

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 835**

51 Int. Cl.:

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/542 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2013 PCT/US2013/065418**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO2014066132**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2013 E 13785730 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016 EP 2912041**

54 Título: **Derivados de tetrahidropirrolotiazina como inhibidores de bace**

30 Prioridad:

26.10.2012 US 201261718728 P

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

14.06.2017

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**MARTIN, FIONNA MITCHELL;
MERGOTT, DUSTIN JAMES y
OWTON, WILLIAM MARTIN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 616 835 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de tetrahidropirrolotiazina como inhibidores de bace

5 La presente invención se refiere a compuestos novedosos de tetrahidropirrolotiazina, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, estos compuestos para uso en procedimientos para tratar trastornos fisiológicos. Se desvelan también intermedios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

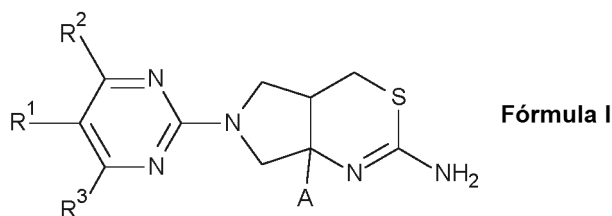
10 La presente invención está en el campo del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades y trastornos que implican el péptido β ($A\beta$) amiloide, un segmento peptídico neurotóxico y altamente agregante de la proteína precursora amiloide (APP). La enfermedad de Alzheimer es un desorden neurodegenerativo devastador que afecta a millones de pacientes en todo el mundo. En vista de los agentes actualmente aprobados en el mercado que proporcionan solo beneficios sintomáticos y transitorios al paciente, existe una necesidad significativa no satisfecha en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

15 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la generación, agregación y deposición de $A\beta$ en el cerebro. Se ha demostrado que la inhibición completa o parcial de la β -secretasa (enzima de escisión de la proteína del precursor amiloide β -sitio, BACE) tiene un efecto significativo en patologías relacionadas con la placa y dependientes de la placa en modelos de ratones que sugieren que incluso pequeñas reducciones en los niveles del péptido beta A pueden dar lugar a una reducción significativa a largo plazo de la carga de la placa y de los déficits sinápticos, proporcionando así beneficios terapéuticos significativos, particularmente en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

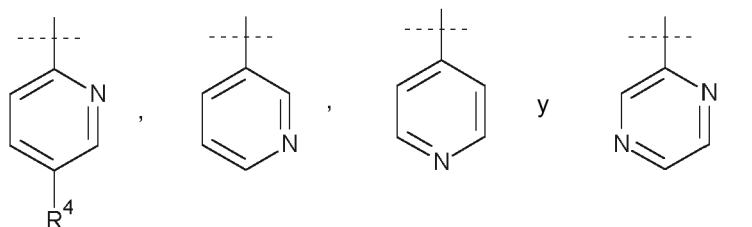
20 El documento US 2009/0209755 desvela derivados de aminodihidrotiazina condensados que se desvelan adicionalmente como agentes terapéuticos útiles para una enfermedad neurodegenerativa causada por el péptido Abeta, tal como demencia tipo Alzheimer. Además, J. Neuroscience, 31(46), páginas 16507-16516 (2011) desvela (S)-4-(2,4-difluoro-5-pirimidin-5-il-fenil)-4-metil-5,6-dihidro-4H-[1,3]tiazin-2-ilamina, un inhibidor de BACE activo del SNC administrado oralmente.

25 Se desean inhibidores de BACE que son potentes con suficiente penetración en el SNC para proporcionar tratamientos para trastornos mediados con péptido $A\beta$, tal como la enfermedad de Alzheimer. La presente invención proporciona ciertos compuestos novedosos que son potentes inhibidores de BACE. Además, la presente invención proporciona ciertos compuestos novedosos con penetración en el SNC.

Por consiguiente, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula I:

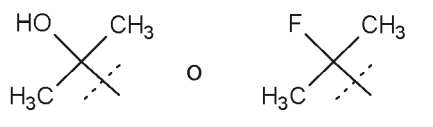


en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en;



30

R¹ es H o F;
R² es H, -OCH₃, alquilo C1-C3,



R³ es H, -CH₃, o -OCH₃; y
 R⁴ es H o F;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 La presente invención también proporciona estos compuestos para uso en un procedimiento para tratar la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 La presente invención proporciona además estos compuestos para su uso en un procedimiento para prevenir la progresión del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer en un paciente que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también proporciona estos compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir la escisión mediada por BACE de una proteína precursora de amiloide que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La presente invención también proporciona estos compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir la escisión mediada por BACE de una proteína precursora de amiloide que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención proporciona adicionalmente estos compuestos para su uso en un procedimiento para la inhibición de la producción de péptido A β que comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Además, esta invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en terapia, en particular para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o para la prevención de la progresión del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer. Incluso además, esta invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Esta invención también proporciona el uso de un
 25 compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para la prevención de la progresión del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer. La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para la inhibición de BACE. La invención proporciona además el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para la
 30 inhibición de la producción de péptido A β .

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, la composición comprende además uno o más agentes terapéuticos. Se describen también nuevos intermedios y procedimientos para la síntesis de los compuestos de Fórmula I.

35 El deterioro cognitivo leve se ha definido como una fase prodromal potencial de demencia asociada con la enfermedad de Alzheimer basada en la presentación clínica y en la progresión de pacientes que presentan deterioro cognitivo leve a la demencia de Alzheimer con el tiempo (Morris, y col., Arch. Neurol., 58, 397-405 (2001); Petersen, y col., Arch. Neurol., 56, 303-308 (1999)). La expresión "prevención de la progresión del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer" incluye disminuir, detener o revertir la progresión del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer
 40 en un paciente.

Como se usa en el presente documento, la expresión "alquilo C1-C3" se refiere a grupos metil, etil, propil e isopropil alquilo.

45 Como se usa en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratando" o "tratar" incluyen la prohibición, prevención, restricción, ralentización, detención o reversión de la progresión o gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Como se usa en el presente documento, el término "paciente" se refiere a un mamífero, más preferentemente a un ser humano.

La expresión "inhibición de la producción del péptido A β " se toma como que significa la disminución de los niveles *in vivo* del péptido A β en un mamífero.

50 Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que, tras la administración de dosis individual o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento.

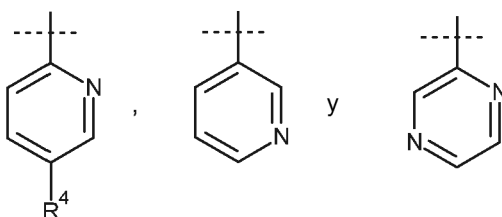
Una cantidad eficaz puede determinarse fácilmente por el técnico de diagnóstico asistente, como experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Al

5 determinar la cantidad eficaz para un paciente, el médico que lo atiende considera varios factores, incluyendo, pero sin limitarse a: la especie de mamífero; su tamaño, edad y salud general; la enfermedad o trastorno específico involucrado; el grado de o la afectación o la gravedad de la enfermedad o trastorno; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad del preparado administrado; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias pertinentes.

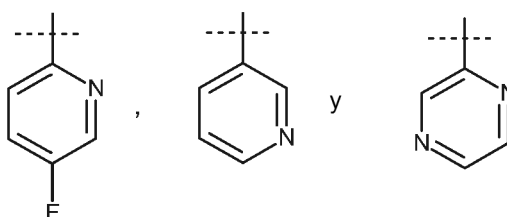
10 Los compuestos de Fórmula I son generalmente eficaces sobre un amplio rango de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo antes mencionado pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis todavía mayores con efectos secundarios aceptables, y por lo tanto el intervalo de dosificación anterior no pretende limitar el alcance de la invención de cualquier manera. Los compuestos de la invención se formulan preferentemente como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier ruta que hace biodisponible el compuesto, incluyendo las vías oral y parenteral. Más preferentemente, dichas composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procedimientos para preparar las mismas son bien conocidos en la técnica (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21ª Edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

20 Los compuestos de Fórmula I son particularmente útiles en los procedimientos de tratamiento de la invención, pero se prefieren ciertos grupos, sustituyentes y configuraciones para compuestos de Fórmula I. Los párrafos siguientes describen tales grupos, sustituyentes y configuraciones preferidas. Se entenderá que estas preferencias son aplicables tanto a los procedimientos de tratamiento como a los nuevos compuestos de la invención.

Se prefiere que A se seleccione entre el grupo que consiste en:

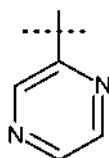


Es más preferido que A se seleccione entre el grupo que consiste en:



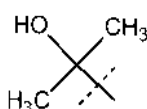
25

Es especialmente más preferido que A sea:



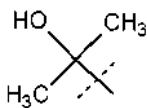
Se prefiere que R¹ sea F.

Se prefiere que R² sea H o



30

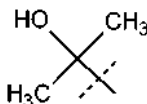
Lo más preferido es que R² sea



Se prefiere que R³ sea H.

Se prefiere que cuando R¹ es F y R³ es H, que R² sea H.

5 Además se prefiere especialmente que cuando R¹ es F y R³ es H, que R² sea



Una realización preferida incluye compuestos de Fórmula I que han mejorado la penetración del SNC.

Son compuestos preferidos:

- 10 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol;
 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol;
 2-[2-[(4aR,7aS)-2-amino-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol;
 15 (4aR,7aR)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina, isómero 1; y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Son compuestos especialmente preferidos:

- 20 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol;
 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol;
 2-[2-[(4aR,7aS)-2-amino-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol; y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

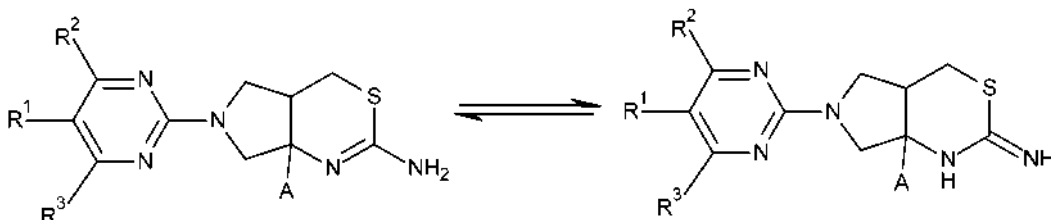
Un compuesto lo más especialmente preferido es:

- 25 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol, y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Un experto en la materia apreciará que los compuestos de la invención pueden existir en formas tautómeras, como se representa en el Esquema A. Cuando se da una referencia en esta solicitud a uno de los tautómeros específicos de los compuestos de la invención, se entiende para abarcar ambas formas tautoméricas y todas sus mezclas.

30

Esquema A



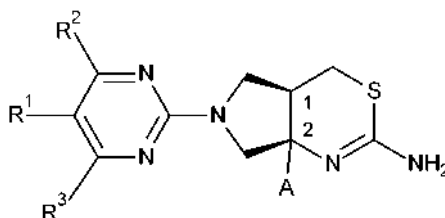
35

Los compuestos de la presente invención, o sales de los mismos, pueden prepararse mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, algunos de los cuales se ilustran en los esquemas, preparaciones y ejemplos a continuación. Las etapas sintéticas específicas para cada una de las rutas descritas pueden combinarse de diferentes maneras, o en conjunción con etapas de diferentes esquemas, para preparar compuestos de Fórmula I o sales de los mismos. Los productos de cada etapa en los esquemas siguientes pueden recuperar mediante procedimientos convencionales, que incluyen extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización.

Ciertos centros estereoquímicos se han dejado sin especificar y ciertos sustituyentes han sido eliminados en los esquemas siguientes en aras de la claridad y no se pretende limitar la enseñanza de los esquemas de ninguna manera. Además, los isómeros individuales, enantiómeros o diastereoisómeros pueden separarse o resolverse por un experto en la materia en cualquier punto conveniente en la síntesis de compuestos de Fórmula I mediante procedimientos, tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (Véase por ejemplo, J. Jacques, y col., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, y E.L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley- Interscience, 1994). Las designaciones "isómero 1" e "isómero 2" se refieren a los compuestos que eluyen primero de la cromatografía quiral y la segunda, respectivamente, y si la cromatografía quiral se inicia temprano en la síntesis, se aplica la misma designación a los intermedios y ejemplos posteriores. Adicionalmente, los productos intermedios descritos en los siguientes esquemas contienen una serie de grupos protectores de nitrógeno. El grupo protector variable puede ser igual o diferente en cada aparición dependiendo de las condiciones de reacción particulares y de las transformaciones particulares que se vayan a realizar. Las condiciones de protección y desprotección son bien conocidas por el experto en la materia y se describen en la bibliografía (Véase por ejemplo "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Cuarta edición, de Peter G.M. Wuts and Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

Un experto ordinario en la materia apreciará que los compuestos de la invención están comprendidos de un núcleo que contiene al menos dos centros quirales:

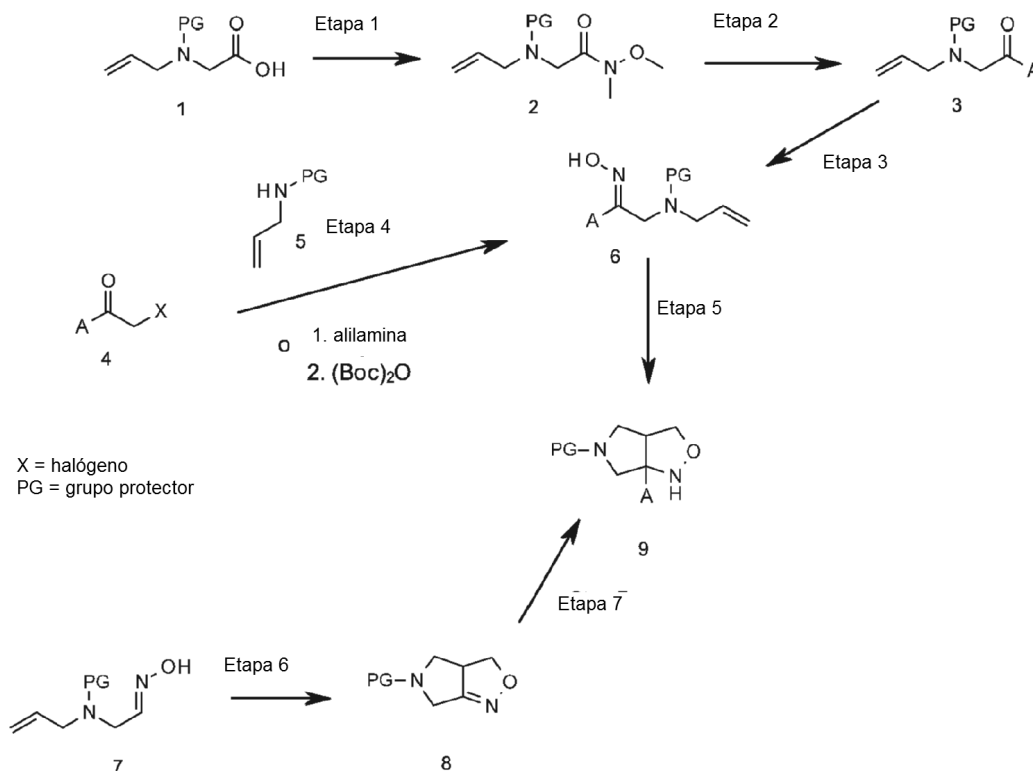
Esquema B



Aunque la presente invención contempla todos los enantiómeros individuales, así como mezclas de los enantiómeros de dichos compuestos, que incluyen los racematos, los compuestos con la configuración absoluta en los átomos marcados con 1 y 2 como se ilustra en el Esquema B son los compuestos preferidos de la invención.

