un sistema de disolventes de acetato de etilo al 10-20 %/hexano para producir 3-bromo-2-cloro-6-fluorobenzonitrilo.

Etapa B: 2-cloro-6-fluoro-3-vinilbenzonitrilo: Se añadieron 3-bromo-2-cloro-6-fluorobenzonitrilo (15,4 g, 65,6 mmol), vinil trifluoroborato de potasio (17,6 g, 131 mmol), trietilamina (18,3 ml, 131 mmol) y aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (2,68 g, 3,28 mmol) a etanol (75 ml) después se desgasificó y se calentó a reflujo durante 3 h. La reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera, se secó y se evaporó a sequedad. El producto se purificó por cromatografía a través de una columna ISCO Redi-Sep de 330 g con un sistema de disolventes de acetato de etilo al 10 %/hexano para producir 2-cloro-6-fluoro-3-vinilbenzonitrilo.

Etapa C: 2-cloro-6-fluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo: Se disolvió 2-cloro-6-fluoro-3-vinilbenzonitrilo en CHCl₃ (300 ml), después se añadió mCPBA (29,4 g, 171 mmol) y se agitó a TA durante 16 h. Cuando la TLC mostró que los materiales de partida se habían consumido, la mezcla se lavó con Na₂S₂O₃ (1x), NaOH 1 N (1x) y salmuera (2 x), después se secó sobre Na₂SO₄. Se filtró y se concentró, después se purificó por cromatografía de MPLC usando una columna ISCO Redi-sep 330 g y se eluyó con un sistema de disolventes de acetato de etilo al 20 %/hexano para producir 2-cloro-6-fluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo.

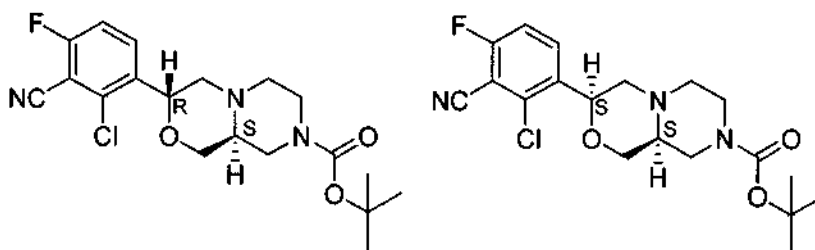
Etapa D: 4-(2-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxi-etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3R)-terc-butilo: Se disolvieron 2-cloro-6-fluoro-3-(oxiran-2-il)benzonitrilo (9,1 g, 46 mmol) y 3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (R)-terc-butilo (14,9 g, 69,1 mmol) en etanol (105 ml) y se dispensaron en 9 tubos cerrados herméticamente, después se sometieron a microondas a 140 °C durante 1 h. La mezcla de reacción combinada se concentró y se purificó a través de una columna ISCO Redi-sep 330 g con un sistema de disolventes de acetato de etilo al

50-100 %/hexano para producir el compuesto del título.

Etapa E: 3-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (9aR)-*tert*-butilo:

Se disolvieron 4-(2-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxi-etil)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (3R)-*tert*-butilo (15,6 g, 37,3 mmol) y cianometileno tri-*n*-butil fosforano (16,4 g, 67,8 mmol) en benceno (90 ml), se desgasificaron y se calentaron a 100 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró y se sometió a cromatografía través de una columna ISCO Redi-sep de 330 g y eluyendo con EtOAc al 35 %/hexano para producir el compuesto del título (mezcla de diastereómeros *cis-trans*). **CL-EM (IE, m/z):** 396 [M+1]⁺; Los diastereómeros *cis-trans* se separaron por SFC-HPLC usando la siguiente condición: Chiralpak AD, 21 x 250 mm, IPA al 20 %, 50 ml/min, ~85 mg/ml en 1:1 de MeOH/MeCN, 100 bar, 220 nm, 35 °C. **27A: RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,826 (dd, *J* = 8,7, 6,5 Hz, 1H), 7,184 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,975 (dd, *J* = 9,6, 1,9 Hz, 1H), 3,989 (a, 2H), 3,953 (dd, *J* = 5,7, 3,2 Hz, 1H) 3,484 (t, *J* = 10,85 Hz, 1H), 3,015 (dd, *J* = 11,4, 2,2 Hz, 2H), 2,733 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 2,52 (a, 1H), 2,18-2,26 (m, 2H), 1,981 (t, *J* = 10,85 Hz, 1H), 1,474 (s, 9H). **27B: RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,331 (s, 1H), 7,163 (t, *J* = 8,35 Hz, 1H), 5,038 (t, *J* = 3,7 Hz, 1H), 3,738-3,947 (a, 2H), 3,649 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H) 3,371 (s, 1H), 3,02 (dd, *J* = 12, 4,1 Hz, 2H), 2,843 (dd, *J* = 12, 3,8 Hz, 1H), 2,784 (d, *J* = 9,4 Hz, 2H), 2,556 (a, 2H), 1,471 (s, 9H).

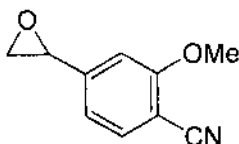
INTERMEDIOS 27C y 27D



(3R,9aS)-3-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y (3S,9aS)-3-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: Los compuestos del título se prepararon de una manera análoga a la descrita para el 27A y 27B, excepto porque se usó 3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de (S)-*tert*-butilo en la Etapa D y con un cambio menor en la última etapa como se describe a continuación:

Se disolvieron (3S)-4-[2-(2-cloro-3-ciano-4-fluorofenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo (4,00 g, 9,66 mmol) y cianometileno tri-*n*-butilfosforano (4,20 g, 517 mmol) en 60 ml benceno. La mezcla de reacción se desgasificó y se calentó a 100 °C durante 3 h. La reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía a través de una columna Redi-sep de 330 g, eluyendo con EtOAc al 33 %/67 % hexano. **27C - trans** (eluido en primer lugar): **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,86 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H), 7,21 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,01 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 4,04 (a, 2H), 3,99 (d, *J* = 11,5 Hz, 2H) 3,52 (t, *J* = 10 Hz, 1H), 3,05 (d, *J* = 11,5 Hz, 2H), 2,77 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 2,57 (a, 1H), 2,21-2,29 (m, 2H), 2,02 (t, *J* = 11,5 Hz, 1H), 1,51 (s, 9H); **CL-EM:** M+1 = 396; **27D-cis:** **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,36 (s, 1H), 7,19 ppm (t, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,07 ppm (s, 1H), 3,91 (a, 2H), 3,68 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 3,40 (s, 1H), 3,06 (d, *J* = 12 Hz, 2H), 2,87 (s, 1H), 2,86 (s, 1H), 2,815 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H) 2,60 (d, *J* = 10 Hz, 2H); 1,50 (s, 9H); **CL-EM:** M+1 = 396.

INTERMEDIO 28



2-Metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo

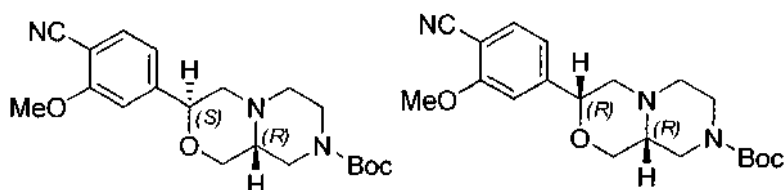
Etapa A: Trifluorometanosulfonato de 4-formil-2-metoxifenilo: A una solución de vainilina (20 g, 131 mmol) en DMF (200 ml) a temperatura ambiente se le añadieron carbonato potásico (36,30 g, 263 mmol) y trifluorometanosulfonato de 4-nitrofenilo (53,5 g, 197 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 8 h. Se añadió EtOAc (600 ml) a la mezcla de reacción y la capa orgánica se lavó tres veces con agua, se secó, se filtró y se concentró. Después, el compuesto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos 1:9 → 3:7) para proporcionar sulfonato.

Etapa B: 4-Formil-2-metoxibenzonitrilo: Una mezcla del sulfonato (37,0 g, 130 mmol), cianuro de cinc (61,1 g, 521 mmol) y tetraquis trifenilfosfina paladio (0) (22,57 g, 19,53 mmol) en DMF (300 ml) se agitó a 110 °C durante 8 h. Se añadió EtOAc a la mezcla de reacción y la capa orgánica se lavó dos veces con agua, se secó, se filtró y se concentró. Después, el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 3:7 de etilacetato/hexanos) lo que proporciono el compuesto del título: **CL/EM:** (IE, m/z) [M+1]⁺ = 162,34.

Etapa C: 2-Metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo: A una solución fría de NaH (0,16 g, 3,9 mmol) en THF (40 ml) se le

añadió gota a gota una solución de yoduro de trimetilsulfonio (0,91 g, 4,5 mmol) en DMSO (20 ml). La mezcla resultante se agitó a 0 °C en una atmósfera de N₂ durante 20 min. Se añadió una solución de 4-formil-2-metoxibenzonitrilo (0,60 g, 3,72 mmol) en THF (20 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó a 0 °C en una atmósfera de N₂ durante 1 h y después se calentó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó a esa temperatura durante 12 h. El material de partida se consumió según se indicó por TLC (acetato de etilo al 25 %/hexanos). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó con la adición gota a gota de agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 70 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, después se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc al 10-30 %/hexanos) para proporcionar 2-metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo: **RMN** ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 7,57 (d, J = 8 Hz, 1H), 6,99 (dd, J = 1,1 Hz, J = 1,2 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,94-3,92 (m, 1H), 3,22 (dd, J = 5,2, Hz, J = 4,1 Hz, 1H), 2,77 (d, J = 2,5 Hz, 1H); CL/EM: (IE, m/z) [M+1]⁺ = 176,33.

INTERMEDIOS 29A y 29B



29A: (3S,9aR)-3-(4-Ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y

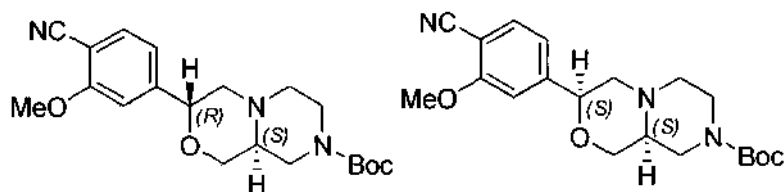
29B: (3R,9aR)-3-(4-Ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

Etapa A: (3R)-4-[2-(4-Ciano-3-metoxifenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo: Un recipiente Pirex se cargó con una barra de agitación magnética, (2,0 g, 11,42 mmol) de 2-metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo, (3,70 g, 17,12 mmol) de (3R)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo y 6 ml de EtOH. Después, se introdujo en el reactor de microondas y se irradió a 150 °C durante 3 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano al 1- 20 %/MeOH) lo que proporcionó el producto en forma de una mezcla de dos diastereómeros (1:1) **CL/EM:** (IE, m/z) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 336,41.

Etapa B: (9aR)-3-(4-Ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: La mezcla isomérica de la etapa anterior (3,48 g, 8,89 mmol, 1:1) en benceno se trató con (tributil-λ⁵-fosfanilideno)acetonitrilo (3,22 g, 13,3 mmol). La mezcla de reacción se sometió a microondas durante 3 h a 135 °C en un aparato Biotage. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la retirada del disolvente dio el producto en bruto. El producto en bruto se sometió a cromatografía (gel de sílice, 9:1 → 3:7 de hexanos/EtOAc, como eluyente) para dar una mezcla isomérica del compuesto bicíclico del título.

Etapa C: (3S,9aR)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y (3R,9aR)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo: La mezcla isomérica se separó adicionalmente en sus enantiómeros usando una columna ChiralCel OJ-H de 21 x 250 mm, eluyendo con MeOH al 15 %/CO₂ con un caudal de 50 ml/min, 100 bar, 59 mg/ml en MeOH, 35C, 220 nm, Tr = 200: **trans-** **RMN** ¹H (CDCl₃, isómero (*trans*), 500 MHz) δ 7,54 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,97 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 4,72 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,12-4,0 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,49 (t, J = 9,4 Hz, J = 9,0 Hz, 1H), 3,03 (s a, 1H), 2,94 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 2,76 (d, J = 9 Hz, 1H), 2,56 (s a, 1H), 2,29-2,192 (m, 3H), 1,69 (s a, 1H), 1,50 (s, 9H); **CL/EM:** (IE, m/z) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 318,40; **cis-** **RMN** ¹H (CDCl₃, isómero (*cis*), 500 MHz) δ 7,58 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,17 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,82 (s a, 1H), 4,06-3,99 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,64 (s a, 1H), 3,43 (s a, 1H), 3,23 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,05 (s a, 1H), 2,81 (s a, 2H), 2,72-2,42 (m, 3H), 1,50 (s, 9H); **CL/EM:** (IE, m/z) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 318,35.

INTERMEDIOS 30 y 31



30: (3R, 9aS)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo y **31:**

(3S,9aS)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo

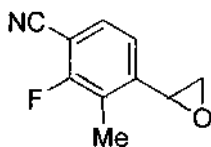
Etapa A: (3S)-4-[2-(4-ciano-3-metoxifenil)-2-hidroxi-etil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo: Un recipiente Pirex se cargó con una barra de agitación magnética, (0,350 g, 2,00 mmol) de 2-metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo, (0,457 g, 2,20 mmol) de (3S)-3-(hidroximetil)piperazin-1-carboxilato de *tert*-butilo y 6 ml de EtOH.

Después, se introdujo en el reactor de microondas y se irradió a 150 °C durante 3 h. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano al 1- 20 %/MeOH) lo que proporcionó el compuesto del título en forma de una mezcla de dos diastereómeros (1:1). **CL/EM:** (IE, *m/z*) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 336,1.

5 **Etapa B: (9aS)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo:** La mezcla isomérica de la etapa anterior (0,55 g, 1,40 mmol, 1:1) en benceno se trató con (tributil-λ⁵-fosfanilideno) acetonitrilo (0,678 g, 2,81 mmol). La mezcla de reacción se sometió a microondas durante 3 h a 135 °C en un aparato Biotage. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la retirada del disolvente dio el producto en bruto. El producto en bruto se sometió a cromatografía (gel de sílice, 9:1 → 3:7 de hexanos/EtOAc, como eluyente) para dar una mezcla isomérica del compuesto bicíclico. **CL/EM:** (IE, *m/z*) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 318,06.

10 **Etapa C: 29C: y 29D:** Se separó (9aS)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo adicionalmente en sus enantiómeros usando una columna ChiralCel OJ-H de 21 x 250 mm, eluyendo con MeOH al 15 %/CO₂ con un caudal de 50 ml/min, 100 bar, 59 mg/ml en MeOH, 35C, 220 nm, Tr = 200: **trans- RMN ¹H** (CDCl₃, isómero (*trans*), 500 MHz) δ 7,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,97 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,71 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,12 - 4,0 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,48 (t, *J* = 9,4 Hz, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,03 (s a, 1H), 2,94 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,76 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 2,54 (s a, 1H), 2,29-2,192 (m, 3H), 1,51 (s, 9H); **CL/EM:** (IE, *m/z*) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 318,17; **cis- RMN ¹H** (CDCl₃, isómero (*cis*), 500 MHz) δ 7,58 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,17 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,82 (s a, 1H), 4,06-3,99 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,64 (s a, 1H), 3,43 (s a, 1H), 3,23 (dd, *J* = 3,6 Hz, *J* = 3,7 Hz, 1H), 3,01 (s a, 1H), 2,80 (s a, 2H), 2,72-2,42 (m, 3H), 1,50 (s, 9H); **CL/EM:** (IE, *m/z*) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 318,35.

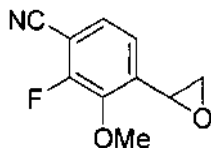
INTERMEDIO 32

2-fluoro-3-metil-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo

25 **Etapa A: 4-etenil-2-fluoro-3-metilbenzonitrilo:** Una mezcla de 4-bromo-2-fluoro-3-metilbenzonitrilo (7,00 g, 32,7 mmol), viniltrifluoroborato de potasio (5,3 g, 39 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,5 g, 0,7 mmol) en 70 ml de EtOH y 30 ml de TEA se calentó a reflujo en una atmósfera de Ar durante 4 horas. El residuo, concentrado, se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo:EtOAc = 10 : 1) para proporcionar 4-etenil-2-fluoro-3-metilbenzonitrilo.

30 **Etapa B: 2-fluoro-3-metil-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo:** Una mezcla de 4-etenil-2-fluoro-3-metilbenzonitrilo (4,60 g, 28,5 mmol) y mCPBA (85 %, 12,3 g, 71,4 mmol) en 300 ml de DCM se agitó a temperatura ambiente durante 120 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se lavó posteriormente con NaHCO₃ saturado (50 ml), Na₂SO₃ saturado (50 ml), NaOH al 5 % (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo:EtOAc = 20 : 1) para proporcionar el compuesto del título: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,36-7,39 (m, 1H), 7,04-7,06 (m, 1H), 3,92-3,94 (m, 1H), 3,15-3,17 (m, 1H), 2,57-2,59 (m, 1H), 2,30 (d, *J* = 2,0 Hz, 3H).

40 INTERMEDIO 33

2-fluoro-3-metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo

45 **Etapa A: 2-fluoro-6-nitrofenol:** Se añadió gota a gota HNO₃ concentrado (95 %, 44 g, 0,62 mol), a 0-5 °C, a la solución de 2-fluorofenol (64,6 g, 0,58 mol) en 1 l de DCM. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora antes de filtración. El filtrado se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (DCM:PE = 1:2) para proporcionar 2-fluoro-6-nitrofenol.

50 **Etapa B: 1-fluoro-2-metoxi-3-nitrobenceno:** Se añadió gota a gota MeI (27,1 g, 191 mmol) a la suspensión de 2-fluoro-6-nitrofenol (25,0 g, 159 mmol) y K₂CO₃ (44,0 g, 318 mmol) en 200 ml de DMF. La mezcla se agitó durante una noche a 25 °C, después se calentó a 60 °C y se agitó durante 3 horas. La mezcla se diluyó con 1 l de EtOAc y se lavó con agua (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proporcionar el compuesto del título.

55 **Etapa C: 3-fluoro-2-metoxianilina:** Una mezcla de 1-fluoro-2-metoxi-3-nitrobenceno (25,0 g, 146 mmol) y Pd/C (10 %, 7,5 g) en 500 ml de MeOH se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de 0,38 Mpa (55 psi) de H₂ durante 4 horas antes de filtración. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título.

Etapa D: 1-bromo-3-fluoro-2-metoxibenceno: Se añadió gota a gota una solución de NaNO₂ (12,0 g, 173 mmol), en

40 ml de agua a la mezcla de 3-fluoro-2-metoxianilina (20,0 g, 158 mmol) en 200 ml de ácido bromhídrico (47 %) y 100 ml de agua a $-5 \sim 0$ °C y se agitó durante 1 hora. Después, esta solución se añadió lentamente a la suspensión de CuBr (45,2 g, 315 mmol) en 50 ml de ácido bromhídrico (47 %) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 hora después se calentó a 50 °C y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con éter (2 x 500 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar 1-bromo-3-fluoro-2-metoxibenceno.

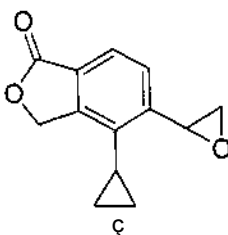
Etapa E: ácido 4-bromo-2-fluoro-3-metoxibenzoico: Se añadió gota a gota n-BuLi (17,0 ml, 42,5 mmol) a la solución de NH(*i*-Pr)₂ (4,50 g, 44,5 mmol) en 70 ml de THF a -70 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 15 minutos y después se enfrió de nuevo a -70 °C. Se añadió gota a gota la solución de 1-bromo-3-fluoro-2-metoxibenceno (8,30 g, 40,5 mmol, en 30 ml de THF). La mezcla resultante se agitó a -70 °C durante 1 hora después se vertió en hielo seco recién preparado y se agitó durante una noche. La mezcla se diluyó con 1 l de éter y se lavó con agua dos veces. La capa de agua combinada se lavó con éter, después se acidificó a pH = 2 con ácido clorhídrico y se extrajo dos veces con EtOAc. La capa de EtOAc combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar ácido 4-bromo-2-fluoro-3-metoxibenzoico.

Etapa F: 4-bromo-2-fluoro-3-metoxibenzonitrilo: Se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (20 ml) a 0 °C a una suspensión de ácido 4-bromo-2-fluoro-3-metoxibenzoico (8,30 g, 33,3 mmol) en 100 ml de DCM con 0,5 ml de DMF. La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas y la solución transparente se concentró a sequedad a presión reducida. El residuo disuelto en 60 ml de acetonitrilo anhidro se añadió a 600 ml de NH₃ acuoso. H₂O a 0 °C y se agitó durante 2 horas, después se extrajo dos veces con EtOAc. La capa de EtOAc combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo (6,9 g) se disolvió en 60 ml de DMF y se enfrió a 0 °C con un baño de hielo/agua. Se añadió cloruro cianúrico (7,70 g, 41,7 mmol) y se agitó durante 2 horas a 0 °C antes de verterse en hielo/agua. El sólido se recogió por filtración y se lavó con agua, se disolvió en DCM, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para proporcionar 4-bromo-2-fluoro-3-metoxibenzonitrilo.

Etapa G: 2-fluoro-3-metoxi-4-vinilbenzonitrilo: Una mezcla de 4-bromo-2-fluoro-3-metoxibenzonitrilo (6,0 g, 26 mmol), viniltrifluoroborato de potasio (4,20 g, 31,3 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,8 g) en 60 ml de EtOH y 60 ml de TEA se calentó a reflujo en una atmósfera de Ar durante 4 horas. La mezcla resultante se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (PE:EtOAc = 20:1) para proporcionar 2-fluoro-3-metoxi-4-vinilbenzonitrilo.

Etapa H: 2-fluoro-3-metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo: Se añadió mCPBA (85 %, 9,9 g, 48,9 mmol) a la solución de 2-fluoro-3-metoxi-4-vinilbenzonitrilo (3,4 g, 19,2 mmol) en 160 ml de DCM a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 60 horas antes de diluirse con 300 ml de DCM y enfriarse a 0 °C. La mezcla se lavó posteriormente con NaHCO₃ saturado (50 ml), Na₂SO₃ acuoso (2 x 50 ml), NaOH al 5 % (50 ml) y salmuera. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (PE:EtOAc = 5:1) para proporcionar 2-fluoro-3-metoxi-4-(oxiran-2-il)benzonitrilo: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7,24 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,14-4,18 (m, 1H), 4,03 (s, 3H), 3,17-3,19 (m, 1H), 2,63-2,66 (m, 1H); **EM** m/z 194 (M+1)⁺.

