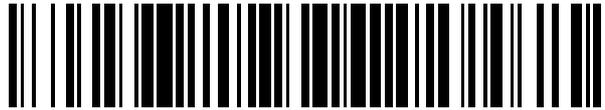


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 905**

51 Int. Cl.:

C07D 498/04 (2006.01)

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/5365 (2006.01)

A61K 31/5415 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.06.2014 PCT/US2014/041825**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2014 WO14204730**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2014 E 14734712 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 3010925**

54 Título: **Inhibidores de BACE**

30 Prioridad:

18.06.2013 US 201361836175 P

13.09.2013 US 201361877373 P

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

07.03.2018

73 Titular/es:

ELI LILLY & COMPANY (100.0%)

Lilly Corporate Center

Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

GREEN, STEVEN JAMES;

HEMBRE, ERIK JAMES;

MERGOTT, DUSTIN JAMES;

SHI, YUAN;

WATSON, BRIAN MORGAN y

WINNEROSKI JR., LEONARD LARRY

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 657 905 T3

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

DESCRIPCION

Inhibidores de BACE

5 **Descripción**

La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de BACE, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, a compuestos para su uso en procedimientos para tratar trastornos fisiológicos, y a productos intermedios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

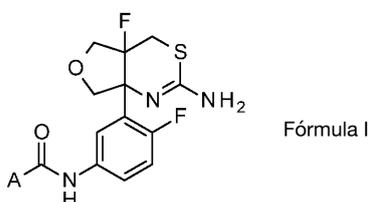
10 La presente invención está en el campo del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades y trastornos que implican el péptido amiloide β (Abeta), un segmento peptídico neurotóxico y muy alta agregación de la proteína precursora amiloide (APP). La enfermedad de Alzheimer es un desorden neurodegenerativo devastador que afecta a millones de pacientes en todo el mundo. En vista de los agentes actualmente aprobados en el mercado
15 que solo proporcionan beneficios transitorios y sintomáticos para el paciente, existe una importante necesidad insatisfecha en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

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

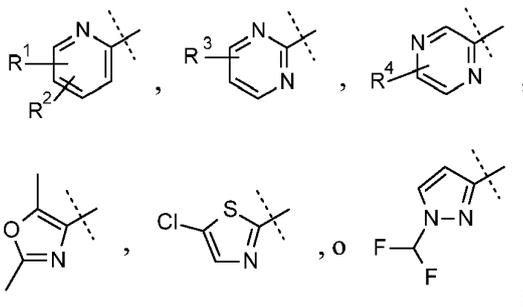
20 El documento US 2012/0202804 describe derivados de aminodihidro-oxazina fusionados que poseen actividad inhibidora de BACE y se describen adicionalmente como agentes terapéuticos útiles para una enfermedad neurodegenerativa causada por el péptido Abeta, tal como la demencia de tipo Alzheimer. El documento US 8.158.620 describe derivados de aminodihidrotiazina fusionados que poseen actividad inhibidora de BACE y se describen adicionalmente como agentes terapéuticos útiles para una enfermedad neurodegenerativa causada por el péptido Abeta, tal como la demencia tipo Alzheimer. También se describen compuestos similares con la misma actividad en los documentos US 2009/209755, WO 2011/009898. El documento US 2012/0245155 divulga compuestos heterocíclicos fusionados que también poseen actividad inhibidora de BACE y se describen
35 adicionalmente como útiles para tratar la enfermedad de Alzheimer.

Se desea que los inhibidores de BACE con penetración en el sistema nervioso central (SNC) proporcionen tratamientos para los trastornos mediados por el péptido Abeta, tales como la enfermedad de Alzheimer. La presente invención proporciona ciertos nuevos compuestos que son inhibidores de BACE. Además, la presente invención proporciona ciertos nuevos compuestos que penetran en el SNC. La presente invención también proporciona ciertos compuestos novedosos que tienen el potencial de un perfil de efectos secundarios mejorado.

40 Por lo tanto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I:



45 en la que A es:



50

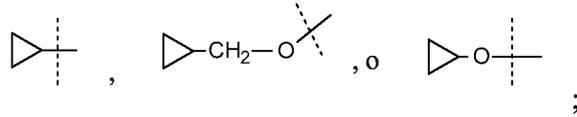
R¹ es H, F, Cl, CN, OCH₂CF₃, o OCH₂CF₂CHF₂;

R² es H, CH₃, F, o Cl;

R³ es H, F, o Cl; y

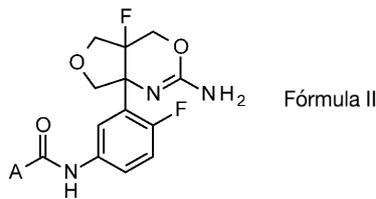
R⁴ es H, F, Cl, CH₃, OCH₃, CF₃, OCH₂CF₃,

5



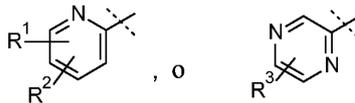
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 La presente invención además proporciona un compuesto de Fórmula II:



en la que A es:

15



R¹ es H, F, Cl, CN, o OCH₂CF₃;

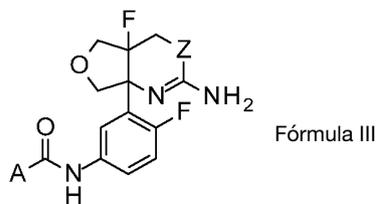
R² es H, F, Cl, o CH₃; y

20 R³ es H, OCH₃, o OCH₂CF₃;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

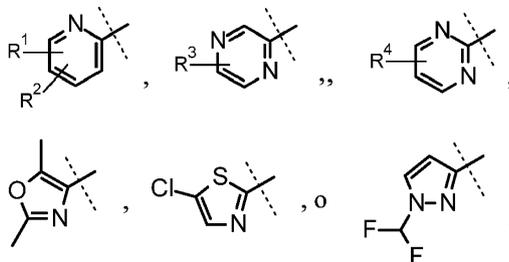
La presente invención proporciona además un compuesto de Fórmula III:

25



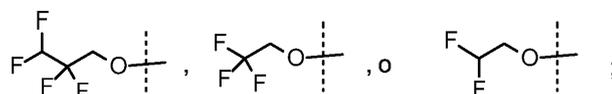
en la que A es:

30



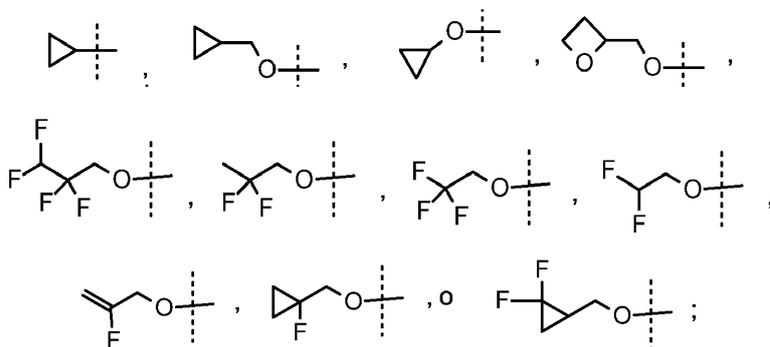
Z es O o S;

35 R¹ es H, F, Cl, CN, OCH₃, OCH₂CH₂OCH₃,



R² es H, F, Cl, o CH₃;

R³ es H, F, Cl, CH₃, CF₃, alcoxi C1-C3, OCH₂CH₂OCH₃,



10 y
R⁴ es H, F, Cl, o OCH₃;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La presente invención también proporciona compuestos para su uso en un procedimiento de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmulas I, II o III, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

20 La presente invención proporciona además compuestos para usar en un procedimiento para prevenir la progresión del deterioro cognitivo leve de la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmulas I, II, o III, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. La presente invención también proporciona compuestos para su uso en un procedimiento de inhibición de BACE en un paciente, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmulas I, II o III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención también proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir la escisión mediada por BACE de la proteína precursora de amiloide, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmulas I, II o III, o una farmacéutica sal aceptable de los mismos. La invención proporciona además compuestos para usar en un procedimiento para la inhibición de la producción del péptido Abeta, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmulas I, II o III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

Además, esta invención proporciona un compuesto de Fórmulas I, II, o III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo 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 de la enfermedad de Alzheimer. Incluso, además, esta invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmulas I, II o III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

35

La invención proporciona además una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de Fórmulas I, II, o III, 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 diferentes. Esta invención también abarca nuevos compuestos intermedios y procesos para la síntesis de los compuestos de Fórmulas I, II o III.

40

El deterioro cognitivo leve se ha definido como una fase prodrómica potencial de la demencia asociada con la enfermedad de Alzheimer basada en la presentación clínica y en la progresión de los pacientes que presentan deterioro cognitivo leve de la demencia de Alzheimer a lo largo del tiempo. (Morris, et al., Arch. Neurol., 58, 397-405 (2001); Petersen, et al., Arch. Neurol., 56, 303-308 (1999)). El término "prevención de la progresión del deterioro cognitivo leve de la enfermedad de Alzheimer" incluye ralentizar, detener o revertir la progresión del deterioro cognitivo leve de la enfermedad de Alzheimer en un paciente.

45

Como se usa en el presente documento, los términos "tratar" o "para tratar" incluyen restringir, ralentizar, detener o revertir la progresión o gravedad de un síntoma o trastorno existente.

50

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

55

Como se usa en el presente documento, el término "alcoxi C1-C3" se refiere a grupos metoxi, etoxi, n-propoxi e isopropoxi.

El término "inhibición de la producción del péptido Abeta" se refiere a la disminución de los niveles *in vivo* del péptido Abeta en un paciente.

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

10 Una cantidad efectiva puede ser determinada fácilmente por la persona encargada del diagnóstico, tal como un experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Al determinar la cantidad efectiva para un paciente, la persona encargada del diagnóstico considera varios factores, que incluyen, pero no se limitan a: la especie del paciente; su tamaño, edad y el estado general de salud; la enfermedad o trastorno específico involucrado; el grado de compromiso 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 de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

15 Los compuestos de la presente invención son generalmente eficaces en un amplio intervalo 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 mencionado anteriormente pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis mayores con efectos secundarios aceptables, y por lo tanto el intervalo de dosificación anterior no pretende limitar el alcance de la invención de ninguna manera.

20 Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier ruta que hace que el compuesto esté biodisponible, incluidas las rutas oral y parenteral. Más preferiblemente, tales composiciones son para administración oral. Dichas composiciones farmacéuticas y los procedimientos para su preparación son bien conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, editor, vigesimoprimera edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

25 Los compuestos de Fórmulas I, II y III, o sus sales farmacéuticamente aceptables son particularmente útiles en los procedimientos de tratamiento de la invención, pero se prefieren ciertos grupos, sustituyentes y configuraciones para los compuestos de Fórmulas I, II y III. Los siguientes párrafos describen dichos grupos preferidos, sustituyentes y configuraciones. Se entenderá que estas preferencias son aplicables tanto a los procedimientos de tratamiento como a los nuevos compuestos de la invención.

30 Por lo tanto, para compuestos de Fórmula I, o sus sales farmacéuticamente aceptables:

Se prefiere que A sea:



Además, se prefiere que A sea:



Se prefiere especialmente que A sea:



Se prefiere que R¹ sea CN o F, siendo especialmente preferido CN.

Se prefiere que R² sea H.

55 Se prefiere especialmente que cuando R¹ sea CN o F, R² sea H.

Además, se prefiere especialmente que cuando R¹ sea CN, R² sea H.

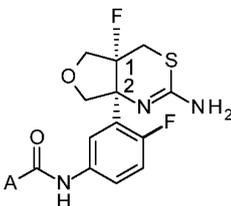
Además, se prefiere que R³ sea Cl.

También se prefiere que R⁴ sea OCH₃.

Un experto en la materia apreciará que los compuestos de Fórmula I están compuestos por un núcleo que contiene dos centros quirales como se muestra a continuación en el Esquema A:

5

Esquema A



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

Para compuestos de Fórmula II, o sus sales farmacéuticamente aceptables:

15

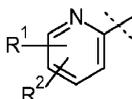
Se prefiere que R¹ sea CN.

Se prefiere que R² sea H.

20

Se prefiere que R³ sea OCH₃.

Se prefiere además que A sea:



25

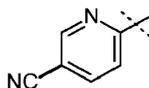
Se prefiere especialmente que cuando R¹ sea CN, R² sea H.

También se prefiere especialmente que A sea:



30

Se prefiere especialmente además que A sea:

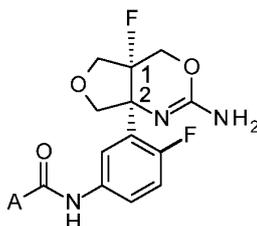


35

Un experto en la técnica apreciará que los compuestos de Fórmula II están compuestos por un núcleo que contiene dos centros quirales como se muestra a continuación en el Esquema B:

40

Esquema B



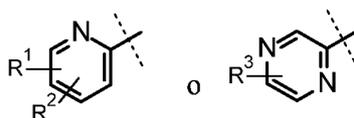
Aunque la presente invención contempla todos los enantiómeros y diastereómeros individuales, así como las mezclas de los enantiómeros de dichos compuestos, incluyendo racematos, los compuestos con la configuración absoluta en los átomos de carbono marcados 1 y 2 como se ilustra en el Esquema B son compuestos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

5 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Para compuestos de Fórmula III, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo:

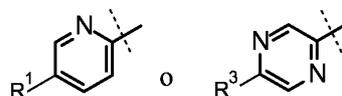
Se prefiere que A sea:

10



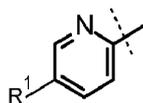
Se prefiere además que A sea:

15

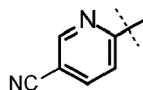


Se prefiere especialmente que A sea:

20



Lo más especialmente preferido es que A sea:



25

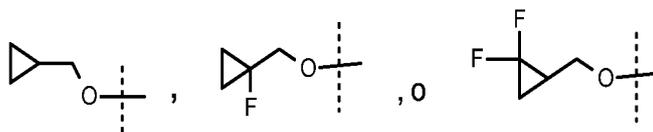
Se prefiere que R¹ sea CN.