Las abreviaturas usadas en el presente documento se definen de acuerdo con Aldrichimica Acta, Vol. 17, n.º 1, 1984. Otras abreviaturas se definen como siguen a continuación: "APP" se refiere a proteína precursora de amiloide; "BOC" se refiere a *tert*-butiloxicarbonilo; "CSF" se refiere a fluido cerebroespinal; "DCC" se refiere a 1,3-diciclohexilcarbodiimida; "DIC" se refiere a diisopropilcarbodiimida; "DMEM" se refiere a Medio Eagle Modificado de Dulbecco; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EDCI" se refiere a clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida; "Ej." se refiere a ejemplo; "F12" se refiere a medio F12 de Ham; "FBS" se refiere a Suero Bovino Fetal; "FRET" se refiere a transferencia de energía por resonancia de fluorescencia; "HEK" se refiere a riñón embrionario humano; "HOAc" se refiere a ácido acético; "HOAt" se refiere a 1-hidroxi-7-azobenzotriazol; "HOBt" se refiere a hidrato de 1-hidroxilbenzotriazol; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; "h" se refiere a hora u horas; "Cl₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50 % de la respuesta inhibitoria máxima para ese agente; "min" se refiere a minuto o minutos; "PDAPP" se refiere a proteína precursora amiloide derivada de plaquetas; "Prep" se refiere a preparación; "RFU" se refiere a unidad de fluorescencia relativa "T_r" se refiere a tiempo de retención; y "THF" se refiere a tetrahidrofurano.

En los esquemas a continuación todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son como se han definido previamente. Los reactivos y materiales de partida están de manera general, fácilmente disponibles para un experto en la materia. Otros pueden prepararse mediante técnicas estándar de química orgánica y heterocíclica que son análogas a las síntesis de compuestos estructuralmente similares conocidos y los procedimientos descritos en las Preparaciones y los Ejemplos que siguen incluyendo cualquier procedimiento novedoso.

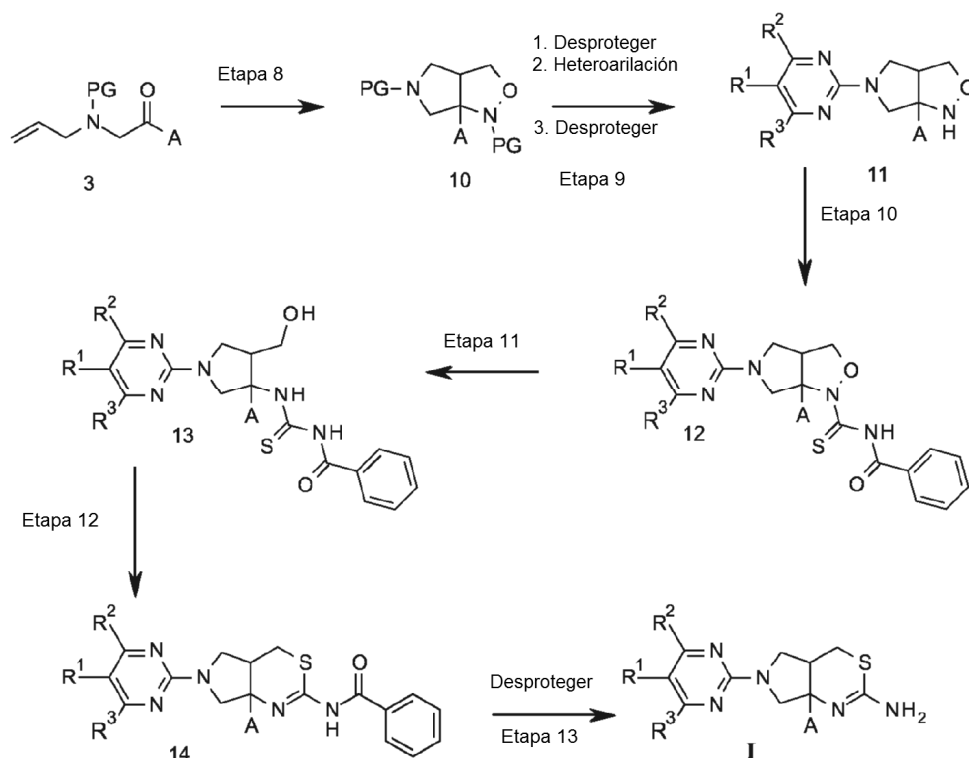
Esquema 1

El Esquema 1 representa la formación de la amida de Weinreb (2) usada para formar una cetona (3) que después puede transformarse en una oxima. La oxima puede usarse para formar el isoxazol bicíclico (9). El grupo (A) puede insertarse en diferentes puntos de la síntesis como se muestra en el Esquema 1. PG es un grupo protector desarrollado para el grupo amino, tal como carbamatos y alilo. Tales grupos son bien conocidos y apreciados en la técnica.

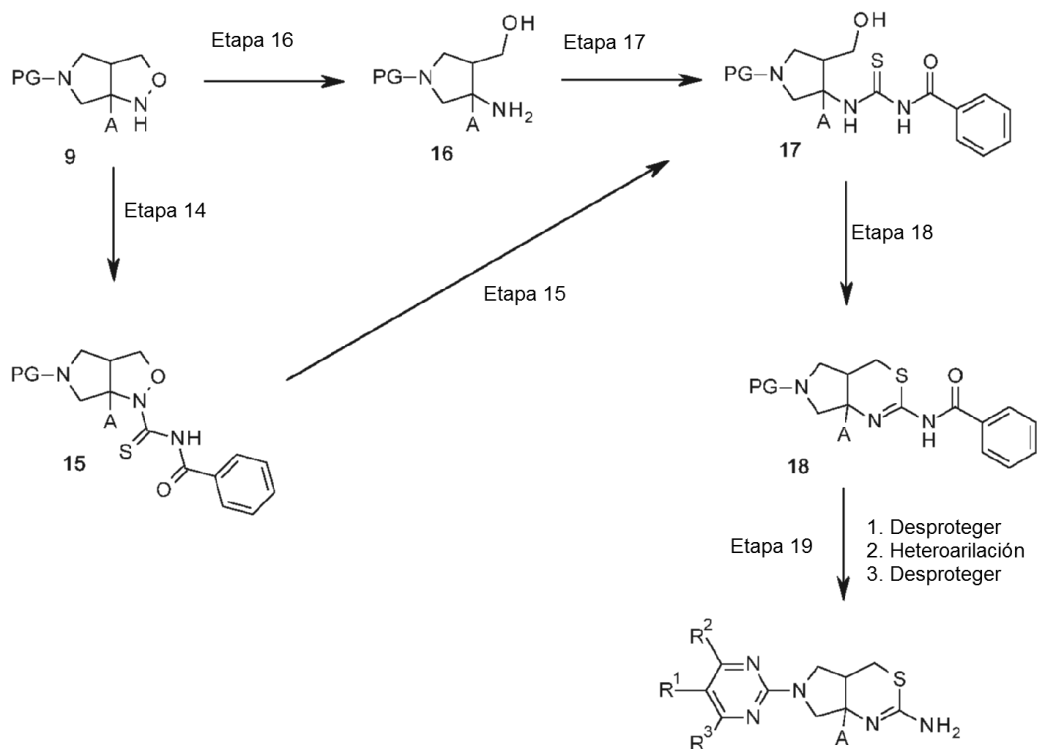
Un compuesto de fórmula (1) se convierte en la amida de Weinreb (Etapa 1, compuesto 2) con clorhidrato de N, O-dimetilhidroxilamida usando una base orgánica, tal como diisopropilamina o trietilamina y reactivos de acoplamiento tales como carbodiimidas y HOBT o HOAt para mejorar la eficiencia del acoplamiento de amida. Un experto en la materia reconocerá que hay una serie de procedimientos y reactivos para la formación de amidas que resultan de la reacción de ácidos carboxílicos y aminas. Por ejemplo, carbodiimidas útiles son DCC, DIC, EDCI.

Alternativamente, el ácido carboxílico puede convertirse al cloruro de ácido y la amida de Weinreb puede formarse usando una base orgánica y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina.

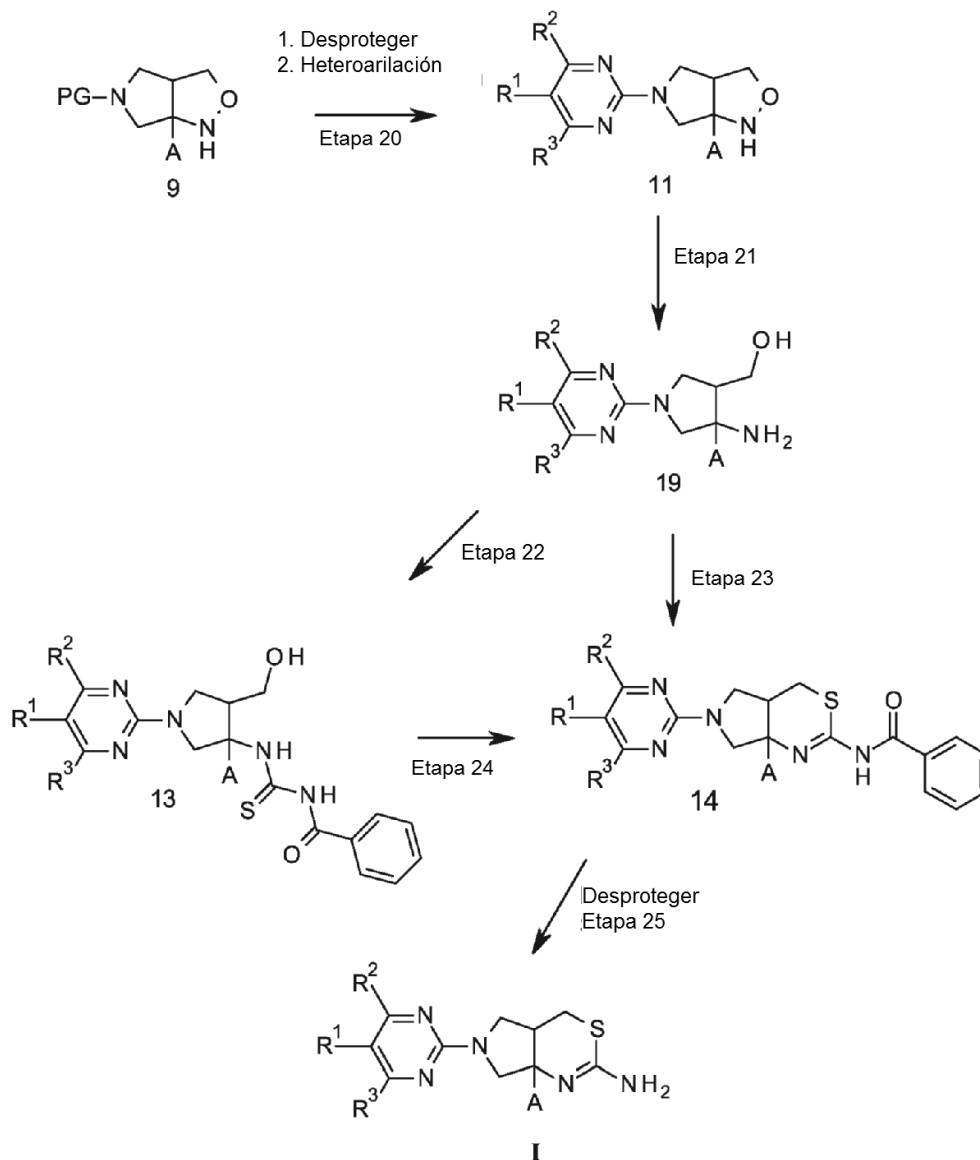
El tratamiento posterior de la amida de Weinreb con un reactivo organometálico, tal como un reactivo de Grignard o un reactivo de organolitio da el compuesto 3, Etapa 2. Por ejemplo, el haluro heterocíclico y el reactivo de alquil Grignard o organolitio pueden usarse para formar una cetona con el grupo adjunto deseado (A), (3, Etapa 2). Después, la cetona (3) puede usarse para formar una oxima con clorhidrato de hidroxilamina y una base inorgánica tal como trihidrato de acetato sódico o acetato sódico o una base orgánica tal como piridina o mediante el uso de una solución acuosa de hidroxilamina al 50% en peso en un disolvente prótico polar, tal como etanol para dar el compuesto 6, Etapa 3. Alternativamente, en una reacción en 2 etapas, una cetona con un halógeno beta puede alquilarse con una alil amina protegida o por reacción con alil amina seguido de protección con *tert*-butoxicarbamilo in situ y después se trata con clorhidrato de hidroxilamina para dar la oxima, (6, Etapa 4). La oxima (6) puede entonces convertirse en el isoxazol bicíclico (9) en una ciclación 3 + 2 por varios procedimientos tales como calentar la oxima (6) en un disolvente no polar tal como tolueno o xileno para formar el compuesto 9, Etapa 5 o usando una solución acuosa de hipoclorito sódico o etóxido de titanio (IV) y en un disolvente no polar tal como tolueno o xileno con calentamiento para dar el compuesto 9, Etapa 5.

Esquema 2

El Esquema 2 ilustra la formación in situ de la oxima y posterior conversión para formar el isoxazol bicíclico para dar el compuesto (10), Etapa 8. El clorhidrato de N-[(4-metoxifenilmetil) hidroxilamina se trata con el compuesto (3) en una base orgánica tal como trietilamina a la que se añade etóxido de titanio (IV) y calentando el compuesto 10. Una pirrolidina protegida con BOC del isoxazol bicíclico se desprotege en condiciones ácidas bien conocidas en la técnica. Una pirrolidina protegida con alilo puede desprotegerse usando un ácido, tal como ácido N,N-dimetilbarbitúrico con un catalizador tal como *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio. La pirrolidina desprotegida puede hacerse reaccionar en una reacción de sustitución aromática nucleófila (S_NAr) con una pirimidina aromática sustituida o no sustituida usando una base orgánica tal como diisopropiletilamina, trietilamina o N,N,N',N'-tetrametilguanidina para dar el isoxazol bicíclico protegido sustituido deseado (Etapas 1 y 2 de la Etapa 9). El isoxazol bicíclico protegido con 4-metoxi bencilo (PMB) se desprotege posteriormente en condiciones ácidas para dar el compuesto 11, (Etapa 3 de la Etapa 9). El compuesto 11 se trata con isotiocianato de benzoilo en un disolvente aprótico polar tal como THF para dar la tiourea (12, Etapa 10). El anillo de isoxazol puede abrirse con polvo de cinc en ácido acético, (13, Etapa 11). El compuesto hidroxilo (13) se trata después con 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina para formar la tiazina protegida con pirrolidina condensada (14, Etapa 12). La amida de tiazina puede desprotegerse con una base orgánica, tal como piridina y clorhidrato de metilhidroxilamina en un disolvente aprótico polar, tal como etanol o una base inorgánica tal como hidróxido de litio en metanol para dar compuestos de Fórmula I en la Etapa 13.