INTERMEDIO 34



4-Ciclopropil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-(3H)-ona

Etapa A: 5-bromo-4-yodo-2-benzofuran-1(3H)-ona: A una solución enfriada (0 °C) de 5-bromo-2-benzofuran-1(3H)-ona (50 g, 0,235 mol) en ácido trifluorometanosulfónico (400 ml) se le añadió *N*-yodosuccinimida (55,5 g, 0,247 mol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche, después se vertió lentamente en agua enfriada con hielo (2 l), se filtró y el filtrado se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron y se concentraron para dar 5-bromo-4-yodo-2-benzofuran-1(3H)-ona.

Etapa B: 5-bromo-4-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona: Una mezcla de 5-bromo-4-yodo-2-benzofuran-1(3H)-ona (1 g, 2,95 mmol), viniltrifluoroborato de potasio (474 mg, 3,54 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (200 mg) en 20 ml de TEA y 20 ml de EtOH se calentó a reflujo en una atmósfera de N₂ durante 2 horas. La mayoría del disolvente se retiró y el residuo se disolvió en EtOAc (100 ml). La solución se lavó con HCl 0,1 N, bicarbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título.

Etapa C: 5-bromo-4-ciclopropil-2-benzofuran-1(3H)-ona: A una mezcla enfriada (0 °C) de 5-bromo-4-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona (2,2 g, 9,21 mol) y Pd(OAc)₂ (100 mg) en EtOAc (50 ml) se le añadió lentamente una solución de CH₂N₂ en éter (100 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche, después se inactivó con ácido acético, se filtró y el filtrado se lavó con agua y salmuera, se secó y se concentró para proporcionar el compuesto del título.

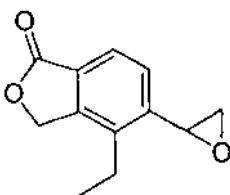
Etapa D: 4-ciclopropil-5-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona: Una mezcla de 5-bromo-4-ciclopropil-2-benzofuran-1(3H)-ona (760 mg, 3,004 mmol), viniltrifluoroborato de potasio (805 mg, 6,008 mmol) y Pd(dppf)Cl₂

(100 mg) en 20 ml de TEA y 20 ml de EtOH se calentó a reflujo en una atmósfera de N₂ durante 8 horas. Cuando la TLC mostró la conversión completa de la mayoría del disolvente, se retiró y el residuo se disolvió en EtOAc (100 ml). La solución se lavó con HCl 0,1 N, bicarbonato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El aceite resultante se purificó por cromatografía en columna para dar

4-ciclopropil-5-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona.

Etapa E: 4-ciclopropil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona: A una solución de 4-ciclopropil-5-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona (440 mg, 2,2 mmol) en 50 ml de DCM se le añadió lentamente mCPBA (1,14 g, 6,6 mmol) en 50 ml de DCM a 0 °C. Después de calentar a temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 12 horas. La mezcla se lavó con Na₂SO₃ acuoso hasta que el papel indicador de yoduro potásico (KI) no cambió de color. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera y después se concentraron. El residuo se purificó mediante TLC prep. para dar el compuesto del título: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,77 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,39 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,43-4,45 (m, 1H), 3,26-3,28 (m, 1H), 2,68-2,70 (m, 1H), 1,94-2,01 (m, 1H), 1,08-1,12 (m, 2H), 0,65-0,75 (m, 2H).

15 INTERMEDIO 35



4-etil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona

Etapa A: 5-bromo-4-etil-2-benzofuran-1(3H)-ona: Una mezcla de 5-bromo-4-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona (2,0 g, 8,37 mmol) y Pd/C (400 mg) en 50 ml de MeOH se agitó a ta en una atmósfera de H₂ (1 atm) durante una noche y después se filtró. El filtrado se concentró. El material resultante se purificó por cromatografía en columna para dar 5-bromo-4-etil-2-benzofuran-1(3H)-ona.

Etapa B: 4-etil-5-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona: Una mezcla de 5-bromo-4-etil-2-benzofuran-1(3H)-ona (1,81 g, 7,51 mmol), viniltrifluoroborato de potasio (1,21 g, 9,01 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (200 mg) en 20 ml de TEA y 20 ml de EtOH se calentó a reflujo en una atmósfera de N₂ durante una noche y después se concentró. El material resultante se purificó por cromatografía en columna para dar 4-etil-5-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona.

Etapa C: 4-etil-5-oxiran-2-il-2-benzofuran-1(3H)-ona: A una solución de 4-etil-5-vinil-2-benzofuran-1(3H)-ona (1,1 g, 5,85 mmol) en 50 ml de DCM se le añadió lentamente mCPBA (3,60 g, pureza del 85 %, 17,6 mmol) en 50 ml de DCM a 0 °C. Se calentó a temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 3 días. La mezcla se lavó con Na₂SO₃ acuoso hasta que el papel de KI no cambió de color. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto del título: **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,75 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,11-4,13 (m, 1H), 3,23-3,25 (m, 1H), 2,75-2,82 (m, 2H), 2,70-2,72 (m, 1H), 1,27 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

Los intermedios de Boc-piperazina descritos en la siguiente Tabla 1 se prepararon a partir de los epóxidos indicados (preparados como se ha descrito anteriormente) y (S)-4-N-BOC-2-hidroxi metilpiperazina o (R)-4-N-BOC-2-hidroxi metilpiperazina de una manera análoga a la descrita para (3S, 9aR)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo.

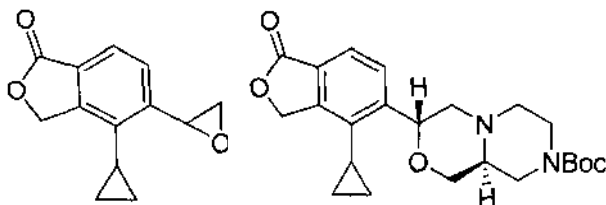
TABLA 1

INTERMEDIO	Intermedio de partida de epóxido	Estructura de INTERMEDIO
36B		
37C		

SFC prep. con IPA al 10 %/CO₂ en columna OD; CL/EM: (IE, m/z) [(M + 1) - t-Bu]⁺ = 320,04.

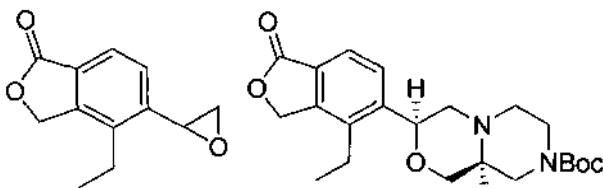
Los isómeros trans y cis se separaron por SFC prep. con (2:1 MeOH :MeCN) al 15 %/CO₂ en una columna OD. El isómero trans se eluyó en primer lugar; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,29-7,16 (m, 2H), 4,83 (dd, *J* = 10,1, 1,7 Hz, 1H), 3,92-3,82 (m, 6H), 3,33 (t, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,90-2,80 (m, 2H), 2,60 (d, *J* = 10,6 Hz, 1H), 2,40 (s, 1H), 2,16-2,04 (m, 2H), 1,90 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H), 1,32 (s, 9H).

38B

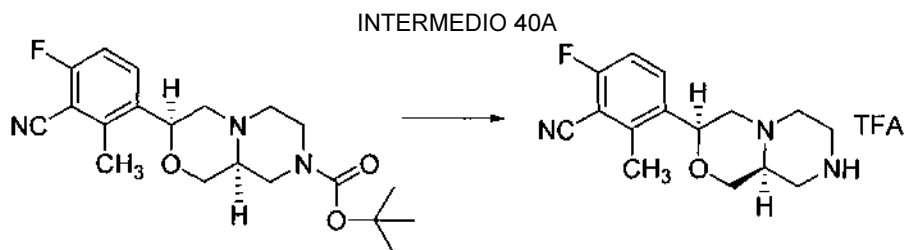


Los isómeros trans y cis se resolvieron quiralmente mediante una columna OJ, 21 x 250 mm, 2:1 de MeOH:MeCN al 15 %/CO₂, 60 ml/min, 100 bar, 40 mg/ml en MeCN/MeOH, 35C, 220 nm. CL/EM: [(M+1)]⁺ = 415

39A

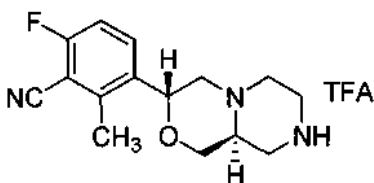


Los isómeros trans y cis se resolvieron mediante una columna AD, 21 x 250 mm, y 2:1 de MeOH:MeCN al 30 %/CO₂, 50 ml/min, 100 bar, 80 mg/ml en MeCN/MeOH, 35C, 220 nm. CL/EM: [(M+1)]⁺ = 403



- 5 2,2,2-Trifluoroacetato de 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo: Se trató (3S,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo (1,88 g, 5,01 mmol) con 10 ml TFA a TA durante 1 h. Después, el TFA se retiró a presión reducida para producir el compuesto del título. **CL-EM**: M+1= 276; **RMN ¹H (600 MHz, DMSO) δ ppm** 7,954 (dd, *J* = 8,7, 6,25 Hz, 1H), 7,412 (t, *J* = 8,85 Hz, 1H), 4,939 (dd, *J* = 8,4, 2,75 Hz, 1H), 3,848 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 3,762 (a, 1H), 3,189-3,536 (m, 8H), 3,072 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 2,485 (s, 3H).

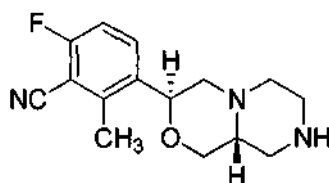
INTERMEDIO 40B



- 15 2,2,2-Trifluoroacetato de 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo: Se trató (3R,9aS)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo (1,73 g, 4,61 mmol) con 10 ml de TFA a TA durante 1 h. Después, el ácido trifluoroacético se retiró a presión reducida para producir el compuesto del título. **CL-EM**: M+1 = 276; **RMN ¹H (600 MHz, DMSO) δ ppm** 7,724 (dd, *J* = 9,0, 6,2 Hz, 1H), 7,353 (t, *J* = 8,85 Hz, 1H), 4,738 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,924 (d, *J* = 11,10 Hz, 1H), 3,386 (t, *J* = 11,65 Hz, 1H), 3,285 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H), 3,20 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 3,01 (a, 1H), 2,934 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 2,884 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,642 (b, 1H), 2,476 (s, 3H), 2,47 (a, 1H), 2,329-2,367 (m, 1H), 2,054-2,089 (m, 1H).

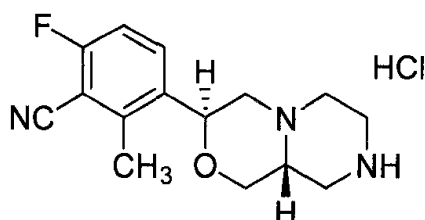
INTERMEDIO 40C-1 (Método 1)

25



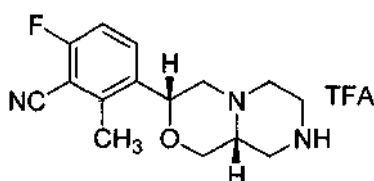
5 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo: Se disolvió (3S,9aR)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo (I-17C) (3,00 g, 7,99 mmol) en TFA (10 ml) y se agitó durante 1 h. El ácido trifluoroacético se retiró a presión reducida y se destiló azeotrópicamente con dicloroetano (3 x), después se secó a alto vacío para producir el compuesto del título: **CL-EM** (IE, *m/z*): 276 [M+1]⁺; **RMN ¹H (500 MHz, DMSO) δ ppm** 7,755 (dd, *J* = 8,75, 6,2 Hz, 1H), 7,38 (t, *J* = 8,85 Hz, 1H), 4,80 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,98 (dd, *J* = 11,25, 2,5 Hz, 1H), 3,456 (t, *J* = 10,7 Hz, 1H), 3,354 (d, *J* = 12,6 Hz, 1H), 3,273 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 2,984-3,089 (m, 3H), 2,715 (t, *J* = 11,37 Hz, 1H), 2,639 (t, *J* = 10 Hz, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,46 (a, 1H), 10 2,337 (t, *J*=10,9 Hz, 1H).

INTERMEDIO 40C-2 (Método 2)



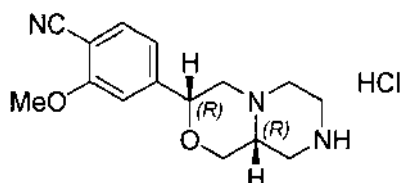
15 Clorhidrato de 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo: Se suspendió (3S,9aR)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo (I-17C) (158,8 g, 423,0 mmol) con 318 ml de 2-propanol. La suspensión resultante se trató con una solución de HCl en 2-propanol (5,5 M, 1000 ml, 5499 mmol) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 2 horas. La mezcla se concentró para retirar aproximadamente 400 ml de 2-propanol, después se enfrió a ta y se agitó durante una noche. La mezcla se filtró para recoger el producto sólido y la torta húmeda se lavó con 50 ml de 2-propanol. La torta de filtro se secó al vacío durante dos días a 40 °C con un flujo de nitrógeno para proporcionar el compuesto del título.

25 INTERMEDIO 40D



30 2,2,2-Trifluoroacetato de 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo: Se agitó 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de (3R,9aR)-*terc*-butilo (1,09 g, 2,90 mmol) en ácido trifluoroacético (10 ml) durante 1 h, después se concentró y se destiló azeotrópicamente con dicloroetano (3 x) para producir el compuesto del título. **CL-EM** (IE, *m/z*): 276 [M+1]⁺; **RMN ¹H (500 MHz, DMSO) δ ppm** 7,989 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,416 (t, *J* = 8,85 Hz, 1H), 4,959 (dd, *J* = 7,75, 2,35 Hz, 1H), 3,855 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 3,755 (a, 1 H), 3,236-3,54 (m, 8H), 3,066 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 2,50 (s, 3H).

35 INTERMEDIO 41B

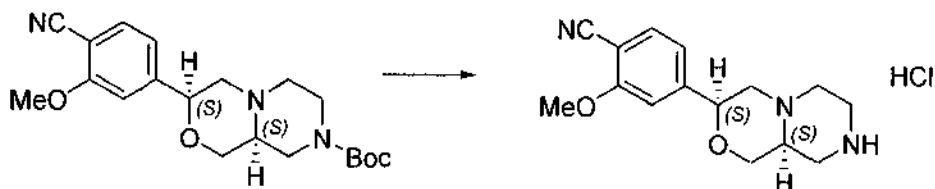


40 Clorhidrato de 2-metoxi-4-[(3R,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo

Se disolvió (3R,9aR)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *terc*-butilo

(120 mg, 0,321 mmol) en 10 ml de HCl 4 M en dioxano y se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla se concentró a $\frac{1}{4}$ del volumen original y se diluyó con 10 ml de éter dietílico. El precipitado se filtró y se secó a alto vacío para proporcionar el compuesto del título: **RMN** (DMSO- d_6 , isómero Z (*cis*), 500 MHz) δ 7,77 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,19 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 4,95 (s a, 1H), 4,08 (s a, 2H), 3,96 (s, 3H), 3,85-3,60 (s a, 3H), 3,58-3,34 (m, 6H); **CL/EM**: (IE, m/z) $[M+1]^+ = 274$.

INTERMEDIO 41D



10

Clorhidrato de 2-metoxi-4-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo

Se disolvió (3S,9aS)-3-(4-ciano-3-metoxifenil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-carboxilato de *tert*-butilo (38,0 mg, 0,102 mmol) en 10 ml de HCl 4 M en dioxano y se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla se concentró a $\frac{1}{4}$ del volumen original y se diluyó con 5 ml de éter dietílico. El precipitado se filtró y se secó a alto vacío para proporcionar el compuesto del título: **RMN** 1H (DMSO- d_6 , isómero Z (*cis*), 500 MHz) δ 7,77 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,19 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 4,95 (s a, 1H), 4,08 (s a, 2H), 3,96 (s, 3H), 3,85-3,60 (s a, 3H), 3,58-3,34 (m, 6H); **CL/EM**: (IE, m/z) $[M+1]^+ = 274$.

15

20

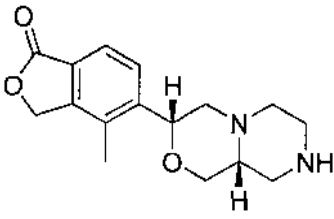
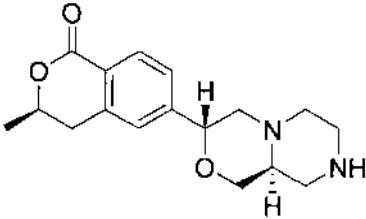
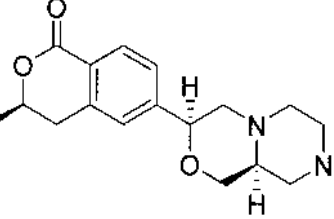
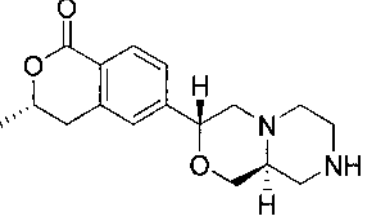
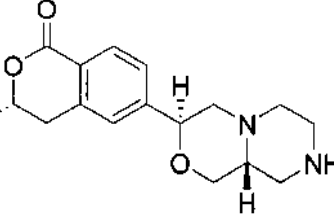
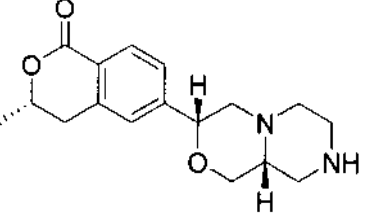
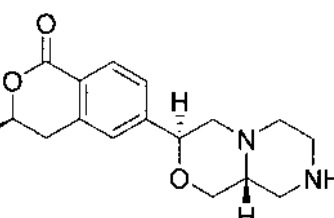
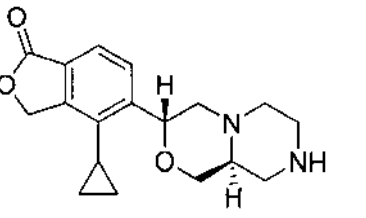
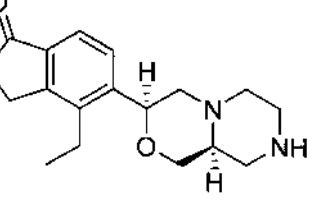
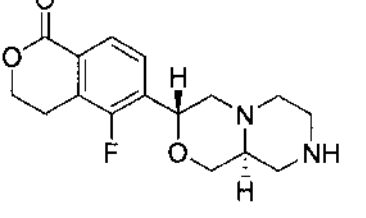
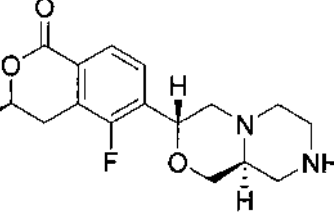
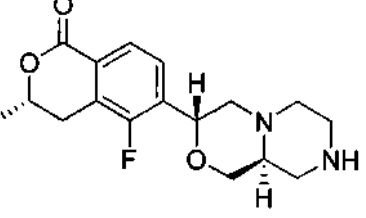
Los intermedios mostrados en la Tabla 2 posterior se prepararon de una manera análoga a la descrita para la síntesis de los Intermedios 40A: 2,2,2-trifluoroacetato de 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo y 41D: clorhidrato de 2-metoxi-4-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo, usando tanto HCl o TFA para retirar el grupo protector Boc presente en el precursor de Boc-piperazina correspondiente (el ácido usado en la reacción y los datos de espec. de masas se proporcionan bajo cada estructura en la Tabla 2). Se entiende que los intermedios resultantes pueden ser sales de TFA o HCl, o pueden obtenerse en forma de aminas de base libre mediante separación rutinaria del producto con un disolvente orgánico y una solución acuosa básica, tal como una solución saturada de bicarbonato sódico, y concentración de la solución orgánica resultante.