Se prefiere que R² sea H.

Se prefiere además que cuando R¹ sea CN, R² sea H.

30

Se prefiere que R³ sea OCH₃, CH₂CF₃,

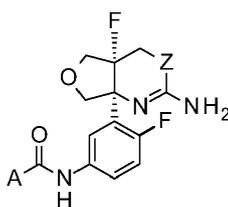


35

Se prefiere especialmente que R³ sea OCH₃.

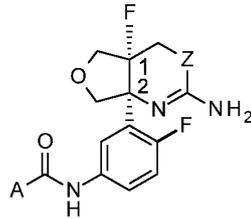
Se prefiere que los compuestos de Fórmula III estén en configuración (cis) alrededor de los anillos condensados como se muestra a continuación:

40



Además, un experto en la técnica apreciará que los compuestos de Fórmula III están compuestos por un núcleo que contiene dos centros quirales como se muestra a continuación en el Esquema C:

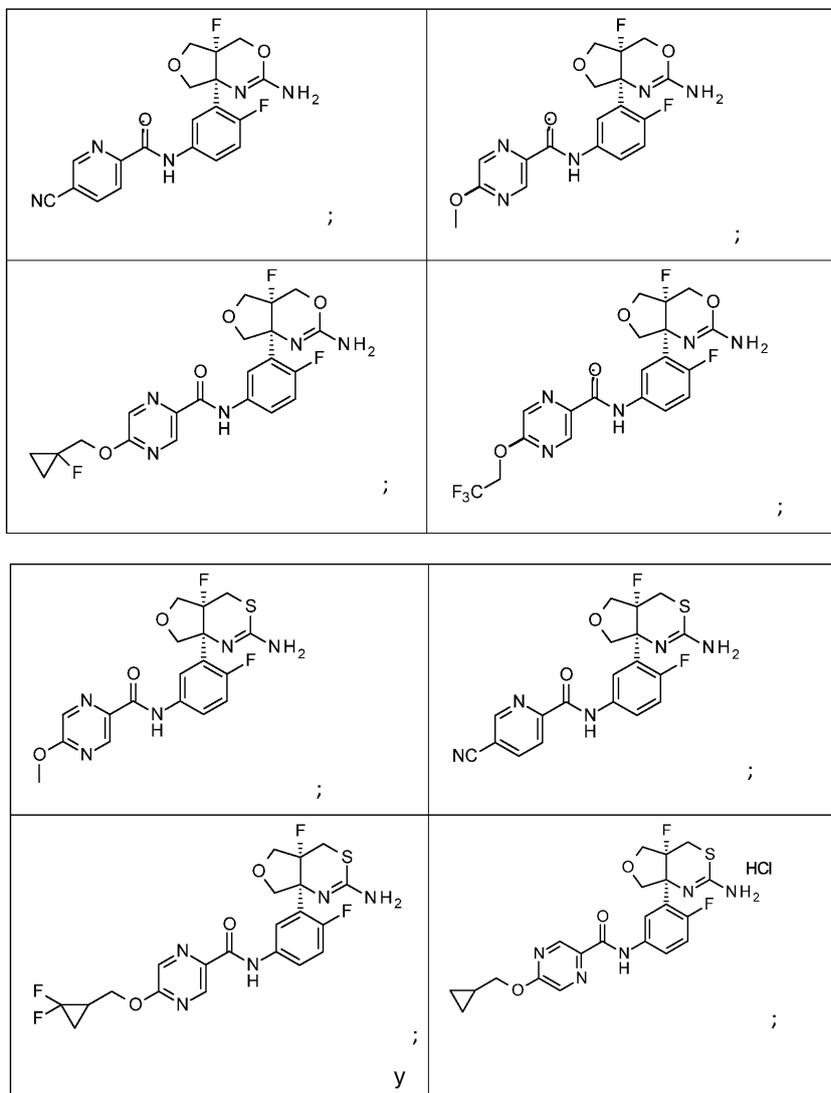
Esquema C



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

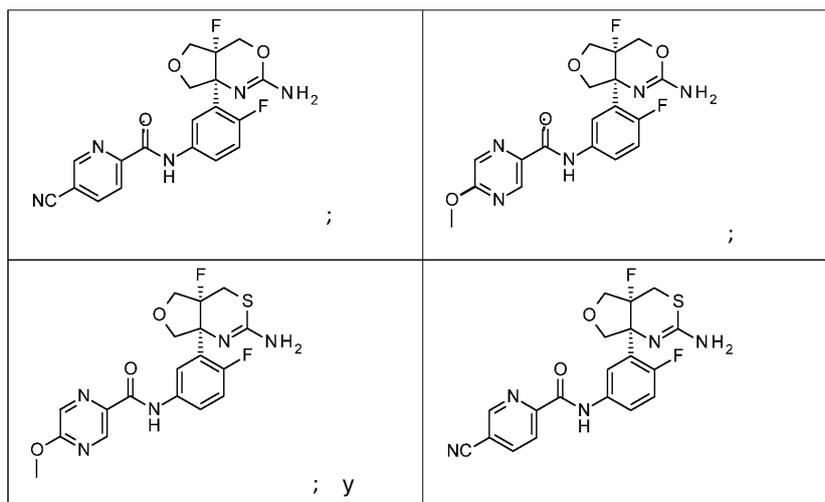
Los compuestos preferidos son:

10



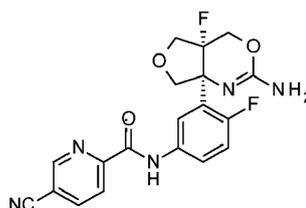
15 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos más preferidos son:



y sus sales farmacéuticamente aceptables

5 Se prefiere especialmente:



y sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Más particularmente, se prefieren los siguientes compuestos:

- 15 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida;
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida;
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-[(1-fluorociclopropil)metoxi]pirazin-2-carboxamida;
- 20 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazin-2-carboxamida;
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida;
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida;
- 25 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-[(2,2-difluorociclopropil)metoxi]pirazin-2-carboxamida; y
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(ciclopropilmetoxi)pirazin-2-carboxamida;

30 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos más preferidos son:

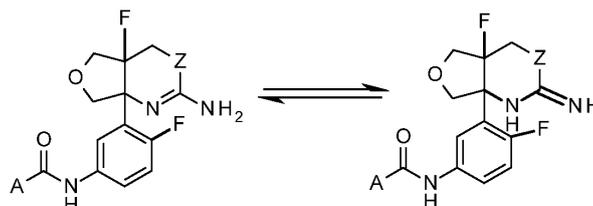
- 35 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida;
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida;
- N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida; y
- 40 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Un compuesto especialmente preferido es N-[3-[(4aR, 7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Un experto en la técnica apreciará que los compuestos de la invención pueden existir en formas tautómeras, como se representa en el Esquema D. Cuando se proporciona cualquier referencia en esta solicitud a uno de los tautómeros específicos de los compuestos de la invención, se entiende que abarca ambas formas tautoméricas y todas las mezclas de las mismas

Esquema D



Ciertos centros estereoquímicos se han dejado sin especificar y ciertos sustituyentes se han eliminado en los siguientes esquemas en aras de la claridad y no se pretende que limiten la enseñanza de los esquemas de ninguna manera. Además, los expertos en la técnica pueden separar o resolver isómeros, enantiómeros y diastereómeros individuales en cualquier punto conveniente en la síntesis de compuestos de Fórmulas I, II y III, mediante procedimientos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral. (Véase, por ejemplo, J. Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, y EL Eliel y SH Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Las designaciones "isómero 1" e "isómero 2" se refieren a los compuestos que eluyen en primer y segundo lugar de la cromatografía quiral, respectivamente, y si la cromatografía quiral se inicia temprano en la síntesis, la misma designación se aplica a compuestos intermedios y ejemplos posteriores.

Adicionalmente, ciertos compuestos intermedios descritos en los siguientes esquemas pueden contener uno o más grupos protectores de nitrógeno. El grupo protector variable puede ser el mismo o diferente en cada caso, dependiendo de las condiciones de reacción particulares y de las transformaciones particulares a realizar. Las condiciones de protección y desprotección son bien conocidas por los expertos en la técnica y se describen en la literatura (véase, por ejemplo, "Greene's Protective Groups in Organic Syntesis", cuarta edición, por Peter GM Wuts y Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

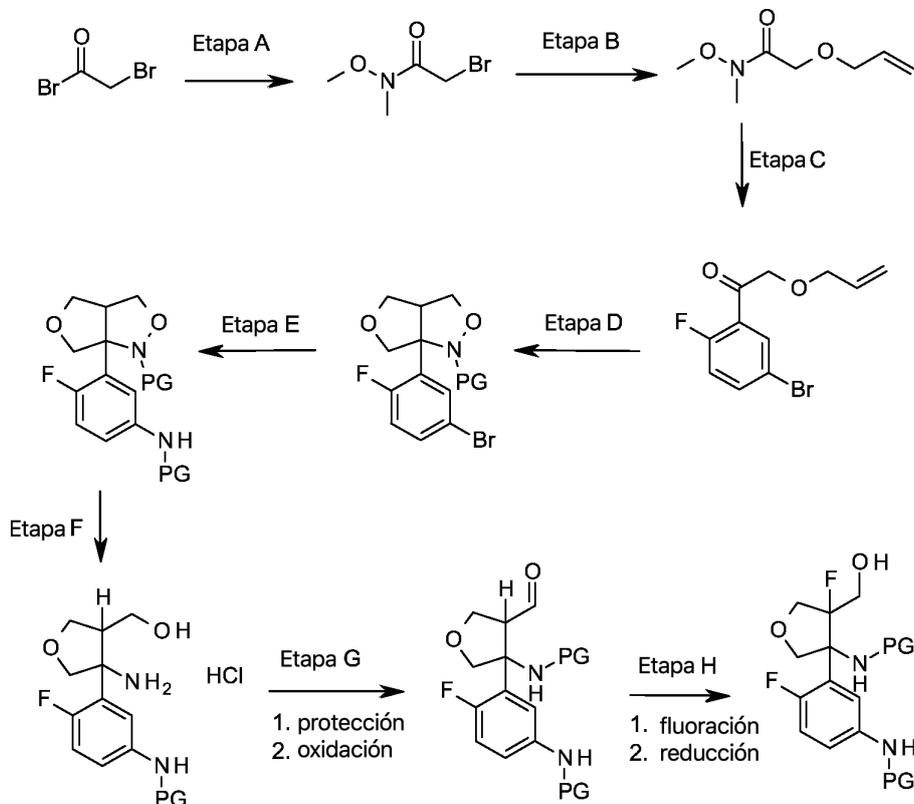
Ciertas abreviaturas se definen como sigue: "APP" se refiere a la proteína precursora amiloide; "CSF" se refiere a fluido cerebroespinal; "DCC" se refiere a 1,3-diciclohexilcarbodiimida; "DIC" se refiere a diisopropilcarbodiimida; "DIPEA" se refiere a diisopropiletilamina o N-etil-N-isopropil-propan-2-amina; "ACN" se refiere a acetonitrilo; "DMAP" se refiere a dimetilaminopiridina; "DMEM" se refiere al medio de Eagle modificado de Dulbecco; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EDCI" se refiere a clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida; "ee" se refiere a exceso enantiomérico; "Ej" se refiere a ejemplo; "F12" se refiere a medio F12 de Ham; "FBS" se refiere a suero fetal bovino; "FRET" se refiere a transferencia de energía de resonancia de fluorescencia; "HATU" se refiere a hexafluorofosfato de (dimetilamino)-N,N-dimetil(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-iloxi)metaniminio; "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-hidroxiilbenzotriazol; "HBTU" se refiere a hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50 % de la respuesta inhibitoria máxima posible para ese agente, "min" se refiere a minuto o minutos, "MeOH" se refiere a metanol o alcohol metílico, "MTBE" se refiere a metil terc-butil éter, "PDAPP" se refiere a proteína precursora amiloide derivada de plaquetas, "PG" se refiere a grupo protector, "Prep" se refiere a preparación, "PyBOP" se refiere a hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidin-fosfonio; "PyBrOP" se refiere a hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidin-fosfonio; "RFU" se refiere a unidad de fluorescencia relativa; "SCX" se refiere a intercambio fuerte de cationes; "SFC" se refiere a cromatografía de fluido supercrítico y "THF" a tetrahidrofurano.

Los compuestos de la presente invención, o sus sales, se pueden preparar 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 específicas de síntesis para cada una de las rutas descritas se pueden combinar de diferentes maneras, o junto con etapas de diferentes esquemas, para preparar compuestos de Fórmulas I, II y III, o sus sales. Los productos de cada etapa en los esquemas siguientes pueden recuperarse por procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica, incluyendo extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización. En los esquemas a continuación, todos los sustituyentes a menos

que se indique lo contrario, son como se definieron previamente. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para un experto en la técnica.

5

Esquema 1



10

En el Esquema 1, etapa A, se trata bromuro de bromoacetilo con clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamida bajo condiciones bien conocidas en la técnica, usando una base inorgánica, tal como carbonato de potasio o una base orgánica, tal como diisopropiletilamina, para proporcionar la amida de Weinreb.