Esquema 3**I**

El Esquema 3 representa el isoxazol bicíclico protegido (9) que puede tratarse primero con Zn en polvo en ácido acético o con Níquel Raney en un disolvente polar tal como etanol en condiciones de hidrogenación a presión (16, Etapa 16) seguido de reacción con benzotioisocianato para dar el compuesto 17, Etapa 17. El anillo de tiazina puede formarse como se describe en el Esquema 2, Etapa 12 para dar el Compuesto 18, Etapa 18. En la Etapa 19, la pirrolidina (18) puede desprotegerse y heteroarilarse como se describe en el Esquema 2 (Etapas 1 y 2 de la Etapa 9) para dar la tiazina protegida con pirrolidina condensada (Compuesto 14, Esquema 2). La amida de tiazina puede entonces desprotegerse como se describe en el Esquema 2 (Etapa 13) para dar compuestos de Fórmula I.

Esquema 4

El Esquema 4 representa una ruta alternativa del Esquema 3 y Esquema 2 en el que el compuesto 9 puede ser desprotegido y heteroarilado en una reacción de SNAr en el nitrógeno de pirrolidina y el anillo de isoxazol puede abrirse antes de tratar el isoxazol bicíclico con isocianato de bencilo.

Por ejemplo, el nitrógeno de pirrolidina puede desprotegerse y heteroarilarse como se describe en el Esquema 2, Etapa 9. El anillo de isoxazol del compuesto 11 se puede abrir como se describe en el Esquema 3, Etapa 16 para dar el Compuesto 19, Etapa 21. Una conversión de dos etapas para formar la tiazina protegida (14) se puede llevar a cabo como se muestra en las etapas 22 y 24 y se describe en los pasos 17 y 18, el Esquema 3 o la tiazina protegida se pueden formar directamente como se muestra en la Etapa 23 usando benzotioisocianato en la primera etapa y trifetilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo en una segunda etapa. La amida de tiazina puede desprotegerse como se describe en el Esquema 2, Etapa 13 para dar compuestos de Fórmula I.

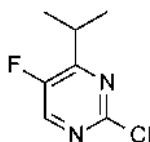
En una etapa opcional, se puede formar una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmula I, tal como una sal clorhidrato, por reacción de una base libre apropiada de Fórmula I con un ácido farmacéuticamente aceptable apropiado en un disolvente adecuado en condiciones estándar. Adicionalmente, la formación de tales sales puede ocurrir simultáneamente sobre la desprotección de un grupo protector de nitrógeno. La formación de tales sales es bien conocida y apreciada en la técnica. Véase, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," *International Journal of Pharmaceutics*, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., y col. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," *Organic Process Research and Development*, 4: 427-435 (2000); y Berge, S.M., y col., "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19, (1977).

Preparaciones y Ejemplos

Las siguientes preparaciones y ejemplos adicionales ilustran la invención. A menos que se indique lo contrario, los compuestos ilustrados en el presente documento se denominan y numeran usando Symyx® Draw version 3,2 (Symyx Solutions, Inc.) o IUPACNAME ACDLABS.

5 Preparación 1

2-Cloro-5-fluoro-4-isopropil-pirimidina



Una solución en agitación de 5-fluoro-2-cloropirimidina (5,00 g, 37,7 mmol) en 1,2-dimetoxietano (25 ml) se hace reaccionar con una solución de cloruro de isopropil magnesio 2 M en tetrahidrofurano (28,3 ml, 56,6 mmol) mientras se mantiene la temperatura por debajo de 15 °C. La solución resultante se agita durante una hora en nitrógeno y después se enfría a 0 °C. Se añade trietilamina (5,76 ml, 37,7 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) seguido de una solución de yodo (9,58 g, 37,7 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml). Después de que se complete la adición, la mezcla de reacción oscura se inactiva con agua seguido de bicarbonato sódico saturado y bisulfato sódico saturado. La mezcla se extrae con acetato de etilo (3 x). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato sódico y el disolvente se retira a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de diclorometano al 5-100 % en hexanos para dar el compuesto del título (2,55 g, 39 %). CG/EM (m/e): 174.

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente por el procedimiento de Preparación 1.

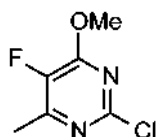
Tabla 1

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	Datos físicos
2 ^a	2-Cloro-4-etil-5-fluoro-pirimidina		RMN ¹ H (CDCl ₃) δ 1,32 (t, 3H), 2,86 (m, 2H), 8,34 (d, 1H)
3 ^b	2,4-Dicloro-5-fluoro-6-metilpirimidina		RMN ¹ H (CDCl ₃) δ 2,56 (d, 3H)

^a Se usa bromuro de etilmagnesio (3,0 M en éter dietílico).
^b 5-Fluoro-2,4-dicloro-pirimidina es el material de partida y se usa bromuro de metilmagnesio (3 M en éter dietílico) con 1,2-dimetoxietano como disolvente.

20 Preparación 4

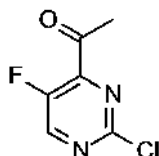
2-Cloro-5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidina



Se añade en porciones metóxido sódico (446,53 mg, 8,27 mmol) a una solución en agitación de 2,4-dicloro-5-fluoro-6-metil-pirimidina (1,7 g, 7,51 mmol) en metanol (8 ml, 197,66 mmol) a 0 °C. Después, la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añade agua (20 ml) a la mezcla de reacción seguido de diclorometano. Las capas se separan y la capa acuosa se vuelve a extraer con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio y los disolventes se evaporan a presión reducida para dar una mezcla 8:1 de producto a material de partida. El material en bruto se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de diclorometano al 0-99 % en iso-hexanos para dar el compuesto del título (1,16 g, 87 %). RMN ¹H (CDCl₃) δ 4,09 (s, 3H), 2,45 (d, 3H).

Preparación 5

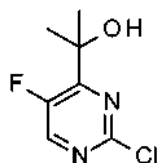
1-(2-Cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)etanona



- 5 Una solución a temperatura ambiente de 5-fluoro-2,4-dicloro-pirimidina (20 g, 119,8 mmol) y (1-etoxietenil)trimetilestannano (43,26 g, 119,8 mmol) en dimetilformamida (200 ml) se purga con nitrógeno. Se añade cloruro de bis(trifenilfosfina) de paladio (II) (1,70 g, 2,40 mmol) y la mezcla resultante se calienta a 70 °C durante 2 horas en atmósfera de nitrógeno. La reacción se enfría a 50 °C y se añade cloruro de hidrógeno 5 N acuoso (100 ml) y se agita durante 2 horas. La reacción se enfría y se diluye con agua (200 ml) y salmuera y se extrae cinco veces con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato sódico y se concentran al vacío. El producto en
- 10 bruto se purifica usando cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo al 5-50 % en hexanos para dar el compuesto del título (19,2 g, 92 %). CG/EM (m/e): 174 y 176.

Preparación 6

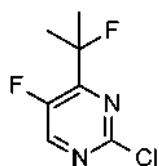
2-(2-Cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)propan-2-ol



- 15 A una solución en agitación a -78 °C de 1-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)etanona (10,06 g, 57,6 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) en nitrógeno se le añade bromuro de metil magnesio en éter dietílico (3 M, 124 ml, 72,04 mmol) y la mezcla resultante se agita a -78 °C durante 20 minutos. La reacción se interrumpe con cloruro de amonio saturado acuoso y la mezcla se calienta a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrae tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato sódico y se concentran al vacío. El producto en
- 20 bruto se purifica usando cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato al 5-100 % de etilo en hexanos para dar el compuesto del título (7,06 g, 64 %). ES/EM (m/e): 191 y 193 (M+1).

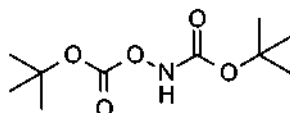
Preparación 7

2-Cloro-5-fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidina



- 25 Se añadió gota a gota trifluoruro de dietilaminosulfuro (6,53 g, 40,5 mmol) a una solución a -78 °C de 2-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)propan-2-ol (4,825 g, 25,31 mmol) en diclorometano (70 ml) en atmósfera de nitrógeno. La reacción se agita a -78 °C durante 30 minutos en atmósfera de nitrógeno, se inactiva con bicarbonato sódico acuoso saturado y se calienta a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrae tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato sódico y se concentran al vacío. El producto en
- 30 bruto resultante se purifica usando cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo al 5-100 % en hexanos para dar el compuesto del título (4,23 g, 87 %). ES/EM (m/e): 193 y 195 (M+1).

Preparación 8

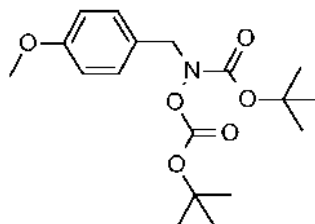
tert-butil carbonato de (*tert*-butoxicarbonilamino)

- 35 Una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina (550,0 g, 7,9 mol), agua (5,5 l) y una solución de heptano/MTBE (5:1, 5,5 l)

se enfría a -5 °C. Una solución preenfriada (-5 °C) de di-*t*-butildicarbonato (3,55 Kg, 16,3 mol), trietilamina (1,67 Kg, 16,5 mol) como una solución en heptano/MTBE (5:1, 1, 1 l) se añadió lentamente durante 2 horas. La reacción se agita a -5 °C durante 1 hora y después se calienta a temperatura ambiente y se agita durante una noche. Las capas se separan y la capa orgánica se lava dos veces con cloruro de amonio acuoso saturado (2 l) y una solución acuosa saturada de cloruro sódico (1 l), se seca sobre sulfato sódico, se filtra y se concentra para dar un aceite que cristaliza a un sólido de color blanco. El sólido se agita con heptano (1 l) en un baño de agua enfriada con hielo y se filtra para dar el producto del título (1360,2 g, 73 %). RMN ¹H (d₆-DMSO) δ 10,7 (s a, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,40 (s, 9H).

Preparación 9

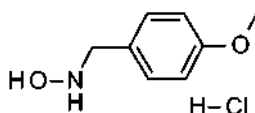
tert-butil carbonato de [*tert*-butoxicarbonil-(4-metoxifenil)metil]amino]



Un reactor de 20 l, en atmósfera de nitrógeno se carga con *tert*-butil carbonato de (*tert*-butoxicarbonilamino) (812,9 g, 3,48 mol), dimetilformamida (4,4 l), carbonato potásico (626,5 g, 4,52 mol) y 1-(clorometil)-4-metoxi-benceno (462 ml, 2,56 mol). La mezcla se agita a 40 °C durante una noche. El análisis por RMN ¹H muestra la reacción incompleta. Se añade carbonato potásico adicional (626,5 g, 4,52 mol) y la mezcla se agita a 40 °C. El análisis por RMN ¹H después de 48 horas muestra que la reacción sigue incompleta. Se añade carbonato potásico adicional (482 g, 3,49 mol) y la mezcla se agita a 40 °C. El análisis por RMN ¹H después de una noche de reacción muestra la reacción completa sin materiales de partida restantes. Se añaden agua (5 l) y MTBE (5 l) y las capas se separan. La capa orgánica se lava con agua (3x3 l), se seca sobre sulfato sódico y se concentra para dar el compuesto del título (1,21 Kg, 98 %). RMN ¹H (d₆-DMSO) δ 7,20 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 3,73 (s, 2H), 3,35 (s, 3H), 1,41 (s, 18H).

Preparación 10

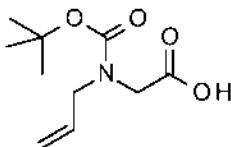
Clorhidrato de N-[(4-metoxifenil)metil]hidroxilamina



Se disuelve *tert*-butil carbonato de [*tert*-butoxicarbonil-(4-metoxifenil)metil]amino] (1,125 Kg, 3,1 mol) en 1,4-dioxano (2,8 l) y se añade gota a gota una solución de cloruro de hidrógeno (4 M en dioxano, 3,15 l, 12,4 mol) durante 1 hora 30 minutos. La solución se agita a temperatura ambiente durante una noche. El producto del título se recoge por filtración en forma de un sólido de color blanco (488,0 g, 81 %). RMN ¹H (d₆-DMSO) δ 11,71 (s, 2H), 10,94 (s, 1H), 7,44 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,95 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,22 (s, 2H), 3,75 (s, 3H).

Preparación 11

Ácido 2-(alil(*tert*-butoxicarbonil)amino)acético

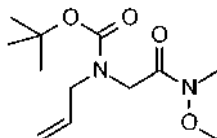


A un matraz de fondo redondo que contiene carbonato potásico (100 g, 724 mmol), yoduro sódico (110 g, 727 mmol), dimetilformamida (300 ml), trietilamina (200 ml, 1,44 mol) y 2-propen-1-amina (24 g, 426 mmol) a 0 °C se añade gota a gota una solución de 2-bromoacetato de etilo (60,2 g, 360 mmol) en dimetilformamida (40 ml). La reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 14 horas. Los sólidos se retiran por filtración y se lavan con éter dietílico. Se añade una solución acuosa saturada de cloruro sódico (1 l) al filtrado y las capas se separan. La capa acuosa se extrae con éter dietílico. Las fases orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y el disolvente se retiró a presión reducida para dar un residuo. A una solución a 0 °C del residuo en bruto en etanol (500 ml) y trietilamina (40 g, 395 mmol) se le añade en una porción di-*t*-butildicarbonato (105 g, 467 mmol). La reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 14 horas. La reacción se concentra a presión reducida y se diluye con agua (200 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado (200 ml) y se extrajo con éter dietílico. Las fases orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para dar un residuo. Este residuo se recoge en metanol (200 ml) y se añade hidróxido sódico 2 N (500 ml). La solución resultante se agita

durante 3 horas a temperatura ambiente. El volumen se reduce mediante aproximadamente 200 ml a presión reducida y la solución resultante se acidifica a pH 4 usando ácido clorhídrico (12 N). El sólido de color naranja pálido resultante se recoge por filtración, se lava con agua y se seca para dar el compuesto del título (50 g, 65 %). RMN ¹H (CDCl₃) mezcla de dos rotámeros (50:50) δ 1,43, 1,45 (s, 9H), 3,86-3,99 (m, 4H), 5,10-5,20 (m, 2H), 5,71-5,83 (m, 1H).