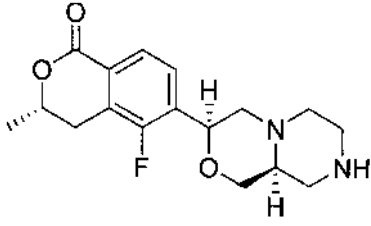
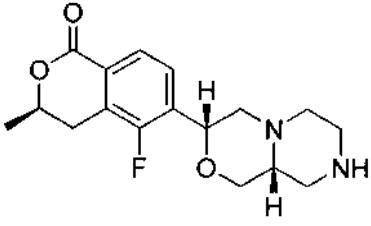
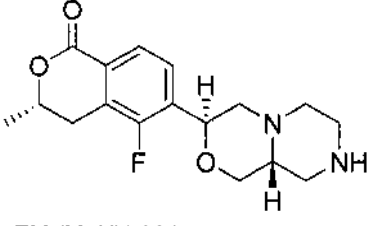
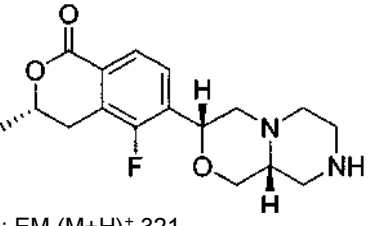
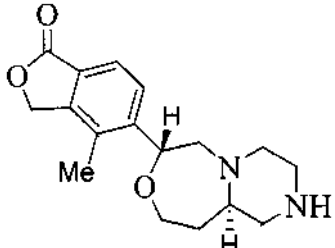
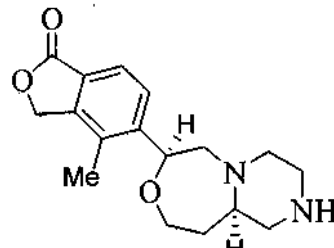
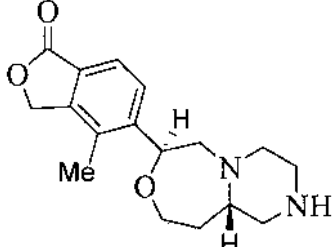
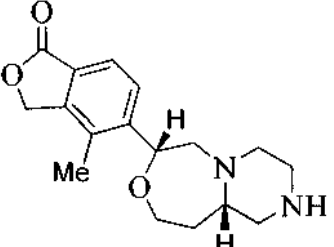
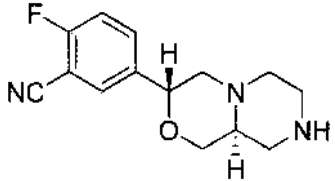
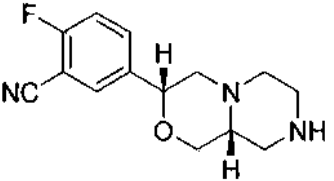
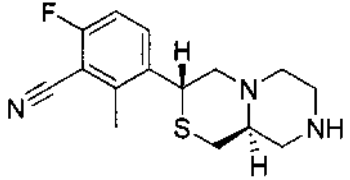
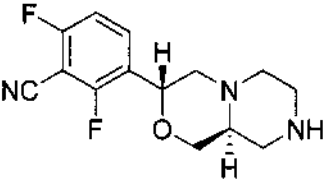
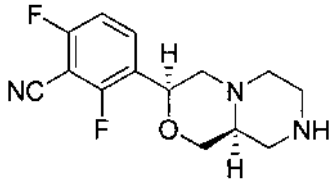
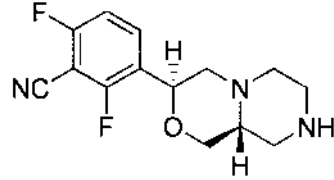
25

30

TABLA 2

N.º de Intermedio		N.º de Intermedio	
42A		42B	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 275		TFA; EM (M+H) ⁺ 275
43A		43B	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 289		TFA; EM (M+H) ⁺ 289

43D		44A	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 289		HCl; EM (M+H) ⁺ 303
44B		44C	
	HCl		HCl
44E		44F	
	HCl		HCl;
44G		45B	
	HCl; EM (M+H) ⁺ 303		TFA; EM (M+H) ⁺ 315
46A		47A	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 303		HCl; EM (M+H) ⁺ 307
48A		48C	
	HCl; EM (M+H) ⁺ 321		HCl; EM (M+H) ⁺ 321

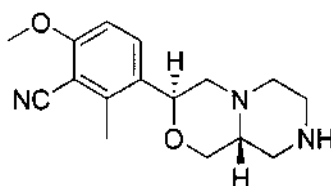
48D		48F	
	HCl; EM (M+H) ⁺ 321		HCl; EM (M+H) ⁺ 321
48G		48H	
	HCl; EM (M+H) ⁺ 321		HCl; EM (M+H) ⁺ 321
49A		49B	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 303		TFA; EM (M+H) ⁺ 303
49C		49D	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 303		TFA; EM (M+H) ⁺ 303
50A		50D	
	TFA; EM (M+H) ⁺ 262		HCl;
51A		52A	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 292		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 280
52B		52C	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 280		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 280

52D		53C	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 280		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 292
54A		55A	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 292		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 258
55D		56A	
	HCl; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 258		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 264
57A		58A	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 305		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 296
58B		58C	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 296		TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 296
58D		59B	
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 296		HCl; CL/EM: (IE, m/z) [M+1] ⁺ = 276
60C			
	TFA; CL/EM: [(M+1)] ⁺ = 292		

1-50D: RMN ¹H (400 MHz, MeOD) δ: 7,84 ~ 7,86 (m, 1H), 7,77 ~ 7,81 (m, 1H), 7,40 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 5,02 ~ 5,07 (m, 1H), 4,20 ~ 4,23 (m, 1H), 3,89 ~ 3,93 (m, 1H), 3,55 ~ 3,63 (m, 6H), 3,33 ~ 3,34 (m, 1H), 3,19 ~ 3,24 (m, 1H), 3,01 ~ 3,12 (m, 1H).

5

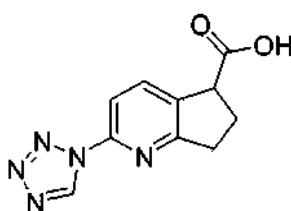
INTERMEDIO 61



6-metoxi-2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo

5 Un vial para microondas se cargó con trifluoroacetato de 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo (110 mg, 0,290 mmol), carbonato sódico (30 mg, 0,290 mmol) y metanol (2 ml). La mezcla se calentó a 150 °C en un aparato de microondas durante 2 h, después se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título, que se usó sin purificación adicional. CL-EM (IE, *m/z*): 288 [M+1]⁺.

10 INTERMEDIO 62



Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxílico

15 Etapa A: 6,7-Dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-ol: A una solución de 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridina (5,0 g, 42 mmol) y MgSO₄ (10 g, 84 mmol) en acetona (250 ml) se le añadió una solución de KMnO₄ (13 g, 84 mmol) en agua (500 ml) a 60 grados. La mezcla se dejó en agitación durante 30 minutos a 60 °C. Se añadió lentamente IPA para inactivar el exceso de KMnO₄. La reacción se filtró a través de una capa de Celite. El filtrado se concentró a presión reducida y se bombeó en una bomba de alto vacío para asegurar la retirada completa del agua. El residuo se disolvió en etanol (200 ml) y se enfrió con un baño de hielo. A esta solución se le añadió lentamente NaBH₄ (3,2 g, 84 mmol). Cuando la TLC mostró que la reducción completa, se añadió agua para inactivar el exceso de NaBH₄. Se retiró etanol en un evaporador rotatorio. El material en bruto se disolvió en EtOAc, se lavó con NaHCO₃ ac., se secó sobre sulfato sódico y se purificó por MPLC (MeOH - DCM: 0-7 %). El compuesto del título se recogió.

25 CL-EM (IE, *m/z*): 136 [M+1]⁺.

Etapa B: 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carbonitrilo: A una solución de 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-ol (2,7 g, 20 mmol) en CHCl₃ (30 ml) se le añadió gota a gota cloruro de tionilo (4,4 ml, 60 mmol) lentamente a 0 °C. La mezcla se dejó en agitación a 0 °C durante 3 más horas, cuando se realizó la adición. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se bombeó a alto vacío durante 15 minutos más. El material en bruto se disolvió en CHCl₃ (300 ml) y se lavó con un tampón de pH = 7 (200 ml). El tampón se extrajo una vez con IPA-CHCl₃ (1:3, 100 ml). Las extracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron. En el matraz se añadió cianuro de tetrabutilamonio (6,4 g, 24 mmol) y acetonitrilo (40 ml). La mezcla se calentó a 50 °C durante 16 horas. Después de retirar acetonitrilo en un evaporador rotatorio, el residuo se disolvió en agua, se extrajo tres veces con IPA-CHCl₃ (1:3, cada una de 100 ml). Las extracciones se combinaron y se purificaron por MPLC (DCM - MeOH). El compuesto del título se recogió después de la retirada del disolvente.

35 CL-EM (IE, *m/z*): 154 [M+1]⁺.

Etapa C: 1-óxido de 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo: En un matraz cargado con 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carbonitrilo (2,6 g, 18 mmol) y una barra de agitación se añadió HCl concentrado (5 ml). La mezcla se calentó a 70 °C durante 15 minutos. Los volátiles se retiraron a presión reducida, y el residuo se bombeó a alto vacío durante 15 minutos. En el matraz se añadieron MeOH (20 ml) y tolueno (40 ml). La solución se enfrió a 0 °C con un baño de hielo, que se siguió de la adición de TMS-diazometano (36 ml, 72 mmol). Cuando la CL mostró que la reacción estaba completa, el exceso de TMS-diazometano se descompuso con HOAc y el producto en bruto se purificó por MPLC. CL-EM (IE, *m/z*): 179 [M+1]⁺. El aducto obtenido se disolvió en CHCl₃ (50 ml) y se enfrió a 0 °C. A la solución se le añadió mCPBA (3,1 g, 18 mmol). La mezcla se dejó en agitación durante 3 horas. Se añadió una solución de tiosulfato sódico para consumir el exceso de mCPBA y el producto en bruto se extrajo con IPA-CHCl₃ (1:3, 100 ml) tres veces. Las extracciones se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico, se absorbieron sobre gel de sílice y se purificaron por MPLC (DCM:MeOH con NH₄OH ac. al 10 %). Después de la retirada del disolvente, se recogió 1-óxido de 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo: CL-EM (IE, *m/z*): 194 [M+1]⁺.

50 Etapa D: 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo: A una solución de 1-óxido de 6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo (700 mg, 3,6 mmol) en CF₃-tolueno (20 ml) y CHCl₃ (20 ml) se le añadió *tert*-butilamina (3,8 ml, 36 mmol). La solución se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. A la solución se le añadió en pequeñas porciones anhídrido *p*-toluenosulfónico (3,5 g, 10,9 mmol) hasta que se

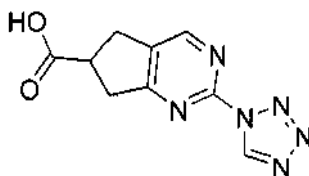
consumió todo el MP según CL-EM. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se disolvió de nuevo en TFA (20 ml). La solución se calentó a 70 °C durante 2 horas. La reacción se detuvo en ese momento. Se retiró TFA en un evaporador rotatorio y el residuo se recogió en carbonato sódico saturado y se extrajo tres veces con IPA-CHCl₃ (1:3, cada una de 50 ml). Las extracciones se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico, se absorbieron sobre gel de sílice y se purificaron por MPLC (DCM:MeOH con NH₄OH ac. al 10 %). Después de la retirada del disolvente, el compuesto del título se recogió: **CL-EM (IE, m/z):** 193 [M+1]⁺.

Etapa E: 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo: En un matraz cargado con 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo (500 mg, 2,6 mmol) y una barra de agitación se añadió azida sódica (340 mg, 5,2 mmol), ortoformiato de trietilo (2,2 ml, 13 mmol) y HOAc (10 ml). La mezcla se calentó a 100 °C durante 2 horas. El disolvente se retiró en un evaporador rotatorio y el residuo se recogió en carbonato sódico ac., se extrajo con EtOAc (50 ml x 3), se secó sobre sulfato sódico y se purificó por MPLC (DCM-MeOH). Después de la retirada del disolvente, el compuesto del título se recogió. **CL-EM (IE, m/z):** 248 [M+1]⁺.

Etapa F: Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxílico

A una solución de 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxilato de metilo (460 mg, 1,9 mmol) en THF (6 ml) se le añadió hidróxido de litio (ac. 1,0 N, 3,8 ml, 3,8 mmol). La mezcla se dejó en agitación a 0 °C durante 2 horas. La reacción se diluyó con agua (10 ml). El pH se ajustó cuidadosamente a aproximadamente 5 con HCl 1 N. Después, la solución se extrajo con EtOAc (30 ml X 3). Las extracciones se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron para formar el compuesto del título: **CL-EM (IE, m/z):** 231 [M+1]⁺; **RMN ¹H** (500 MHz, CD₃OD) δ ppm 9,87 (s, 1H), 8,09 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,20 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 3,15 (m, 1H), 3,08 (m, 1H), 2,51 (m, 2H).

INTERMEDIO 63



Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-carboxílico

Etapa A: 3-Oxociclopentanocarboxilato de metilo: Se combinaron ácido 3-oxociclopentanocarboxílico (342 mg, 2,67 mmol) y el catalizador Amberlyst-15 (30 mg, 2,67 mmol) en un tubo cerrado herméticamente y se calentó a 100 °C durante una noche. La reacción se filtró y se lavó bien con metanol. El filtrado se concentró al vacío para dar el compuesto del título.

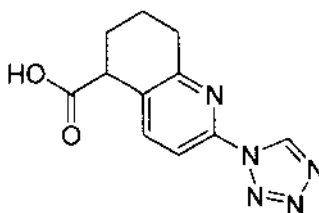
Etapa B: 2-[(Dimetilamino)metilideno]-3-oxociclopentanocarboxilato de metilo y 3-[(dimetilamino)metilideno]-4-oxociclopentanocarboxilato de metilo: Se combinaron 3-oxociclopentanocarboxilato de metilo (364 mg, 2,56 mmol) y 1-*terc*-butoxi-*N,N,N',N'*-tetrametilmetanodiamina (447 mg, 2,56 mmol) y se calentaron a 110 °C durante 1,5 h. La reacción se purificó por Isco Combiflash (gel de sílice de 12 g, 30 ml/min, 254 nM, (metanol al 10 % en diclorometano) del 0 % al 100 %/diclorometano. El compuesto del título se eluyó a (metanol al 10 % en diclorometano) al 53 %/diclorometano en forma de una mezcla de dos regioisómeros. La mezcla se separó por SFC prep. con metanol al 40 %/dióxido de carbono en una columna IA (30 x 250 mm), 70 ml/min, 35 °C, 220 nM, 140 mg/ml en metanol para proporcionar el compuesto del título.

Etapa C: 2-Amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-carboxilato de metilo: A una solución de 3-[(dimetilamino)metilideno]-4-oxociclopentanocarboxilato de metilo (71,7 mg, 0,36 mmol) en metanol anhidro (2,5 ml) se le añadió clorhidrato de guanidina (124,7 mg, 1,3 mmol), seguido de metóxido sódico en metanol (0,24 ml, 1,27 mmol). La mezcla se calentó a 90 °C en un tubo cerrado herméticamente durante una noche. La reacción en bruto se interrumpió con HCl 2 N y se concentró al vacío. El residuo acuoso se purificó por HPLC (columna Waters Sunfire de 30 x 100 mm; 5 micrómetros; 35 ml/min.; 210 nM; CH₃CN del 0 % al 40 %+ TFA al 0,05 %/ agua + TFA al 0,05 % durante 15 min.; el compuesto se eluyó a CH₃CN al 10 % + TFA al 0,05 %/ agua + TFA al 0,05 %) para proporcionar el compuesto del título después de liofilización.

Etapa D: 2-(1H-Tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-carboxilato de metilo: A una mezcla de 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-carboxilato de metilo (65,2 mg, 0,364 mmol) en acetato de etilo (5 ml) se le añadió trifluoroacetato de trimetilsililo (0,107 ml, 0,619 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y después se añadió ortoformiato de trietilo (0,103 ml, 0,619 mmol). La mezcla se agitó durante 5 minutos más, después se añadió azidotrimetilsilano (0,081 ml, 0,619 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche, después se concentró al vacío y el residuo se trituró dos veces con diclorometano. El sólido resultante se recogió mediante centrifugación y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título: **CL/EM: [(M+1)]⁺ = 233.**

Etapa E: Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-carboxílico: El compuesto del título se preparó a partir de 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-carboxilato de metilo de una manera análoga a la descrita en la Etapa F de la síntesis de ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxílico.

INTERMEDIO 64

5 Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxílico

Etapa A: 5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo: Se disolvió quinolin-5-carboxilato de metilo (3,67 g, 19,61 mmol) en TFA (60 ml) y se añadió óxido de platino (0,49 g, 2,16 mmol), después se hidrogenó a temperatura ambiente durante una noche. El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se evaporó a sequedad. El residuo se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 120 g y se eluyó con 5 % de (NH₄OH al 10 % en MeOH) en DCM para producir 5,6,7,8- tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo: **CL-EM:** M+1= 192.

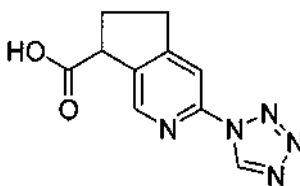
Etapa B: 5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato-1-óxido de metilo: Se disolvió 5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato (2,05 g, 10,72 mmol) en cloroformo (100 ml) y se añadió ácido m-cloroperbenzoico (2,77 g, 16,08 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 1/2 h. La reacción se lavó 2 x con NaHCO₃, 1 x con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, después se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 120 g y eluyendo con un sistema de disolventes en gradiente de acetato de etilo al 100 % a MeOH al 10 %/EtOAc al 90 % para producir el compuesto del título: **CL-EM:** M+1= 208.

Etapa C: 2-amino-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo: Se disolvieron 5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato-1-óxido de metilo (2,05 g, 9,89 mmol) y t-butil amina (5,22 ml, 49,5 mmol) en benzotrifluoruro (50 ml) y se enfriaron con un baño de hielo. El anhídrido p-toluenosulfónico (6,46 g, 19,79 mmol) se añadió en porciones, manteniendo la temperatura interna de la reacción por debajo de 5 °C. La reacción se supervisó y después de 10 min, la CL-EM mostró M+1 = 263 y 207 (M-56) a 1,20 indicando la formación del 2-(*terc*-butilamino)-5,6,7,8- tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo intermedio. Después se añadió TFA (10 ml) a la mezcla de reacción y se calentó a 70 °C durante 5 h. La reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se recogió con agua y el pH se ajustó a ~8 con NaOH 5 N. La reacción se extrajo 2x con DCM. Las capas de DCM combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron a sequedad. El residuo se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 80 g y eluyendo con el sistema de disolventes de (NH₄OH al 10 % en MeOH) al 5 %/DCM para producir el compuesto del título: **CL-EM:** M+1= 207.

Etapa D: 2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo: Se agitó 2-amino-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo (850 mg, 4,12 mmol) en ácido acético (15 ml) y ortoformiato de tri-etilo (1,373 ml, 8,24 mmol), seguido de azida sódica (482 mg, 7,42 mmol), después se calentó a 80 °C durante 3 h. La reacción se enfrió y se evaporó a sequedad. La mezcla se recogió en DCM y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, después con salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó a sequedad. El residuo se sometió a cromatografía a través de una columna ISCO Redi-sep de 40 g y eluyendo con acetato de etilo:hexano (2:3) para producir 2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxilato de metilo.

Etapa E: Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-5-carboxílico: Se agitaron 2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tet- rahydroquinolin-5-carboxilato de metilo (1,04 g, 4,01 mmol) e hidróxido de litio (0,202 g, 4,81 mmol) en una mezcla de tetrahydrofuran (10 ml)/agua (10,00 ml) durante 75 min. La TLC mostró un poco de una mezcla de al 20 %, por lo que se añadió más cantidad de LiOH (50 mg, 1,19 mmol) y se agitó durante 1 h más. La reacción se ajustó con HCl 2 N (3 ml, 6 mmol) a pH 4-5, después se extrajo con acetato de etilo 2x. Las capas de acetato de etilo se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron a sequedad para producir el compuesto del título: CL-EM: (M+1)-28= 218.

INTERMEDIO 65

50 Ácido 3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxílico

Etapa A: N-(5-bromo-4-metil-piridin-2-il)-2,2-dimetilpropanamida: A una solución de 5-bromo-4-metilpiridin-2-amina (20,6 g, 110 mmol) en 80 ml de piridina se le añadió gota a gota cloruro de trimetilacetilo (19,9 g, 165 mmol).

La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano (3 x). Las capas orgánicas se lavaron con agua (2 x) y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, después se purificaron por cromatografía. Al eluir con 2→20 % de EtOAc/hexanos, se obtuvo el compuesto del título: **CL/EM** (M+1)⁺ = 270,9.

5 Etapa B: N-[5-bromo-4-(2-hidroxietil)-piridin-2-il]-2,2-dimetilpropanamida: Una solución de N-(5-bromo-4-metilpiridin-2-il)-2,2-dimetilpropanamida (30,0 g, 111 mmol) en THF (80 ml) se enfrió en un baño de hielo y se trató gota a gota con una solución de diisopropilamina de litio en heptano/THF/etilbenceno (2,0 M, 138 ml). Después de agitar durante 1 h, la solución se trató con paraformaldehído (24,9 g, 277 mmol) y se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente mientras se agitaba 12 h. La mezcla se diluyó con una solución saturada de bicarbonato sódico y se extrajo con acetato de etilo (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. La purificación por MPLC (eluyente acetato de etilo al 6-50 %/hexanos) proporcionó el compuesto del título: **CL/EM** (M+1)⁺ = 300,87.

10 Etapa C: {6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-4-(2-hidroxietil)piridin-3-il}acetato de *terc*-butilo: Un matraz de fondo redondo de 250 ml se cargó con N-[5-bromo-4-(2-hidroxietil)piridin-2-il]-2,2-dimetilpropanamida (1,9 g, 6,31 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (0,173 g, 0,189 mmol) y 2-(diciclohexilfosfino)-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (0,180 g, 0,379) y la mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno durante 30 min. Se añadió tetrahidrofurano, seguido de una solución de cloruro de 2-*terc*-butoxi-2-oxoetilcinc en éter dietílico (0,5 M, 47,9 ml) y la mezcla se puso en un baño de aceite mantenido a 45 °C. Después de 12 h, la reacción se cargó de nuevo con tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (0,173 g, 0,189 mmol) y 2-(diciclohexilfosfino)-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (0,180 g, 0,379) y se añadió una cantidad adicional de cloruro de 2-*terc*-butoxi-2-oxoetilcinc en éter dietílico (0,5 M, 12,6 ml). Después de agitar durante 2 h más en el baño a 45 °C, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y una solución al 10 % de hidróxido de amonio, se filtró para retirar los sólidos y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. La purificación por MPLC (eluyente acetato de etilo al 9-90 %/hexanos) proporcionó {6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-4-(2-hidroxietil)piridin-3-il}acetato de *terc*-butilo: **CL/EM** (M+1)⁺ = 337,0.

15 Etapa D: {4-(2-bromoetil)-6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]piridin-3-il}acetato de *terc*-butilo: Una mezcla de {6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-4-(2-hidroxietil)piridin-3-il}acetato de *terc*-butilo (2,30 g, 6,84 mmol) con imidazol (0,558 g, 8,20 mmol) en diclorometano (50 ml) se trató con trifetilfosfina (1,79 g, 6,84 mmol) y tetrabromuro de carbono (2,72 g, 8,20 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 h, después se diluyó con agua y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó sucesivamente con ácido clorhídrico al 5 %, una solución saturada de bicarbonato sódico y salmuera, después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El residuo se filtró a través de un lecho corto de sílice (eluyente de EtOAc al 20 %:hexanos) para proporcionar el compuesto del título que se usó inmediatamente en la siguiente etapa: **CL/EM** (M+1)⁺ = 398,9.

20 Etapa E: 3-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxilato de *terc*-butilo: Una solución de {4-(2-bromoetil)-6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]piridin-3-il}acetato de *terc*-butilo (6,5 g, 16,3 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) enfriada en un baño de hielo seco-acetona se trató gota a gota con una solución de diisopropilamina de litio en tetrahidrofurano (50 ml) (preparada a partir de diisopropilamina (3,79 g, 34,7 mmol) y n-butil-litio (2,5 M, 13,7 ml) mediante un embudo de adición durante 1 h. Después de que se completara la adición, la reacción se agitó durante 1 h más, después se inactivó con una solución saturada de bicarbonato sódico y se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo y agua, y se transfirió a un embudo de decantación. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. La purificación del residuo resultante (eluyente de EtOAc al 2→25 %/hexanos) proporcionó el compuesto del título. **CL/EM** (M+1)⁺ = 319,0.