15

En el Esquema 1, etapa B, se trata la amida de Weinreb con alcohol alílico y una base inorgánica, tal como carbonato de potasio, bajo condiciones bien conocidas en la técnica para proporcionar el éter alílico. Por ejemplo, la amida de Weinreb se agrega a aproximadamente 6-7 equivalentes de alcohol alílico y aproximadamente 2 equivalentes de una base adecuada, tal como carbonato de potasio durante aproximadamente 3 horas a aproximadamente 30 °C. La mezcla de reacción se agita durante aproximadamente 2 horas a aproximadamente 30 °C, y se agrega un disolvente orgánico adecuado, tal como tolueno. La mezcla luego se enfría a aproximadamente 0 °C y se filtra. La torta del filtro se lava con tolueno frío (aproximadamente 0 °C), y los filtrados orgánicos se combinan y enjuagan con bisulfato de potasio acuoso. La fase orgánica se concentra luego añadiendo tolueno adicional para eliminar el agua y el exceso de alcohol alílico. El compuesto orgánico se lava de nuevo con agua y luego se concentra para eliminar la mayor parte del tolueno. El residuo orgánico se destila finalmente para proporcionar el éter alílico.

20

25

En el Esquema 1, etapa C, 4-bromo-1-fluoro-2-yodobenceno reacciona con el éter alílico usando un reactivo de Grignard tal como cloruro de isopropilmagnesio para proporcionar la aliloxi etanona sustituida. Por ejemplo, se agrega aproximadamente 1 equivalente de un reactivo de Grignard adecuado, tal como cloruro de isopropilmagnesio en THF, a aproximadamente 0,95 equivalentes de 4-bromo-1-fluoro-2-yodobenceno en un disolvente orgánico adecuado, tal como THF, a aproximadamente 0 °C con agitación. Después de aproximadamente 60 minutos a aproximadamente 0 °C, se agrega aproximadamente 1 equivalente del éter alílico en un disolvente orgánico adecuado, tal como THF, durante aproximadamente 60 minutos. La reacción luego se inactiva con un exceso de cloruro de amonio acuoso a aproximadamente 0 °C. Se agrega un solvente orgánico adecuado, tal como heptanos, a la mezcla de reacción detenida con agitación a medida que la mezcla se calienta a temperatura ambiente. Las capas se separan luego y la capa orgánica se lava con agua, y se concentra con la adición de heptanos para eliminar el agua y el THF, proporcionando la aliloxi etanona.

30

35

En el Esquema 1, etapa D, el isoxazol bicíclico se puede formar a partir de la aliloxi etanona mediante varios procedimientos, tales como mediante el uso de un procedimiento de 2 etapas en el que se forma una oxima *in situ* usando hidroxilamina, y luego se cicla a la isoxazolidina bicíclica (PG = H). Alternativamente, se trata una

hidroxilamina sustituida, tal como sal de ácido p-toluenosulfónico de 1-fenilpropil-hidroxilamina, con bicarbonato de potasio seguido de calentamiento con tetraisopropóxido de titanio para producir lugar a una nitrona intermedia *in situ* que se cicla al isoxazol bicíclico protegido con nitrógeno. Por ejemplo, una sal de ácido p-toluenosulfónico de 1-fenilpropil-hidroxilamina adecuada, tal como sal de ácido p-toluenosulfónico de (R)-N-(1-fenilpropil)hidroxilamina (véase Patel, I; Smit, NA; Tyler, SNG Organic Process Research & Development 2009, 13, 49-53) se trata con aproximadamente 2,75 equivalentes de bicarbonato de potasio, agua y un disolvente orgánico adecuado, como MTBE. Las capas se separan y la capa orgánica se lava con cloruro de sodio acuoso. Se agrega un disolvente orgánico adecuado a la capa orgánica, y la mayoría del MTBE y agua se eliminan por destilación a aproximadamente 50 °C. Se agrega aproximadamente 1 equivalente de aproximadamente una solución al 20-25 % en peso de la aliloxi etanona en heptanos a la 1-fenilpropil-hidroxilamina en heptanos a aproximadamente 50 °C. Luego se agregan aproximadamente 1,5 equivalentes de tetraisopropóxido de titanio y la mezcla se calienta a aproximadamente 55-60 °C durante aproximadamente 10 horas (también se puede usar etóxido de titanio (IV)). Se aísla luego el isoxazol bicíclico protegido con nitrógeno bajo condiciones bien conocidas en la técnica, tales como concentración, enfriamiento y recolección por filtración.

En el Esquema 1, etapa E, el isoxazol bicíclico se convierte en la anilina bicíclica isoxazolidina protegida con nitrógeno. Por ejemplo, se combina aproximadamente 1 equivalente de la isoxazolidina bicíclica con aproximadamente 4 equivalentes de acetamida, aproximadamente 0,2 equivalentes de un catalizador adecuado, tal como yoduro de cobre (I), aproximadamente 0,7 equivalentes de yoduro de potasio, aproximadamente 2 equivalentes de fosfato tripotásico, y aproximadamente 0,8 equivalentes de N,N-dimetiletildiamina en un disolvente orgánico adecuado, tal como DMF. Luego se calienta la mezcla de reacción a aproximadamente 110 °C durante aproximadamente 4 horas. Se aísla la anilina isoxazolidina bicíclica protegida con nitrógeno se aísla usando técnicas y condiciones bien conocidas en el arte. Por ejemplo, la mezcla de reacción se enfría a aproximadamente 30 °C y se reparte entre un disolvente orgánico adecuado, tal como acetato de isopropilo y cloruro de amonio acuoso. Las capas se separan y la capa acuosa se extrae adicionalmente con acetato de isopropilo. Los extractos orgánicos se combinan, se lavan con cloruro de amonio acuoso, y la capa orgánica se mezcla con un disolvente orgánico adecuado, tal como xilenos. La mezcla orgánica luego se destila para eliminar la mayor parte del acetato de isopropilo y la DMF residual. La mezcla orgánica se enfría entonces a aproximadamente 0 °C y la anilina isoxazolidina bicíclica protegida con nitrógeno se recoge por filtración.

En el Esquema 1, etapa F, se puede abrir el anillo de la anilina isoxazolidina bicíclica protegida con nitrógeno y el nitrógeno de isoxazolidina también se desprotege bajo condiciones estándar bien conocidas en la técnica para proporcionar el amino-hidroximetil-tetrahidrofurano. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente del anillo de anilina isoxazolidina bicíclica protegida con nitrógeno se combina con aproximadamente 0,2 equivalentes de cloruro de cinc y se carga aproximadamente un 20 % en peso de catalizador de 5 % de paladio sobre carbono sulfitado humectado con agua suspendido en una mezcla de propanol/agua y aproximadamente 0,9 equivalentes de HCl. La mezcla se calienta a aproximadamente 50 °C bajo atmósfera de hidrógeno a aproximadamente 300-400 kPa durante aproximadamente 16 horas. Luego se elimina el catalizador por filtración y la torta del filtro se enjuaga con propanol. La mayor parte del agua se elimina luego del filtrado por destilación azeotrópica con más adición de propanol. Se agrega HCl adicional (aproximadamente 0,1 equivalentes) en agua y el sólido se recoge para proporcionar el amino-hidroximetil-tetrahidrofurano. Alternativamente, se puede usar zinc en polvo en HOAc o Ni Raney bajo condiciones de hidrogenación para abrir el anillo de isoxazolidina.

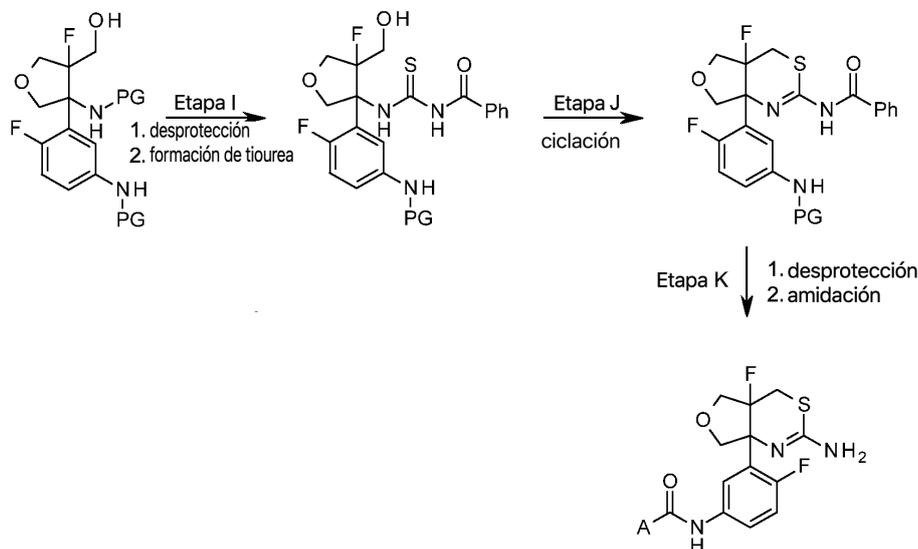
En el Esquema 1, etapa G, se protege primero el amino-hidroximetil-tetrahidrofurano con un grupo protector adecuado de nitrógeno. El grupo hidroxilo se oxida posteriormente bajo condiciones bien conocidas en la técnica para proporcionar el aldehído. Por ejemplo, el amino-hidroximetil-tetrahidrofurano se combina con aproximadamente 2-3 equivalentes de una base orgánica adecuada, tal como trietilamina y aproximadamente 1,2-1,4 equivalentes de un reactivo del grupo protector adecuado de nitrógeno, tal como dicarbonato de di-terc-butilo en un disolvente orgánico adecuado, tal como THF. La reacción se agita a aproximadamente 50 °C durante aproximadamente 15-18 horas y el compuesto intermedio resultante protegido con nitrógeno se aísla y se purifica usando técnicas bien conocidas en el arte. Por ejemplo, la reacción se enfría a temperatura ambiente y se concentra. El residuo se reparte entre ácido cítrico al 10 % y acetato de etilo, se extrae con acetato de etilo, se seca y se concentra para proporcionar el compuesto intermedio protegido con nitrógeno. Alternativamente, la reacción se enfría a temperatura ambiente, se filtra, los sólidos se lavan con acetato de etilo, y el filtrado se concentra a presión reducida. El residuo luego se purifica por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un eluyente adecuado, tal como gradiente de metanol: diclorometano de 0:10 a 1:10 para proporcionar el compuesto intermedio protegido con nitrógeno de la etapa G, subetapa 1. El compuesto intermedio protegido con nitrógeno se oxida luego al aldehído en condiciones bien conocidas por los expertos en la técnica en la etapa G, subetapa 2. Por ejemplo, el compuesto intermedio protegido con nitrógeno preparado directamente anteriormente, disuelto en un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano, se agrega a una mezcla en agitación de un agente oxidante adecuado, tal como aproximadamente 1,7 equivalentes de clorocromato de piridinio, tamices moleculares de 4Å, y aproximadamente 2,3 equivalentes de acetato de amonio en diclorometano. La suspensión se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 35 minutos hasta aproximadamente 2 horas. El compuesto aldehído resultante de la etapa G, subetapa 2 se aísla luego y se purifica usando técnicas bien conocidas en el arte. Por ejemplo, la mezcla de reacción se concentra parcialmente a presión reducida, se agrega un disolvente orgánico adecuado, tal como acetato de etilo, y la mezcla se filtra a través de gel de sílice. El gel de sílice se enjuaga adicionalmente con acetato de etilo, los filtrados se

combinan y luego se concentran a presión reducida para proporcionar el aldehído. Alternativamente, al compuesto intermedio protegido con nitrógeno preparado directamente anteriormente, disuelto en un disolvente orgánico adecuado, tal como DMSO, se le añade ácido 2-yodóxibenzoico (IBX) y la mezcla se agita durante aproximadamente 18 horas. La mezcla se agrega a una solución acuosa de carbonato de sodio, se agrega MTBE y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos, se filtra a través de tierra de diatomeas y la capa orgánica se recoge y se concentra para producir el compuesto aldehído de la etapa G, subetapa 2.

En el Esquema 1, etapa H, subetapa 1, el aldehído de la etapa G se somete a fluoración usando bis(tetrafluoroborato)de 1-clorometil-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octano (también denominado como Selectfluor^{MR}) para proporcionar el compuesto fluorado, y el aldehído se reduce luego en la subetapa 2 para producir el alcohol primario fluorado. Por ejemplo, el aldehído se disuelve en un disolvente orgánico adecuado, tal como THF y se trata con aproximadamente 1,08 equivalentes de una amina cíclica secundaria adecuada, tal como pirrolidina o D-(+)-prolina. La solución se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 5 a 10 minutos y se trata con aproximadamente 1,15 equivalentes de Selectfluor^{MR}, y la reacción se agita durante aproximadamente 2 a 3 horas. La reacción se inactiva luego con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrae con disolventes orgánicos adecuados, tales como acetato de etilo y diclorometano. Los extractos orgánicos se combinan, se secan sobre un agente de secado adecuado, tal como sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida. Alternativamente, se agregan aproximadamente 1,1 equivalentes de D-(+)-prolina a una solución del aldehído en 2,2,2-trifluoro-etanol que se trata con carbonato de potasio y tamices moleculares de 3 Å y se filtra antes del uso. También pueden usarse otros disolventes, tales como metanol, etanol, THF y diclorometano, que pueden producir diferentes diastereoselectividades. Se agregan tamices moleculares de 3Å (500 mg) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 4 horas. Se agregan aproximadamente 1,3 equivalentes de Selectfluor^{MR} a la mezcla y se agita durante aproximadamente 36 horas. La mezcla se concentra y se purifica usando técnicas bien conocidas en el arte para producir el producto fluorado no reducido de la etapa H, subetapa 1.