5 Preparación 12

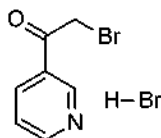
N-alil-N-[2-(metoxi(metil)amino)-2-oxo-etil]carbamato de *tert*-butilo



10 Se añade ácido 2-(alil(*tert*-butoxicarbonil)amino)acético (49,6 g, 156 mmol) a tetrahidrofurano (600 ml) a 0 °C seguido de la adición de trietilamina (36,3 g, 359 mmol) y cloruro de pivaloilo (31 g, 353 mmol). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 horas y después se enfría a 0 °C. Después, se añaden clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (28 g, 283 mmol), trietilamina (33 ml, 237 mmol) y tetrahidrofurano (400 ml). El baño de hielo se retira y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se concentra a presión reducida. El sólido resultante se disuelve en agua y se extrae con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato sódico, se filtran y el disolvente se retira a presión reducida para dar un residuo. El residuo se purifica por
15 cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de acetona al 0-50 % en hexanos para dar el compuesto del título (32 g, 54 %). RMN ¹H (CDCl₃) mezcla de dos rotámeros (60:40) δ 1,42, 1,44 (s, 9H), 3,16, 3,17 (s, 3H), 3,66, 3,69 (s, 3H), 3,88-3,98 (m, 2H), 4,01, 4,11 (s, 2H), 5,10-5,18 (m, 2H), 5,73-5,85 (m, 1H).

Preparación 13

Bromhidrato de 2-bromo-(3-piridil)etanona



20 A una solución agitada vigorosamente de 1-(3-piridinil)-etanona (7,2 ml, 65,44 mmol) en ácido acético (65 ml) y una solución acuosa al 48 % de bromuro de hidrógeno (11 ml, 97,88 mmol) a 0 °C se le añade gota a gota bromo (3,5 ml, 68,11 mmol). La reacción se calienta a 40 °C con agitación vigorosa y se agitó durante 2 horas. Después, la reacción se calienta a 75 °C y se agita durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se diluye con éter dietílico. El precipitado resultante se recoge, se lava con éter dietílico y se seca al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino de color blanco (18,27 g, 99 %). RMN ¹H (d₆-DMSO) δ 14,53-14,47 (m, 1H), 9,35 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 9,01 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 8,72 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,97-7,91 (m, 1H), 5,09 (s, 2H).

El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 13 usando 2-acetil piridina. Se añade gota a gota bromo en 4 porciones iguales.

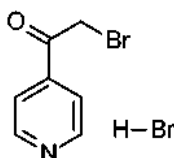
30

Tabla 2

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
14	Bromhidrato de 2-bromo-1-(2-piridil)etanona		(⁷⁹ Br/ ⁸¹ Br) 200/202

Preparación 15

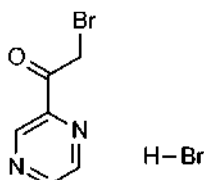
Bromhidrato de 2-bromo-1-(4-piridil)etanona



5 A una solución en agitación de 4-acetil piridina (3,62 g, 29,88 mmol) en ácido acético (30 ml) se le añadió una solución acuosa al 48 % de bromuro de hidrógeno (5,3 ml, 47,16 mmol). Se añade gota a gota bromo (1,6 ml, 31,14 mmol) en 4 porciones iguales. La reacción se agita durante aproximadamente 2 horas y un sólido precipita. Se añade bromo (1,6 ml, 31,14 mmol) y la reacción se agita durante una noche. El precipitado resultante se recoge, se lava con éter dietílico y se seca al vacío para dar el compuesto del título (8,6 g, 102 %). RMN ¹H (d₆-DMSO) δ 9,02 (d, 2H), 8,17 (d, 2H), 5,08 (2H)

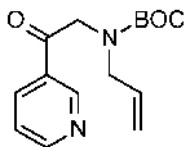
Preparación 16

Bromhidrato de 2-bromo-1-pirazin-2-il-etanona



10 A una solución en agitación de acetilpirazina (10 g, 81,88 mmol) en ácido acético (70 ml) se le añade bromuro de hidrógeno (solución al 38 % de ácido acético, 16 ml) seguido de perbromuro de bromuro de piridinio (28 g, 83,17 mmol) que se añade en una porción individual. La reacción se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 1,5 horas. Se forma una suspensión durante este tiempo. Se añade éter dietílico (500 ml) y el precipitado resultante se recoge por filtración. El producto aislado se lava con acetonitrilo y éter dietílico y se seca al vacío para dar un sólido de color pardo pálido (23,2 g, rendimiento cuantitativo). RMN ¹H (d₆-DMSO) δ 9,19 (1H, m), 8,95 (1H, m), 8,84 (1H, m), 5,02 (2H, s).

Preparación 17

N-Alil-N-[2-oxo-2-(3-piridil)etil]carbamato de *terc*-butilo

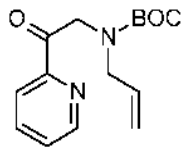
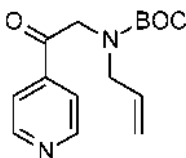
20 Se añade en porciones bromhidrato de 2-bromo-1-(3-piridil)etanona (9,35 g, 21,96 mmol) durante 5 minutos a una solución en agitación de 2-propen-1-amina (1,82 ml, 24,16 mmol) y diisopropiletilamina (7,66 ml, 43,93 mmol) en tetrahidrofurano (270 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agita durante 1 hora 40 minutos a 0 °C. Se añade di-*t*-butildicarbonato (9,40 ml, 41,73 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) y la reacción se continúa a 0 °C durante 1 hora 40 minutos. La reacción se interrumpe con hidrogenocarbonato sódico saturado (120 ml). Se añade diclorometano (300 ml) y las fases se separan. La fase acuosa se vuelve a extraer con diclorometano (300 ml). Las fases orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran al vacío. El producto en bruto se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetona al 0-5 % en diclorometano seguido de un gradiente de acetona al 5-10 % en diclorometano, después con acetona al 100 % para dar el compuesto del título (1,15 g, 19 %). ES/EM (m/e): 277 (M+1).

30 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 17 usando la piridina o pirazina apropiada.

Tabla 3

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
18 ^a	N-alil-N-(2-oxo-2-pirazin-2-il-etil)carbamato de <i>terc</i> -butilo		278 (M+1)

(continuación)

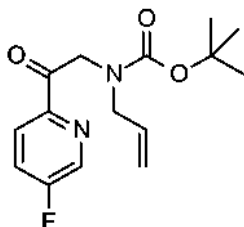
Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
19 ^b	N-alil-N-[2-oxo-2-(2-piridil)etil]carbamato de <i>tert</i> -butilo		277 (M+1)
20 ^c	N-alil-N-[2-oxo-2-(4-piridil)etil]carbamato de <i>tert</i> -butilo		277 (M+1)

^a El tiempo de reacción es de 70 minutos con 2-propen-1-amina y 70 minutos para la formación de carbamato de *tert*-butilo. La purificación es por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetona del 0 al 10 % en diclorometano.

^b La dimetilformamida es el disolvente y el tiempo de reacción es 10 minutos para la reacción con 2-propen-1-amina y la formación de carbamato de *tert*-butilo se realiza en tetrahidrofurano/dimetilformamida. La purificación es por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 0 al 35 % en iso-hexanos.

^c Se añade en porciones bromhidrato de 2-bromo-1-(4-piridil)etanona durante 10 minutos y la reacción se agita durante 15 minutos a 0 °C seguido de 2 horas 45 minutos para la formación de carbamato de *tert*-butilo. La purificación es por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de metanol del 0 al 5 % en diclorometano.

Preparación 21

N-Alil-N-[2-(5-fluoro-2-piridil)-2-oxo-etil]carbamato de *tert*-butilo

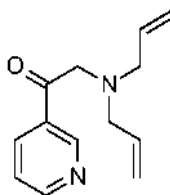
5

Se añadió gota a gota 2-bromo-5-fluoro-piridina (2,46 g, 13,98 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) cloruro de isopropilmagnesio (15 ml, 30,00 mmol de una solución 2 M en tetrahidrofurano) con agitación en nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Después, se añade gota a gota N-alil-N-[2-[metoxi(metil)amino]-2-oxo-etil]carbamato de *tert*-butilo (3,4 g, 13,16 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agita durante una noche. Se añade ácido clorhídrico acuoso diluido seguido de acetato de etilo. Las capas se separan y la fase acuosa se vuelve a extraer con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a sequedad a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de acetona al 0-40 % en iso-hexano para dar el compuesto del título (1,27 g, 33 %). ES/EM (m/e): 317 (M+23).

15

Preparación 22

2-(Dialilamino)-1-(3-piridil)etanona

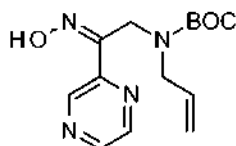


20

Se añade en porciones bromhidrato de 2-bromo-1-(3-piridil)etanona (10 g, 23,49 mmol) durante 5 minutos a una solución en agitación de dialilamina (5,2 ml, 42,29 mmol) y diisopropiletilamina (10,24 ml, 58,73 mmol) en tetrahidrofurano (150 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agita a 0 °C durante 1 hora. La reacción se interrumpe

mediante la adición de una solución saturada acuosa de bicarbonato sódico (100 ml) y diclorometano (300 ml). Las capas se separan y la fase acuosa se vuelve a extraer con diclorometano (300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de magnesio y los disolventes se retiran a presión reducida para dar un producto en bruto que se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (4,75 g, 93 %). ES/EM (m/e): 217 (M+1).

Preparación 23

N-Alil-N-(2-hidroxiimino-2-pirazin-2-il-etil)carbamato de *terc*-butilo

Se disuelve N-alil-N-(2-oxo-2-pirazin-2-il-etil)carbamato de *terc*-butilo (6,53 g, 23,55 mmol) en etanol (22 ml) con agitación en atmósfera de nitrógeno. Se añaden clorhidrato de hidroxilamina (3,80 g, 54,16 mmol) y piridina (2,67 ml, 32,97 mmol) y la solución resultante se calienta a 80 °C en atmósfera de nitrógeno durante 80 minutos. después, la reacción se enfría a temperatura ambiente y se concentra a un volumen pequeño a presión reducida. Se añaden diclorometano (200 ml) e hidróxido sódico 1 M acuoso (60 ml) y las fases se separan. La fase acuosa se vuelve a extraer con diclorometano (2 X 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio y el disolvente se evapora a presión reducida. El producto en bruto se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título como una mezcla de isómeros E/Z (6,61 g, 96 %). ES/EM (m/e): 293 (M+1).

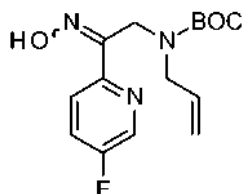
El siguiente compuesto se preparar esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 23.

Tabla 4

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
24 ^a	N-Alil-N-[2-(5-fluoro-2-piridil)-2-hidroxiiminoetil]carbamato de <i>terc</i> -butilo		310 (M+1)

La reacción se calienta durante una noche.

Preparación 25

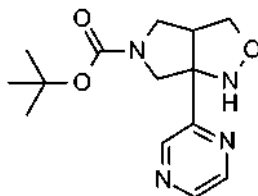
N-Alil-N-[2-(5-fluoro-2-piridil)-2-hidroxiimino-etil]carbamato de *terc*-butilo

Se añade gota a gota 2-bromo-5-fluoro-piridina (6,475 g, 36,79 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) a cloruro de isopropilmagnesio (20 ml, 40,00 mmol de una solución 2 M en tetrahidrofurano) con agitación en nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Después, se añade gota a gota N-alil-N-[2-[metoxi(metil)amino]-2-oxo-etil]carbamato de *terc*-butilo (4,43 g, 17,15 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante 4 horas 30 minutos. La reacción se interrumpe mediante la adición de una solución acuosa de cloruro de amonio seguido de acetato de etilo. Las capas se separan y la fase acuosa se vuelve a extraer con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a sequedad a presión reducida. El aceite oscuro resultante se recoge en etanol (60 ml) con agitación. Se añade una solución acuosa al 50 % en peso de hidroxilamina (3 ml, 55,09 mmol) y la solución resultante se calienta a 60 °C durante el fin de semana. Después, la reacción se enfría a temperatura ambiente y se concentra a presión reducida. El producto en bruto se purifica por

5 cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de isohexanos al 0-35 % en acetato de etilo para dar el compuesto del título como una mezcla de isómeros E/Z (4,9 g, 92 %). ES/EM (m/e): 310 (M+1).

Preparación 26

6a-Pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de *terc*-butilo



5 Una solución de N-alil-N-(2-hidroxiimino-2-pirazin-2-il-etil)carbamato de *terc*-butilo (6,6 g, 22,58 mmol) en tolueno (80 ml) se agita a 120 °C durante 22 horas. La reacción se enfría y el disolvente se evapora a presión reducida. El producto en bruto se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (5,13 g, 74 %). ES/EM (m/e): 293 (M+1).

10 Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 26.

Tabla 5

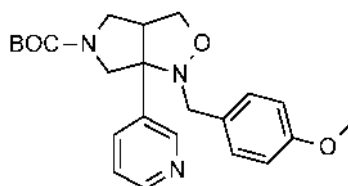
Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
27 ^a	6a-(5-Fluoro-2-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		310 (M+1)
28 ^b	6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		292 (M+1)

^a El tiempo de reacción es 3 horas 30 minutos y la purificación es por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de acetona al 5-80 % en iso-hexanos.

^b El tiempo de reacción es 1 hora 30 minutos a 120 °C seguido de un adicional de 18 horas a 130 °C, después a 140 °C durante días adicionales y la purificación es por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de etanol al 0-10 % en una mezcla 1:1 de diclorometano en isohexanos.

Preparación 29

15 1-[(4-Metoxifenil)metil]-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrol[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de *terc*-butilo



20 A una solución en agitación de N-alil-N-[2-oxo-2-(3-piridil)etil]carbamato de *terc*-butilo (2,3 g, 8,32 mmol) en tolueno anhidro (38 ml) se le añade clorhidrato de N-[(4-metoxifenil)metil]hidroxilamina (2,05 g, 10,82 mmol) y trietil-amina (1,74 ml, 12,48 mmol). Se añade etóxido de titanio (IV) (6,09 ml, 29,13 mmol) y la mezcla se calienta a 75 °C durante 5 horas. La reacción se enfría a temperatura ambiente, se añaden agua (60 ml) y acetato de etilo (50 ml) y la mezcla se agita durante 10 minutos y se filtra a través de tierra de diatomeas. Las fases se separan y la fase orgánica se seca

sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra al vacío. El material en bruto se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetona al 0-40 % en iso-hexanos para dar el compuesto del título (2,9 g, 76 %). ES/EM (m/e): 412 (M+1).

5 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 29 con calentamiento que varía de 2,5 horas a 6 horas.

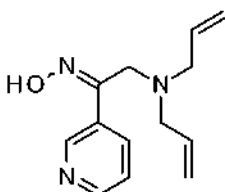
Tabla 6

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
30 ^a	1-[(4-Metoxifenil)metil]-6a-(2-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirroló[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de <i>tert</i> -butilo		412 (M+1)
31	1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahidropirroló[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de <i>tert</i> -butilo		413 (M+1)
32 ^b	1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(4-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirroló [3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de <i>tert</i> -butilo		412 (M+1)

^a Purificación es por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo al 0-50 % en iso-hexanos.
^b Purificación es por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo al 0-100 % en iso-hexanos.