25 Etapa F: ácido 3-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxílico: Una solución de 3-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxilato (0,624 mg, 1,96 mmol) en ácido clorhídrico 6 N (25 ml) se calentó a reflujo durante 24 h. La solución se enfrió y se concentró para proporcionar el compuesto del título que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa: **CL/EM** (M+1)⁺ = 179,0.

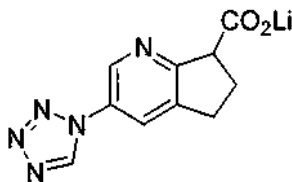
30 Etapa G: 3-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxilato de metilo: Una solución de ácido 3-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxílico de la Etapa F en metanol (10 ml) se trató gota a gota con una solución de trimetilsilil diazometano en éter dietílico (2,0 M, 1,96 ml) a 0 °C. Después de que se completara la adición, la reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min, después se concentró. El residuo resultante se secó a alto vacío para proporcionar el compuesto del título **CL/EM** (M+1)⁺ = 193,0;

35 Etapa H: 3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxilato de metilo: Una mezcla de 3-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxilato de metilo (365 mg, 1,90 mmol), ortoformiato de trietilo (451 mg, 3,04 mmol) y azida sódica (185 mg, 2,85 mmol) en ácido acético (8 ml) se mantuvo en un baño de aceite calentado a 80 °C durante 3 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con agua y acetato de etilo y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. La purificación del residuo resultante (eluyente de EtOAc al 8→80 %/hexanos) proporcionó el compuesto del título. **CL/EM** (M+1)⁺ = 193,0.

40 Etapa I: ácido 3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxílico: Una solución de 3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxilato (235 mg, 0,958 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) y agua (1,5 ml) a temperatura ambiente se trató con una solución de hidróxido de litio (1 M, 1,44 ml). Después de 30 min, la solución se concentró para retirar tetrahidrofurano y el extracto acuoso restante se acidificó con una solución 1 N de ácido clorhídrico (a pH ~4) y se extrajo con acetato de etilo (3 x). Los extractos orgánicos

combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron para proporcionar el compuesto del título: RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ 9,89 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 4,25 (dd, $J = 5,0$, 5,0 Hz, 1H), 3,27 - 3,05 (m, 2H), 2,47 - 2,57 (m, 2H); CL/EM ($M+1$) $^+$ = 232,2.

5 INTERMEDIO 66

10 3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de litio

Etapa A: metanosulfonato de but-3-in-1-ilo: A una solución de but-3-in-1-ol (45,0 g, 0,64 mol) y cloruro de metanosulfonilo (81,0 g, 0,71 mol) en 600 ml de DCM se le añadió gota a gota TEA (78,0 g, 0,77 mol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y después se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en 1 l de EtOAc, después se lavó con HCl 1 N (2 x 200 ml) y salmuera (200 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proporcionar metanosulfonato de but-3-in-1-ilo.

Etapa B: 4-yodobut-1-ina: Una suspensión de metanosulfonato de but-3-in-1-ilo (90,0 g, 0,608 mol) y NaI (137 g, 0,912 mol) en 450 ml de acetona se calentó a reflujo en una atmósfera de N_2 durante 4 horas y después se enfrió. A esta mezcla de reacción se le añadieron 450 ml de éter y se filtró. El sólido se lavó con 300 ml más de éter y el filtrado se destiló. Se recogió la fracción de 70 °C/20 mmHg.

Etapa C: but-3-in-1-ilpropanodioato de etil *terc*-butilo: A una suspensión de NaH (60 %, 8,50 g, 213 mmol) en 200 ml de DMF se le añadió gota a gota malonato de etil *terc*-butilo (36,3 g, 193 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó durante 1 hora y se añadió gota a gota 4-yodobut-1-ina (38,2 g, 212,2 g). La suspensión resultante se agitó durante una noche, se diluyó con 1 l de éter y se lavó con agua (3 x 200 ml) y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proporcionar but-3-in-1-ilpropanodioato de etil *terc*-butilo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa D: but-3-in-1-il(5-nitropirimidin-2-il)propanodioato de etil *terc*-butilo: A una suspensión de NaH (60 %, 2,5 g, 62,4 mmol) en 100 ml de DMF se le añadió gota a gota but-3-in-1-ilpropanodioato de etil *terc*-butilo (15 g, 62,4 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a 40 °C durante 30 minutos y se añadió gota a gota 2-cloro-5-nitropirimidina (10,0 g, 62,4 mmol) en 50 ml de DMF. La suspensión resultante se agitó a 50 °C durante 2 horas y se diluyó con 500 ml de EtOAc. La mezcla se lavó con agua (3 x 100 ml) y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (Éter de petróleo: EtOAc = 10:1) para proporcionar el compuesto del título; **EM** m/z 364 ($M+1$) $^+$.

Etapa E: 3-nitro-5,6-dihidro-7H-ciclopenta[b]piridin-7,7-dicarboxilato de 7-etil 7-*terc*-butilo: Una solución de but-3-in-1-il(5-nitropirimidin-2-il)propanodioato de etil *terc*-butilo (10,2 g, 28,1 mmol) en 100 ml de nitrobenzono se calentó a 150 °C durante 4 horas. El nitrobenzono se retiró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (Éter de petróleo:EtOAc = 10:1) para proporcionar el compuesto del título; **EM** m/z 337 ($M+1$) $^+$.

Etapa F: 3-nitro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de etilo: Una mezcla de 3-nitro-5,6-dihidro-7H-ciclopenta[b]piridin-7,7-dicarboxilato de 7-etil 7-*terc*-butilo (6,2 g, 18,4 mmol) en 30 ml de TFA y 30 ml de DCM se agitó a 35 °C durante 3 horas y después se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en 200 ml de EtOAc y se lavó con NaHCO_3 saturado (2 x 25 ml) y salmuera (25 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para proporcionar el compuesto del título.

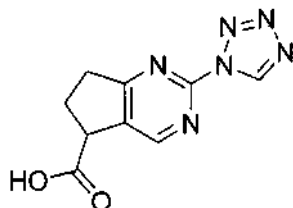
Etapa G: 3-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de etilo: Una mezcla de 3-nitro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de etilo (4,2 g, 17,8 mmol) y Pd/C (0,5 g, 10 %) en 80 ml de etanol se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de 0,34 MPa (50 psi) de hidrógeno durante 2 horas y después se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar el compuesto del título.

Etapa H: 3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de etilo: A una solución de 3-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de etilo (3,0 g, 14,6 mmol) y ortoformiato de trietilo (6,5 g, 43,6 mmol) en 50 ml de ácido acético se le añadió azida sódica (1,0 g, 16,0 mmol). La mezcla se calentó a 100 °C durante 3 horas. La reacción se había completado según TLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se retiró al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título.

Etapa I: 3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de litio: A una mezcla de 3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-carboxilato de etilo (1,5 g, 5,8 mmol) en 50 ml de THF/MeOH/ H_2O (2:2:1) se le añadió en porciones $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (242,8 mg, 5,8 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos, después se diluyó con 200 ml de agua y se lavó con éter (3 x 30 ml). La capa de agua se criodesecó para proporcionar el compuesto del título: **RMN** ^1H (400 MHz, D_2O) δ ppm 8,68 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 3,97 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,00-3,14 (m, 2H), 2,53-2,59 (m, 1H), 2,17-2,32 (m, 1H).

60

INTERMEDIO 67

5 Ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico

Etapa A: butano-1,2,4-tricarboxilato de trimetilo: Se añadió ácido sulfúrico (0,620 ml, 11,6 mmol) a una mezcla de ácido 1,2,4-butanotricarboxílico (30,0 g, 158 mmol) en metanol (50 ml)/1,2-dicloroetano (140 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 6,5 horas, después se dejó en reposo a TA durante una noche. El disolvente se evaporó. Después se añadieron 200 ml de benceno al residuo, seguido de adición lenta de una solución fría saturada de NaHCO₃ con agitación vigorosa. Las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con benceno (1 x 100 ml). Los extractos orgánicos se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y el disolvente se evaporó para proporcionar el compuesto del título.

Etapa B: 2-oxociclopentano-1,3-dicarboxilato de dimetilo y 3-oxociclopentano-1,2-dicarboxilato de dimetilo: Se añadió hidruro sódico (6,19 g, 155 mmol) a tolueno (94 ml) y se enfrió a 5 °C (temperatura de la reacción). Se añadió gota a gota una solución de butano-1,2,4-tricarboxilato de trimetilo (29,9 g, 129 mmol) en tolueno (26 ml)/metanol (0,22 ml) durante 1 3/4 horas mientras se mantenía la temperatura a 5-10 °C. La mezcla resultante se agitó a 5-10 °C durante 2 horas. Después se añadieron 40 ml de agua. Las capas se separaron. La fase orgánica se extrajo con agua. Los extractos acuosos se combinaron, se acidificaron mediante la adición de ácido cítrico 1,7 M y se extrajeron con EtOAc (200 ml, 100 ml x 2). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y el disolvente se evaporó para proporcionar el producto. El producto en bruto se purificó mediante un sistema Isco Combiflash (330 g gel de sílice, 100 ml/min, 254 nM, EtOAc del 0 % al 100 %/Hexanos durante 12 volúmenes de columna; el producto deseado se eluyó a EtOAc al 50 %; (el regioisómero se eluye a EtOAc al 65 %) para proporcionar el compuesto del título.

Etapa C: 2-amino-4-hidroxi-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxilato de metilo: Un tubo que puede volver a cerrarse herméticamente se cargó con 3-oxociclopentano-1,2-dicarboxilato de dimetilo (6,04 g, 30,2 mmol). Se añadió dioxano (86 ml), seguido de clorhidrato de guanidina (3,83 g, 40,1 mmol) y *tert*-butóxido potásico (40 ml, 40 mmol). El tubo se cerró herméticamente y se calentó a 130 °C durante 18 horas. El disolvente se evaporó. Se añadió metanol (86 ml) al residuo, seguido de adición lenta de cloruro de tionilo (2,2 ml, 30 mmol). La mezcla se agitó a TA durante una noche. El disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de DCM:metanol de 0 a 20 % durante 14 minutos para proporcionar el compuesto del título. Este material se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa: **CL/EM** (M+H)⁺ = 210.

Etapa D: 2-amino-4-cloro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxilato de metilo: Se añadió oxiclورو de fósforo (16,0 ml, 172 mmol) a 2-amino-4-hidroxi-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxilato de metilo (5,84 g, 27,9 mmol). La mezcla resultante se calentó en un tubo cerrado herméticamente a 100 °C en el microondas durante 3 horas. El disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en 6 ml de acetonitrilo y se añadieron 6 ml de hielo/agua. La mezcla resultante se agitó a TA durante 15 minutos y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa en una columna SunFire usando un gradiente de acetonitrilo del 0 al 100 % durante 10 minutos (11 inyecciones) para proporcionar el compuesto del título. Se obtuvo más cantidad de producto mediante re-purificación de las fracciones mixtas: **CL/EM** (M+H) = 228, 230.

Etapa E: 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxilato de metilo: Se añadió trietilamina (3,20 ml, 23,0 mmol) a una solución de 2-amino-4-cloro-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxilato de metilo (2,11 g, 9,27 mmol) en dioxano (42 ml), seguido de ácido fórmico (0,89 ml, 22,28 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II) (660 mg, 0,902 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C en un tubo cerrado herméticamente durante una noche. El disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía sobre sílice (cartuchos de 220 g + 125 g) usando 95:5 de CH₂Cl₂:MeOH para proporcionar el compuesto del título que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

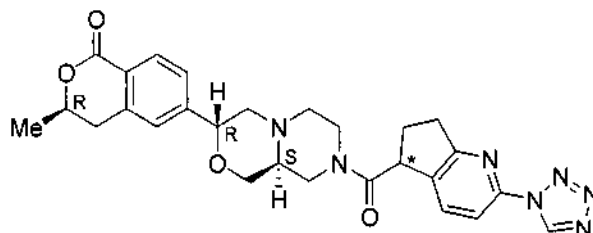
Etapa F: ácido 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico: Se añadió hidróxido de sodio (13,0 ml, 13,0 mmol) a una solución de 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxilato de metilo (1,10 g, 5,69 mmol) en metanol (21 ml). La mezcla resultante se agitó a TA durante 1,5 horas. Se añadió ácido clorhídrico (13 ml, 13,00 mmol). El disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía sobre sílice (cartuchos de 24 g), eluyendo con 95:5 de CH₂Cl₂:MeOH (150 ml) y 90:10:1 de CH₂Cl₂:MeOH:AcOH para proporcionar el compuesto del título.

Etapa G: ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico: Se añadió trifluoroacetato de trimetilsililo (1,5 ml, 8,7 mmol) a una suspensión de ácido 2-amino-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico (845 mg, 4,72 mmol) en acetato de etilo (10 ml). Se obtuvo una solución pero se formó un precipitado en 5 minutos. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 5 minutos y se añadió ortoformiato de trietilo (1,4 ml, 8,4 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 5 minutos y se añadió azidotrimetilsilano (1,1 ml, 8,4 mmol). La suspensión resultante se agitó a TA durante una noche. El disolvente se evaporó. El residuo se purificó por

cromatografía sobre gel de sílice (cartucho de 80 g) usando CH₂Cl₂ (A) y 90:10:1 de CH₂Cl₂:MeOH:AcOH (B) con elución en gradiente (de A al 100 % a B al 100 % a lo largo de 16 volúmenes de columna) para proporcionar el producto en bruto que se purificó adicionalmente por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título: **RMN** 500 MHz (CD₃OD) 10,00 (s, 1H); 8,88 (s, 1H); 4,32 (t, 1H); 3,11-3,15 (m, 2H); 2,47-2,63 (m, 2H); **CL/EM** (M+Na)⁺ a 255, (M+1)⁺ a 233, (M+1-N₂)⁺ at 205.

Puede hacerse referencia a los intermedios descritos anteriormente mediante su número precedido de "I-". Por ejemplo, el Intermedio 44A se abrevia a I-44A. La estereoquímica absoluta en el centro quiral aza-indano se determinó únicamente para los Ejemplos 2A y 2B.

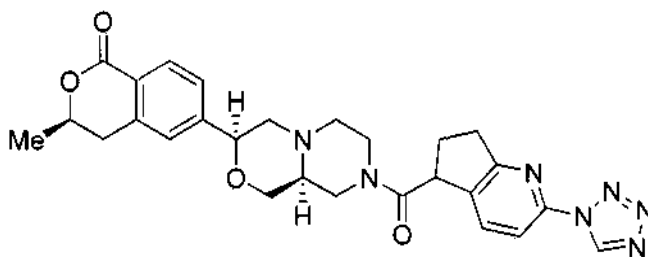
EJEMPLO 1AB, Mezcla isomérica, 1A y 1B



(3R)-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocroman-1-ona

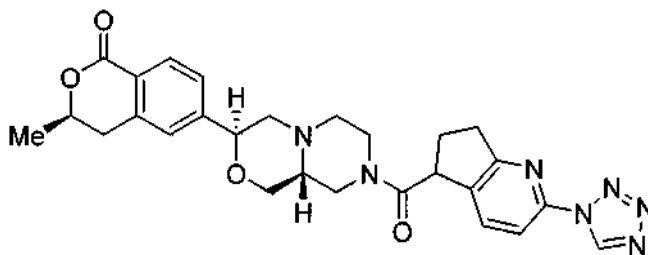
Una solución de ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-carboxílico [I-621 (200 mg, 0,86 mmol) en 2 ml de DMF seca se trató con HATU (362 mg, 0,95 mmol) a temp ambiente. Después de 5 minutos, se añadió una solución de diclorhidrato de (R)-3-metil-6-((3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)isocroman-1-ona [I-44A1 (325 mg, 0,86 mmol) y DIEA (0,23 ml, 1,3 mmol) en 2 ml de DMF seca y la reacción se dejó en agitación durante una noche a temp. ambiente. La reacción se interrumpió con 10 ml de agua, se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se concentró. El material en bruto se purificó mediante MPLC [(mezcla 80:10:8:2 de EtOAc:Acetonitrilo-IPA:MeOH) al 10-60 %/Hexanos] para dar el compuesto del título en forma de una mezcla de diastereómeros: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516. La resolución quiral de los dos diastereómeros aza-indano se consiguió mediante SFC quiral preparativa con 2:1 de MeOH:MeCN al 45 % en una columna OD. El isómero de elución más rápida fue un inhibidor de ROMK más potente: **1A**: Diastereómero aza-indano de elución más rápida: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516: **RMN** ¹H (500 MHz; DMSO-d₆): 10,12 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,91-7,84 (m, 2H), 7,44 (m, 1H), 7,39 (m, 1H), 4,98 (m, 1H), 4,69 (m, 2H), 4,65 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,08 (m, 4H), 2,92 (m, 2H), 2,55 (m, 2H), 2,22 (m, 1H), 2,14 (m, 1H), 1,41 (d, J = 6,1 Hz, 3H). **1B**: Diastereómero aza-indano de elución más lenta (Cl₅₀ mayor que 1 μM en ensayos de flujo de Talio Flux y electrofisiología): **CL-EM**: (M+1)⁺ 516.

EJEMPLO 1CD, Mezcla isomérica, 1C y 1D



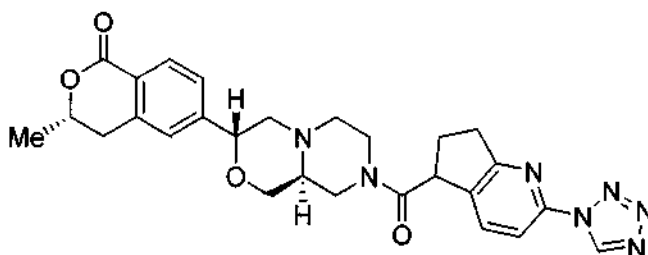
(3R)-3-metil-6-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocroman-1-ona

El compuesto del título (en forma de una mezcla de dos isómeros) se preparó de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de la mezcla de isómeros en el Ejemplo 1A y 1B, pero partiendo de diclorhidrato de (R)-3-metil-6-((3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)isocroman-1-ona [I-44B]. La resolución quiral de los dos diastereómeros aza-indano del compuesto del título se consiguió mediante SFC preparativa quiral usando 2:1 de MeOH:MeCN al 40 % en una columna Chiralcel OD. El isómero de elución más rápida fue el inhibidor de ROMK más potente. **1C**: Diastereómero aza-indano de elución más rápida: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516: **1D**: Diastereómero aza-indano de elución más lenta (Cl₅₀ mayor que 1 μM en ensayos de flujo de Talio y electrofisiología): **CL-EM**: (M+1)⁺ 516.

EJEMPLO 1EF, Mezcla isomérica, 1E y 1F

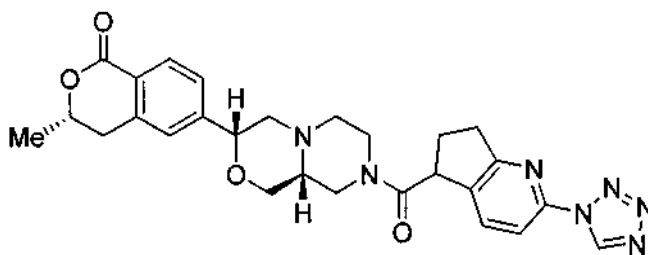
- 5 (3R)-3-metil-6-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona:

El compuesto del título (en forma de una mezcla de dos isómeros) se preparó de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de la mezcla de isómeros en el Ejemplo 1A y 1B, pero partiendo de diclorhidrato de (R)-3-metil-6-(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]isocroman-1-ona [I-44G]. La resolución quiral de los dos diastereómeros aza-indano del compuesto del título se consiguió mediante SFC preparativa quiral usando 2:1 de MeOH:MeCN al 50 % en una columna Chiralpak AS. **1E**: Diastereómero aza-indano de elusión más rápida: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516. **1F**: Diastereómero aza-indano de elusión más lenta: CL-EM: (M+1)⁺ 516.

15 **EJEMPLO 1GH, Mezcla isomérica, 1G y 1H**

- 20 (3S)-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona

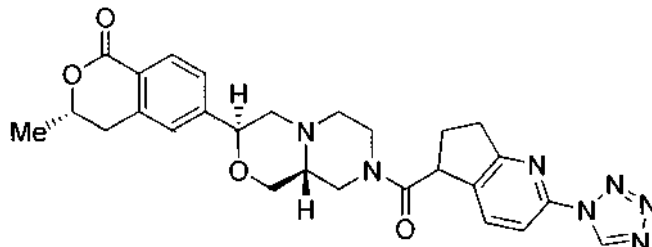
El compuesto del título (en forma de una mezcla de dos isómeros) se preparó de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de la mezcla de isómeros en el Ejemplo 1A y 1B, pero partiendo de diclorhidrato de (S)-3-metil-6-((3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]isocroman-1-ona [I-44C1]. La resolución quiral de los dos diastereómeros aza-indano del compuesto del título se consiguió mediante SFC preparativa quiral usando 2:1 de MeOH:MeCN al 70 % en una columna Chiralpak AD. El isómero de elusión más rápida fue un inhibidor de ROMK más potente. **1G**: Diastereómero aza-indano de elusión más rápida: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516; **RMN 1H** (500 MHz; CDCl₃): 9,54 (s, 1H), 8,10 (m, 1H), 7,94 (m, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,31 (m, 1H), 4,76-4,68 (m, 2H), 4,57 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 4,43-4,37 (m, 1H), 4,08-4,03 (m, 2H), 3,60-3,52 (m, 2H), 3,29-3,23 (m, 1H), 3,17-3,11 (m, 2H), 3,05-2,91 (m, 4H), 2,64-2,54 (m, 1H), 2,5-2,3 (m, 4H), 1,55 (d, J = 6,2 Hz, 3H). **1H**: Diastereómero aza-indano de elusión más lenta (Cl₅₀ mayor que 1 μM en ensayos de flujo de Talio y electrofisiología): CL-EM: (M+1)⁺ 516.

EJEMPLO 1IJ, Mezcla isomérica, 1I y 1J

- 35 (3S)-3-metil-6-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona: El compuesto del título (en forma de una mezcla de dos isómeros) se preparó de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de la mezcla de isómeros en el Ejemplo 1A y 1B, pero partiendo de diclorhidrato de (S)-3-metil-6-((3R,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]isocroman-1-ona [I-44F]. La resolución quiral de los dos diastereómeros aza-indano del compuesto del título se consiguió mediante SFC preparativa quiral usando MeOH al 50 % (DEA al 0,2 %) en una columna Chiralpak

AS-H. 1I: Diastereómero aza-indano de elusión más rápida: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516. 1J: Diastereómero aza-indano de elusión más lenta: **CL-EM**: (M+1)⁺ 516.