En la etapa H, subetapa 2, el residuo se disuelve en un disolvente orgánico adecuado, tal como metanol o etanol, tratado con 1,07-1,4 equivalentes de un agente reductor adecuado, tal como borohidruro de sodio o tetrahidrobórato de sodio, y la reacción se agita luego a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos a 2 horas. La reacción se inactiva después con bicarbonato de sodio acuoso saturado o se evapora para producir un residuo, y se extrae con disolventes orgánicos adecuados, tales como acetato de etilo y diclorometano. Los extractos orgánicos se combinan, se secan sobre un agente de secado adecuado, tal como sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida para proporcionar el alcohol primario fluorado crudo. Este material crudo se purifica después usando técnicas bien conocidas en el arte, tales como cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con un eluyente adecuado, tal como un gradiente de metanol:diclorometano de 0:10 a 1:10 o acetato de etilo/hexano (1:1) proporcionando el alcohol primario fluorado purificado de la etapa H. Otros procedimientos conocidos por los expertos en la técnica para llevar a cabo una fluoración directa utilizan Selectfluor^{MR}, un complejo de bisimina cobre (I) y catalizador de transferencia de fase aniónica y N-hidroxifalimida o N,N-dihidroxipiromelitimida y Selectfluor^{MR}. Los reactivos de fluoración, además de Selectfluor^{MR}, que se pueden usar incluyen los siguientes: trifluorometanosulfonato de N-fluoropiridinio y N-fluorobencenosulfonimida, que pueden producir diferentes diastereoselectividades.

Esquema 2



Fórmula I o Fórmula IIIa (ZesS)

En el Esquema 2, etapa I, el alcohol primario fluorado de la etapa H se desprotege en condiciones estándar, permitiendo que la amina desprotegida se convierta luego en tiourea utilizando condiciones bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, en la subetapa 1, desprotección, el alcohol primario fluorado se disuelve en un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano y se trata con un exceso de un ácido adecuado tal como aproximadamente 15 equivalentes de ácido trifluoroacético. La reacción se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 a 3 horas. La reacción se concentra luego a presión reducida, formando un azeótropo con tolueno. En la subetapa 2, formación de tiourea, el residuo se disuelve luego en un disolvente orgánico adecuado, tal como THF y se trata con aproximadamente 1,1 equivalentes de una amina orgánica adecuada, tal como trietilamina, y aproximadamente 1,06 equivalentes de isotiocianato de benzoilo. La reacción se agita luego a temperatura ambiente durante aproximadamente 16 a 18 horas y luego se inactiva con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La reacción inactivada se extrae a continuación con disolventes orgánicos adecuados, tales como acetato de etilo y diclorometano. Los extractos orgánicos se combinan, se secan sobre un agente de secado adecuado, tal como sulfato de magnesio anhidro, se filtran y se concentran a presión reducida para proporcionar el producto crudo tiourea de la etapa I. Este material crudo se purifica después usando técnicas bien conocidas en el arte, tales como cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con un eluyente adecuado, tal como un gradiente de metanol: diclorometano de 0:10 a 1:10 que proporciona la tiourea purificada.

En el Esquema 2, etapa J, ciclación, la tiourea de la etapa I se cicla a la aminotiazina bicíclica protegida en condiciones estándar. Por ejemplo, la tiourea se disuelve en un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano y se trata con aproximadamente 1,44 equivalentes de 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina. La reacción se agita luego a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 a 4 horas, y la reacción se inactiva con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La reacción inactivada luego se extrae con un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano. Los extractos orgánicos se combinan, se secan sobre un agente de secado adecuado, tal como sulfato de magnesio anhidro, se filtran y se concentran a presión reducida para proporcionar el producto aminotiazina bicíclica cruda de la etapa J. El material crudo se purifica entonces usando técnicas bien conocidas en el arte, tales como cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con un eluyente adecuado, tal como un gradiente de acetato de etilo:hexano de 0:1 a 1:0 que proporciona la aminotiazina bicíclica purificada.

En el Esquema 2, etapa K, el producto aminotiazina bicíclica de la etapa J se desprotege en la subetapa 1 en condiciones bien conocidas en la técnica, y luego en la subetapa 2, se lleva a cabo una amidación en condiciones bien conocidas en la técnica con cloruro de aril acilo adecuado (A-(C=O)-Cl), en el que "A" es como se define en la presente memoria, para proporcionar los compuestos de Fórmula I o Fórmula IIIa, (Z es S). Por ejemplo, la aminotiazina bicíclica se combina con aproximadamente 5,6 equivalentes de clorhidrato de O-metilhidroxilamina y aproximadamente 5,9 equivalentes de piridina en un disolvente orgánico adecuado, tal como etanol, y se calienta a aproximadamente 50 °C durante aproximadamente 16 horas. Luego se agregan aproximadamente 25 equivalentes de un ácido adecuado, tal como ácido clorhídrico concentrado y la reacción se calienta a aproximadamente 50 °C durante 24 horas adicionales. La reacción se enfría luego y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto diamino desprotegido crudo que se purifica a continuación mediante técnicas bien conocidas en el arte, tales como cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un eluyente adecuado, tal como amoníaco 7 M en gradiente de metanol/diclorometano de 0:10 a 1:10 para proporcionar el compuesto diamino desprotegido purificado.

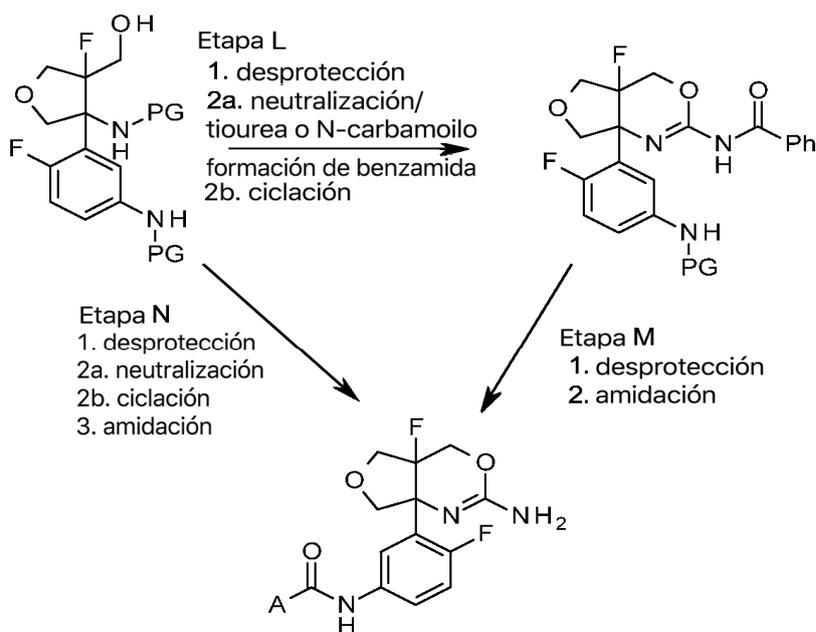
Alternativamente, el producto de aminotiazina bicíclica de la etapa J se combina con aproximadamente 9,4 equivalentes de clorhidrato de O-metilhidroxilamina y aproximadamente 9,9 equivalentes de piridina en un disolvente orgánico adecuado, tal como etanol, y se calienta a aproximadamente 50 °C durante aproximadamente 18 horas. La reacción se purifica luego directamente, por ejemplo, mediante el uso de una columna SCX, utilizando un eluyente adecuado, tal como en metanol seguido de amoníaco 7 M en metanol. El material purificado se disuelve a continuación en un disolvente orgánico adecuado, tal como etanol, se trata con aproximadamente 16 equivalentes de un ácido adecuado, tal como ácido clorhídrico concentrado y se calienta a 50 °C durante aproximadamente 23 horas. La reacción se enfría luego y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto de diamino desprotegido crudo que puede purificarse mediante técnicas bien conocidas en el arte, tales como cromatografía ultrarrápida o una columna SCX que utiliza un eluyente adecuado, tal como metanol seguido de amoníaco 7 M en metanol.

El diamino desprotegido puede luego amidarse en la etapa K, subetapa 2 en condiciones bien conocidas en la técnica, usando, por ejemplo, un cloruro de aril acilo para proporcionar compuestos de Fórmula I o Fórmula IIIa. Por ejemplo, se agregan 2 equivalentes de cloruro de oxalilo a 2,2 equivalentes de DMF en un disolvente orgánico adecuado, tal como acetonitrilo, y la reacción se agita durante aproximadamente 10 minutos. Se agregan aproximadamente 2,05 equivalentes del ácido arilcarboxílico apropiadamente sustituido (A-CO₂H) a la reacción que se deja en agitación durante aproximadamente 30 a 60 minutos produciendo aproximadamente 2 equivalentes del cloruro de aril acilo correspondiente. Se agregan aproximadamente 1 a 2 equivalentes del cloruro de aril acilo recién preparado gota a gota a una solución del compuesto diamino desprotegido, preparado anteriormente, en etanol: agua (aproximadamente 1:1 en volumen) a aproximadamente 50 °C. La reacción se calienta a 50 °C durante aproximadamente 45 a 90 minutos. El compuesto resultante de Fórmula I o Fórmula IIIa se aísla luego y se purifica usando técnicas y condiciones bien conocidas en el arte. Por ejemplo, la mezcla de reacción se combina con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrae con un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano. (La

mezcla de reacción también puede cargarse en una columna SCX directamente, purificarse y luego purificarse adicionalmente con gel de sílice). Las capas orgánicas se combinan, se lavan con salmuera y se concentran a presión reducida para proporcionar el material crudo para la Fórmula I o Fórmula IIIa. El material crudo puede luego purificarse, por ejemplo, mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando un eluyente adecuado, tal como amoníaco 7 M en un gradiente de metanol/diclorometano de 0:10 a 1:10. El material purificado puede purificarse adicionalmente por cromatografía ultrarrápida de fase inversa usando una columna C18 de alta resolución eluyendo con un eluyente adecuado, tal como un gradiente de 5 a 60 % de acetonitrilo en solución acuosa de bicarbonato de amonio 10 mM con metanol al 5 %. El producto que contiene el eluyente se extrae luego con cloroformo:isopropanol 4:1. Los extractos orgánicos se combinan, se lavan con salmuera, se secan sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtran y se concentran a presión reducida para proporcionar los compuestos purificados adicionales de Fórmula I o Fórmula IIIa como una base libre.

Alternativamente, un experto en la técnica 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, la reacción del compuesto de diamino desprotegido con un ácido arilcarboxílico apropiado (A-CO₂H) en presencia de un reactivo de acoplamiento y una base amina, tal como DIPEA o trietilamina, proporcionará un compuesto de Fórmula I o Fórmula IIIa. Los reactivos de acoplamiento incluyen carbodiimidas, tales como DCC, DIC, EDCI y reactivos de acoplamiento aromático, tales como HOBt y HOAt. Además, pueden usarse sales de uronio o fosfonio de aniones no nucleófilos, tales como HBTU, HATU, PyBOP y PyBrOP en lugar de los reactivos de acoplamiento más tradicionales. Se pueden usar aditivos tales como DMAP para potenciar las reacciones y proporcionar compuestos de Fórmula I o Fórmula IIIa.

Esquema 3



Fórmula II o Fórmula IIIb (Z es O)

En el Esquema 3, etapa L, subetapa 1, el alcohol primario fluorado (preparado en el Esquema 1, etapa H) se desprotege en condiciones estándar seguido de neutralización, formación de tiourea y ciclación en las subetapas 2a y 2b para proporcionar la amino oxazina bicíclica protegida. Por ejemplo, en la subetapa 1, el alcohol primario fluorado se disuelve en un disolvente orgánico adecuado, tal como acetato de etilo o diclorometano y se trata con un exceso de un ácido adecuado tal como ácido clorhídrico (4 M en 1,4-dioxano) o ácido trifluoroacético. La reacción se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas durante la noche. La amina desprotegida se aísla después con técnicas bien conocidas en el arte, tales como filtración en forma de sal. Alternativamente para la subetapa 1, se agrega etanol gota a gota a una solución de exceso de cloruro de acetilo en acetato de etilo a aproximadamente 0 °C y agitación durante aproximadamente 30 minutos. Se agrega el alcohol primario fluorado (Esquema 1, etapa H) y la reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La sal de amina desprotegida se aísla después con técnicas bien conocidas en el arte, tales como filtración. Luego, para la neutralización y formación de tiourea para la subetapa 2a, la sal de amina desprotegida se disuelve en un disolvente orgánico adecuado, tal como acetonitrilo o tetrahidrofurano y se trata con aproximadamente 1,1 equivalentes de una amina orgánica adecuada, tal como trietilamina para neutralizar la amina, y se agregan aproximadamente 1,05 equivalentes de isotiocianato de benzoilo para formar la tiourea intermedia. La reacción se agita luego a 5 °C durante aproximadamente 1 hora o se calienta a aproximadamente 70 °C durante 2 horas. Para ciclar y formar la

aminoxazina bicíclica protegida en la subetapa 2b, se agregan aproximadamente 1,1 equivalentes de cloruro de trimetilsililo y DMSO y se continúa la agitación durante aproximadamente 2 horas. La reacción se inactiva con fosfato de potasio dibásico (20 %) para ajustar el pH a 7-8 y el producto se aísla usando técnicas bien conocidas en el arte para producir el producto aminooxazina bicíclica protegida de la etapa L. Alternativamente, la sal de amina puede ser neutralizada con trietilamina como se describió anteriormente para la etapa L, etapa 2a, y se trató con carbamato de benzoilo para formar N-carbamoil benzamida intermediada que luego se cicla con trifluoruro de dietilaminoazufre en un disolvente orgánico tal como diclorometano a aproximadamente -78 °C y se calienta hasta aproximadamente temperatura ambiente durante 1 hora. El producto se aísla usando técnicas bien conocidas en el arte para producir el producto aminooxazina bicíclica protegido de la etapa L.