Preparación 33

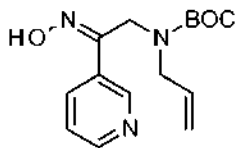
2-(Dialilamino)-1-(3-piridil)etanona oxima



10 Se disuelve 2-(dialilamino)-1-(3-piridil)etanona (4,75 g, 21,96 mmol) en etanol (47 ml) en una atmósfera de nitrógeno. Después, se añaden clorhidrato de hidroxilamina (3,55 g, 50,51 mmol) y piridina (2,5 ml, 30,75 mmol). La solución resultante se calienta a 70 °C en atmósfera de nitrógeno durante 140 minutos. Después, la reacción se enfría a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó parcialmente a presión reducida. El residuo resultante se reparte entre hidróxido sódico acuoso 1 M (50 ml) y diclorometano (250 ml). Las fases se separan y la fase acuosa se vuelve a extraer con acetato de etilo (250 ml). Las capas orgánicas se combinan y los disolventes se evaporan. El material en bruto se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (3,95 g, 78 %) como una mezcla de isómeros E/Z. ES/EM (m/e): 232 (M+1).

20

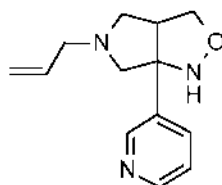
Preparación 34

N-Alil-N-[2-hidroxiimino-2-(3-piridil)etil]carbamato de *terc*-butilo

- 5 Se disuelve N-alil-N-[2-oxo-2-(3-piridil)etil]carbamato de *terc*-butilo (31,34 g 113,41 mmol) en etanol (110 ml) con agitación en atmósfera de nitrógeno. Se añaden clorhidrato de hidroxilamina (18,31 g, 260,85 mmol) y piridina (12,84 ml, 158,78 mmol). La solución resultante se calienta a 80 °C en atmósfera de nitrógeno durante 2 horas y después se enfría a temperatura ambiente. Los disolventes se evaporan parcialmente y el residuo resultante se reparte después entre hidróxido sódico 2 M (150 ml) y diclorometano (500 ml). Las fases se separan y la fase acuosa se vuelve a extraer con diclorometano (2 x 250 ml). Los extractos orgánicos se combinan y se evaporan a presión reducida. El producto en bruto se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (30,34 g, 91,82 %) como una mezcla de isómeros E/Z. ES/EM (m/e) M+1=292.

Preparación 35

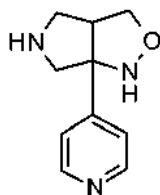
5-Alil-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrollo[3,4-c]isoxazol



- 15 Una solución de 2-(dialilamino)-1-(3-piridil)etanaoixima (3,95 g, 17,08 mmol) en tolueno (56 ml) se calienta a 120 °C durante 18 horas. El disolvente se retira a presión reducida. El producto en bruto se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (2,14 g, 43 %). ES/EM (m/e): 232 (M+1).

Preparación 36

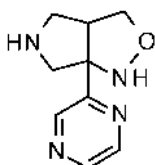
6a-(4-Piridil)-1,3,3a,4,5,6-hexahidropirrollo[3,4-c]isoxazol



- 25 A una solución de 1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(4-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrollo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de *terc*-butilo (1,3 g, 3,16 mmol) en diclorometano (30 ml) se le añade ácido trifluoroacético (7 ml, 94,77 mmol). La solución resultante se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentra y el residuo resultante se mantiene a temperatura ambiente durante una noche. Después, este residuo se carga en una solución de intercambio iónico y la columna se eluye primero con metanol seguido de una solución de amoníaco 2 M/metanol. La fracción básica deseada se recoge y se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título (592 mg, 98 %). ES/EM (m/e): 192 (M+1).

Preparación 37

6a-Pirazin-2-il-1,3,3a,4,5,6-hexahidropirrollo[3,4-c]isoxazol

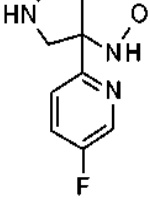


Se añade ácido trifluoroacético (40 ml) a una solución en agitación de 6a-pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-

5 pirrolo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de *terc*-butilo (5,14 g, 17,58 mmol) en diclorometano (200 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agita durante 1 hora y los disolventes se evaporan a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en metanol (100 ml) y se cargan en una columna de intercambio iónico (50 g) y la columna se eluye primero con metanol (110 ml) seguido de una solución de amoníaco 7 M/metanol (150 ml). Esta fracción básica se concentra a presión reducida para dar un producto en bruto que se purifica adicionalmente por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (2,4 g, 71 %). ES/EM (m/e): 193 (M+1).

El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 37.

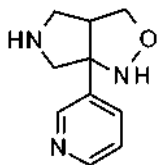
Tabla 7

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
38 ^a	6a-(5-Fluoro-2-piridil)-1,3,3a,4,5,6-hexahidropirrolo[3,4-c]isoxazol		210 (M+1)
^a El tiempo de reacción es 2 horas y la purificación es mediante columna de intercambio iónico que eluye primero con metanol seguido de una solución de amoníaco 2 M /metanol.			

10

Preparación 39

6a-(3-Piridil)-1,3,3a,4,5,6-hexahidropirrolo[3,4-c]isoxazol



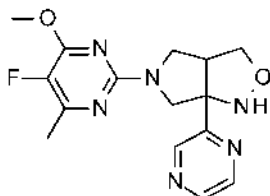
15

20

Se disuelven 5-Alil-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahydro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol (2,14 g, 7,40 mmol) y ácido N,N-dimetilbarbitúrico (6,93 g, 44,41 mmol) en cloroformo (80 ml) y la solución resultante se desgasifica dos veces usando nitrógeno líquido. Se añade *tetraquis*(trifenilfosfina)paladio (1,28 g, 1,11 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se concentra a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en una mezcla 1:1 de dimetilsulfóxido/metanol (40 ml) y la solución se carga en una columna de intercambio catiónico. El material se eluye con metanol (70 ml), después con una solución de amoníaco 7 M/metanol (70 ml). La fracción básica se recoge y se concentra a presión reducida. El producto se purifica adicionalmente por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-15 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (1,28 g, 86 %). ES/EM (m/e): 192 (M+1).

Preparación 40

5-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-6a-pirazin-2-il-1,3,3a,4,6-tetrahydro-1H-pirrolo [3,4-c]isoxazol



25

30

A una solución en agitación de 6a-pirazin-2-il-1,3,3a,4,5,6-hexahidropirrolo[3,4-c]isoxazol (1,4 g, 7,28 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) se le añade 2-cloro-5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidina (5,14 g, 29,13 mmol) y diisopropiletilamina (5,7 ml, 32,77 mmol). La solución resultante se calienta a 110 °C durante 4 horas. La reacción se enfría y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (0,93 g, 38 %). ES/EM (m/e): 333 (M+1).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 40 usando la pirimidina apropiada con tiempos de calentamiento que varían de 4 h a 4,5 h y temperatura en el intervalo de 100-110 °C.

Tabla 8

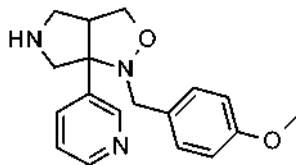
Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
41	5-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-6a-pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahydro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol		331 (M+1)
42	5-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahydro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol		330 (M+1)
43 ^a	6a-(5-Fluoro-2-piridil)-5-(5-fluoropirimidin-2-il)-3,3a,4,6-tetrahydro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol		306 (M+1)
44 ^b	5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-6a-(4-piridil)-3,3a,4,6-tetrahydro-1H-pirrol[3,4-c]isoxazol		288 (M+1)

^a La purificación es por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-12 % de una solución de amoníaco 2 M/metanol en diclorometano.
^b La purificación es por cromatografía de intercambio iónico que primero eluye con metanol, después con amoníaco 2 M/metanol para obtener el compuesto del título.

5

Preparación 45

1-[(4-Metoxifenil)metil]-6a-(3-piridil)-3a,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-c]isoxazol

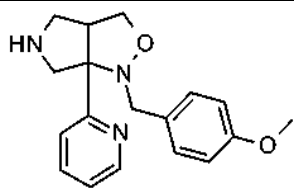
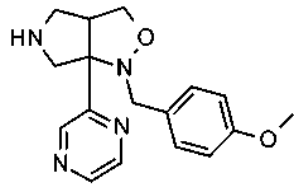


10 A una solución en agitación de 1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrol[3,4-c]isoxazol
 -5-carboxilato de *tert*-butilo (2,9 g, 7,05 mmol) en diclorometano (80 ml) se le añade ácido trifluoroacético (16 ml). La
 mezcla de reacción se agita durante 1 hora 30 minutos a temperatura ambiente. El disolvente se concentra y el residuo
 se reparte entre bicarbonato sódico acuoso saturado (30 ml) y diclorometano (100 ml). La solución resultante se agita
 durante 30 minutos, después las fases se separan. La fase acuosa se vuelve a extraer con diclorometano. Los
 extractos de diclorometano combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran al vacío para
 15 dar un residuo. El residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una

solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (1,33 g, 43 %). ES/EM (m/e): 312 (M+1).

El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 45.

Tabla 9

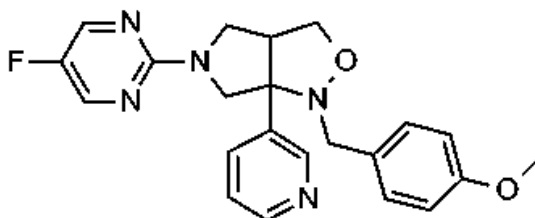
Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
46 ^a	1-[(4-Metoxifenil)metil]-6a-(2-piridil)-3a,4,5,6-tetrahidro-3H-pirrolo[3,4-c]isoxazol		312 (M+1)
47 ^b	1-[(4-Metoxifenil)metil]-6a-pirazin-2-il-3a,4,5,6-tetrahidro-3H-pirrolo[3,4-c]isoxazol		313 (M+1)

^a No se produce tratamiento acuoso, la reacción se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía de intercambio iónico que eluye después con metanol con una solución de amoníaco 2 M/metanol.
^b No se produce tratamiento acuoso, la reacción se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía de intercambio iónico eluyendo con metanol luego con una solución de amoníaco 2 M/ metanol para dar el producto que se purifica adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano.

5

Preparación 48

5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(3-piridil)-3a,4,6-tetrahidropirrolo[3,4-c]isoxazol



10 A una solución en agitación de 1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(3-piridil)-3a,4,5,6-tetrahidro-3H-pirrolo[3,4-c]isoxazol (1,33 g, 4,27 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) se le añade 2-cloro-5-fluoro-pirimidina (2,55 g, 19,22 mmol) y diisopropiletilamina (3,72 ml, 21,36 mmol). La solución resultante se calienta a 110 °C durante 3 horas. La reacción se enfría y el disolvente se evapora al vacío para dar un residuo. El residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (1,11 g, 54 %). ES/EM (m/e): 408 (M+1).

15 El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 48.

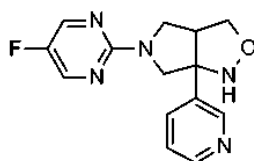
Tabla 10

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
49 ^a	5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(2-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrolo [3,4-c]isoxazol		408 (M+1)
50	5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahidropirrolo [3,4-c]isoxazol		409 (M+1)

^a La reacción se completa en 2 horas a 110 °C y la purificación es por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de 0 al 8 % de una solución de amoníaco 2 M/metanol en diclorometano.

Preparación 51

5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol,



5

10

Una solución de 5-(5-fluoropirimidin-2-il)-1-[(4-metoxifenil)metil]-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrolo[3,4-c]isoxazol (1,11 g, 2,32 mmol) en ácido trifluoroacético (9,3 ml) se agita a 60 °C durante 1 hora. El disolvente se evapora y el residuo resultante se reparte entre diclorometano (100 ml) y una solución acuosa saturada de carbonato sódico (25 ml). La fase orgánica se separa y la fase acuosa se vuelve a extraer dos veces con diclorometano (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y el disolvente se evaporó al vacío para dar un residuo que se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (0,64 g, 96 %). ES/EM (m/e): 288 (M+1).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 51.

Tabla 11

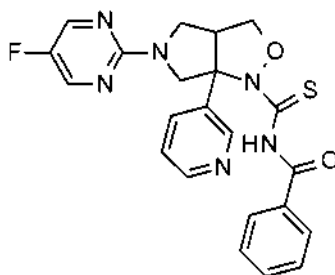
Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
52 ^a	5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-6a-(2-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol		288 (M+1)
53 ^b	5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-6a-pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrolo [3,4-c]isoxazol		289 (M+1)

^a Se purificó por cromatografía de intercambio iónico eluyendo con tetrahidrofurano, después con una solución de amoníaco 7 M/metanol/tetrahidrofurano para obtener el compuesto del título.

^b Se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico eluyendo con metanol y después con una solución de amoníaco 2 M/metanol para obtener un producto que se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano.

Preparación 54

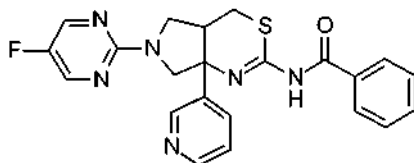
N-[5-(5-Fluoropirimidin-2-il)-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrollo[3,4-c]isoxazol-1-carbotioil]benzamida



- 5 Se añadió gota a gota isotiocianato de benzoilo (511 ml 3,79 mmol) a una solución en agitación de 5-(5-fluoropirimidin-2-il)-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrollo[3,4-c]isoxazol (640 mg, 2,23 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agita a 0 °C durante 1 hora y se calienta a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se evapora al vacío y el residuo resultante se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (1,1 g, cuantitativo). ES/EM (m/e): 451 (M+1).

10 Preparación 55

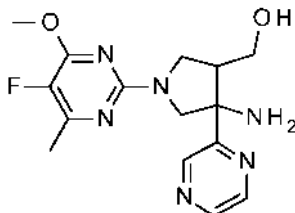
N-[6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida



- 15 Una mezcla de N-[5-(5-fluoropirimidin-2-il)-6a-(3-piridil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrollo[3,4-c]isoxazol-1-carbotioil] benzamida (550 mg, 1,22 mmol) y polvo de cinc (798,33 mg, 12,21 mmol) en ácido acético (5 ml) se sometió a sonicación durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla se extrae con acetato de etilo (100 ml) y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (30 ml). La fase acuosa se vuelve a extraer tres veces con diclorometano (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran para dar un residuo. El residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el intermedio de N-[[1-(5-fluoropirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-(3-piridil)pirrolidin-3-il]carbamoil]benzamida (145 mg). Esta se disuelve en diclorometano (6 ml) y se enfría a 0 °C. Después, se añade 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (0,05 g, 374,19 mmol) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora. Se añaden una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (10 ml) y diclorometano (100 ml). Las fases se separan y la fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra. El residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el producto del título (110 mg, 17 %). ES/EM (m/e): 435 (M+1).