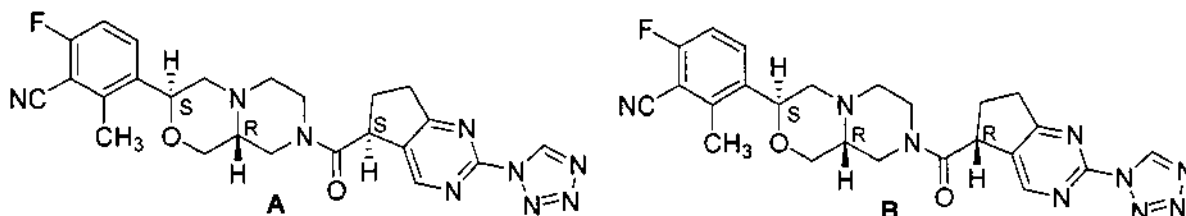
EJEMPLO 1KL, Mezcla Isomérica, 1K y 1L



(3S)-3-metil-6-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona:

El compuesto del título (en forma de una mezcla de dos isómeros) se preparó de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de la mezcla de isómeros en el Ejemplo 1A y 1B, pero partiendo de diclorhidrato de (S)-3-metil-6-((3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)isocroman-1-ona [I-44E]. La resolución quiral de los dos diastereómeros aza-indano del compuesto del título se consiguió mediante SFC preparativa quiral usando MeOH al 40 % (DEA al 0,2 %) en una columna Chiralcel OD-H. El isómero de elusión más rápida fue un inhibidor de ROMK más potente: **1K**: Diastereómero aza-indano de elusión más rápida: **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 9,523 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,906 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,79-7,74 (m, 2H), 7,37-7,28 (m, 1H), 4,75-4,65 (m, 2H), 4,54 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 4,43-4,37 (m, 1H), 4,07-4,02 (m, 2H), 3,91 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 3,60-3,49 (m, 2H), 3,25-3,20 (m, 1H), 3,16-3,09 (m, 2H), 3,00-2,95 (m, 5H), 2,91 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 2,61-2,2,59 (m, 1H), 2,51-2,27 (m, 3H); **CL/EM**: [(M+1)]⁺ = 516. **1L**: Diastereómero aza-indano de elusión más lenta (Cl₅₀ mayor que 1 μM en ensayos de flujo de Talio y electrofisiología): **CL-EM**: (M+1)⁺ 516.

EJEMPLO 2AB, Mezcla isomérica, 2A y 2B (Método 1)



2A: 6-Fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[(5S)-2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo y **2B**: 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[(5R)-2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo

Se añadió EDC (2,24 g, 11,68 mmol) a una suspensión de ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico [I-67] (2,51 g, 9,73 mmol) y 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo [I-40C-1] (2,81 g, 10,21 mmol) en diclorometano (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 1,5 horas. La mayoría del disolvente se evaporó. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con agua, una solución de NaHCO₃ y salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y el disolvente se evaporó para proporcionar una mezcla en bruto de los dos diastereómeros. El producto en bruto se purificó sobre sílice (cartucho de 220 g) con un gradiente de elución de CH₂Cl₂ (disolvente A) a 90:10 de CH₂Cl₂ al 50 %:Me-OH (disolvente B) para proporcionar una mezcla de los diastereómeros del título que se separaron por SFC HPLC preparativa quiral (SFC en una columna Chiralpak IC, Diacel Chemical Industries, LTD., 30 x 250 mm, 60 % de 2:1 de MeOH:MeCN/CO₂, 70 ml/min, 100 bar, muestra en DCM/MeCN, 35C, 254 nm) para proporcionar los aza-indano diastereómeros separados: Isómero 2A, elusión más rápida e Isómero 2B, elusión más lenta. La asignación estereoquímica en el centro quiral aza-indano se hizo mediante cristalografía de rayos X del isómero de elusión más lenta. El isómero A se disolvió en 1 ml de acetonitrilo y se añadió 1 equiv. de HCl 1 M en éter, y el sólido se filtró para producir la sal clorhidrato. **Isómero 2^a, sal de HCl**: **RMN** 500 MHz (CD₃OD + D₂O) (mezcla de rotámeros de amida) 10,04 (s, 1H); 8,72 (s, 0,4H); 8,68 (s, 0,6 H); 7,81-7,88 (m, 1H); 7,25-7,31 (m, 1H); 5,12 (t, 1H); 4,63-4,75 (m, 1,5H); 4,40-4,46 (m, 1 H); 4,33-4,38 (dd, 0,5H); 4,23-4,28 (dd, 0,5H); 3,72-3,90 (m, 2H); 3,42-3,52 (m, 3H); 3,14-3,28 (m, 3H); 2,84-3,1 (m, 2H); 2,86-2,97 (m, 1H); 2,73-2,82 (m, 1H); 2,60 (s, 3H); 2,50-2,35 (m, 1H); **CL/EM** 512 (M+Na), 490 (M+H), 462 (M+H-N2): La sal de HCl del Isómero 2B se preparó de manera similar. **Isómero 2B, sal de HCl**: **RMN** 500 MHz (CD₃OD + D₂O) (mezcla de rotámeros de amida) 10,0 (s, 1H); 8,7 (s, 1H); 7,82-7,86 (dd, 1H); 7,29 (t, 1H); 5,26 d, 1H); 4,66-4,76 (m, 1H); 4,49-4,54 (m, 1H); 4,45-4,59 (m, 1H); 4,35 (d, 0,5H); 3,90-4,03 (m, 1H); 3,76-3,88 (m, 0,5H); 3,11-3,43 (m, 5,5H); 2,88-3,00 (m, 0,5H); 2,70-2,82 (m, 1H); 2,63 (s, 3H); 2,21-2,40 (m, 1H); **CL/EM** 512 (M+Na),

490 (M+H), 42 (M+H-N₂).

EJEMPLO 2A (Método 2)

5 Un matraz de fondo redondo de tres bocas y 5 l se equipó con un agitador en su parte superior, una entrada de N₂ y un termopar. En el matraz se cargaron 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo [I-40C-2] (147,15 g, 423 mmol, basado en la sal de di-clorhidrato), ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico [I-67] (pureza del 95,7 %, 110 g, 452 mmol), EDCI·HCl (122 g, 634 mmol) y HOBt·H₂O (6,47 g, 42,3 mmol), seguido de tetrahidrofurano (1472 ml) y agua (73,6 ml) premezclados. La adición de THF:agua, se acompañó de un aumento de la temperatura de 23 °C a 31 °C. Se añadieron cuatro equivalentes de DIPEA (300 ml) mediante un embudo de adición mientras se mantenía la temperatura <35 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio (90 g, 1690 mmol) en 500 ml de agua. El producto se extrajo de la fase acuosa con 500 ml de EtOAc, seguido de 200 ml de EtOAc y las capas orgánicas se combinaron. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución de cloruro de amonio hasta que el pH de la fase acuosa fue 6-7. Se observó que el sólido había precipitado y se filtró de la interfase de fase acuosa y orgánica. La fase orgánica se concentró para retirar THF y EtOAc. Se añadieron aproximadamente 200 ml de acetonitrilo y la mezcla se sometió a evaporación rotatoria para retirar agua. Se precipitó más sólido. El sólido se filtró y el filtrado se diluyó a 1500 ml para una corriente de entrada de separación de SFC HPLC quiral. La separación se consiguió mediante el siguiente método: columna Chiracel AD-H (Diacel Chemical Industries, LTD., 250x 50 mm, 5 µm), caudal 250 ml/min, 35 °C, 220 nm, 100 bar, MeOH:MeCN(2:1) al 50 %/CO₂, tiempo de ciclo de 260 seg., 130 g en 1500 ml de MeCN, 87 mg/ml, 15 ml/iny. La fracción del pico 1 (elusión más rápida) se concentró, se disolvió en 750 ml de ACN y se trató con carbono activado, (Norit SA3, malla 100), se agitó durante aproximadamente 15 min, se filtró sobre Solka Flok y se concentró. El residuo espumoso se disolvió con 350 ml de DME con calentamiento a 40-50 °C. Se observó precipitación después de aproximadamente 2-3 min a aproximadamente 35-37 °C, y la mezcla se dejó enfriar en condiciones ambientales. Cuando la temperatura alcanzó aproximadamente 25 °C, se añadieron 250 ml de ciclohexano durante aproximadamente 15 min y el lote se agitó aproximadamente 1 h. El producto sólido se filtró y el reactor y la torta se lavaron con 100 ml de ciclohexano, y los sólidos se llevaron a un estado en su mayoría seco en una atmósfera de N₂. La torta húmeda se secó al vacío a 60 °C durante aproximadamente 18 h para producir 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[(5S)-2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo.

EJEMPLO 2CD, Mezcla isomérica, 2C y 2D



35

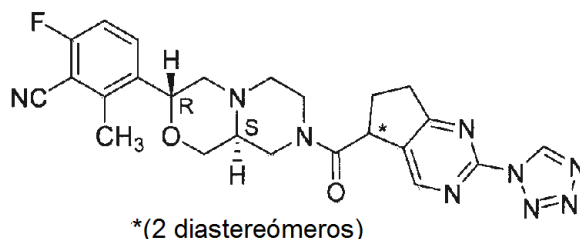
6-Fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo (mezcla de isómeros): Se añadió 1-hidroxibenzotriazol (173 mg, 1,280 mmol) a una suspensión de ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico [I-67] (200 mg, 0,861 mmol) en diclorometano (2 ml), seguido de EDC (331 mg, 1,73 mmol), 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo [I-40D] (551 mg, 1,095 mmol) y trietilamina (0,70 ml, 5,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, agua y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y el disolvente se evaporó para proporcionar el compuesto del título en forma de una mezcla de dos diastereómeros. El producto en bruto se purificó por MPLC sobre sílice (cartucho de 24 g) usando CH₂Cl₂ (A) y 90:10 de CH₂Cl₂:MeOH (B) con gradiente de elución de 100 % de A a B al 100 % a lo largo de 12 VC para proporcionar el compuesto del título en forma de una mezcla de 2 diastereómeros. **CL/EM** 490 (M+H). La mezcla de diastereómeros se purificó por HPLC preparativa quiral (SFC) en una columna Chiralcel AS, 100 bar, MeOH (DEA al 0,2 %) al 40 %/CO₂, 35 °C para proporcionar los dos diastereómeros aza-indano separados del compuesto del título: Isómero 2C (elusión más rápida) e Isómero 2D (elusión más lenta). Cada isómero se disolvió por separador en 1 ml de diclorometano y se añadió 1 equiv. de HCl 1 M en éter. El disolvente se evaporó para producir las sales de clorhidrato de cada isómero. **Isómero 2C**, sal de HCl: **RMN** 600 MHz (CD₃OD) (mezcla de rotámeros de amida) 9,988 (s, 0,6H); 9,975 (s, 0,4H); 8,73 (s, 0,6H); 8,67 (s, 0,4 H); 7,94(dd, 1H); 7,31 (t ap., 1H); 5,15 (d, 1H); 4,80 (t, 0,5H); 4,75 (d, 0,5H); 4,65-4,70 (m, 1H); 4,47 (d, 0,5H); 4,32-4,38 (m, 1H); 4,19-4,29 (m, 2H); 3,84-3,98 (m, 2H); 3,57-3,72 (m, 2H); 3,44-3,54 (m, 2H); 3,31-3,38 (m, 0,5H); 3,23 (t, 2H); 2,69-2,86 (m, 1H); 2,62 (s, 3H); 2,33-2,42 (m, 0,5H); 2,20-2,28 (m, 0,5H). **CL/EM** 531 (M+H+CH₃CN). **Isómero 2D**, sal de HCl: **RMN** 500 MHz (CD₃OD) (mezcla de rotámeros de amida) 9,98 (s, 1H); 8,72 (s, 0,6H); 8,69 (s, 0,4 H); 7,91-7,96 (m, 1H); 7,30 (c, 1H); 5,14-5,18 (m, 1H); 4,72-4,78 (m, 1,5H); 4,65 (d,0,5H); 4,49 (d, 0,5 H); 4,35 (d, 1H);

55

4,21-4,30 (m, 2H); 3,32-3,95 (m, 6,5H); 3,18-3,27 (m, 2H); 2,71-2,79 (m, 1H); 2,62 (s, 3H); 2,35-2,42 (m, 0,5H); 2,18-2,26 (m, 0,5H). **CL/EM** 531 (M+H+CH₃CN).

EJEMPLO 2EF, Mezcla isomérica, 2E y 2F

5



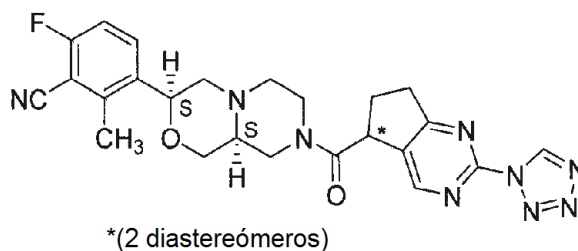
6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo (mezcla isomérica):

10

El compuesto del título (en forma de una mezcla de dos isómeros) se preparó de una manera análoga a la descrita anteriormente para la síntesis de la mezcla de isómeros en el Ejemplo 2C y 2D, pero partiendo de 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo. [I-40B] Los diastereómeros se separaron por SFC HPLC preparativa quiral en una columna Chiralcel AS-H, 100 bar, MeOH (isobutilamina al 0,2 %) al 30 %/CO₂, 35 °C, seguido de purificación adicional por TLC prep. sobre gel de sílice (eluyendo con 95:5 de CH₂Cl₂:MeOH) para proporcionar los diastereómeros aza-indano separados del compuesto del título, Isómero 2E (elusión más rápida) e Isómero 2F (elusión más lenta). Cada isómero se disolvió por separado en 1 ml de diclorometano y se añadió 1 equivalente de HCl 1 M en éter. El disolvente se evaporó para producir las sales de clorhidrato de los diastereómeros separados. **Isómero 2E**, sal de HCl: **RMN** 500 MHz (CD₃OD) (mezcla de rotámeros de amida) 10,02 (s, 1H); 8,71 (s, 0,5H); 8,67 (s, 0,5 H); 7,84 (dd, 1H); 7,27 (t, 1H); 5,08 (d, 1H); 4,62-4,76 (m, 1,5H); 4,30-4,45 (m, 1,5H); 4,19-4,26 (m, 0,5H); 3,8 (c, 1H); 3,65-3,73 (m, 0,5H); 3,33-3,45 (m, 2,5H); 3,20-3,28 (m, 2H); 3,11-3,20 (m, 1,5H); 3,00-3,08 (m, 0,5H); 2,73-2,93 (m, 3,5H); 2,61 (s, 3H); 2,19-2,37 (m, 1H): **CL/EM** 531 (M+H+CH₃CN), 462 (M+H-N2): **Isómero 2F**, sal de HCl: **RMN** 500 MHz (CD₃OD) (mezcla de rotámeros de amida) 10,02 (s, 1H); 8,72 (s, 0,4H); 8,68 (s, 0,5 H); 7,84 (c, 1H); 7,25-7,30 (m, 1H); 5,11 (t, 1H); 4,63-4,74 (m, 2H); 4,38-4,43 (m, 1H); 4,34 (d, 0,5H); 3,70-3,87 (m, 1,5H); 3,37-3,49 (m, 3,5H); 3,24 (c, 1,5H); 3,10-3,20 (m, 1H); 2,73-3,04 (m, 3,5H); 2,60 (s, 3H); 2,16-2,35 (m, 1H). **CL/EM** 531 (M+H+CH₃CN), 462 (M+H-N2).

25

EJEMPLO 2GH, Mezcla isomérica, 2G y 2H



30

6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo (mezcla isomérica): Se añadió HATU (266 mg, 0,700 mmol) a una solución de ácido 2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-carboxílico [I-67] (148 mg, 0,637 mmol) en DMF (1 ml). La mezcla se agitó a TA durante 5 minutos, después se añadió una solución de 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo [I-40A] (411 mg, 0,817 mmol) y Base de Hunig (0,70 ml, 4,0 mmol) en diclorometano (1 ml). El matraz se aclaró dos veces con diclorometano (0,3 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas, después se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃, agua y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y el disolvente se evaporó para proporcionar el compuesto del título en bruto, en forma de una mezcla de dos diastereómeros. Este material en bruto se purificó por TLC preparativa sobre sílice (2000 µm, eluido dos veces) usando 95:5 de CH₂Cl₂:MeOH (B) para proporcionar el compuesto del título 2GH en forma de una mezcla de diastereómeros: **CL/EM** 512 (M+Na), 490 (M+H). Los diastereómeros se separaron por SFC HPLC preparativa quiral (ChiralCel IC, 21 x 250 mm, MeOH:MeCN al 60 %/CO₂, 50 ml/min, 100 bar, 114 mg/ml en MeCN/MeOH, 35 °C, 220 nm) para proporcionar los diastereómeros aza-indano separados, Isómero 2G (elusión más rápida) e Isómero 2H (elusión más lenta). Cada isómero se disolvió por separado en 1 ml de diclorometano y se añadió 1 equivalente de HCl 1 M en éter.

35

40

45

El disolvente se evaporó para producir la sal de HCl de cada diastereómero. **Isómero 2G**, sal de HCl: **RMN** 600 MHz (CD₃OD) (mezcla de rotámeros de amida) 10,012 (s, 0,5H); 10,007 (s, 0,5H); 8,72 (s, 0,5H); 8,68 (s, 0,5H); 8,00 (t ap a, 1H); 7,31 (dt, 1H); 5,11 (t, 1H); 4,60-4,72 (m, 2H); 4,41 (d, 0,5H); 4,09-4,31 (m, 3H); 3,91 (t, 0,5H); 3,88 (dd, 1,5H); 3,31-3,62 (m, 4H); 3,20-3,28 (m, 2,5H); 2,72-2,86 (m, 1H); 2,61 (s, 3H); 2,30-2,37 (m, 0,5H); 2,21-2,27 (m, 0,5H);

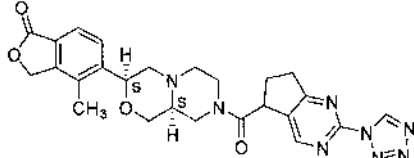
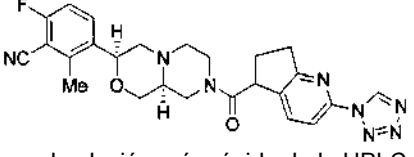
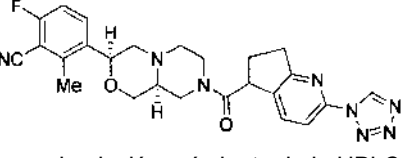
5 **CL/EM** 531 (M+H+CH₃CN). **Isómero 2H**, sal de HCl: **RMN** 600 MHz (CD₃OD) (mezcla de rotámeros de amida) 10,02 (s, 1H); 8,72 (s, 0,6H); 8,69 (s, 0,4H); 8,02 (t ap., 0,4H); 7,98 (t ap., 0,6H); 7,28-7,33 (m, 1H); 5,09 (d, 1H); 4,72-4,77 (m, 1H); 4,64 (d, 0,5H); 4,57 (d, 3H); 4,34 (d, 0,5H); 4,28 (d, 0,5H); 4,05-4,20 (m, 2,5H); 3,86 (t, 1H); 3,75 (c, 1H); 3,48-3,63 (m, 2H); 3,26 (t, 1H); 3,23 (t, 1H); 2,74-2,81 (m, 1H); 2,61 (s, 3H); 2,30-2,36 (m, 0,5H); 2,20-2,27 (m, 0,5H); **CL/EM** 531 (M+H+CH₃CN).

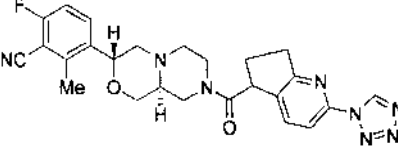
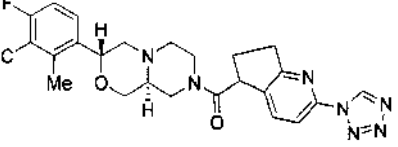
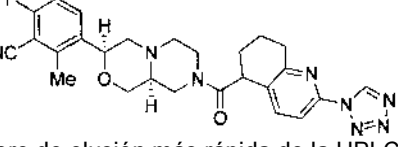
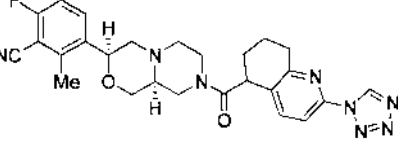
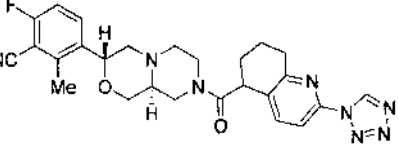
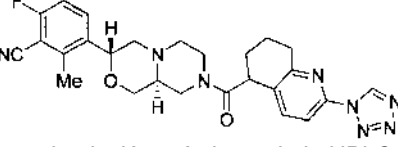
10 Los siguientes Ejemplos en la Tabla 3 se prepararon de una manera análoga a la descrita para la síntesis de los Ejemplos 1AB a 1L y 2AB a 2H, a partir de la amina e intermedios de ácido carboxílico adecuados (preparados como se ha descrito anteriormente) usando uno de los agentes de acoplamiento de amida EDC o HATU. El acoplamiento de amida proporciona dos productos diastereoméricos que son epimeros en el centro quiral alfa con respecto al carbonilo de amida (es decir, el centro quiral aza-indano). Los dos productos diastereoméricos se separan normalmente de una manera similar a la descrita en los Ejemplos anteriores. La columna de HPLC quiral usada para cada Ejemplo se indica en la Tabla 3, así como el orden de elusión observado. Para muchos de los Ejemplos en la Tabla 3, los dos diastereómeros no se separaron y se incluye la mezcla de dos diastereómeros resultantes.