En el Esquema 3, etapa M, primero se completa la desprotección de la aminooxazina bicíclica protegida y luego la anilina se desprotege en condiciones bien conocidas en la técnica, seguido de la amidación de la anilina en la subetapa 2 con un cloruro de aril acilo adecuado-a, en donde "A" es como se define aquí, para proporcionar compuestos de Fórmula II o Fórmula IIIb (Z es O). Por ejemplo, en la etapa M, subetapa 1, la aminooxazina bicíclica protegida se agrega a una solución de aproximadamente 1,1 equivalentes de hidróxido de litio en metanol y se calienta a 40 °C durante aproximadamente 18 horas para desproteger el grupo amino de la aminooxazina bicíclica. La anilina se desprotege después en condiciones bien conocidas en la técnica, tales como condiciones ácidas usando cloruro de hidrógeno acuoso 1 M y calentando a 90 °C durante aproximadamente 3 horas. La reacción se enfría a continuación, se diluye con acetato de etilo y la capa acuosa se separa y se trata con solución acuosa de hidróxido de sodio para ajustar el pH a aproximadamente 10. Esta mezcla se extrae con acetato de etilo y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto diamino crudo desprotegido. El compuesto diamino crudo desprotegido se purifica a continuación mediante técnicas bien conocidas en el arte, tales como cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un eluyente adecuado, tal como amoniaco 7 M en gradiente de metanol/diclorometano para proporcionar el compuesto diamino desprotegido purificado.

Luego, en el Esquema 3, etapa M, subetapa 2, el compuesto diamino desprotegido se amida en el nitrógeno de anilina en condiciones bien conocidas en la técnica, usando por ejemplo un cloruro de aril acilo para proporcionar compuestos de Fórmula II o Fórmula IIIb. Por ejemplo, se agrega aproximadamente 1 equivalente de cloruro de oxalilo y una cantidad catalítica de DMF a aproximadamente 1,07 equivalentes del ácido arilcarboxílico (A-CO₂H) en un disolvente orgánico adecuado tal como acetonitrilo y la mezcla se agita durante aproximadamente 10 minutos. Esta mezcla luego se agrega a una solución a 50 °C del compuesto diamino desprotegido en etanol y agua y se agita a aproximadamente 50 °C durante aproximadamente 10 minutos. El compuesto resultante de Fórmula II o Fórmula IIIb se aisló y purificó luego usando técnicas y condiciones bien conocidas en el arte. Por ejemplo, la mezcla de reacción se combina con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrae con un disolvente orgánico adecuado, tal como acetato de etilo. El material crudo puede luego purificarse, por ejemplo, mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando un eluyente adecuado, tal como un gradiente de amoniaco 7 M en metanol/diclorometano para proporcionar el compuesto de Fórmula II o Fórmula IIIb como una base libre.

Alternativamente, en el Esquema 3, etapa N, subetapa 1, el alcohol primario fluorado del Esquema 1, etapa H se puede desproteger como se describió anteriormente para la etapa L, subetapa 1, neutralizar y ciclar en las subetapas 2a y 2b sin proteger primero la amina, y la amidada en la subetapa 3 en condiciones bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, la amina puede desprotegerse en la subetapa 1 en condiciones ácidas bien conocidas en la técnica usando un exceso de un ácido adecuado tal como ácido clorhídrico (4 M en 1,4-dioxano) o ácido trifluoroacético. La amina desprotegida, como una sal de HCl, se aísla luego con técnicas bien conocidas en el arte, tales como filtración. La anilina protegida, hidroxil HCl amina se neutraliza en la subetapa 2b disolviéndola en un disolvente orgánico adecuado tal como diclorometano y se trata con aproximadamente 1,2 equivalentes de una base orgánica tal como trietilamina, se agita durante aproximadamente 10 minutos y se concentra. Se agrega acetato de etilo y la mezcla se calienta a 40 °C durante aproximadamente 10 minutos seguido de concentración para asegurar la neutralización completa. La ciclación se completa en la subetapa 2b añadiendo etanol y bromuro de cianógeno al residuo y la mezcla se calienta a aproximadamente 120 °C durante aproximadamente 4 horas. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se disuelve en agua y ácido clorhídrico 1,0 M y se lava con acetato de etilo. El extracto acuoso se trata con ácido clorhídrico acuoso concentrado y se agita a 50 °C durante aproximadamente 48 horas. La mezcla se enfría, el pH se ajusta a básico con hidróxido de sodio acuoso y se extrae con acetato de etilo. La purificación de la anilina oxacino amino bicíclica cruda se puede llevar a cabo con cromatografía ultrarrápida en gel de sílice eluyendo con un gradiente tal como amoniaco 7 M en metanol y diclorometano. En la etapa N, subetapa 3, este material se puede amidar en la amina de anilina como se describió anteriormente en la etapa M, subetapa 2 para producir el compuesto de Fórmula II o Fórmula IIIb.

Alternativamente, un experto en la técnica reconocerá que existen varios procedimientos y reactivos para la formación de amidas que resultan de la reacción de ácidos carboxílicos y aminas como se describió anteriormente en el Esquema 2 y se pueden aplicar también al Esquema 3.

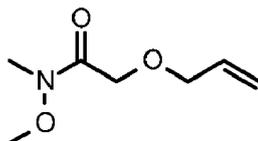
Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmulas I, II y III, tal como una sal clorhidrato, puede formarse por reacción de una base libre apropiada de Fórmulas I, II o III (incluyendo IIIa y IIIb) con un ácido apropiado farmacéuticamente aceptable en un disolvente adecuado en condiciones estándar bien conocidas en la técnica. Adicionalmente, la formación de tales sales puede ocurrir simultáneamente después de 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., et al., "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000); y Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19, (1977).

Las siguientes preparaciones y ejemplos ilustran adicionalmente la invención.

Preparación 1

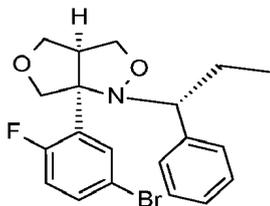
2-(Aliloxi)-N-metoxi-N-metilacetamida



Esquema 1, etapas A y B: se agrega bromuro de bromoacetilo (1,06 equivalentes) a una solución de clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (1,0 equivalentes) (los volúmenes están en ml/g de este compuesto) en una mezcla en agitación de agua (4 ml/g), tolueno (4 ml/g) y K_2CO_3 (1,15 equivalentes) a 0 °C. Después de calentar a temperatura ambiente durante 1 hora, las capas se separan y la capa acuosa se extrae con tolueno (2 ml/g). Las capas orgánicas combinadas se concentran para producir el compuesto intermedio 2-bromo-N-metoxi-N-metilacetamida que contiene aproximadamente 20 % de tolueno. Se agrega 2-bromo-N-metoxi-N-metilacetamida a una mezcla de alcohol alílico (6,3 equivalentes) y K_2CO_3 (2 equivalentes) durante 3 horas a 30 °C. Después de 2 horas a 30 °C, se agrega tolueno (4 ml/g), la mezcla se enfría a 0 °C y se filtra. La torta del filtro se enjuaga con tolueno frío (0 °C) (2,7 ml/g) y el filtrado combinado se lava con una solución al 3 % en peso de $KHSO_4$ en agua (0,6 ml/g). La solución de tolueno se concentra, mientras que se agrega tolueno adicional (11 ml/g) para eliminar el agua y el alcohol alílico. La solución de tolueno concentrado se lava con agua (0,5 g/g), se concentra adicionalmente para eliminar la mayor parte del tolueno, y luego se destila para producir el compuesto del título. LC-MS (m/z): 160 (M+H).

Preparación 2

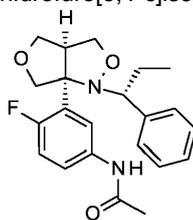
(3aS, 6aS)-6a-(5-Bromo-2-fluorofenil)-1-((R)-1-fenilpropil)hexahidrofuro[3,4-c]isoxazol



Esquema 1, etapas C y D: a 4-bromo-1-fluoro-2-yodobenceno (0,95 equivalentes) en THF (4,6 ml/g) a 0 °C se agrega cloruro de isopropilmagnesio (1,0 equivalente, 20 % en peso en THF). Después de aproximadamente 60 minutos a 0 °C, se agrega una solución de 2-(aliloxi)-N-metoxi-N-metilacetamida (1,0 equivalentes) (los volúmenes para esta etapa están en ml/g de este compuesto) en THF (2,2 ml/g) durante aproximadamente 60 minutos. La mezcla de reacción se inactiva en una solución de NH_4Cl (4,3 equivalentes) en agua (5,8 ml/g) a 0 °C. Se agregan heptanos (7,2 ml/g) a medida que la mezcla se calienta a temperatura ambiente, y las capas se separan. La capa orgánica se lava con agua (7,2 ml/g). La capa orgánica se concentra mientras se agregan heptanos adicionales (4 ml/g) para eliminar el agua y el THF. El compuesto intermedio 2-aliloxi-1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)etanona se obtiene como una solución en heptanos (aproximadamente 20-25 % en peso). La sal del ácido p-toluenosulfónico (R)-N-(1-fenilpropil)hidroxilamina se trata con $KHCO_3$ (2,75 equivalentes), agua (6,6 ml/g) y metil terc-butil éter (6,8 ml/g). Las capas se separan y la capa orgánica se lava con una solución al 25 % en peso de NaCl (2,8 ml/g) en agua. Se agregan heptanos (12 ml/g) y la mayor parte del MTBE y el agua se eliminan por destilación a aproximadamente 50 °C. Se agrega una solución al 20-25 % en peso de 2-aliloxi-1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)etanona (1 equivalente, los volúmenes para esta etapa están en ml/g de este compuesto) en heptanos a la mezcla de (R)-N-(1-fenilpropil)hidroxilamina/heptano a 50 °C. Se agrega tetraisopropóxido de titanio (1,5 equivalentes) y la mezcla se calienta a aproximadamente 55-60 °C durante aproximadamente 10 horas. La mezcla se concentra a aproximadamente 35-50 °C mientras se agregan heptanos adicionales (6 ml/g). La destilación se detiene cuando el volumen total es de aproximadamente 5 ml/g comparado con el rendimiento del producto esperado del 60 %. La mezcla se enfría a -10 °C, los sólidos se recogen por filtración, se enjuagan dos veces con heptanos fríos (-10 °C) (1 ml/g) y se secan para producir el compuesto del título. LC-MS (m/z para $^{79}Br/^{81}Br$): 406/408 (M+H).

Preparación 3

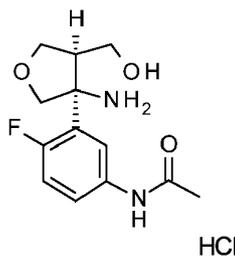
N-(4-fluoro-3-((3aS,6aS)-1-((R)-1-fenilpropil)hexahidrofuro[3,4-c]isoxazol-6a-il)fenil)acetamida



5 Esquema 1, etapa E: una mezcla de (3aS, 6aS)-6a-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-((R)-1-fenilpropil)hexahidrofuro [3,4-c] isoxazol (1,0 equivalente, los volúmenes están en ml/g de este compuesto), acetamida (4 equivalentes), yoduro de cobre (I) (0,2 equivalentes), yoduro de potasio (0,7 equivalentes), K_3PO_4 (2,0 equivalentes), N,N-dimetiletilendiamina (0,8 equivalentes) y DMF (4 ml/g) se calienta a 110 °C durante aproximadamente 4 horas. Después de enfriar a 30 °C, la mezcla se reparte entre acetato de isopropilo (3,7 ml/g) y NH_4Cl al 10 % en peso (5,7 ml/g) en agua. Las capas se separan y la capa acuosa se extrae con acetato de isopropilo (2 ml/g). Las capas orgánicas combinadas se lavan dos veces con NH_4Cl al 10 % en peso (1 ml/g) en agua. La capa orgánica se mezcla con xilenos (4,3 ml/g) y la mezcla se destila al vacío para eliminar la mayor parte del acetato de isopropilo y la DMF residual. La mezcla se enfría a 0 °C, los sólidos se recogen por filtración, se enjuagan dos veces con xilenos (0,7 ml/g) y se secan para producir el compuesto del título. LC-MS (m/z): 385 (M+H).