Preparación 56

[4-Amino-1-(5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-4-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]metanol



- 30 Una solución de 5-(5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-6a-pirazin-2-il-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrollo[3,4-c]isoxazol (0,92 g, 2,77 mmol) en etanol (40 ml) se hidrogena a 0,34 MPa (50 psi) en presencia de níquel Raney (en forma de una suspensión en agua) (2,7 g, 45,54 mmol) durante 5 horas usando un hidrogenador PARR. Se añade metanol y el catalizador se retira por filtración a través de una capa de tierra de diatomeas. El lecho de tierra de diatomeas se lava con metanol. Los filtrados combinados se concentran a presión reducida para dar el compuesto del título (0,92 g, 99 %). ES/EM (m/e): 335 (M+1).

- 35 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 56 con un tiempo de

reacción que varía de 5 h a 3 días usando ya sea un hidrogenador PARR o un hidrogenador de flujo.

Tabla 12

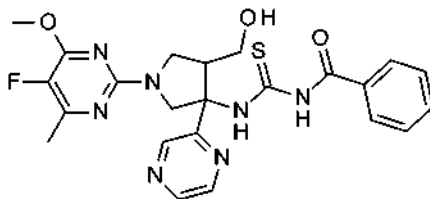
Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
57	[4-Amino-1-(5-fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-4-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]metanol		333 (M+1)
58	[4-Amino-1-(5-fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-4-(3-piridil)pirrolidin-3-il]metanol		332 (M+1)
59	3-amino-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidina-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		295 (M+1)
60	[4-Amino-1-(5-fluoropirimidin-2-il)-4-(2-piridil)pirrolidin-3-il]metanol		290 (M+1)
61	[4-Amino-4-(5-fluoro-2-piridil)-1-(5-fluoropirimidin-2-il)pirrolidin-3-il]metanol		308 (M+1)
62	3-amino-4-(hidroximetil)-3-(3-piridil)pirrolidina-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		294 (M+1)

(continuación)

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
63	[4-Amino-1-(5-fluoropirimidin-2-il)-4-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]metanol		291 (M+1)
64	[4-Amino-1-(5-fluoropirimidin-2-il)-4-(4-piridil)pirrolidin-3-il]metanol		290 (M+1)

Preparación 65

N-[[1-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]carbamtioil]benzamida



5

10

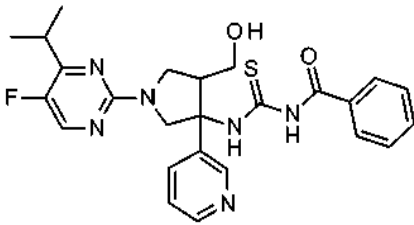
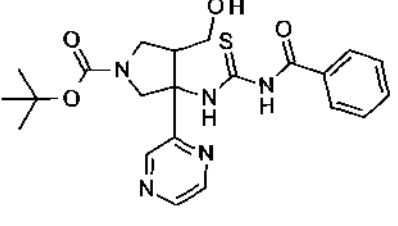
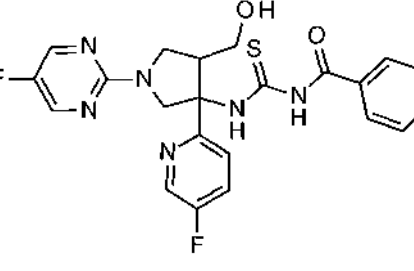
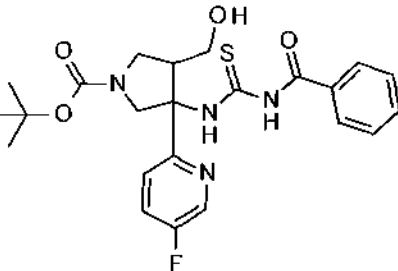
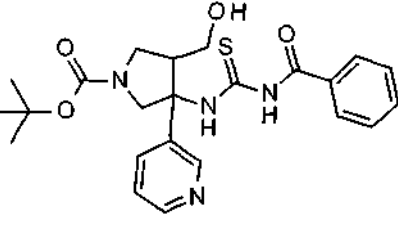
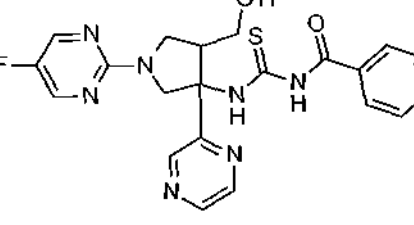
A una solución en agitación de [4-amino-1-(5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-4-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]metanol (930 mg, 2,78 mmol) en tetrahidrofurano (29 ml) en una atmósfera de nitrógeno se le añade isotiocianato de benzóilo (613 ml, 4,45 mmol). Después de agitar la reacción a temperatura ambiente durante 1 hora el disolvente se retira a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (1,32 g, 95 %). ES/EM (m/e): 498 (M+1).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 65.

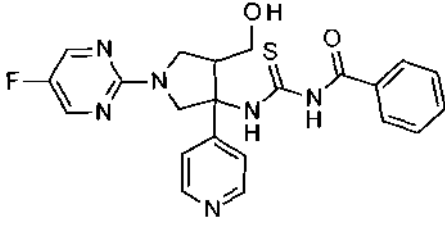
Tabla 13

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
66	N-[[1-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]carbamtioil]benzamida		496 (M+1)

(continuación)

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
67 ^a	N-[[1-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-(3-piridil)pirrolidin-3-il]carbamoil]benzamida		495 (M+1)
68	3-(benzoilcarbamoilamino)-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidina-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		458 (M+1)
69 ^b	N-[[[3-(5-Fluoro-2-piridil)-1-(5-fluoropirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]benzamida		471(M+1)
70 ^c	3-(benzoilcarbamoilamino)-3-(5-fluoro-2-piridil)-4-(hidroximetil)pirrolidin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		475 (M+1)
71 ^d	3-(benzoilcarbamoilamino)-4-(hidroximetil)-3-(3-piridil)pirrolidin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo		457 (M+1)
72 ^a	N-[[1-(5-Fluoropirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]carbamoil]benzamida		454 (M+1)

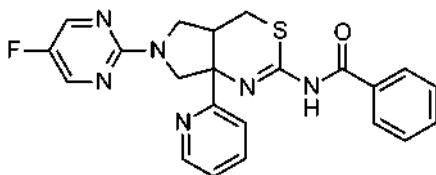
(continuación)

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
73 ^e	N-[[1-(5-Fluoropirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-(4-piridil)pirrolidin-3-il]carbamoil]benzamida		453 (M+1)

^a Condiciones de purificación: columna de gel de sílice eluida con un gradiente al 0-10 % de solución de amoníaco 0,14 M/ metanol en diclorometano.
^b Condiciones de purificación: columna de gel de sílice eluida con un gradiente de 0-15 % de una solución de amoníaco 2 M/metanol en diclorometano.
^c La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente durante el fin de semana. El producto se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente al 0-40 % de acetona en diclorometano.
^d La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente durante 1 h 20 min. El producto se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano.
^e La reacción se lleva a cabo a 0 °C durante 1 hora, se diluye con acetato de etilo y se lava con solución salina. La capa orgánica se seca y se concentra para dar el compuesto del título.

Preparación 74

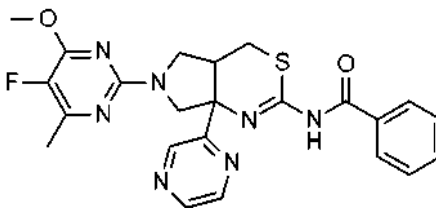
N-[6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrololo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica



- 5 Se disuelve 4-amino-1-(5-fluoropirimidin-2-il)-4-(2-piridil)pirrolidin-3-il]metanol (240 mg, 0,83 mmol) en tetrahidrofurano (25 ml). La mezcla se enfría a 0 °C en nitrógeno y se añade isotiocianato de benzoílo (120 mg, 0,74 mmol). La mezcla resultante se agita durante 30 minutos. Se añaden trifenilfosfina (260 mg, 0,981 mmol) seguido de azodicarboxilato de diisopropilo (340 mg, 1,68 mmol) y la reacción se deja calentar a temperatura ambiente.
- 10 Después de una hora la reacción se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-50 % de tetrahidrofurano en ciclohexano. Este se purifica adicionalmente por SFC aquiral (Cromatografía de fluidos supercríticos) (Columna: Princeton DNP (dinitrofenilo) (5 m), 21,2 x 250 mm; eluyente: gradiente de metanol al 15-30 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 65 ml/min a UV 240 nm) para dar el compuesto del título (160 mg, 44 %). ES/EM (m/e): 435 (M+1).

Preparación 75

- 15 N-[6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrololo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica



- 20 Se añade 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (492 ml, 3,71 mmol) a una solución en agitación de N-[[1-(5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidin-3-il]carbamoil]benzamida (1,32 g, 2,65 mmol) en diclorometano (30 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita durante 1 hora 30 minutos. Después, se añade una solución saturada acuosa de bicarbonato sódico (20 ml) seguido de diclorometano (70 ml). Las capas se separan y la capa acuosa se vuelve a extraer con diclorometano (70 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de magnesio y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo resultante

5 se disuelve en metanol (40 ml) y se carga en una columna de intercambio iónico. La columna se eluye con metanol (60 ml) después con una solución de amoníaco 7 M/metanol (100 ml). La fracción de disolvente básico se recoge y se evaporó a presión reducida. El residuo aislado se purifica adicionalmente por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (820 mg, 64 %). ES/EM (m/e): 480 (M+1).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 75.

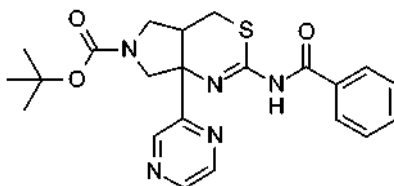
Tabla 14

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
76	N-[6-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica		478 (M+1)
77	N-[6-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica		477 (M+1)
78 ^a	N-[7a-(5-Fluoro-2-piridil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica		453 (M+1)
79	N-[6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica		436 (M+1)
80 ^b	N-[6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(4-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica		435 (M+1)

^a No se usa purificación de intercambio iónico. La purificación consistió en cromatografía en columna de gel de sílice usando un paso isocrático de acetato de etilo al 30% en isohexanos seguido por un gradiente hasta el 80% de acetato de etilo en isohexanos para dar el compuesto del título.

^b La reacción se lleva a cabo a 0 °C durante 1 hora seguido de temperatura ambiente durante 16 horas. La purificación es mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de 0 al 5 % de amoníaco 2 M/metanol en cloroformo para dar el compuesto del título.

Preparación 81

2-benzamido-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-Butilo racémico

- 5 Se añade 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (409,71 ml, 3,10 mmol) a una solución en agitación de 3-(benzolcarbamotioylamino)-4-(hidroximetil)-3-pirazin-2-il-pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,09 g, 2,38 mmol) en diclorometano (30 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar la reacción a temperatura ambiente durante 3 horas, se añade una solución saturada acuosa de carbonato sódico (15 ml) y la mezcla se agita durante 5 minutos. Se añade diclorometano (80 ml) y las capas se separan. La capa acuosa se vuelve a extraer con diclorometano (70 ml).
- 10 Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de magnesio y se concentran a presión reducida. El producto aislado se disuelve en metanol (60 ml) y se purifica por cromatografía en columna de intercambio iónico eluyendo con metanol (60 ml), después con una solución de amoníaco 7 M/metanol (120 ml). LA fracción básica se recoge y el producto resultante se purifica adicionalmente por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el producto del título (747 mg, 71 %). ES/EM (m/e) 440 (M+1).
- 15 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 81.

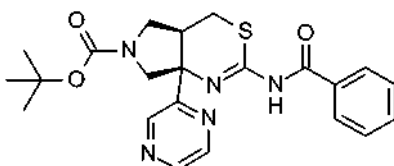
Tabla 15

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
82 ^a	2-benzamido-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de <i>tert</i> -butilo racémico		457 (M+1)
83 ^b	2-benzamido-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de <i>tert</i> -butilo racémico		439 (M+1)

^a El tiempo de reacción es 18 horas y el material se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-12 % de acetona en diclorometano para dar el compuesto del título.

^b El material se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título.

Preparación 84

(4aR,7aR)-2-benzamido-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo

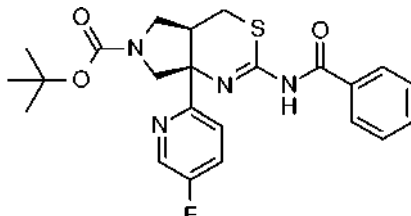
20

Se separa 2-benzamido-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo racémico se separa en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Cromatografía de fluidos supercríticos) (Columna: Chiralpak AD-H (5 μ), 30 X 250 mm; eluyente: isopropanol al 50 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo:

120 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluye en primer lugar es el compuesto del título.

Preparación 85

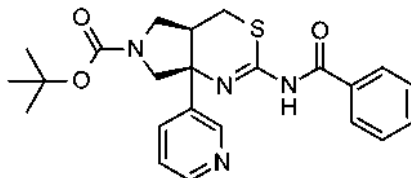
(4aR,7aR)-2-benzamido-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo



- 5 Se separa 2-benzamido-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo racémico en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralpak AD-H (5 μ), 30 X 250 mm; eluyente: metanol al 40 % (dietilmetilamina al 0 %) en CO₂; flujo: 120 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluye en segundo lugar es el compuesto del título.

Preparación 86

- 10 (4aR,7aS)-2-benzamido-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo

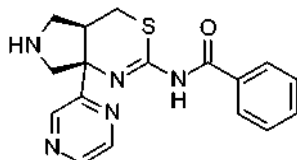


Se separa 2-benzamido-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo racémico en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralpak AD-H (5 μ), 30 X 250 mm; eluyente: isopropanol al 35 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 130 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluyó en primer

- 15 lugar es el compuesto del título.

Preparación 87

N-[(4aR,7aR)-7a-Pirazin-2-il-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida



- 20 Se añade ácido trifluoroacético (1,5 ml) a una solución en agitación de (4aR,7aR)-2-benzamido-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *tert*-butilo (299 mg, 0,680 mmol) en diclorometano (6 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agita a temperatura ambiente durante 80 minutos y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en metanol (20 ml) y esta solución se carga en una columna de intercambio iónico y eluyendo con metanol, después con una solución de amoníaco 7 M/metanol. La fracción básica se recoge y se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título (231 mg, cuantitativo).
- 25 ES/EM (m/e): 340 (M+1).

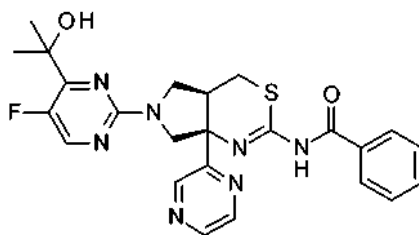
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 87.

Tabla 16

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
88	N-[(4aR,7aR)-7a-(5-Fluoro-2-piridil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		357 (M+1)
89	N-[(4aR,7aS)-7a-(3-Piridil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		339 (M+1)

Preparación 90

5 N-[(4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida



10 Se disuelve N-[(4aR,7aR)-7a-pirazin-2-il-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (231 mg, 0,680 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml). Se añaden 2-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)propan-2-ol (648,60 mg, 3,40 mmol) y diisopropilamina (653 ml, 3,74 mmol). La reacción se calienta a 110 °C durante 6 horas, después se enfría a temperatura ambiente y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-5 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (330 mg, 98 %). ES/EM (m/e): 494 (M+1).