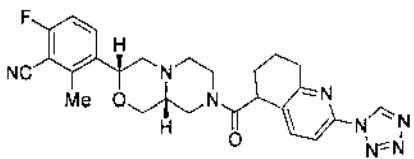
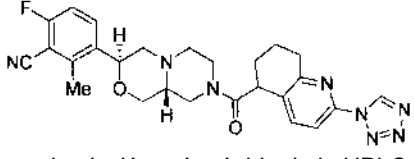
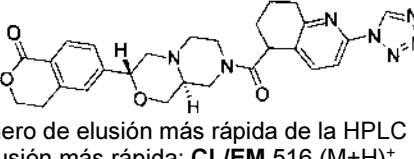
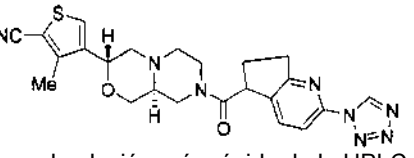
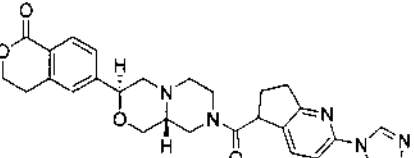
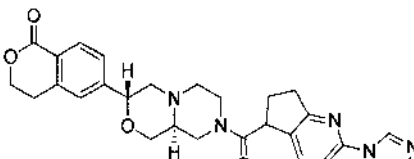
20 En las Tablas 3 y 4, elusión más rápida y elusión más lenta se refiere al orden de elusión observado de un diastereómero aza-indano individual tras separación de su mezcla de isómero aza-indano. La estereoquímica absoluta de los otros estereocentros en cada compuesto se conoce basándose en sus intermedios y síntesis correspondientes y son según se representan.

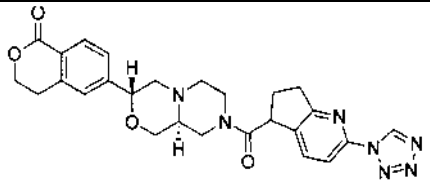
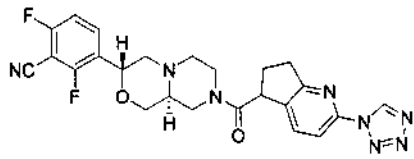
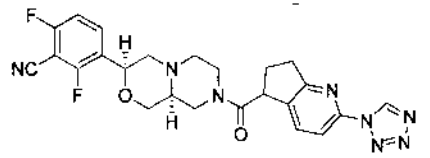
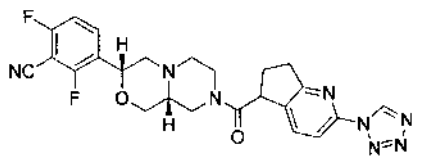
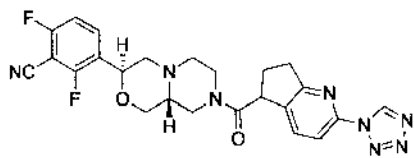
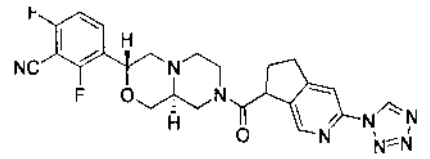
25

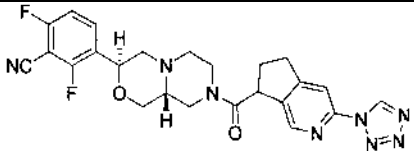
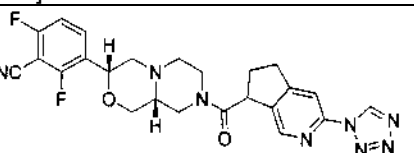
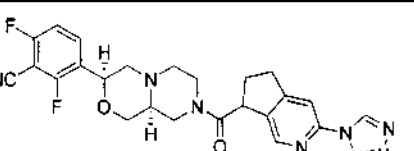
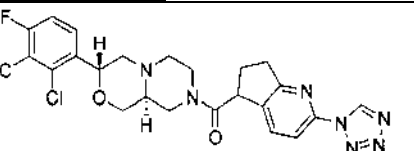
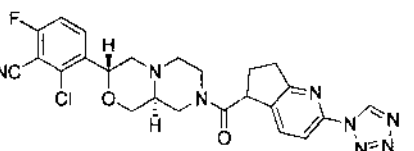
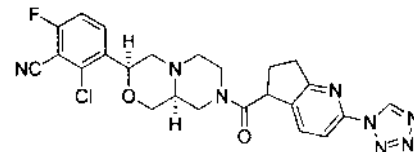
TABLA 3

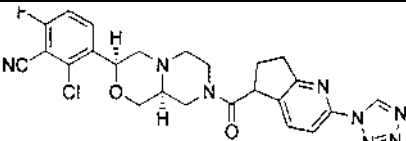
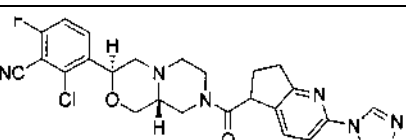
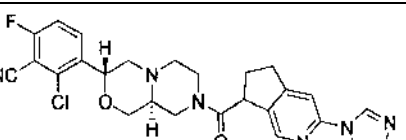
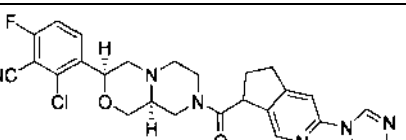
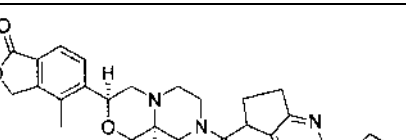
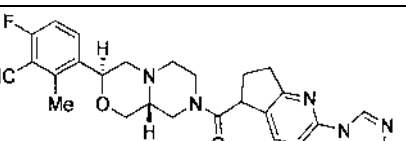
Número de EJEMPLO	
3	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral</p> <p>SFC: columna Chiralcel AS-H (elusión más rápida). CL/EM 544 (M+H+CH₃CN). RMN 500 MHz (CD₃OD+D₂O) (mezcla de rotámeros de amida) 10,01 (s, 1H); 8,73 (s a, 0,75H); 8,70 (s a, 0,25H); 7,87 (dd, 1H); 7,80 (dd, 1H); 5,42 (ab q, 2H); 5,25 (dt a, 1H); 4,74 (dd, 1H); 4,60 (dt a, 0,5H); 4,40 (d, 0,5H); 4,20-4,34 (m, 3H); 3,80-3,95 (m, 1,5H); 3,33-3,76 (m, 5,5H); 3,21-3,28 (m, 2H); 2,73-2,84 (m, 1H); 2,41 (s, 3H); 2,20-2,39 (m, 1H). 4-metil-5-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]pirimidin-5-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
4	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral</p> <p>SFC en columna Chiralpak AS, elusión más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
5	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral</p> <p>SFC en columna Chiralpak AS, elusión más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>

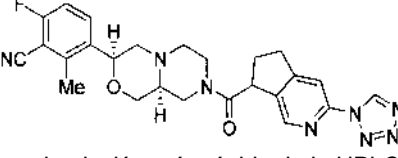
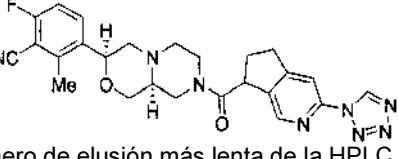
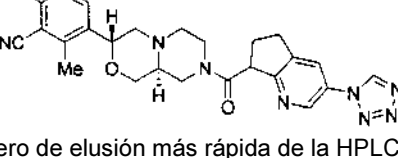
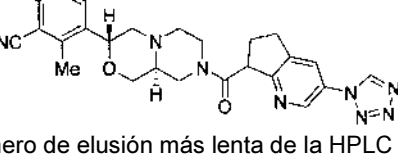
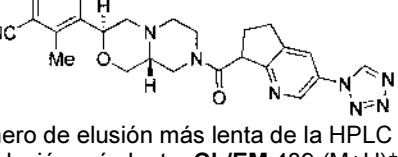
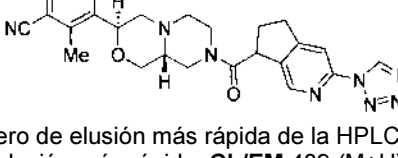
6	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna OJ-H, elución más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
7	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna OJ-H, elución más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
8	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 503 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
9	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más lenta; CL/EM 503 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
10	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 503 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
11	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más lenta; CL/EM 503 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>

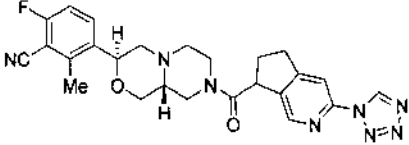
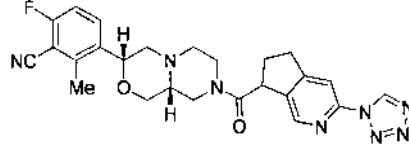
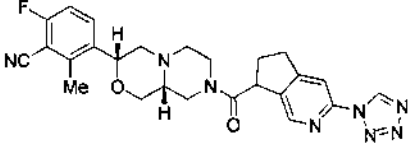
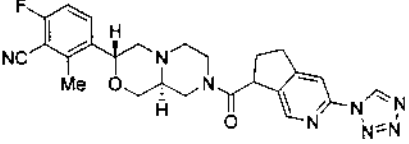
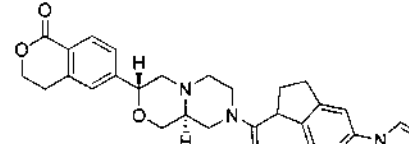
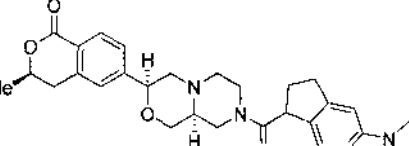
12	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 503 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
13	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 503 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
14	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 516 (M+H)⁺ 6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-5,6,7,8-tetrahidroquinolin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
15	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD, elución más rápida; CL/EM 477 (M+H)⁺ 3-metil-4-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]tiofeno-2-carbonitrilo</p>
16	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna IC, elución más rápida; CL/EM 502 (M+H)⁺ 6-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
17	 <p>Mezcla de dos diastereómeros en centro aza-indano (no separados); CL/EM 502 (M+H)⁺ 6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>

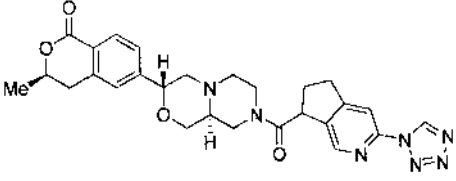
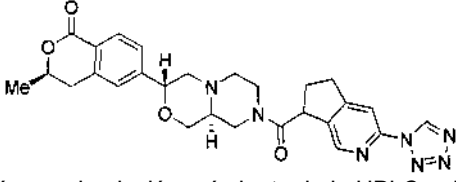
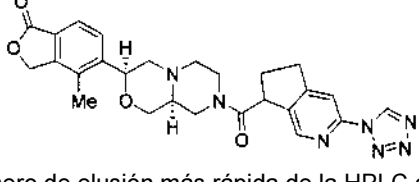
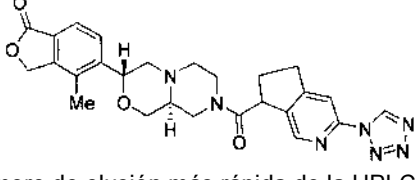
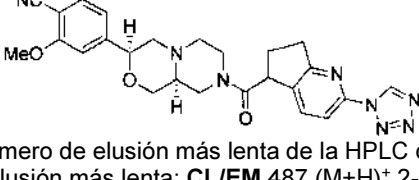
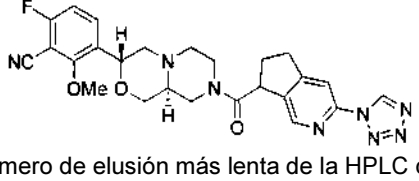
17A	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna IC, elusión más rápida; CL/EM 502 (M+H)⁺ 6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-yl]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
18	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elusión más rápida; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-yl]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]benzonitrilo</p>
19	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elusión más rápida. CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-yl]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]benzonitrilo</p>
20	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD, elusión más rápida; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-yl]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]benzonitrilo</p>
21	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD, elusión más rápida; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-yl]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]benzonitrilo</p>
22	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elusión más lenta; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-yl]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-yl]benzonitrilo</p>

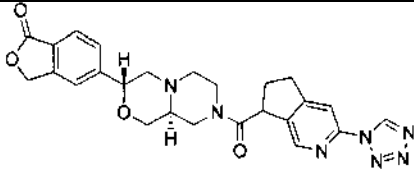
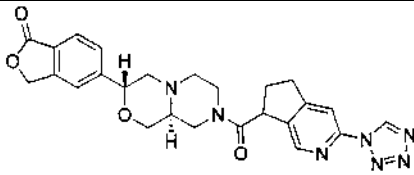
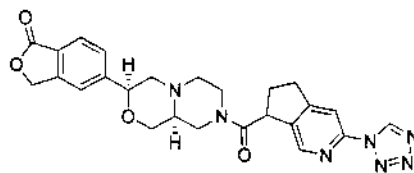
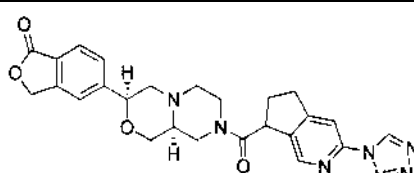
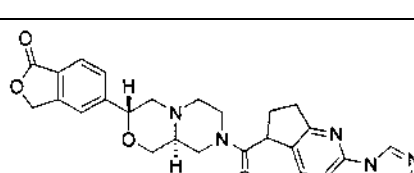
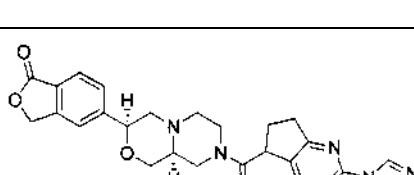
23	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD, elución más rápida; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]- octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
24	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD, elución más rápida; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H- tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3- il]benzonitrilo</p>
25	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna IC, elución más lenta; CL/EM 493 (M+H)⁺ 2,6-difluoro-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]- octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
26	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elución más rápida; CL/EM 509 (M+H)⁺. 2-cloro-6-fluoro-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]- octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
27	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elución más lenta; CL/EM 509 (M+H)⁺. 2-cloro-6-fluoro-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H- tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3- il]benzonitrilo</p>
28	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elución más rápida; CL/EM 509 (M+H)⁺ .2-cloro-6-fluoro-3-[(3S,9aS)- 8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il] benzonitrilo</p>

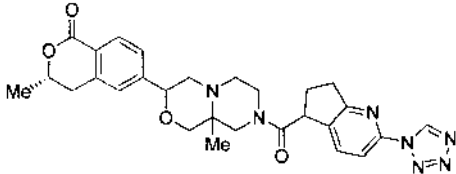
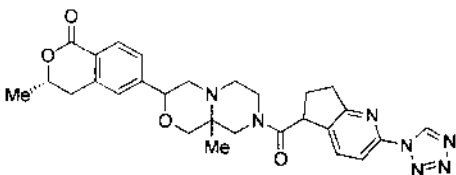
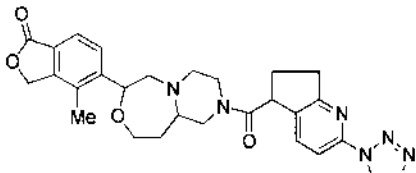
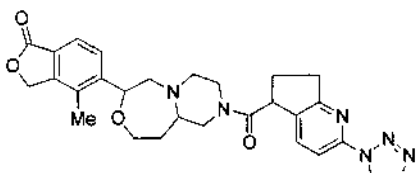
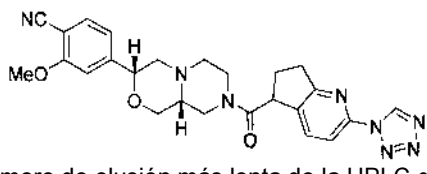
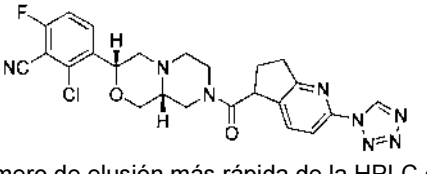
29	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elusión más lenta; CL/EM 509 (M+H)⁺. 2-cloro-6-fluoro-3-[(3S, 9aS)-8-[[2-(1H-tetrazo-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
30	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elusión más rápida; CL/EM 509 (M+H)⁺. 2-cloro-6-fluoro-3-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazo-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
31	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elusión más lenta; CL/EM 509 (M+H)⁺. 2-cloro-6-fluoro-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazo-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-incarbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
32	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elusión más lenta; CL/EM 509 (M+H)⁺. 2-cloro-6-fluoro-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazo-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>
33	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elusión más lenta; CL/EM 502 (M+H)⁺. 4-metil-5-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazo-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
34	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elusión más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺. 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazo-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</p>

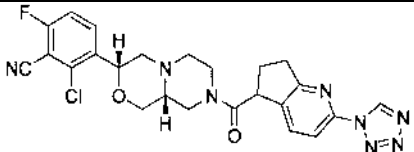
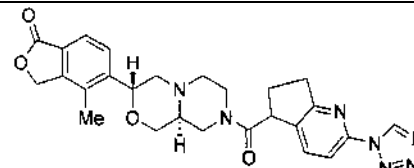
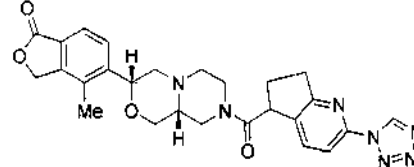
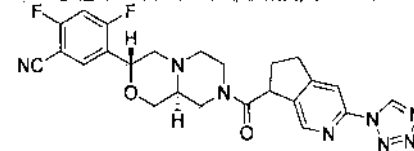
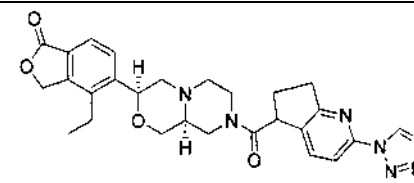
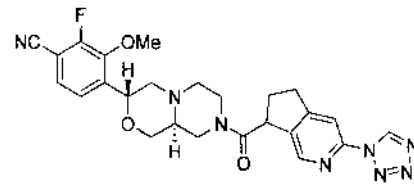
35	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elusión más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-incarbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
36	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elusión más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
37	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elusión más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
38	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elusión más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
39	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak OJ-H, elusión más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
40	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elusión más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺ 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>

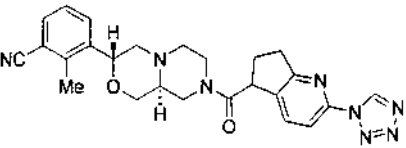
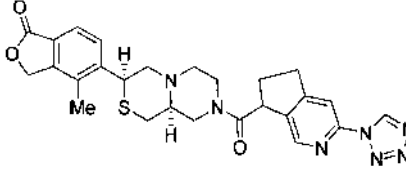
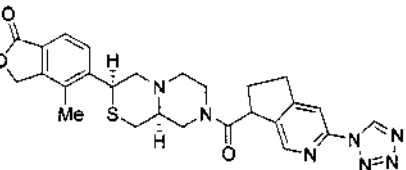
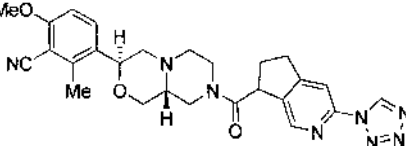
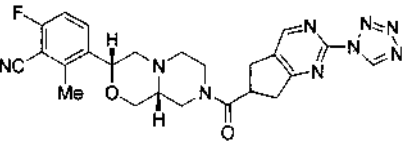
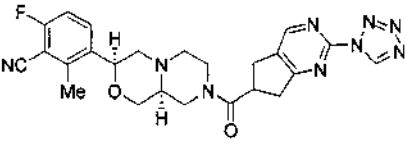
41	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocnitrilo</u></p>
42	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más rápida; CL/EM 489 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocnitrilo</u></p>
43	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclo-penta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocnitrilo</u></p>
44	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC-H, elución más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocnitrilo</u></p>
45	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC-H, elución más lenta; CL/EM 502 (M+H)⁺ <u>6-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
46	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC-H, elución más lenta; CL/EM 516 (M+H)⁺ <u>(3R)-3-metil-6-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>

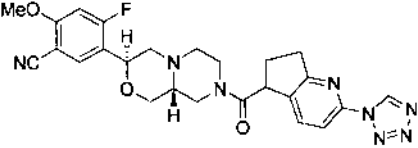
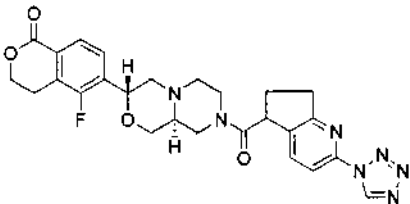
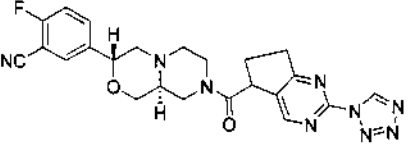
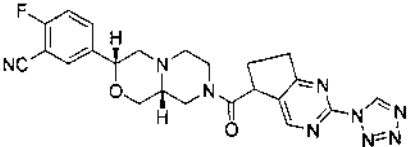
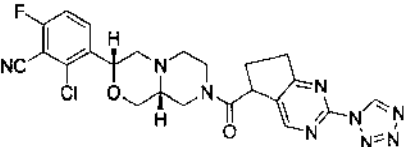
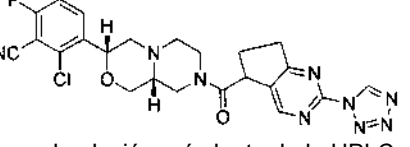
47	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC-H, elución más rápida; CL/EM 516 (M+H)⁺. <u>(3R)-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
48	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC-H, elución más lenta; CL/EM 516 (M+H)⁺. <u>(3R)-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
49	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más rápida; CL/EM 502 (M+H)⁺. <u>4-metil-5-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
50	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más rápida; CL/EM 502 (M+H)⁺. <u>4-metil-5-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-incarbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
51	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD, elución más lenta; CL/EM 487 (M+H)⁺. <u>2-metoxi-4-[(3S,9aS)-8-[[2-[(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-incarbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>
52	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más lenta; CL/EM 505 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metoxi-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]piridin-7-il]carbonyl]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>