Preparación 4

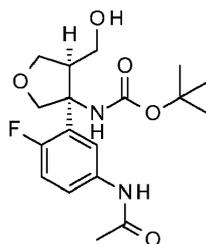
20 Clorhidrato de N-(3-((3S, 4R)-3-amino-4-(hidroximetil) tetrahidrofuran-3-il)-4-fluorofenil)acetamida



25 Esquema 1, etapa F: una mezcla de N-(4-fluoro-3-((3aS, 6aS)-1-((R)-1-fenilpropil) hexahidrofuro [3,4-c] isoxazol-6a-il)fenil)acetamida (1,0 equivalente, los volúmenes están en ml/g de este compuesto), cloruro de zinc (0,2 equivalente) y una carga de 20 % en peso de catalizador de Pd/C al 5 % sulfurado humectado con agua se suspende en una mezcla de 1-propanol (4 ml/g), agua (3,8 ml/g) y HCl (0,9 equivalentes, 33 % en peso en agua). La mezcla se calienta a 50 °C bajo presión de hidrógeno (aproximadamente 300-400 kPa) durante aproximadamente 16 horas. El catalizador se elimina por filtración a aproximadamente 50 °C y la torta del filtro se enjuaga con 1-propanol (2,9 ml/g). La mayor parte del agua se elimina de los filtrados combinados por destilación azeotrópica usando 1-propanol adicional (10,5 ml/g). Se agrega HCl adicional (0,1 equivalentes, 33 % en peso en agua) a la mezcla y los sólidos se recogen por filtración, se enjuagan dos veces con 1-propanol (1 ml/g) y se secan para producir el compuesto del título. LC-MS (m/z): 269 (M+H).

Preparación 5

35 N-[(3S,4R)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo

Procedimiento A

40 Esquema 1, etapa G, subetapa 1 (protección): una solución de clorhidrato de N-[3-[(3S,4R)-3-amino-4-(hidroximetil) tetrahidrofuran-3-il]-4-fluoro-fenil]acetamida (60,0 g, 197 mmol), trietilamina (85,0 ml, 610 mmol) y dicarbonato de

di-terc-butilo (60,0 g, 272 mmol) en tetrahidrofuran a 50 °C se agitó durante 15,5 horas. La reacción se enfría a temperatura ambiente, se filtra, se lava con acetato de etilo y se concentra a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con metanol/diclorometano (0:10) hasta metanol/diclorometano (1:10) para producir el compuesto del título (71,0 g, 98 %). ES/MS (m/e): 269 (M-99).

5

Procedimiento B Preparación 5

Se agrega di-terc-butildicarbonato (130 g, 591 mmol) a una solución de clorhidrato de N-(3-((3S,4R)-3-amino-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il)-4-fluorofenil)acetamida (150 g, 492 mmol) y trietilamina (137 ml, 984 mmol) en THF (1,2 l). Después de agitar a 50 °C bajo atmosfera de nitrógeno durante 18 horas, la mezcla de reacción se enfría gradualmente hasta temperatura ambiente y el disolvente se evaporó. El residuo se repartió entre una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % (500 ml) y acetato de etilo (1 l). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo (2 x 150 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un residuo que se seca al vacío hasta peso constante para producir el compuesto del título (192 g, 95,3 %). ES/MS (m/z): 367 (M+1), 267 (M-99); RMN ¹H (300,16 MHz, CDCl₃) δ 7,85 - 7,79 (m, 1H), 7,60 - 7,56 (m, 1H), 7,41 - 7,36 (m, 1H), 7,26 (d, J = 1,0 Hz, 7H), 7,04 - 6,95 (m, 2H), 4,26 - 4,11 (m, 2H), 3,80 - 3,72 (m, 3H), 2,15 (s, 5H), 2,05 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 1,72 - 1,67 (m, 1H), 1,36 (s, 13H), 1,31 - 1,26 (m, 3H).

10

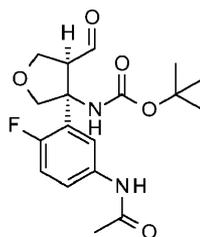
15

20

Preparación 6

N-[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-formil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo

Procedimiento A



25

30

35

Esquema 1, etapa G, subetapa 2 (oxidación): una mezcla de clorocromato de piridinio (10,0 g, 45,5 mmol), tamices moleculares de 4Å (20,0 g) y acetato de amonio (5,00 g, 62,3 mmol) se trituran en una fina en polvo y se añadió a diclorometano (150 ml). Se agregó luego una solución de N-[(3S, 4R)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (10,0 g, 27,1 mmol) en diclorometano (100 ml). La suspensión resultante se agita a temperatura ambiente durante 35 minutos y se concentra a presión reducida hasta aproximadamente volúmenes de 100 ml de diclorometano. Luego se agrega acetato de etilo (200 ml) y la mezcla resultante se filtra a través de una torta de gel de sílice. La torta se lava con acetato de etilo, y el filtrado combinado se concentra a presión reducida para producir el compuesto del título (71,0 g, 98 %), que se usa sin purificación adicional. ES/MS (m/e): 267 (M-99).

Procedimiento B Preparación 6

Se agrega ácido 2-yodosobenzoico (45 % p/p, 88,3 g, 142 mmol) en porciones a una solución de N-[(3S, 4R)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (50,0 g, 129 mmol) en DMSO (200 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar a 22 °C durante 18 horas, la mezcla de reacción se agrega a una solución acuosa de carbonato de sodio (500 ml) manteniendo la temperatura por debajo de 25 °C. Se agrega metil-t-butil éter (500 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla se filtra a través de tierra de diatomeas y la capa orgánica se separa. La capa acuosa se extrae con metil-t-butil éter (2 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un residuo. El residuo se seca al vacío hasta peso constante (46,0 g, 93,5 %). Este material se usa sin purificación adicional. ES/MS (m/z): 267(M-99). RMN ¹H (300,16 MHz, CDCl₃) δ 9,87 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 9,44 (t, J = 2,2 Hz, 1H), 7,63 - 7,55 (m, 3H), 7,43 - 7,31 (m, 2H), 7,26 (s, 3H), 7,04 - 6,98 (m, 2H), 5,30 (s, 1H), 4,49 - 4,28 (m, 5H), 4,12 - 4,06 (m, 2H), 3,75 (td, J = 7,6, 2,6 Hz, 1H), 3,21 (s, 4H), 2,62 (s, 1H), 2,15 (d, J = 4,4 Hz, 6H), 1,63 (s, 4H), 1,36 - 1,31 (m, 18H), 1,19 (s, 11H).

40

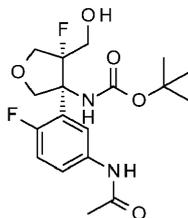
45

50

Preparación 7

N-[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo

55

Procedimiento A

Esquema 1, etapa H, subetapas 1 y 2 (fluoración y reducción): una solución de N-[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluorofenilo)-4-formil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (9,0 g, 24,56) en tetrahidrofurano (100 ml) se trata con pirrolidina (2,20 ml, 26,4 mmol). La solución resultante se agita a temperatura ambiente durante 7 minutos y se trata con bis (tetrafluoroborato) de 1-clorometil-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octano (10,0 g, 28,2 mmol). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 160 minutos, luego se inactiva con una solución de bicarbonato de sodio saturada en agua, y se extrae con acetato de etilo y diclorometano consecutivamente. Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un residuo. El residuo se disuelve en metanol (100 ml) y se agrega borohidruro de sodio (1,00 g, 26,2 mmol) en una sola porción a la solución. La reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante 37 minutos, se inactiva con una solución de bicarbonato de sodio saturada en agua y se extrae con diclorometano y acetato de etilo consecutivamente. Las capas orgánicas se combinan, se secan, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un residuo. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con metanol/diclorometano (0:10) hasta metanol/diclorometano (1:10) para producir el compuesto del título (2,70 g, 28 %). ES/MS (m/e): 287 (M-99).

Procedimiento B Preparación 7

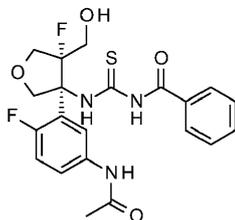
Se agrega D-(+)-prolina (691 mg, 6,00 mmol) en una sola porción a una solución de N-[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-formil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (2,00 g, 5,46 mmol) en 2,2,2-trifluoro-etanol (16 ml, tratado con carbonato de potasio y tamices moleculares de 3Å, y filtrado antes de su uso). Se agregan tamices moleculares de 3Å (500 mg) y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas. A la mezcla de reacción se le agrega bis (tetrafluoroborato) de 1-(clorometil)-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octano (2,51 g, 7,10 mmol) en una sola porción y la mezcla se agita a temperatura ambiente por 36 horas. El disolvente se concentra al vacío y el residuo se reparte entre agua (25 ml) y acetato de etilo (25 ml). Se agrega bicarbonato de sodio (solución acuosa al 7 %) para ajustar el pH = 8 y la capa orgánica se separa. La capa acuosa se extrae con acetato de etilo (2 x 15 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida. El residuo se disuelve en etanol (25 ml) y se agrega tetrahidroborato de sodio (289 mg, 7,64 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, el disolvente se evapora al vacío y el residuo se reparte entre agua (30 ml) y acetato de etilo (30 ml). La capa orgánica se separa, se seca sobre sulfato de sodio y se filtra. Los filtrados se evaporan a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano (1:1) hasta acetato de etilo para producir el compuesto del título (1,50 g, 70,0 %) como una espuma blanca. ES/MS (m/z): 287(M-99). RMN ¹H (300,13 MHz, CDCl₃) δ 7,99 - 7,89 (m, 1H), 7,81 - 7,74 (m, 1H), 7,49 - 7,46 (m, 1H), 7,26 (s, 2H), 6,98 (dd, J = 9,0, 12,0 Hz, 1H), 5,79 - 5,74 (m, 1H), 4,39 - 4,34 (m, 1H), 4,32 - 4,27 (m, 2H), 2,14 (s, 4H), 1,71 (s, 3H).

Procedimiento C Preparación 7

Se agrega D-(+)-prolina (36 g, 313,1 mmol) en una sola porción a una solución de N-[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-formil-tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (95,6 g, 260,9 mmol) en metanol (956 ml) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. A la mezcla de reacción se le agrega bis (tetrafluoroborato) de 1-(clorometil)-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octano (120,1 g, 339,2 mmol) en una sola porción y la mezcla se agita a temperatura ambiente por 24 horas. El disolvente se concentra al vacío y el residuo se reparte entre bicarbonato sódico (solución acuosa al 7 %) (800 ml) y acetato de etilo (600 ml). La capa acuosa se extrae con acetato de etilo (2 x 300 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida. El residuo se disuelve en etanol (956 ml) y se agrega tetrahidroborato de sodio (13,80 g, 365,2 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, el disolvente se evapora al vacío y el residuo se reparte entre agua (500 ml) y acetato de etilo (500 ml). La capa orgánica se separa, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra hasta sequedad. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano (1:1) hasta acetato de etilo para producir el compuesto del título (55 g, 54 %) como una espuma blanca. ES/MS (m/z): 287(M-99). RMN ¹H (300,13 MHz, CDCl₃) δ 7,99 - 7,89 (m, 1H), 7,81 - 7,74 (m, 1H), 7,49 - 7,46 (m, 1H), 7,26 (s, 2H), 6,98 (dd, J = 9,0, 12,0 Hz, 1H), 5,79 - 5,74 (m, 1H), 4,39 - 4,34 (m, 1H), 4,32 - 4,27 (m, 2H), 2,14 (s, 4H), 1,71 (s, 3H).

Preparación 8

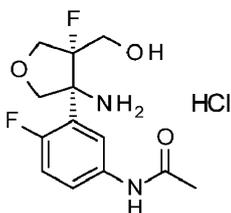
N-[[[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamatoil]benzamida



5 Esquema 2, etapa I, (desprotección y formación de tiourea): una solución de N-[[[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (2,70 g, 6,99 mmol) en diclorometano (40 ml) y ácido trifluoroacético (8,00 ml, 106 mmol) se agita a temperatura ambiente durante 150 minutos. La reacción se concentra a presión reducida y se destila azeotrópicamente con tolueno. El residuo se disuelve en tetrahidrofurano y se trata con trietilamina (1,10 ml, 7,89 mmol) e isotiocianato de benzoilo (1,00 ml, 7,41 mmol). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 16,5 horas y luego se inactiva con una solución de bicarbonato de sodio saturado en agua, se extrae con acetato de etilo y diclorometano consecutivamente. Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un residuo. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con metanol/diclorometano (0:10) hasta metanol/diclorometano (1:10) para producir el compuesto del título (2,60 g, 83 %). ES/MS (m/e): 450 (M+1).

Preparación 9

20 Clorhidrato de N-[3-[(3S,4S)-3-amino-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]-4-fluorofenil]acetamida

Procedimiento A

25 Esquema 3, etapa L y etapa N, subetapa 1 (desprotección): se agrega etanol (8,61 ml, 148 mmol) gota a gota a una solución de cloruro de acetilo (9,36 ml, 131 mmol) en acetato de etilo (127 ml) a 0 °C. Después de agitar a 0 °C durante 30 min, se agrega N-[[[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (12,7 g, 32,8 mmol) y luego la mezcla de reacción se calienta gradualmente a temperatura ambiente y se agita durante otras 18 horas. Se recoge un sólido blanco por filtración y se seca a presión reducida hasta peso constante para producir el compuesto del título (11,0 g, 99,0 %). ES/MS (m/z): 287(M-35). RMN ¹H (300,16 MHz, d₆ - DMSO) δ 10,31 (s, 1H), 9,05 (s, 2H), 7,85 - 7,83 (m, 1H), 7,75 - 7,71 (m, 1H), 7,31 - 7,22 (m, 1H), 5,15 - 5,07 (m, 3H), 4,48 - 4,33 (m, 3H), 4,12 - 3,97 (m, 3H), 2,50 (s, 4H), 2,05 (s, 4H), 1,98 (s, 1H), 1,59 (s, 1H).