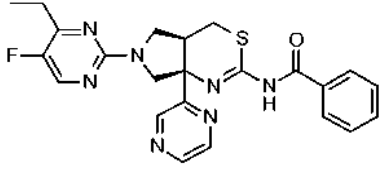
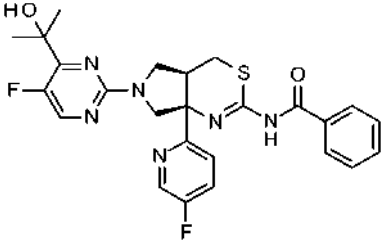
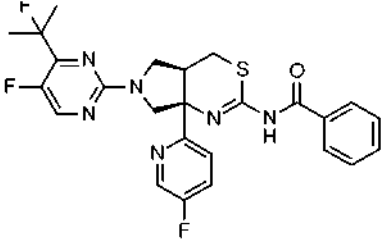
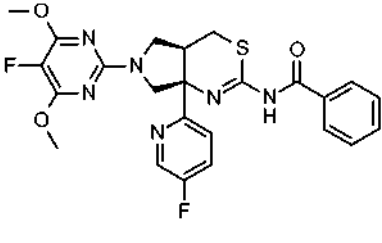
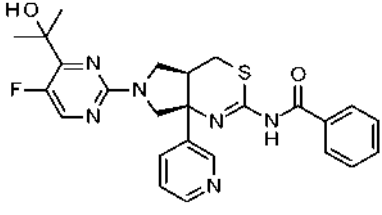
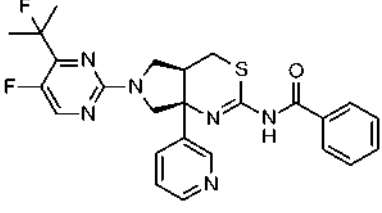
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de Preparación 90

Tabla 17

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
91	N-[(4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		496 (M+1)

15

(continuación)

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
92 ^a	N-[(4aR,7aR)-6-(4-Etil-5-fluoro-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		464 (M+1)
93 ^b	N-[(4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		511 (M+1)
94 ^c	N-[(4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		513 (M+1)
95	N-[(4aR,7aR)-6-(5-Fluoro-4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		513 (M+1)
96	N-[(4aR,7aS)-6-[5-Fluoro-4-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		493 (M+1)
97	N-[(4aR,7aS)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		495 (M+1)

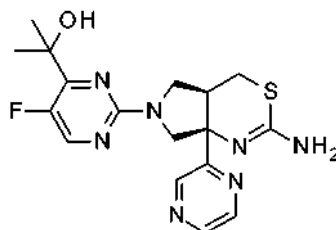
(continuación)

Prep. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
98 ^e	N-[(4aR,7aS)-6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida		479 (M+1)

^a La reacción se calienta durante 8 horas.
^b La reacción se calienta durante 1 hora 30 minutos. El producto se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de metanol al 0-20 % en diclorometano.
^c La reacción se calienta durante una noche. El producto se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de metanol al 0-20 % en diclorometano.
^d La reacción se calienta a 110 °C durante 23 horas. Se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de metanol al 0-20 % en diclorometano.
^e La reacción se calienta a 110 °C durante una noche. Se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de metanol en diclorometano

Ejemplo A

2-[2-[(4aR,7aR)-2-Amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol



5

Se disolvió N-[(4aR,7aR)-6-[5-fluoro-4-(1-hidroxi-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (330 mg, 0,668 mmol) en metanol (8 ml) con agitación. Se añadió hidróxido de litio (42,51 mg, 1 mmol) y la reacción se calienta a 60 °C durante 5 horas 30 minutos. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se cargó en una columna de gel de sílice. La columna se eluyó con un gradiente al 0-5 % de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano. El producto obtenido se purificó adicionalmente por HPLC preparativa usando un gradiente B al 10 % a B al 100 % durante 9 minutos a 60 ml/minuto (columna= Phenomenex Gemini NX C18, 30x 100 mm, 5 µm. Fase móvil A: agua con bicarbonato de amonio 10 mM, el pH se ajustó a pH 10 con amoníaco. Fase móvil B: acetonitrilo) para dar el compuesto del título (146 mg, 56 %). ES/EM (m/e): 390 (M+1).

10

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del Ejemplo A.

15

Tabla 18

Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
B	(4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d] [1,3]tiazin-2-amina		392 (M+1)

(continuación)

Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
C	(4aR,7aR)-6-(4-Etil-5-fluoro-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		360 (M+1)
D ^a	2-[2-[(4aR,7aR)-2-Amino-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol		407 (M+1)
E ^b	(4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d] [1,3]tiazin-2- amina		409 (M+1)
F ^a	(4aR,7aR)-6-(5-Fluoro-4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d] [1,3]tiazin-2-amina		409 (M+1)
G	2-[2-[(4aR,7aS)-2-Amino-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol		389 (M+1)
H	(4aR,7aS)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metil-etil)pirimidin-2-il]-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d] [1,3]tiazin-2-amina		391 (M+1)

(continuación)

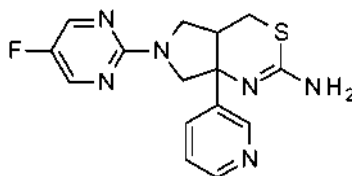
Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
I	(4aR,7aS)-6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d] [1,3]tiazin-2-amina		375 (M+1)

^a La purificación es por CLEM preparativa usando un gradiente B al 10 % a B al 100 % a 45 ml/minuto (columna = X-Bridge C18, 30x 100 mm, 5 µ. Fase móvil A: agua con bicarbonato de amonio 10 mM, pH se ajustó a pH 10 con amoníaco. Fase móvil B: 50/50 de metanol/acetonitrilo).

^b La purificación es por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-20 % de NH₃ 2 M en una solución de metanol en diclorometano

Ejemplo J

6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica



- 5 A una solución en agitación de N-[6-(5-fluoropirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-il] benzamida (110 mg, 0,210 mmol) en etanol (10 ml) se le añadieron piridina (187 ml 2,31 mmol) y clorhidrato de O-metilhidroxilamina (143 mg, 1,68 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C con agitación durante 17 horas. El disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente al 0-10 % de una solución de amoníaco 0,14 M/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título (62 mg, 89 %). ES/EM (m/e): 331 (M+1).
- 10

Los siguientes Ejemplos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del Ejemplo J con tiempos de reacción que varía de 2-18 h y una temperatura que varía de 65-80 °C.

Tabla 19

Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
K	6-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		373 (M+1)
L	6-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		374 (M+1)

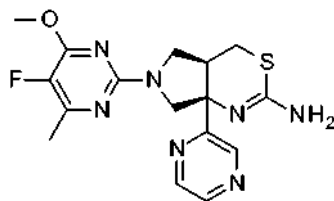
(continuación)

Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
M	6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		376 (M+1)
N	6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		331 (M+1)
O	7a-(5-Fluoro-2-piridil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		349 (M+1)
P	6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		332 (M+1)
Q ^a	6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(4-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica		331 (M+1)

^a La purificación es por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de 0 al 10 % de amoníaco 2 M/metanol en cloroformo para dar el compuesto del título

Ejemplo R

5 (4aR,7aR)-6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina

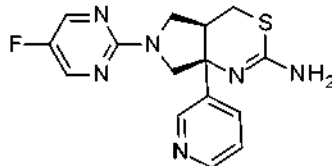


Se separó 6-(5-fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (490 mg, 1,3 mmol) en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralcel OD-H (5 µ), 21,2 X 250 mm; eluyente: metanol al 50 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que

eluyó en primer lugar fue el compuesto del título (206 mg, 32 %). ES/EM (m/e): 376 (M+1).

Ejemplo 1

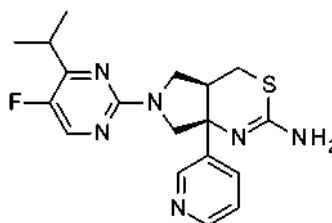
(4aR,7aS)-6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina



- 5 Se separó 6-(5-fluoropirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (137 mg, 0,415 mmol) en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralpak AD-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: isopropanol al 35 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluye en segundo lugar fue el compuesto del título (19 mg). ES/EM (m/e): 331 (M+1).

Ejemplo 2

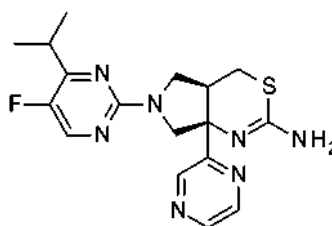
10 (4aR,7aS)-6-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina



- 15 Se separó 6-(5-fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (210 mg, 0,564 mmol) en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralcel OD-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: metanol al 25 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluye en primer lugar se purifica adicionalmente de nuevo por SFC quiral (Columna: Chiralcel OD-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: metanol al 15 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm) para obtener el compuesto del título (71 mg). ES/EM (m/e): 373 (M+1).

Ejemplo 3

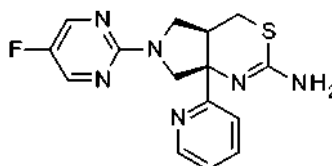
20 (4aR,7aR)-6-(5-Fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina, isómero 1



- 25 Se separó 6-(5-fluoro-4-isopropil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (127 mg, 0,340 mmol) en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralcel OD-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: etanol al 50 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluye en primer lugar fue el compuesto del título (54 mg). ES/EM (m/e): 374 (M+1).

Ejemplo 4

(4aR,7aR)-6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina

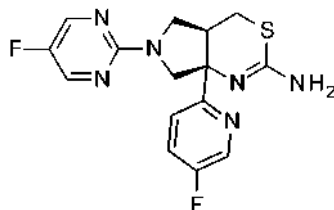


Se separó 6-(5-fluoropirimidin-2-il)-7a-(2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (82 mg)

en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralpak IC (5 μ), 30 X 250 mm; eluyente: isopropanol al 55 % (dietilmetilamina al 0,4 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 240 nm). El isómero que eluyó en primer lugar fue el compuesto del título (37,7 mg). ES/EM (m/e): 331 (M+1).

Ejemplo 5

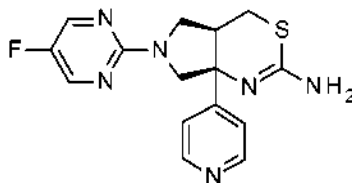
- 5 (4aR,7aR)-7a-(5-Fluoro-2-piridil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina, isómero-2



- 10 Se separó 7a-(5-fluoro-2-piridil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (60 mg, 0,172 mmol) en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralpak AD-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: etanol el 40 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluyó en segundo lugar fue el compuesto del título (23,8 mg). ES/EM (m/e): 349 (M+1).

Ejemplo 6

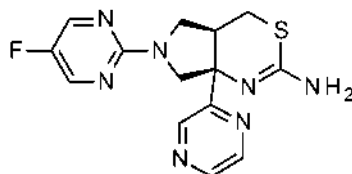
- (4aR,7aS)-6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-(4-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina, isómero-2



- 15 Se separó 6-(5-fluoropirimidin-2-il)-7a-(4-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (185 mg, 0,56 mmol) es sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralcel OJ-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: etanol al 25 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluyó en segundo lugar fue el compuesto del título (40 mg). ES/EM (m/e): 331 (M+1).

Ejemplo 7

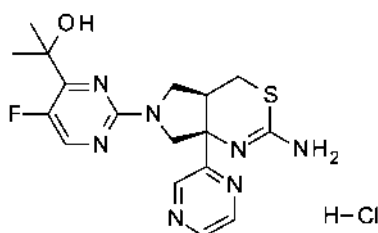
- 20 (4aR,7aR)-6-(5-Fluoropirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina, isómero 1



- 25 Se separó 6-(5-fluoropirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina racémica (520 mg, 1,57 mmol) en sus enantiómeros constituyentes por SFC quiral (Columna: Chiralcel OD-H (5 μ), 21,2 X 250 mm; eluyente: metanol al 45 % (dietilmetilamina al 0,2 %) en CO₂; flujo: 70 ml/min a UV 260 nm). El isómero que eluyó en primer lugar fue el compuesto del título (230 mg). ES/EM (m/e): 332 (M+1).

Ejemplo 8

Clorhidrato de 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoropirimidin-4-il]propan-2-ol

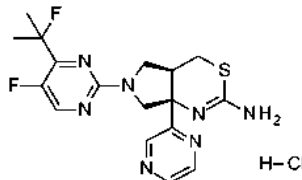
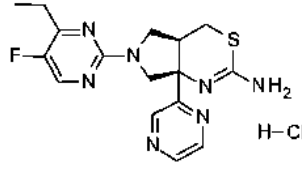
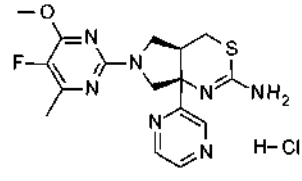
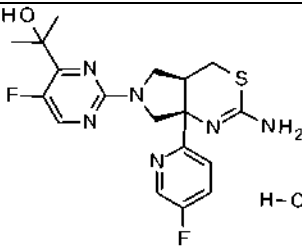
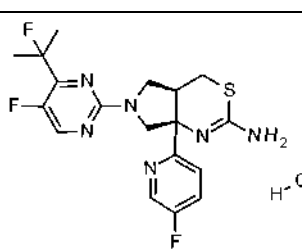
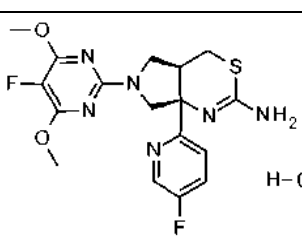


Se disolvió 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol (120 mg, 0,308 mmol) en HCl 0,1 M (3,1 ml) y acetonitrilo (1 ml). La solución resultante se secó por congelación para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. ES/EM (m/e): 390 (M+1).

Los siguientes compuestos se prepararon esencialmente por el procedimiento del Ejemplo 8.

5

Tabla 20

Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
9	clorhidrato de (4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metiletil)pirimidin-2-il]-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		392 (M+1)
10	clorhidrato de (4aR,7aR)-6-(4-etil-5-Fluoro-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		360 (M+1)
11	clorhidrato de (4aR,7aR)-6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló [3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		376 (M+1)
12	clorhidrato de 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol		407 (M+1)
13	clorhidrato de ((4aR,7aR)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metiletil)pirimidin-2-il]-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		409 (M+1)
14	clorhidrato de (4aR,7aR)-6-(5-fluoro-4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-7a-(5-fluoro-2-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		409 (M+1)

(continuación)

Ej. n.º	Nombre químico	Estructura	ES/EM (m/e)
15	clorhidrato de 2-[2-[(4aR,7aS)-2-Amino-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol		389 (M+1)
16	clorhidrato de (4aR,7aS)-6-[5-Fluoro-4-(1-fluoro-1-metiletil)pirimidin-2-il]-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		391 (M+1)
17	clorhidrato de (4aR,7aS)-6-(5-Fluoro-4-metoxi-6-metil-pirimidin-2-il)-7a-(3-piridil)-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina		375 (M+1)

Procedimientos del ensayo *In vitro*:

- 5 Para ensayos enzimáticos y celulares *In vitro*, los compuestos de prueba se preparan en DMSO para formar una solución madre 10 mM. La solución madre se diluye en serie en DMSO para obtener una curva de dilución de diez puntos con concentraciones de compuesto final que varían de 10 mM a 1 nM en una placa de fondo redondo de 96 pocillos antes de realizar los ensayos enzimáticos y de células enteras *In vitro*.