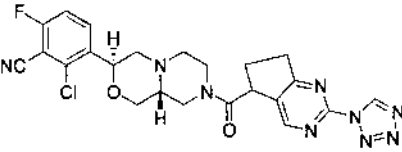
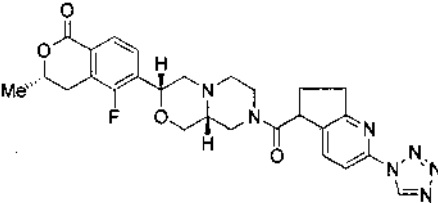
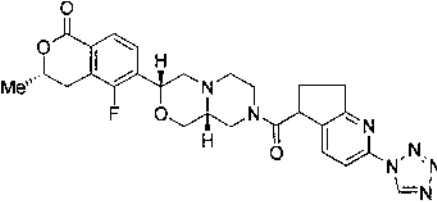
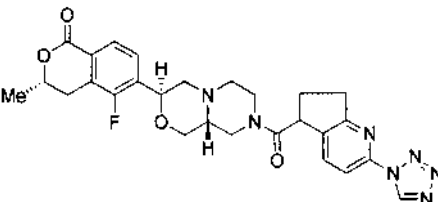
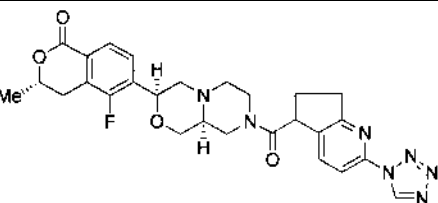
53	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺ 5-[(3R,9aS)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
54	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más lenta; CL/EM 488 (M+H)⁺ 5-[(3R,9aS)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
55	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺ 5-[(3S,9aS)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
56	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más lenta; CL/EM 488 (M+H)⁺ 5-[(3S,9aS)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
57	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺ 5-[(3R,9aS)-8-{2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il}carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
58	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más lenta; CL/EM 488 (M+H)⁺ 5-[(3S,9aS)-8-{2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il}carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>

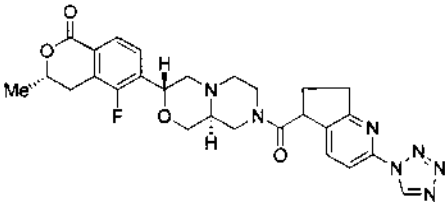
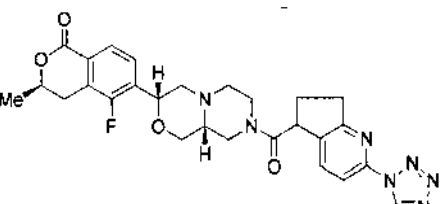
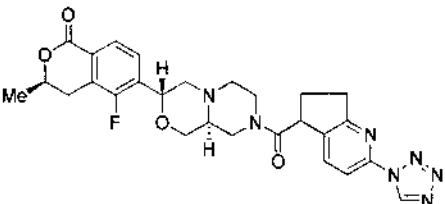
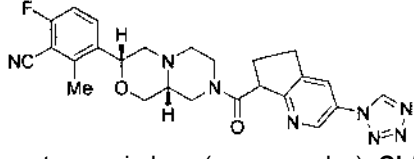
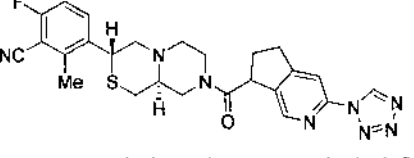
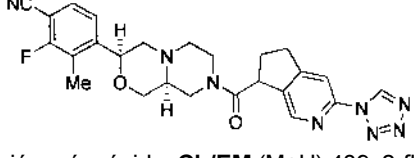
59	 <p>aislado de HPLC quiral en columna Chiralcel OD-H, pico 1; CL/EM 530 (M+H)⁺. (3S)-3-metil-6-(9a-metil-8-([2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
60	 <p>aislado de HPLC quiral en columna Chiralcel OD, pico 2; CL/EM 530 (M+H)⁺. (3S)-3-metil-6-(9a-metil-8-([2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il)-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
61	 <p>SFC en columna Chiralpak OJ-H, elusión más lenta; cis <i>R,R</i> o <i>S,S</i> en octahidro-2H-pirazino[1,2-d][1,4]oxazepina; desconocido en aza-indano, isómero individual; CL/EM 516 (M+H)⁺; 4-metil-5-(2-([2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl)octahidro-2H-pirazino[1,2-d][1,4]oxazepin-7-il)-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
62	 <p>SFC en columna Chiralpak OJ-H, elusión más lenta; trans <i>R,S</i> o <i>S,R</i> en octahidro-2H-pirazino[1,2-d][1,4]oxazepina; desconocido en aza-indano, isómero individual; CL/EM 516 (M+H)⁺; 4-metil-5-(2-([2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl)octahidro-2H-pirazino[1,2-d][1,4]oxazepin-7-il)-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>
63	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elusión más lenta; CL/EM 487 (M+H)⁺ 2-metoxi-4-((3R,9aR)-8-([2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>
64	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elusión más rápida; CL/EM 509 (M+H)⁺ 2-cloro-6-fluoro-3-((3R,9aR)-8-([2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonyl)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo</p>

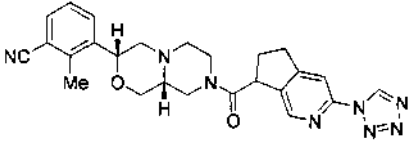
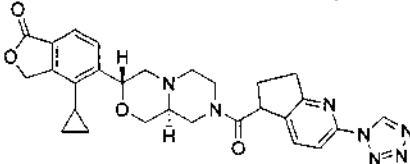
65	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más lenta; CL/EM 509 (M+H)⁺ <u>2-cloro-6-fluoro-3-[(3R,9aR)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
66	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más rápida; CL/EM 502 (M+H)⁺ <u>4-metil-5-[(3R,9aS)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
67	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 502 (M+H)⁺ <u>4-metil-5-[(3R,9aR)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
68	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna ChiralCel OD-H, elución más rápida; CL/EM 493 (M+H)⁺ <u>2,4-difluoro-5-[(3R,9aS)-8-{[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
69	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más lenta; CL/EM 516 (M+H)⁺ <u>4-etil-5-[(3S,9aS)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
70	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak IC, elución más lenta; CL/EM 505 (M+H)⁺ <u>2-fluoro-3-metoxi-4-[(3R,9aS)-8-{[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>

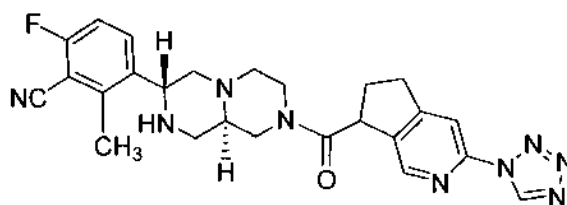
71	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel IC, elución más rápida; CL/EM 471 (M+H)⁺ <u>2-metil-3-[(3R,9aS)-8-{2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il}carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
72	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más rápida; CL/EM 518 (M+H)⁺ <u>4-metil-5-[(3S,9aS)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
73	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más lenta; CL/EM 518 (M+H)⁺ <u>4-metil-5-[(3S,9aS)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
74	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AD-H, elución más rápida; CL/EM 501 (M+H)⁺ <u>6-metoxi-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-{3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il}carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
75	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más lenta; CL/EM 490 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-{2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-il}carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
76	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna OJ, elución más lenta; CL/EM 490 (M+H)⁺ <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-{2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-il}carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>

77	 <p>SFC en columna IA, elusión más rápida; CL/EM 505 (M+H)⁺. <u>4-fluoro-2-metoxi-5-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>
78	 <p>SFC en columna Chiralcel OJ-H, elusión más lenta; CL/EM 520 (M+H)⁺. <u>5-fluoro-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
79	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel OJ-H, elusión más rápida; CL/EM 476 (M+H)⁺. <u>2-fluoro-5-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>
80	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel OJ-H, elusión más rápida; CL/EM 476 (M+H)⁺. <u>2-fluoro-5-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>
81	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel IA, elusión más rápida; CL/EM 510 (M+H)⁺. <u>2-cloro-6-fluoro-3-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>
82	 <p>isómero de elusión más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel IA, elusión más lenta; CL/EM 510 (M+H)⁺. <u>2-cloro-6-fluoro-3-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-yl)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzotrilo</u></p>

83	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel IA, elución más lenta; CL/EM 510 (M+H)⁺. <u>2-cloro-6-fluoro-3-[(3S,9aR)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzonitrilo</u></p>
84	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más rápida; CL/EM 534 (M+H)⁺. <u>(3S)-5-fluoro-3-metil-6-[(3R,9aR)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
85	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más lenta; CL/EM 534 (M+H)⁺. <u>(3S)-5-fluoro-3-metil-6-[(3R,9aR)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-incarbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
86	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más rápida; CL/EM 534 (M+H)⁺. <u>(3S)-5-fluoro-3-metil-6-[(3S,9aR)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-incarbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>
87	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elución más rápida; CL/EM 534 (M+H)⁺. <u>(3S)-5-fluoro-3-metil-6-[(3S,9aS)-8-{[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil}octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</u></p>

88	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel IC, elusión más rápida; CL/EM 534 (M+H)⁺. (3S)-5-fluoro-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
89	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elusión más rápida; CL/EM 534 (M+H)⁺. (3R)-5-fluoro-3-metil-6-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
90	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel IC, elusión más rápida; CL/EM 534 (M+H)⁺. (3R)-5-fluoro-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona</p>
91	 <p>Mezcla de dos diastereómeros en centro aza-indano (no separados); CL/EM (M+H) 489. 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo</p>
92	 <p>Mezcla de dos diastereómeros en centro aza-indano (no separados). 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]tiazin-3-il]benzocitrilo: CL/EM (M+H) 505</p>
93	 <p>SFC en columna Chiralcel OD, elusión más rápida; CL/EM (M+H) 489. 2-fluoro-3-metil-4-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocitrilo</p>

94	 <p>SFC en columna Chiralcel AS-H, elusión más rápida; CL/EM (M+H) 471. 2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]]benzonitrilo</p>
95	 <p>isómero de elusión más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel AS, elusión más rápida; CL/EM (M+H) 471. 4-ciclopropil-5-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</p>

EJEMPLO 96AB, Mezcla de isómeros, 96A y 96B

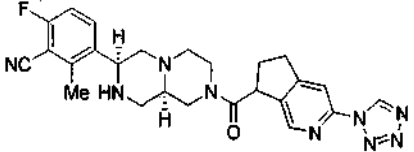
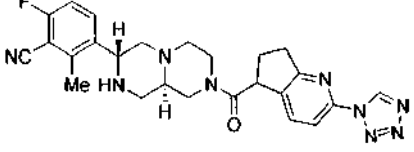
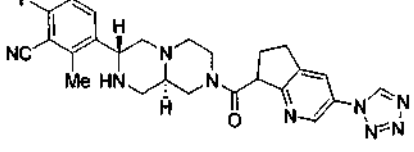
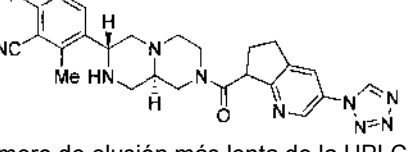
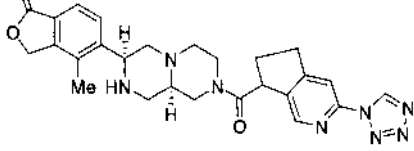
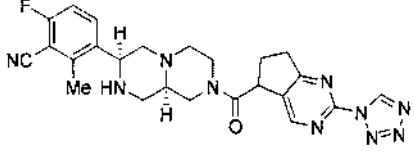
- 5 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]]benzonitrilo:

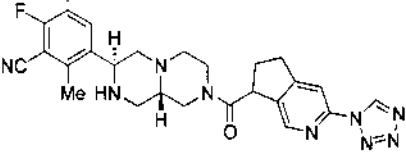
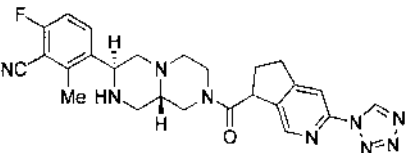
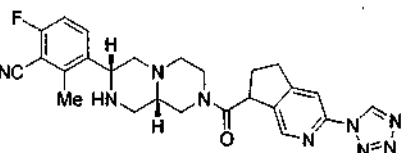
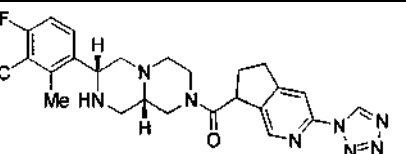
Etapa A: 8-(3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]-piridin-7-carbonil)-3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)-hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3R,9aS)-*terc*-butilo: A una solución de 3-(3-ciano-4-fluoro-2-metilfenil)hexahidro-1H-pirazino[1,2-a]pirazin-2(6H)-carboxilato de (3R,9aS)-*terc*-butilo [I-18A] (250 mg, 0,668 mmol) y ácido 3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-carboxílico [I-65] (201 mg, 0,868 mmol) en DMF (4 ml) se le añadió HATU (381 mg, 1,00 mmol), seguido de la adición de diisopropiletilamina (350 µl, 2,00 mmol). La solución resultante se agitó a ta durante 1 h. Se añadió acetato de etilo (100 ml) y la mezcla se lavó con bicarbonato sódico saturado (3 x 100 ml), se secó sobre sulfato sódico, se concentró y el residuo se purificó por TLC preparativa, eluyendo con metanol al 10 %/cloruro de metileno para dar del compuesto del título. **CL/EM:** (M+1)⁺: 588,2.

Etapa B: 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]]benzonitrilo A una solución del compuesto de la Etapa A (393 mg, 0,668 mmol) y tioanisol (316 µl, 2,67 mmol) en cloruro de metileno (3 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (3 ml) a 0 °C y la solución resultante se agitó a ta durante 1 h. Después de retirar los materiales volátiles, el residuo se repartió entre cloruro de metileno e hidróxido sódico 1 N, la fase alcalina se extrajo con cloruro de metileno, las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se concentraron y el residuo se purificó por TLC preparativa eluyendo con metanol al 10 %/cloruro de metileno para dar el compuesto del título en forma de una mezcla de dos diastereómeros. Los dos isómeros se separaron en una columna Chiralpak AS-H usando metanol (dietilamina al 0,2 %) al 50 %/CO₂. El isómero de elusión más rápida (96A) fue el inhibidor de ROMK más potente. Isómero de elusión más rápida **96A:** **CL/EM:** (M+1)⁺: 488,17. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 9,522 (s, 1H), 8,354-8,529 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 7,995 (s, 1H), 7,912-7,868 (m,1H), 7,091-7,054 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,650-4,560 (m, 1H), 4,449-4,418 (m, 1H), 4,249-4,217 (m, 1H), 4,096-3,947 (m, 1H), 3,509(ancho, 1H), 3,294-3,261 ((m, 1H), 3,172-3,126 (m, 2H), 2,976-2,929 (m, 1H), 2,857-2,789 (m,2H), 2,646 (s, 3H), 2,609-2,539 (m, 2H), 2,467-2,414 (m, 2H), 2,300-2,250 (m, 2H), 2,160-2,120 (m, 1H). El isómero de elusión más lenta (**96B**) tuvo un Cl₅₀ mayor que 1 µM en ensayos de flujo de Talio y electrofisiología.

Los siguientes Ejemplos en la Tabla 4 se prepararon de una manera análoga a la descrita para la síntesis del Ejemplo 96 a partir de los intermedios adecuados de amina y ácido carboxílico (preparados como se ha descrito anteriormente). Los datos proporcionados incluyen las condiciones de HPLC quiral (si fuera aplicable); y caracterización de EM y/o RMN H.

TABLA 4

Número de EJEMPLO	
97	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</u></p>
98	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</u></p>
99	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</u></p>
100	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS, isómero de elución más lenta; CL/EM 488 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-7-incarbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</u></p>
101	 <p>Mezcla de dos diastereómeros en centro aza-indano; CL/EM (M+H) 501. <u>4-metil-5-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]-2-benzofuran-1(3H)-ona</u></p>
102	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralcel OD-H, elución más lenta; CL/EM 489 (M+H)⁺. <u>6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</u></p>

103	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺. 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</p>
104	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más lenta; CL/EM 488 (M+H)⁺. 6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</p>
105	 <p>isómero de elución más rápida de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más rápida; CL/EM 488 (M+H)⁺. 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</p>
106	 <p>isómero de elución más lenta de la HPLC quiral SFC en columna Chiralpak AS-H, elución más lenta; CL/EM 488 (M+H)⁺. 6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzotrilo</p>

Los siguientes ensayo de flujo de talio y/o ensayo electrofisiología se realizaron en cada uno de los compuestos de producto final en los Ejemplos.

5 **Ensayo de flujo de talio**

Condiciones de cultivo celular- Se cultivaron células HEK293 que expresaban de forma estable hROMK (hK_{ir}1.1) a 37 °C en una incubadora humidificada de CO₂ al 10 % en medio de crecimiento completo: medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con aminoácidos no esenciales, penicilina/estreptomina/glutamina, G418 y FBS. A >80 % de confluencia, se aspira el medio del matraz y se aclara con 10 ml de PBS sin calcio/magnesio. Se añaden 5 ml de tripsina 1x (preparada en PBS sin Ca/Mg) al matraz T-225 y se devuelve el matraz a la incubadora a 37 °C/CO₂ durante 2-3 minutos. Para desalojar la célula, se golpea suavemente el lateral del matraz con la mano. Se trituran las células completamente y después se transfieren las células a 25 ml de medio completo. Se centrifugan a 1.500 rpm durante 6 minutos seguido por resuspensión en medio de crecimiento completo y se determina la concentración celular. Para una resiembra típica, células 4E6/matraz T-225 conseguirá >80 % de confluencia en 4 días. En condiciones ideales de crecimiento y prácticas de cultivo tisular apropiadas, esta línea celular es estable durante 40-45 pases.

Componentes del kit FluxOR (Invitrogen F10017)

- 20
- Reactivo FluxOR™ (Componente A)
 - Tampón de ensayo FluxOR™ (Componente B) - concentrado 10x
 - Concentrado PowerLoad™ (Componente C) - concentrado 100x
 - Probenecid (Componente D) - la muestra liofilizada se mantiene a -20 °C. Soluble en agua, 100x después de solubilización en 1 ml de agua. Almacenar a 4 °C.
- 25
- Tampón sin cloruro FluxOR™ (Componente E) - concentrado 5x

- Sulfato de potasio (K_2SO_4) concentrado (Componente F) - 125 mM en agua. Almacenar a 4 °C
- Sulfonato de talio (Tl_2SO_4) concentrado (Componente G) - 50 mM en agua. Almacenar a 4 °C
- DMSO (dimetilsulfóxido, Componente H) - 1 ml (100 %)

5 Preparación de reactivo: Soluciones de trabajo FluxOR

- Reactivo FluxOR™ 1000x: reconstituir un vial de Componente A en 100 µl de DMSO; mezclar bien; almacenar alícuotas de 10 µl a -20 °C
- Tampón de ensayo FluxOR™ 1x: diluir Componente B 10 veces con agua; ajustar pH a 7,4 con HEPES/NaOH; filtrar y almacenar a 4 °C
- Probenecid/tampón de ensayo: 100 ml de tampón de ensayo FluxOR™ 1x; 1 ml de Componente D reconstituido; almacenar a 4 °C
- Tampón de carga (por microplaca): 100 µl de reactivo FluxOR™ 1000x; 100 µl de Componente C; 10 ml de Probenecid/tampón de ensayo
- Tampón de compuesto (por microplaca): 20 ml de Probenecid/tampón de ensayo; ouabaina 0,3 mM (ouabaina 10 mM en agua puede almacenarse en frasco ámbar/papel de aluminio a temperatura ambiente); compuesto de ensayo
- Tampón sin cloruro FluxOR™ 1x: preparar solución de trabajo 1x en agua. Puede almacenarse a temperatura ambiente
- Tampón estimulante (preparado a concentración final 5x en tampón sin cloruro FluxOR™ 1x): sulfato de talio 7,5 mM y sulfato de potasio 0,75 mM (para dar una concentración de ensayo final de talio 3 mM/potasio 0,3 mM). Almacenar a 4 °C cuando no está en uso. Si se mantiene estéril, esta solución es buena durante meses.

25 Protocolo de ensayo- Se realizó el ensayo de flujo de talio funcional del canal ROMK en 384 pocillos, usando el instrumento FLIPR-Tetra. Se sembraron células HEK-hKir1.1 en microplacas de Poli-D-lisina y se mantuvieron en una incubadora de 37 °C-CO₂ al 10 % durante una noche. En el día del experimento, se reemplazó el medio de cultivo con el tampón de carga del reactivo FluxOR™ y se incubaron protegidas de la luz, a temperatura ambiente (23-25 °C) durante 90 minutos. El tampón de carga se reemplazó con tampón de ensayo ± compuesto de ensayo seguido por 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, donde se añadió el estimulante talio/potasio a la microplaca.

30 Protocolo por etapas

1. Sembrar células HEK-hKir1.1 (50 µl a 20.000 células/pocillo) en microplacas recubiertas con PDL de 384 pocillos.
2. Permitir que las células se adhieran durante una noche en incubadora humidificada a 37 °C/CO₂ al 10 %
3. Retirar completamente el medio de cultivo celular de la microplaca y reemplazar con 25 µl de tampón de carga
4. Incubar la microplaca a temperatura ambiente, protegida de la luz, durante 90 minutos
5. Retirar el tampón de carga y reemplazar con 25 µl de tampón de ensayo 1x ± compuesto de ensayo
6. Incubar la microplaca a temperatura ambiente, protegida de luz, durante 30 minutos
7. En FLIPR-Tetra 384: añadir solución de estimulante (talio/potasio) a la microplaca y controlar la fluorescencia. Excitación = 400 nm, Emisión = 460 y 580 nm. Recoger los datos durante ~ 10 min.

45 Cálculo de datos- La intensidad de fluorescencia de los pocillos que contenían 3 µM de un inhibidor de ROMK de control convencional de la presente invención se usa para definir el componente sensible a ROMK del flujo de talio. La fluorescencia en presencia de compuesto de ensayo se normaliza a los valores de control para proporcionar el porcentaje de cambio de fluorescencia. Los valores de CI_{50} representan la concentración de compuesto que inhibe el 50 % de la señal de flujo de talio de ROMK.

50 Patrón de ensayo- Normalmente, se incluye un compuesto de control para dar soporte de que el ensayo está dando resultados coherentes en comparación con las mediciones previas, aunque el control no es necesario para obtener los resultados para los compuestos de ensayo. El control puede ser cualquier compuesto de Fórmula la de la presente invención, preferiblemente con una potencia de CI_{50} de menos de 1 µM en este ensayo. Como alternativa, el control podría ser otro compuesto (fuera del alcance de la Fórmula la) que tiene una potencia de CI_{50} en este ensayo de menos de 1 µM.