Procedimiento B Preparación 9

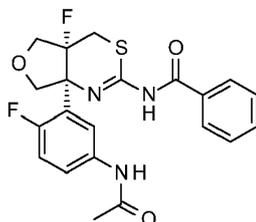
35 Se agrega ácido clorhídrico (4 M en 1,4-dioxano, 1,95 ml, 7,80 mmol) a una solución de N-[[[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (1,00 g, 2,59 mmol) en acetato de etilo (10 ml) y la mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtra y el precipitado blanco se lava con acetato de etilo (10 ml) para obtener el compuesto del título (800 mg, 96,0 %) como un sólido blanco. ES/MS (m/z): 287 (M+1).

Procedimiento C Preparación 9

45 Se agrega gota a gota cloruro de hidrógeno en alcohol isopropílico 6 M (100 ml, 600 mmol) a una solución de N-[[[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenilo)-4-fluoro-4-(hidroximetil) tetrahidrofuran-3-il]carbamato de terc-butilo (56 g, 144,9 mmol) en alcohol isopropílico (225 ml). Después de agitar a 22 °C durante 16 horas, la reacción se diluye con hexanos (350 ml) y se agita durante 30 minutos adicionales. Se recoge un sólido blanco por filtración y se seca a presión reducida hasta peso constante para producir el compuesto del título (36,5 g, 78 %). ES/MS (m/z): 287 (M-35). RMN ¹H (300,16 MHz, d₆ - DMSO) δ 10,31 (s, 1H), 9,05 (s, 2H), 7,85 - 7,83 (m, 1H), 7,75 - 7,71 (m, 1H), 7,31 - 7,22 (m, 1H), 5,15 - 5,07 (m, 3H), 4,48 - 4,33 (m, 3H), 4,12 - 3,97 (m, 3H), 2,50 (s, 4H), 2,05 (s, 4H), 1,98 (s, 1H), 1,59 (s, 1H).

Preparación 10

N-[(4aR,7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida

5 **Procedimiento A**

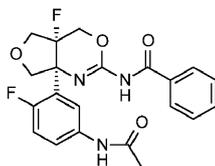
10 Esquema 2, etapa J (ciclación): una solución de N-[(3S,4S)-3-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]carbamotioil]benzamida (2,60 g, 5,78 mmol) y 1-cloro-N,N,2-trimetilpropenilamina (1,10 ml, 8,31 mmol) en diclorometano (50 ml) se agita a temperatura ambiente durante 190 minutos. La reacción se interrumpe con una solución de bicarbonato de sodio saturada en agua y se extrae con diclorometano. Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un residuo. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano (0:1) hasta acetato de etilo/hexano (1:0) para producir el compuesto del título (1,36 g, 54 %). ES/MS (m/e): 432,0 (M+1).

Procedimiento B Preparación 10

20 Una solución de clorhidrato de N-[3-[(3S,4S)-3-amino-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]-4-fluoro-fenil]acetamida (14,5 g, 40,44 mmol) en THF (290 ml) se trata con trietilamina (5,64 ml, 40,44 mmol) y la mezcla se agita durante 15 minutos y luego se enfría a 5 °C. Se agrega isotiocianato de benzoilo (6 ml, 44,48 mmol) y la reacción se calienta a temperatura ambiente durante 3 horas. Se agrega 1,1'-carbonildiimidazol (7,21 g, 44,48 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 16 horas, y luego se somete a reflujo durante 72 horas. La mezcla de reacción se enfría a 22 °C y luego se vierte en agua (150 ml) y MTBE (200 ml). La capa orgánica se separa y la capa acuosa se lava con MTBE (2 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan para producir un residuo. El residuo se purifica por cromatografía en gel de sílice eluyendo con cloruro de metileno/acetato de etilo (1/1) para producir el compuesto del título en forma de un sólido espumoso blanco (10,5 g, 60 %). ES/MS (m/e): 328,0 (M+1).

Preparation 11

N-[(4aR,7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-il]benzamida

35 **Procedimiento A**

40 Esquema 3, etapa L, subetapas 2a y b (neutralización, formación de tiourea y ciclación): se agrega trietilamina (1,90 ml, 13,6 mmol) a una solución de clorhidrato de N-[3-[(3S,4S)-3-amino-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]-4-fluorofenil]acetamida (4,00 g, 12,4 mmol) en acetonitrilo (40 ml) a 5 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 30 min, se agrega gota a gota isotiocianato de benzoilo (1,76 ml, 13,0 mmol). La mezcla resultante se agita a 5 °C durante 1 hora. Se agregan cloruro de trimetilsililo (1,73 ml, 13,6 mmol) y DMSO (968 µl, 13,6 mmol) y la mezcla se agita a 5 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se vierte en una solución acuosa de fosfato de potasio dibásico 20 %, (150 ml) para alcanzar un pH 7-8 y se agita durante 30 minutos. Se agrega acetato de etilo (50 ml) y la mezcla se filtra a través de tierra de diatomeas. La capa orgánica se separa, y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo (50 ml). Las capas orgánicas se combinan, se lavan con salmuera, se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran. Los filtrados se evaporan a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexano (60 %) hasta acetato de etilo/hexano (90 %) para producir el compuesto del título (3,50 g, 68,0 %) como un sólido blanco. ES/MS (m/z): 416 (M+1).

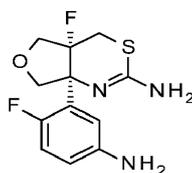
Procedimiento B Preparación 11

Esquema 3, etapa L, subetapas 2a y b (neutralización, formación de N-carbamoilbenzamida y ciclación): una mezcla de clorhidrato de N-[3-[(3S,4S)-3-amino-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]-4-fluoro-fenil]acetamida (12 g,

37,19 mmol), trietilamina (5,7 ml, 41 mmol) y N-benzoilcarbamato de fenilo (9,9 g, 41 mmol) se disuelve en THF (240 ml) y la mezcla se calienta a 70 °C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo (500 ml), se lavó con agua (250 ml) y salmuera (250 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a sequedad para producir la tiourea intermedia. (LC-MS (m/z): 434 (M+H)). El material crudo se disuelve en diclorometano (240 ml) y se enfría a -78 °C. Se agrega trifluoruro de dietilaminoazufre (5,9 ml, 45 mmol), se retira el baño de enfriamiento del hielo seco y se permite que la mezcla se caliente a temperatura ambiente y se agita durante 1 hora. La mezcla se diluye con diclorometano (500 ml) y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado (250 ml). La mezcla se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con salmuera (250 ml). La capa orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a sequedad. El residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de diclorometano y metanol (99:1) a (95:5). La purificación se repite en fracciones mixtas para producir el compuesto del título (13,5 g, 87 %). LC-MS (m/z): 415,8 (M+H).

Preparación 12

15 (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina



Procedimiento A

20 Esquema 2, paso K, subetapa 1 (desprotección): una solución de N-[(4aR, 7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3] tiazin-2-il]benzamida (2,36 g, 3,15 mmol), clorhidrato de O-metilhidroxilamina (1,50 g, 17,6 mmol) y piridina (1,50 ml, 18,6 mmol) en etanol (30 ml) se calienta a 50 °C durante 16 horas. Luego se agrega ácido clorhídrico concentrado (6,00 ml, 79,2 mmol) y se continúa calentando durante 24 horas adicionales. La reacción se enfría a temperatura ambiente y se concentra a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (0/10) hasta amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (1/10) para producir el compuesto del título (800 mg, 89 %). ES/MS (m/e): 286,0 (M+1).

Procedimiento B

30 Esquema 2, etapa K, subetapa 1 (desprotección): una solución de N-[(4aR, 7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo [3,4-d][1,3] tiazin-2-il]benzamida (1,20 g, 2,50 mmol), clorhidrato de O-metilhidroxilamina (1,50 g, 23,5 mmol) y piridina (2,00 ml, 24,7 mmol) en etanol (25 ml) se calienta a 50 °C durante 18 horas. La reacción se purifica luego directamente mediante una columna SCX usando metanol seguido de amoníaco 7 M en metanol como eluyente para producir un residuo. El residuo se disuelve en etanol (15 ml) y ácido clorhídrico (3,00 ml, 39,6 mmol) y se calienta a 50 °C durante 23 horas. La reacción se enfría a temperatura ambiente y se concentra a presión reducida. El residuo se purifica mediante una columna SCX en metanol seguido de amoníaco 7 M en metanol para producir el compuesto del título (640 mg, 90 %). ES/MS (m/e): 286,0 (M+1).

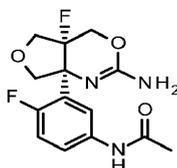
40 Procedimiento C Preparación 12

Una solución de N-[(4aR, 7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il] benzamida (2,15 g, 2,49 mmol), hidróxido de litio (179 mg, 7,47 mmol) en metanol (25 ml) se calienta a 50 °C durante 16 horas. A continuación, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y el disolvente se evapora. El residuo se diluye con acetato de etilo (15 ml) y agua (20 ml) y se agrega una solución acuosa de ácido cítrico 2 M para ajustar el pH a 1. La capa acuosa se separa y neutraliza con una solución acuosa de NaOH al 50 % p/p hasta pH = 10. La mezcla de reacción se lava con acetato de etilo (2 x 15 ml) y las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio y se filtran. El filtrado se evapora para producir el compuesto del título (850 mg, 89 %). El material crudo se usa sin purificación adicional. ES/MS (m/e): 286,0 (M+1).

Preparación 13

N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]acetamida

55 Procedimiento A



Esquema 3, etapa M, subetapa 1 (desprotección): Se agrega N-[(4aR, 7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-il]benzamida (3,50 g, 8,43 mmol) a una solución de hidróxido de litio (225 mg, 9,27 mmol) en metanol (35 ml) y la mezcla se agita a 40 °C durante 18 horas. El disolvente se evapora y el residuo se reparte entre acetato de etilo (50 ml) y agua (30 ml). La capa acuosa se extrae con acetato de etilo y las capas orgánicas se combinan. La solución orgánica se lava con ácido clorhídrico acuoso (0,1 M, 50 ml). La capa acuosa luego se trata con solución acuosa de hidróxido de sodio (2,0 M) hasta pH = 10 y se extrae dos veces con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran. Los filtrados se evaporan a presión reducida para producir el compuesto del título (1,9 g, 72 %) como una espuma blanca. ES/MS (m/z): 312 (M+1).

Procedimiento B Preparación 13

Esquema 3, etapa N, subetapas 2a y 2b (neutralización y ciclación): una solución de clorhidrato de N-[3-[(3S,4S)-3-amino-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]-4-fluorofenil]acetamida (8 g, 24,8 mmol) en THF (80 ml) se trata con [benzoil(fenoxicarbonil)amino]potasio (7,62, 27,3 mmol) y la mezcla se calienta a reflujo durante 3 horas. La reacción se enfría y el disolvente se evapora. El residuo se reparte en agua (50 ml) y acetato de etilo (100 ml) y la capa acuosa se descarta. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre sulfato de magnesio y se filtra. El filtrado se evapora y el residuo se seca al vacío hasta peso constante. El material crudo se disuelve en cloruro de metileno (120 ml) y luego se enfría a -35 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Se agrega trifluoruro de dietilaminoazufre (3,94 ml, 29,75 mmol) manteniendo la temperatura interna a -35 °C. La mezcla se agita durante 1 hora a esta temperatura y luego se calienta a 22 °C durante 2 horas. La reacción se vierte en solución acuosa de fosfato de potasio dibásico (200 ml) y cloruro de metileno (50 ml). La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca sobre sulfato de magnesio y se filtra. El filtrado se evapora y seca al vacío hasta peso constante. Este material crudo se disuelve en metanol (80 ml) y se agrega hidróxido de litio (783 mg, 32,2 mmol). La mezcla se calienta a 50 °C durante 16 horas. El metanol se evapora y el residuo se vierte en agua (50 ml) y acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se separa y la capa acuosa se lava con acetato de etilo adicional (100 ml). Las capas orgánicas se combinan y se lavan con ácido clorhídrico 0,5 M (2 x 30 ml). Las capas acuosas se combinan y se agrega hidróxido de sodio para ajustar el pH = 10, y la mezcla acuosa se extrae con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran. El filtrado se evapora a sequedad y el residuo se seca al vacío hasta peso constante para producir el compuesto del título (5,5 g, rendimiento total del 71 % en tres etapas). ES/MS (m/z): 312 (M+1).

Preparación 14

(4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-amina

Procedimiento A



Esquema 3, paso M, subetapa 1 (desprotección): se agrega N-[3-[(4aR, 7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]acetamida (800 mg, 2,57 mmol) a cloruro de hidrógeno acuoso (1,0 M, 10 ml) y la solución resultante se calienta a 90 °C durante 3 horas. La reacción se enfría a 22 °C y se lava con acetato de etilo (5 ml). La capa acuosa se separa y se trata con solución de hidróxido de sodio acuosa (1,0 M) hasta pH = 10 y se extrae con acetato de etilo (2 x 5 ml). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran. Los filtrados se evaporan a presión reducida para producir el compuesto del título (650 mg, 2,34 mmol). ES/MS (m/z): 270 (M+1).