Preparación de BACE1 humana recombinante

- 10 El BACE1 humano (número de acceso: AF190725) se clona a partir del cDNA total del cerebro mediante PCR a temperatura ambiente. Las secuencias de nucleótidos correspondientes a las secuencias de aminoácidos n.º 1 a 460 se insertan en el ADNc que codifica el polipéptido IgG1 (Fc) humano (Vassar et al., 1999). Esta proteína de fusión de BACE1 (1-460) y Fc humano, denominada huBACE1: Fc, se construye en el vector pJB02. Human BACE1 (1-460): Fc (huBACE1: Fc) se expresa transitoriamente en células HEK293. 250 mg de cDNA de cada construcción se mezclan con Fugene 6 y se añaden a 1 litro de células HEK293. Cuatro días después de la transfección, los medios acondicionados se cosechan para su purificación. HuBACE1: Fc se purifica mediante cromatografía de Proteína A. La enzima se almacena a -80 °C en pequeñas alícuotas.
- 15

Ensayos de inhibición de proteasa *In vitro*:

Ensayo BACE1 FRET

- 20 Las diluciones en serie de los compuestos de prueba se preparan como se ha descrito anteriormente. Los compuestos se diluyen adicionalmente 20x en tampón KH₂PO₄. Se añaden diez µl de cada dilución a cada pocillo de la fila A a H de una placa negra de enlace de baja proteína correspondiente que contiene la mezcla de reacción (25 µl de KH₂PO₄ 50 mM, pH 4,6 TRITON® X-100 1 mM, 1 mg/ml albumina de suero bovino y 15 µM de sustrato FRET) (véase Yang, y col., J. Neurochemistry, 91 (6) 1249-59 (2004)). El contenido se mezcla bien en un agitador de placas durante 10 minutos. Se añaden a la placa que contiene el sustrato y los compuestos de prueba de quince µl de BACE1 humano de doscientos pM (1-460): Fc (Véase Vassar y col., Science, 286, 735-741 (1999)) en el tampón de KH₂PO₄ para iniciar la reacción. La RFU de la mezcla en el tiempo 0 se registra a una longitud de onda de excitación de 355 nm y una longitud de onda de emisión de 460 nm, después de una breve mezcla en un agitador de placas. La placa de reacción se cubre con papel de aluminio y se mantiene en un horno oscuro humidificado a temperatura ambiente durante 16 a 24 h. La RFU al final de la incubación se registra con los mismos ajustes de excitación y emisión utilizados en el tiempo 0. La diferencia de la RFU en el tiempo 0 y el final de la incubación es representativa de la actividad de BACE1 en el tratamiento del compuesto. Las diferencias de RFU se representan frente a la concentración de inhibidor y una curva
- 30

se ajusta con una ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los valores de CI_{50} . (Véase Sinha, et al., Nature, 402, 537 - 540 (2000)).

- 5 Los compuestos de los Ejemplos 1 - 17 de la presente invención se ensayaron esencialmente como se ha descrito anteriormente y mostraron un valor de CI_{50} para BACE1 de menos de aproximadamente 1 μ M. Los siguientes compuestos ejemplificados se ensayaron esencialmente como se ha descrito anteriormente y mostraron la siguiente actividad para BACE1:

Tabla 21

Ejemplo n.º	BACE1 CI_{50} (nM)
8	105 (\pm 28,0, n=5)
12	73,4 (\pm 13,8, n=6)
15	93,5 (\pm 22,7, n=4)
Medio \pm SEM; SEM = error estándar del medio	

- 10 Estos datos representativos demuestran que los compuestos de la Tabla 21 inhiben potentemente la actividad de la enzima BACE1 recombinante purificada *In vitro*.

Ensayos de células enteras para medir la inhibición de la actividad de la beta-secretasina del ensayo de células enteras HEK293Swe

- 15 El ensayo de células enteras de rutina para la medición de la inhibición de la actividad beta-secretasa utiliza la línea de células de riñón embrionario humano HEK293p (Nº de acceso ATCC CRL-1573) que expresa de forma estable un ADNc de APP751 humano que contiene la mutación doble Lys651Met652 de origen natural a Asn651Leu652, comúnmente llamada la mutación sueca (anotada como HEK293/APP751sw) y se muestra que sobreproduce Abeta (Citron, y col., Nature, 360, 672-674 (1992)). Los ensayos de reducción de Abeta *In vitro* se han descrito en la bibliografía (Véase Dovey, y col., Journal of Neurochemistry, 76, 173-181 (2001); Seubert, y col., Nature, 361, 260 (1993); y Johnson-Wood, y col., Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos, 94, 1550-1555 (1997)).

- 20 Se incuban células (HEK293/APP751sw a $3,5 \times 10^4$ células/pocillo, conteniendo 200 μ l de medio de cultivo, DMEM que contiene FBS al 10 %) a 37 °C durante 4 a 24 h en presencia/ausencia de inhibidores (diluidos en DMSO) a la deseada concentración. Al final de la incubación, los medios acondicionados se analizan para detectar evidencia de actividad de beta-secretasa, por ejemplo, mediante el análisis de péptidos Abeta. Los péptidos Abeta totales (Abeta 1-x) se miden mediante un ELISA en sándwich, usando monoclonales 266 como anticuerpo de captura y 3D6 biotinilados como anticuerpos informadores. Alternativamente, los péptidos Abeta 1-40 y Abeta 1-42 se miden mediante un ELISA en sándwich, usando 2G3 monoclonal como anticuerpo de captura para Abeta 1-40, y 21F12 monoclonal como anticuerpo de captura para Abeta 1-42. Ambos Abeta 1-40 y Abeta 1-42 ELISAs usan 3D6 biotinilados como el anticuerpo informante. La concentración de Abeta liberada en el medio acondicionado después del tratamiento del compuesto corresponde a la actividad de BACE1 en tales condiciones. La curva de inhibición de 10 puntos se traza y se ajusta con la ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los valores de CI_{50} para el efecto de disminución de Abeta. Los siguientes compuestos ejemplificados se ensayaron esencialmente como se ha descrito anteriormente y mostraron la siguiente actividad para el efecto de disminución de Abeta:

Tabla 22

Ejemplo	CI_{50} (nM) de ELISA de A-beta (1-40) de HEK 293 Swe	CI_{50} (nM) de ELISA de A-beta (1-42) de HEK 293 Swe
8	242	395

- 35 Estos datos demuestran que el compuesto de la Tabla 22 inhibe BACE1 endógeno humano nativo en células *In vitro*.

Ensayo Neuronal Primario de PDAPP

- 40 También se ejecuta un ensayo confirmatorio de células enteras en cultivos neuronales primarios generados a partir de ratones embrionarios transgénicos PDAPP. Se preparan neuronas corticales primarias a partir de embriones embrionarios PDAPP del día 16 y se cultivan en placas de 96 pocillos (15×10^4 células/pocillo en DMEM/F 12 (1:1) más FBS al 10 %). Después de 2 días *In vitro*, los medios de cultivo se reemplazan con DMEM/F12 libre de suero (1:1) que contiene el complemento B27 y Ara-C 2 μ M (final) (Sigma, C1768). Al día 5, las neuronas se incuban *In vitro* a 37 °C durante 24 h en presencia/ausencia de inhibidores (diluidos en DMSO) a la concentración deseada. Al final de la incubación, los medios acondicionados se analizan para detectar evidencia de actividad de beta-secretasa, por

ejemplo, mediante el análisis de péptidos Abeta. Los péptidos Abeta totales (Abeta 1-x) se miden mediante un ELISA en sándwich, usando monoclonales 266 como anticuerpo de captura y 3D6 biotinilados como anticuerpos informadores. Alternativamente, los péptidos Abeta 1-40 y Abeta 1-42 se miden mediante un ELISA en sándwich, usando 2G3 monoclonal como anticuerpo de captura para Abeta 1-40, y 21F12 monoclonal como anticuerpo de captura para Abeta 1-42. Ambos Abeta 1-40 y Abeta 1-42 ELISAs usan 3D6 biotinilados como el anticuerpo informante. La concentración de Abeta liberada en el medio acondicionado después del tratamiento del compuesto corresponde a la actividad de BACE1 en tales condiciones. La curva de inhibición de 10 puntos se traza y se ajusta con la ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los valores de CI_{50} para el efecto de disminución de Abeta. Los siguientes compuestos ejemplificados se ensayaron esencialmente como se ha descrito anteriormente y mostraron la siguiente actividad para el efecto de disminución de Abeta:

Tabla 23

Ejemplo	CI_{50} (nM) de ELISA de A-beta (1-40) de neuronas de PDAPP	CI_{50} (nM) de ELISA de A-beta (1-42) de neuronas de PDAPP
8	455	412
12	109	83,1
15	98,2	80,1

Estos datos demuestran que los compuestos de la Tabla 23 inhiben la BACE1 murina endógena nativa en células *In vitro*.

15 Inhibición *in vivo* de Beta-Secretasa

Pueden usarse varios modelos animales, incluyendo ratón, rata, conejillo de indias, perro y mono, para detectar la inhibición de la actividad de la beta-secretasa *in vivo* después del tratamiento del compuesto. Los animales utilizados en esta invención fueron ratones PDAPP transgénicos como se describe en Games et al., Nature 373, 523-527 (1995), que han sido útiles para analizar la inhibición *in vivo* de la producción de Abeta en presencia de compuestos inhibidores. A los ratones PDAPP de dos meses se les administra compuesto formulado en N-metilpirrolidona (Pharmasolve®) en agua. Tres horas después de la administración del compuesto, los animales se sacrifican y los cerebros se retiran para el análisis de fragmentos de Abeta. (Véase Dovey, y col., Journal of Neurochemistry, 76, 173-181 (2001); y Johnson-Wood, y col., Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos, 94, 1550-1555 (1997)).

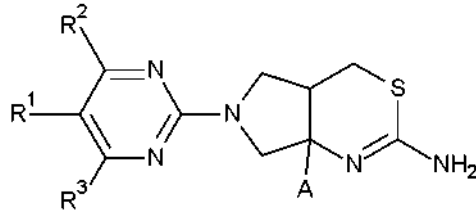
Para los estudios farmacológicos estándar *in vivo*, los animales se dosifican con diversas concentraciones de compuesto y se comparan con un grupo de control tratado con vehículo dosificado al mismo tiempo. Al final del período de prueba, los animales se sacrifican y los tejidos cerebrales se analizan para determinar la presencia de péptidos Abeta mediante ensayos ELISA sandwich específicos. "Péptido 1-xa Abeta" como se usa en el presente documento se refiere a la suma de especies Abeta que comienzan con el residuo 1 y terminan con un extremo C-terminal mayor que el residuo 28. Esto detecta la mayoría de las especies Abeta y se denomina a menudo "Abeta total".

Los animales (PDAPP u otros ratones transgénicos o no transgénicos de APP) administrados a un compuesto inhibidor pueden demostrar la reducción de Abeta en tejidos cerebrales en comparación con los controles tratados con vehículo o controles de tiempo cero. Por ejemplo, 3 horas después de la administración de una dosis oral de 10 mg/kg o 30 mg/kg del compuesto del Ejemplo 8 a ratones PDAPP hembras jóvenes, los niveles de péptido 1-x de Abeta se reducen significativamente aproximadamente del 19 % al 46 % en el cerebro hipocampo y aproximadamente del 23 % al 53 % respectivamente en la corteza cerebral, en comparación con los ratones tratados con vehículo. La reducción significativa y sensible a la dosis de Abeta total después de la administración oral del compuesto del Ejemplo 8 es consistente con un mecanismo de la inhibición de BACE (la enzima beta-secretasa) *in vivo*. Estos estudios muestran que los compuestos de la presente invención inhiben BACE y son, por lo tanto, útiles en la reducción de los niveles de Abeta. Como tal, los compuestos de la presente invención son inhibidores eficaces de BACE.

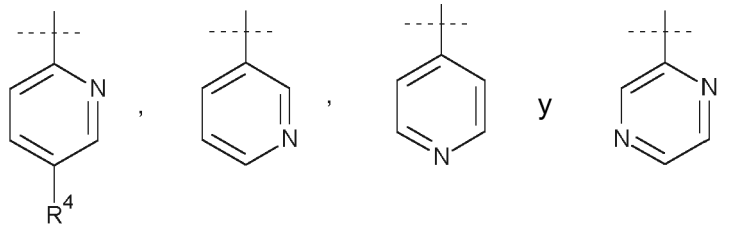
40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:

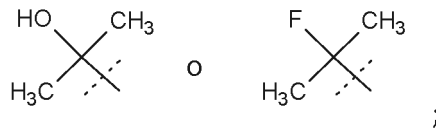


en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en;



5

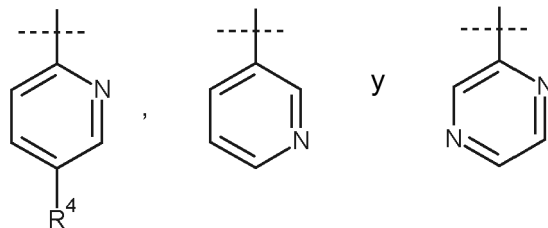
R¹ es H o F;
R² es H, -OCH₃, alquilo C1-C3,



10

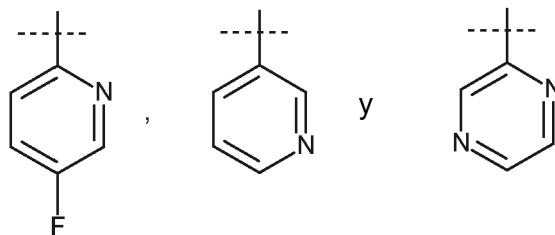
R³ es H, -CH₃, o -OCH₃; y
R⁴ es H o F;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1 en el que A se selecciona entre el grupo que consiste en:

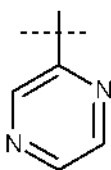


15

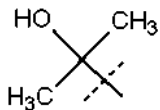
3. Un compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en el que A se selecciona entre el grupo que consiste en:



4. Un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en el que A es:



5. Un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que R² es



6. Un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que R¹ es F.

5 7. Un compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1 que es 2-[2-[(4aR,7aR)-2-amino-7a-pirazin-2-il-4,4a,5,7-tetrahidropirroló[3,4-d][1,3]tiazin-6-il]-5-fluoro-pirimidin-4-il]propan-2-ol.

8. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en terapia.

10 9. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

10. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende adicionalmente otro u otros agentes terapéuticos.