55 **Ensayo de electrofisiología**

60 Se examinó el bloqueo de corrientes Kir1.1 (ROMK1) por pinzamiento de voltaje de células completas (Hamill et. al. Pflugers Archives 391:85-100 (1981)) usando la plataforma de electrofisiología automatizada Ion Works Quattro (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Se mantuvieron células de ovario de hámster chino que expresaban de forma estable canales Kir1.1 en matraces T-75 en medio de cultivo celular en una incubadora humidificada de CO₂ al 10 % a 37 °C. Antes del experimento, se indujo la expresión de Kir1.1 por incubación durante una noche con butirato sódico 1 mM. En el día del experimento, las células se disociaron con 2,5 ml de Versene (Invitrogen 15040-066) durante aproximadamente 6 minutos a 37 °C y se suspendieron en 10 ml de solución de baño que contenía (en mM): 150 de NaCl, 10 de KCl, 2,7 de CaCl₂, 0,5 de MgCl₂, 5 de HEPES, pH 7,4. Después de la centrifugación, se resuspendió el sedimento celular en aproximadamente 4,0 ml de solución de baño y se colocó en el instrumento IonWorks. La

solución intracelular consistía en (en mM): 80 de gluconato de K, 40 de KCl, 20 de KF, 3,2 de MgCl₂, 3 de EGTA, 5 de Hepes, pH 7,4. El acceso eléctrico al citoplasma se consiguió por perforación en 0,13 mg/ml anfotericina B durante 4 minutos. La anfotericina B (Sigma A-4888) se preparó como una solución de 40 mg/ml en DMSO.

- 5 Se realizaron protocolos de voltaje y registros de corriente usando el sistema de software/hardware IonWorks HT. Las corrientes se muestrearon a 1 kHz. No se usó corrección para los potenciales de unión de líquidos. El pulso de ensayo, que consistía en una etapa de 100 ms hasta 0 mV desde un potencial de mantenimiento de -70 mV, seguido por una rampa de voltaje de 100 ms desde -70 mV a +70 mV, se aplicó antes y después de un periodo de incubación con compuesto de 6 minutos. Los compuestos de ensayo se prepararon diluyendo soluciones madre de DMSO en la solución de baño a 3x la concentración final y se colocaron en el instrumento en placas de polipropileno de 96 pocillos.
- 10 Se midieron las amplitudes de la corriente usando el software IonWorks. Para evaluar la potencia del compuesto, se calculó el bloqueo fraccionado durante la etapa de voltaje hasta 0 mV en Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, CA), y se ajustaron las curvas de respuesta a dosis con Igor Pro 4.0 (WaveMetrics, Lake Oswego, CR). Normalmente, se incluye un compuesto de control para dar soporte de que el ensayo está dando resultados coherentes en comparación con las mediciones previas, aunque el control no es necesario para obtener los resultados para los compuestos de ensayo. El control puede ser cualquier compuesto de Fórmula la de la presente invención, preferiblemente con una potencia de Cl₅₀ de menos de 1 μM en este ensayo. Como alternativa, el control podría ser otro compuesto (fuera del alcance de la Fórmula la) que tiene una potencia de Cl₅₀ en este ensayo de menos de 1 μM.
- 15
- 20 Los datos recogidos para los compuestos en los Ejemplos de la presente invención usando el ensayo de flujo de talio y el ensayo de electrofisiología se muestran en la Tabla 5 a continuación. Todos los compuestos de producto final en los Ejemplos (mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales) tenían potencias de Cl₅₀ de 1 μM o menos en uno o ambos del ensayo de flujo de talio y el ensayo de electrofisiología salvo que se indique de otro modo en la sección de Ejemplos.

25

TABLA 5

N.º de ejemplo	Flujo de talio Cl ₅₀ (μM)	Electrofisiología Cl ₅₀ (μM)
1A	0,34	0,19
1C	0,31	0,18
1E	0,57	0,2
1F	0,76	0,28
1G	0,35	0,18
1I	0,38	0,12
1J	0,45	0,10
1K	0,35	0,18
2A	0,22	0,10
2B	0,35	0,10
2C	0,12	0,15
2D	0,13	0,10
2E	0,13	
2G	0,27	0,13
2F	0,39	
2H	0,14	0,10
3	0,25	0,53
4	0,46	0,18
5	0,17	0,10
6	0,24	0,10
7	0,14	0,08
8	0,35	0,24
9	0,61	0,19
10	0,41	0,18
11	0,36	0,24
12	0,45	0,16
13	0,32	0,26
14	0,47	0,21
15	0,54	0,06
16	0,39	0,39
17	0,09	0,13
17A	0,19	0,10
18	0,40	0,11
19	0,42	0,09
20	0,23	0,08
21	0,24	0,08
22	0,16	0,04

ES 2 605 164 T3

23	0,54	0,15
24	0,11	0,2
25	0,10	0,06
26	0,22	0,11
27	0,23	0,12
28	0,22	0,12
29	0,45	0,14
30	0,29	0,19
31	0,11	0,08
32	0,13	0,07
33	0,39	0,17
34	0,12	0,16
35	0,18	0,11
36	0,66	0,14
37	0,81	0,24
38	0,9	0,28
39	0,60	0,39
40	0,27	0,12
41	0,72	0,11
42	0,35	0,13
43	0,85	0,13
44	0,17	0,17
45	0,60	0,22
46	0,54	0,54
47	0,63	0,31
48	0,63	0,42
49	0,32	0,08
50	0,56	0,15
51	0,58	0,19
52	0,42	0,22
53	0,81	0,11
54	0,44	0,11
55	0,14	0,06
56	0,22	0,11
57	0,11	0,09
58	0,42	0,15
59	0,27	0,23
60	0,60	0,33
61	0,14	0,19
62	0,45	0,13
63	0,74	0,27
64	0,12	0,1
65	0,34	0,14
66	0,32	0,14
67	0,38	0,15
68	0,20	0,2
69	0,79	0,63
70	0,50	0,10
71	0,44	0,12
72	0,32	0,17
73	0,66	0,2
74	0,50	0,28
75	0,25	0,15
76	0,46	0,13
77	0,40	0,29
78	0,50	0,16
79	0,21	0,19
80	0,26	0,12
81	0,17	0,06
82	0,14	0,05
83	0,36	0,08
84	0,57	0,1
85	0,60	0,21

86	0,32	0,2
87	0,59	0,2
88	0,33	0,1
89	0,60	0,12
90	0,28	0,31
91	0,55	0,14
92	0,44	0,31
93	0,43	0,18
94	0,29	
95	0,18	
96A	0,20	0,10
97	0,16	0,09
98	0,39	0,17
99	0,43	0,35
100	0,75	0,28
101	0,55	0,23
102	0,45	0,10
103	0,18	0,11
104	0,36	0,12
105	0,14	0,08
106	0,4	0,12

Ensayo en rata de hipertensión espontánea (SHR)

5 La rata de hipertensión espontánea (SHR) muestra hipertensión dependiente de la edad que no requiere administración de agentes exógenos para elevar la presión sanguínea ni requiere el uso de una dieta alta en sal para elevar la presión sanguínea. Por tanto, se parece a la hipertensión esencial humana y proporciona una oportunidad de evaluar la dependencia en la dosis de novedosos agentes para su capacidad de reducir la presión sanguínea.

10 Protocolos experimentales para evaluar la eficacia de reducción de la presión sanguínea de compuestos de la presente invención en ratas de hipertensión espontánea (SHR):

15 A ratas de hipertensión espontánea (SHR, macho, 6 meses, Charles River) se les implantó el dispositivo de telemetría DSI TA11PA-C40 (Data Sciences, Inc., St. Paul, MN) bajo anestesia con isoflurano o quetamina/metomidina. El catéter de la unidad de telemetría se insertó en la aorta descendente mediante la arteria femoral y el dispositivo de telemetría se implantó por vía subcutánea en el área del costado izquierdo. Se permitió que los animales se recuperaran de la cirugía durante 14 días antes del inicio de cualquier estudio. Se registró la presión sanguínea, ritmo cardiaco y señales de actividad de ratas conscientes, de movimiento libre de forma continua durante 30 segundos cada 10 minutos. Se incluyó HCTZ (25 mg/kg/día, PO) como diurético de referencia a una dosis que da aproximadamente una eficacia máxima en SHR. La eficacia de reducción de la presión sanguínea de los compuestos de la presente invención en comparación con el control de vehículo se evaluó después de una única sonda oral cada día para una duración típica de tres a catorce días. Los datos se recogieron como medias horarias, y se calcularon los cambios en la presión sanguínea restando los datos iniciales del control de vehículo cada hora. Los números de Ejemplo 1A, 1G, 2A, 2H, 17A, 21, 34, 35, 40, 96A, 97 se evaluaron a PO, 20 dosis QD de 3 mg/kg a 10 mg/kg y produjeron reducciones típicas en la presión sanguínea sistólica media diaria (24 h) que varía de 931 Pa a 2.793 Pa (7 mmHg a 21 mmHg) en el último día de los estudios.

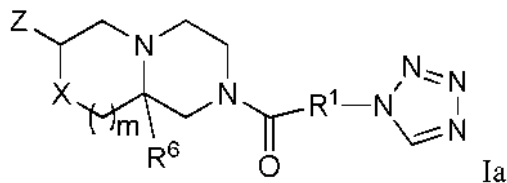
25 El ensayo en rata de hipertensión espontánea descrito es bien conocido y se usa a menudo en la técnica como modelo experimental que simula la hipertensión humana (véase, por ejemplo, Lerman, L.O., et al., JLab Clin Med, 2005; 30 146:160-173).

Aunque la invención se ha descrito con referencia a ciertas realizaciones particulares de la misma, serán evidentes numerosas realizaciones alternativas para los expertos en la materia a partir de los contenidos descritos en este documento. El alcance de las reivindicaciones no debe limitarse por las realizaciones preferidas expuestas en los Ejemplos, sino que debe darse la interpretación más amplia coherente con la descripción como conjunto. La enumeración o representación de un compuesto específico en las reivindicaciones (es decir, una especie) sin una denominación de estereoconfiguración específica, o con dicha denominación para menos de todos los centros quirales, pretende abarcar el racemato, mezclas racémicas, cada enantiómero individual, una mezcla diastereoisomérica y cada diasterómero individual del compuesto donde dichas formas son posibles debido a la presencia de uno o más centros asimétricos.

40

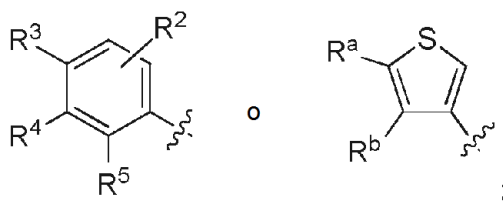
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la Fórmula estructural Ia:

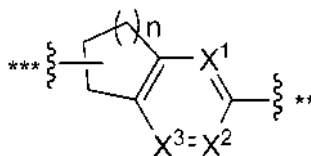


5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

Z es



R¹ es



10

en la que *** indica una unión al carbono del carbonilo y ** indica la unión al anillo tetrazolilo en la Fórmula Ia;

X es O, NH o S;

m es un número entero seleccionado entre 1 o 2;

15

n es un número entero seleccionado entre 1 o 2;

cada uno de X¹, X² y X³ se selecciona independientemente entre C(R⁷) o N, con la condición de que al menos uno de X¹, X² y X³ deba ser N y como mucho dos de X¹, X² y X³ sean N;

R^a es -CN;

R^b es -H o -alquilo C₁₋₆;

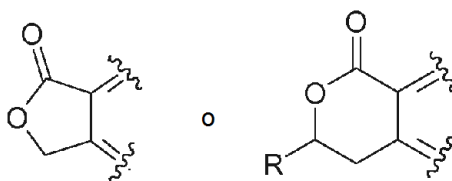
20

R² es -H, -F, -Cl, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₆;

R³ es -H, -F, -Cl, -CN, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₆;

R⁴ es -F, -Cl, -CN, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆, -Oalquilo C₁₋₄ o N-tetrazolilo;

o R³ y R⁴ se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



25

en las que R es -H o -alquilo C₁₋₄;

R⁵ es -H, -Cl, -F, -CN, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₄;

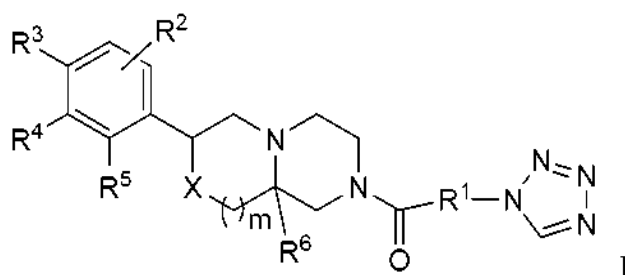
con la condición de que cuando R³ y R⁴ no están unidos entre sí, entonces uno, y solo uno de R³, R⁴ o R⁵ es -CN;

R⁶ es -H o -alquilo C₁₋₄; y

30

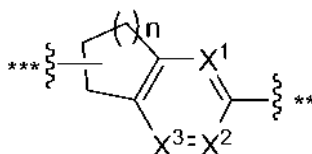
R⁷ es -H, -F, -Cl o -alquilo C₁₋₄.

2. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula estructural I:

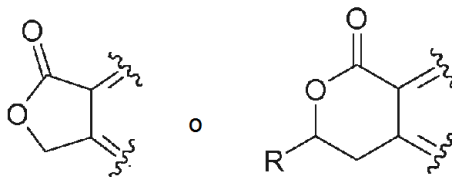


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 5 X es O, NH o S;
R¹ es

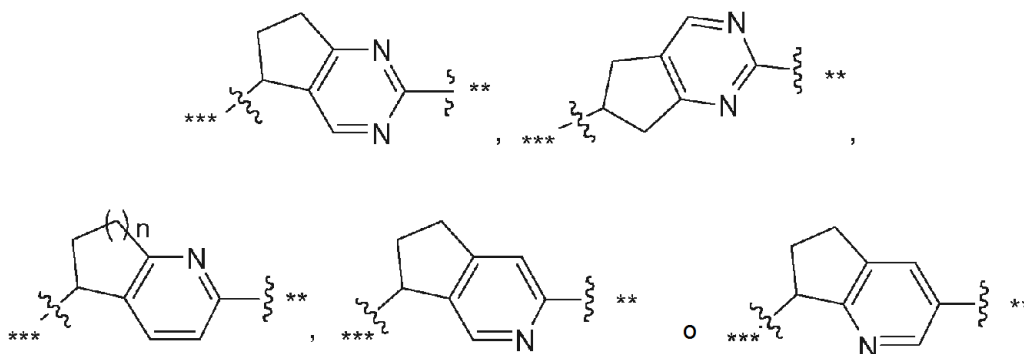


- 10 en la que *** indica la unión al carbono del carbonilo y ** indica la unión al anillo tetrazolilo en la Fórmula I;
m es un número entero seleccionado entre 1 o 2;
n es un número entero seleccionado entre 1 o 2;
cada uno de X¹, X² y X³ se selecciona independientemente entre C(R⁷) o N, con la condición de que al menos uno de X¹, X² y X³ deba ser N y como mucho dos de X¹, X² y X³ sean N;
R² es -H, -F, -Cl, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₆;
R³ es -H, -F, -Cl, -CN, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₆;
15 R⁴ es -F, -Cl, -CN, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆, -Oalquilo C₁₋₄ o N-tetrazolilo;
o R³ y R⁴ se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



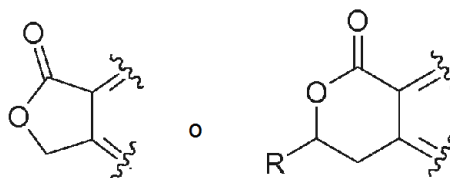
- 20 en las que R es -H o -alquilo C₁₋₄;
R⁵ es -H, -Cl, -F, -CN, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₆ u -Oalquilo C₁₋₄;
con la condición de que cuando R³ y R⁴ no están unidos entre sí, entonces uno, y solo uno de R³, R⁴ o R⁵ es -CN;
R⁶ es -H o -alquilo C₁₋₄; y
R⁷ es -H, -F, -Cl o -alquilo C₁₋₄.

- 25 3. El compuesto de las reivindicaciones 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que X es O.
4. El compuesto de cualquier reivindicación anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que m es 1 y R⁶ es -H.
30 5. El compuesto de cualquier reivindicación anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ es:



6. El compuesto de cualquier reivindicación anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R^2 es -H o -F; R^3 es -H, -F, -CN u -OCH₃; R^4 es -F, -CN u -OCH₃; y R^5 es -H, -Cl, -F, -CN, -CH₃, -CH₂CH₃, ciclopropilo u -OCH₃; con la condición de que uno, y solo uno de R^3 , R^4 o R^5 sea -CN.

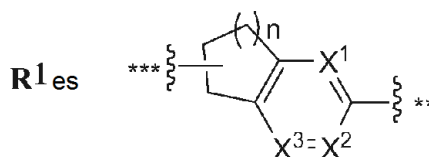
7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R^3 y R^4 se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



y R es -H o -CH₃.

8. El compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

X es O, NH o S;



en la que *** indica la unión al carbono del carbonilo y ** indica la unión al anillo tetrazolilo en la Fórmula Ia; m es un número entero seleccionado entre 1 o 2; n es un número entero seleccionado entre 1 o 2; cada uno de X¹, X² y X³ se selecciona independientemente entre CH o N, con la condición de que al menos uno de X¹, X² y X³ deba ser N y como mucho dos de X¹, X² y X³ sean N;

R^a es -CN;

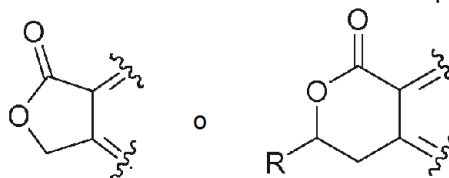
R^b es -H o -alquilo C₁₋₃;

R² es -H o -F;

R³ es -H, -F, -CN u -OCH₃;

R⁴ es -F, -CN u -OCH₃;

o R³ y R⁴ se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



en las que R es -H o -CH₃;

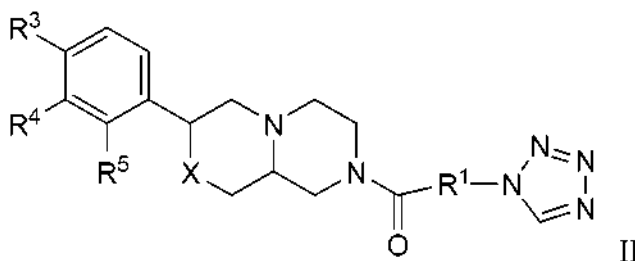
R⁵ es -H, -Cl, -F, -CN, -CH₃, -CH₂CH₃, ciclopropilo u -OCH₃;

con la condición de que cuando R³ y R⁴ no están unidos entre sí, entonces uno, y solo uno de R³, R⁴ o R⁵ es -CN; y con la condición adicional de que cuando R³ y R⁴ se unen entre sí, entonces R⁵ es -H, -Cl, -F, -CH₃ o -CH₂CH₃;

R⁶ es -H o -alquilo C₁₋₄; y

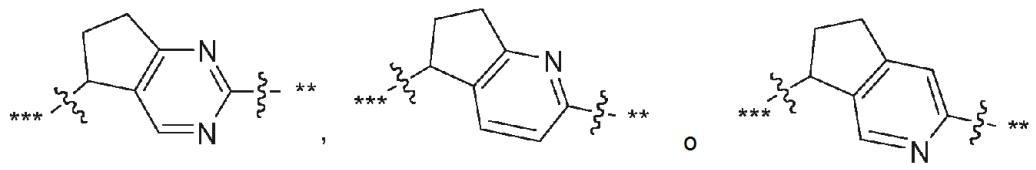
R⁷ es -H, -F, -Cl o -alquilo C₁₋₄.

9. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula estructural II:



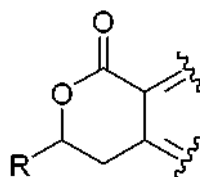
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

X es O o NH;
R¹ es:



5

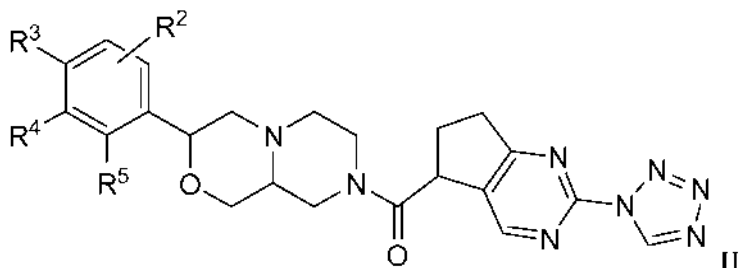
R³ es -F, R⁴ es -CN y R⁵ es -CH₃; o
R³ y R⁴ se acoplan junto con los átomos de carbono en el anillo fenilo al que están unidos para formar:



10

en la que R es -H o -CH₃ y R⁵ es -H.

10. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula estructural III:



15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. El compuesto de la reivindicación 1 que es:

20

6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo;

6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo;

25

6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo;

6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo;

30

6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona;

(3R)-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona;

(3S)-3-metil-6-[(3R,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona;

35

6-Fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[5-(5S)-2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo;

6-fluoro-2-metil-3-[(3R,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzocarbonitrilo;

40

6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aR)-8-[[3-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[c]piridin-7-il]carbonil]octahidro-2H-pirazino[1,2-a]pirazin-3-il]benzocarbonitrilo;

6-fluoro-2-metil-3-[(3S,9aS)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]benzocarbonitrilo;

(3S)-3-metil-6-[(3R,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona; o

(3S)-3-metil-6-[(3S,9aR)-8-[[2-(1H-tetrazol-1-il)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[b]piridin-5-il]carbonil]octa-hidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-3-il]-3,4-dihidro-1H-isocromen-1-ona;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquier reivindicación anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 13. La composición farmacéutica de la reivindicación 12, que comprende adicionalmente un principio activo seleccionado de losartán, valsartán, candesartán, olmesartán, telmesartán, eprosartán, irbesartán, amlodipina, alacepril, benazepril, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, imidapril, lisinopril, moveltipril, perindopril, quinapril, ramipril, espirapril, temocapril o trandolapril, amilorida, espironolactona, epleranona o triamtereno, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

15 14. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia.

20 15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para inhibir ROMK.

16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para provocar diuresis, natriuresis o ambas.

25 17. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la profilaxis de uno o más trastornos seleccionados de hipertensión, insuficiencia cardiaca aguda, insuficiencia cardiaca crónica, hipertensión arterial pulmonar, enfermedad cardiovascular, diabetes, disfunción endotelial, disfunción diastólica, angina de pecho estable e inestable, trombosis, reestenosis, infarto de miocardio, ictus, insuficiencia cardiaca, hipertensión pulmonar, aterosclerosis, cirrosis hepática, ascitis, preeclamsia, edema cerebral, nefropatía, síndrome nefrótico, insuficiencia renal aguda, enfermedad renal crónica, hipercalcemia, enfermedad de Dent, enfermedad de Meniere o estados edematosos.

30 18. Una combinación que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más principios activos farmacológicos adicionales.