Procedimiento B Preparación 14

Esquema 3, etapa N, subetapas 2a y b (neutralización y ciclación): se agrega trietilamina (0,32 ml, 2,3 mmol) a una solución de clorhidrato de N-[3-[(3S,4S)-3-amino-4-fluoro-4-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-il]-4-fluoro-fenil]acetamida (600 mg, 1,85 mmol) en diclorometano (10 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 10 minutos y se concentra. Se agrega acetato de etilo (10 ml) al residuo, y la mezcla se calienta a 40 °C durante 10 minutos. La mezcla se filtra y el filtrado se concentra y se agrega a un recipiente con tapa rosca de 40 ml. Se agregan etanol absoluto (12 ml) y bromuro de cianógeno (305 mg, 2,79 mmol) y la mezcla se calienta a 120 °C durante 4 horas. El solvente se evapora a sequedad. Se agregan agua (20 ml) y ácido clorhídrico acuoso (1,0 M, 20 ml). La mezcla resultante se lava con acetato de etilo (40 ml). La capa acuosa se trata con ácido clorhídrico acuoso concentrado (3,2 ml) y se agita a 50 °C durante 48 horas. La mezcla se enfría a temperatura ambiente y el pH se ajusta hasta básico usando solución acuosa de hidróxido de sodio (2,0 M). La mezcla luego se extrae con acetato de etilo (200

ml). La capa orgánica se lava con salmuera (100 ml) y se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra. El residuo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (98:2) hasta amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (90:10) para producir el compuesto del título (175 mg, 35 %) como un sólido blanco. ES/MS (m/z): 270 (M+1).

5

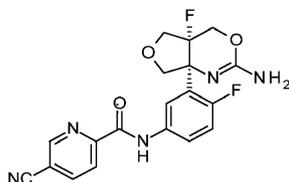
Procedimiento C Preparación 14

Se agrega N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]acetamida (17 g, 54,6 mmol) a cloruro de hidrógeno acuoso (1,0 M, 218 ml) y la solución resultante se calienta a 90 °C durante 3 horas. La reacción se enfría a 5 °C y se agrega una solución acuosa de hidróxido de sodio al 50 % p/p para ajustar el pH = 10. La mezcla se lava con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se separan, se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran. Los filtrados se evaporan a presión reducida para producir el compuesto del título como un sólido blanco (13,4 g, 91 %). ES/MS (m/z): 270 (M+1).

Preparación 15

N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida

Procedimiento A



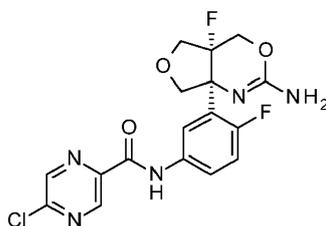
Esquema 3, etapa M, subetapa 2 o etapa N, subetapa 3 (amidación): se agrega dimetilformamida (20 µl, 0,26 mmol) y cloruro de oxalilo (162 µl, 1,87 mmol) a una suspensión de ácido de 5-cianopiridina-2-carboxílico (310 mg, 2,00 mmol) en acetonitrilo (10 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos. Esta mezcla luego se agrega en una sola porción a una solución a 50 °C de (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluorofenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-amina (500 mg, 1,86 mmol) en etanol (5 ml) y agua (5 ml) y la temperatura se mantiene a 50 °C. La mezcla de reacción se agita durante aproximadamente 10 minutos y se inactiva con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La mezcla luego se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra para producir un residuo, que se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de 0 a 10 % de MeOH en diclorometano y se purifica dos veces usando un gradiente de amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (5/95) para producir el compuesto del título (470 mg, 63 %). ES/MS (m/z): 400 (M+1).

Procedimiento B Preparación 15

A una solución de (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-amina (11,6 g, 41,8 mmol) en una mezcla de agua (81 ml) y etanol (116 ml), se agrega cloruro de hidrógeno 1 M en agua (41,7 ml, 41,7 mmol). Se agregan clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (8,41 g, 43,8 mmol) y ácido 5-cianopiridin-2-carboxílico (6,5 g, 43,8 mmol) en una porción y la reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. Se agrega clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida adicional (10 mg, 52,16 µmol) y la mezcla se agita durante 30 minutos. La mezcla de reacción se calienta a 50 °C y todos los sólidos se disuelven. Se agrega hidróxido de sodio, 1 M en agua (45,97 ml, 45,97 mmol) gota a gota manteniendo la temperatura a 50 °C y ajustando el pH a 11. La reacción se enfría a temperatura ambiente y se recoge un sólido blanco por filtración y se lava con agua. El sólido se seca al vacío hasta un peso constante y luego se purifica por cromatografía en gel de sílice eluyendo con una mezcla de cloruro de metileno/metanol (95:5) para producir el compuesto del título (7,5 g, 45 %) como un sólido blanco. ES/MS (m/z): 400 (M+1).

Preparación 16

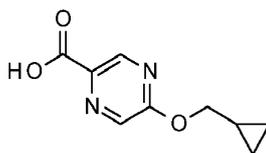
N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-cloro-pirazin-2-carboxamida



Esquema 3, etapa M, subetapa 2 o etapa N, subetapa 3 (amidación): se trata una mezcla de ácido 5-cloropirazin-2-carboxílico (1,53 g, 9,66 mmol) en acetonitrilo (15 ml, 283 mmol) con DMF (115 µl, 1,49 mmol) y cloruro de oxalilo (970 µl, 11,1 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente bajo atmosfera de nitrógeno durante 20 minutos. En un matraz separado se agrega (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-amina (2,00 g, 7,43 mmol), etanol (7,4 ml), agua (7,4 ml) y la mezcla se calienta a 50 °C. El cloruro de ácido se agrega a la solución preparada anteriormente y la mezcla de reacción se agita a 50 °C durante 20 minutos. La reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo (200 ml) y se lava con agua (40 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (40 ml). Los lavados acuosos se combinan y se extraen con acetato de etilo (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan (Na₂SO₄) y el disolvente se elimina al vacío para producir el producto crudo. El producto crudo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo para producir el producto del título (2,85 g, 94 %). ES/MS (m/e): 410 (M+1)

Preparación 17

15 Ácido 5-(ciclopropilmetoxi)pirazin-2-carboxílico

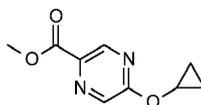


20 Una solución de ácido 5-cloropirazin-2-carboxílico (1,00 g, 6,31 mmol), ciclopropilcarbinol (1,00 ml, 12,4 mmol) y terc-butóxido de potasio (2,00 g, 17,8 mmol) en dimetilformamida (20,0 ml) es calentado a 100 °C durante 3 horas. La reacción se enfría a temperatura ambiente, se inactiva con ácido clorhídrico 1M. La mezcla se extrae con acetato de etilo y alcohol isopropílico/cloroformo (1/10), se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra a presión reducida para producir el compuesto del título (1,10 g, 90 %) como un sólido grisáceo. Este ácido se usa directamente sin purificación adicional.

25

Preparación 18

5-(ciclopropoxi)pirazin-2-carboxilato de metilo

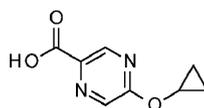


30

35 Se agrega ciclopropanol (542 µl, 8,69 mmol) a una suspensión de 5-cloropirazin-2-carboxilato de metilo (1,0 g, 5,79 mmol) y carbonato de potasio (1,60 g, 11,59 mmol) en dimetilformamida (11,6 ml). La mezcla de reacción se agita durante 15 horas a temperatura ambiente y luego durante 24 horas a 50 °C. La reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con agua y se extrae con acetato de etilo (3 veces). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir un aceite marrón. El producto crudo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano (0:100) hasta acetato de etilo/hexano (35:65) para producir el compuesto del título (610 mg, 54 %). ES/MS (m/e): 195,0 (M+1).

Preparación 19

Ácido 5-(ciclopropoxi)pirazin-2-carboxílico

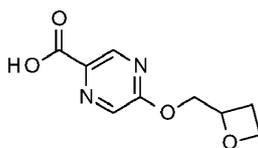


45 Se agrega hidróxido de litio (264 mg, 6,28 mmol) a una solución de 5-(ciclopropoxi)pirazin-2-carboxilato de metilo (610 mg, 3,14 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) y agua (0,5 ml). La mezcla de reacción se agita durante 1 hora a 50 °C, se enfría a temperatura ambiente, se diluye con agua, se lleva a pH = 2 por adición lenta de HCl 1 M y se extrae con diclorometano (4 veces). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida para producir el compuesto del título (550 mg, 97 %). ES/MS (m/e): 181,0 (M+1).

50

Preparación 20

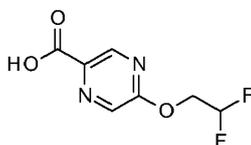
Ácido 5-(oxetan-2-ilmetoxi)pirazin-2-carboxílico



En un vial de microondas, se agregan ácido 5-cloropirazin-2-carboxílico (100,0 mg, 0,631 mmol), dimetilformamida (5 ml), oxetan-2-ilmetanol (83,4 mg, 0,946 mmol) y terc-butóxido de potasio (176,9 mg, 1,58 mmol). Se observa un pequeño calentamiento exotérmico. Después de 1 minuto a temperatura ambiente, se sella el vial y la mezcla se calienta a 120 °C durante 30 minutos en el microondas. La mezcla de reacción se inactiva luego con NH₄Cl acuoso y el disolvente se evapora a presión reducida. El residuo resultante se tritura en 2-propanol. El filtrado se concentra a presión reducida para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color crema (0,294 g, 99 %) y se usa sin purificación adicional. ES/MS (m/e): 211,0 (M+1), 208,8 (M-H).

Preparación 21

Ácido 5-(2,2-difluoroetoxi) pirazin-2-carboxílico



Se agrega terc-butóxido de potasio (4,25 g, 37,84 mmol) a una solución de ácido 5-cloropirazin-2-carboxílico (1,00 g, 6,31 mmol) y difluoroetanol (2,59 g, 31,54 mmol) en DMF (20 ml) y la mezcla se calienta a 100 °C durante 2 horas. La reacción se enfría a temperatura ambiente y se agita durante la noche bajo atmosfera de nitrógeno. La reacción se interrumpe con HCl 1 M (30 ml) y se extrae con acetato de etilo (3 veces). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran para producir el producto crudo. El producto crudo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0,5 % a 10 % de metanol en diclorometano y se destila azeotrópicamente con xilenos para eliminar la DMF residual para producir el producto del título (1,18 g, 91 %). ES/MS (m/e): 205,0 (M+1).

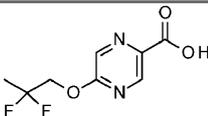
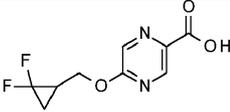
Los siguientes compuestos en la Tabla 1 se preparan de una manera esencialmente análoga al procedimiento expuesto en la Preparación 21 usando el alcohol apropiado.

Tabla 1

Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
22	Ácido 5-(2-metoxietoxi)pirazin-2-carboxílico		199,0
23	Ácido 5-etoxipirazin-2-carboxílico		169,0
24	Ácido 5-propoxipirazin-2-carboxílico		183,0

(continuación)

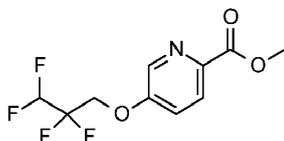
Prep. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
25	Ácido 5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)pirazin-2-carboxílico		255,0

26	Ácido 5-(2,2-difluoropropoxi)pirazin-2-carboxílico		219,0
27	Ácido 5-[(2,2-difluorociclopropil)metoxi]pirazin-2-carboxílico		231,0

Preparación 28

5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxilato de metilo

5

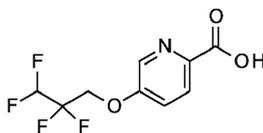


Se suspendió 5-hidroxipiridin-2-carboxilato de metilo (0,903 g, 5,90 mmol) en acetona (7 ml) y DMF (7 ml). Se agrega carbonato de potasio de malla 325 (2,44 g, 17,69 mmol) en una porción y se agita a temperatura ambiente durante 1,5 horas bajo atmosfera de nitrógeno. Se agrega gota a gota trifluorometanosulfonato de 2,2,3,3-tetrafluoropropilo (2,02 g, 7,67 mmol) y la mezcla se agita durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo y NH₄Cl saturado y se extrae con acetato de etilo (3 veces). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera, se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y el disolvente se elimina a vacío. El producto crudo se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo de al 0-20 % en diclorometano para producir el compuesto del título (1,047 g, 66 %). ES/MS (m/e): 268,0 (M+1).

Preparación 29

Ácido 5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxílico

20

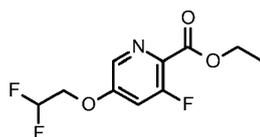


Se agrega hidróxido de litio (469 mg, 19,6 mmol) a una solución de 5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxilato de metilo (1,047 mg, 3,92 mmol) en THF (7 ml) y agua (7 ml). La mezcla de reacción se agita durante 1 hora a 60 °C, se enfría a temperatura ambiente, se inactiva con HCl 1 M (20 ml), se diluye con salmuera y se extrae con diclorometano (3 veces). Las capas orgánicas se combinan, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran a presión reducida para producir el compuesto del título (921 mg, 93 %). ES/MS (m/e): 254,0 (M+1).

Preparación 30

30

5-(2,2-difluoroetoxi)-3-fluoro-piridin-2-carboxilato de etilo

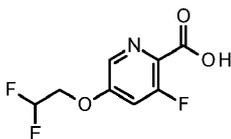


Se disuelve 3,5-difluoropiridin-2-carboxilato de etilo (0,98 g, 5,24 mmol) en acetonitrilo (20 ml). Se agrega difluoroetanol (430 µl, 6,81 mmol) seguido de carbonato de potasio (1,83 g, 13,09 mmol). La solución se agita a temperatura ambiente durante 2 días, luego se filtra y el filtrado se concentra. El material crudo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo/hexanos al 0-25-50 % para producir el compuesto del título (242 mg, 18 %). ES/MS (m/e): 250,0 (M+1).

40

Preparación 31

Ácido 5-(2,2-difluoroetoxi)-3-fluoro-piridin-2-carboxílico



5 Se agrega hidróxido de sodio (2 M en agua, 2,43 ml, 4,86 mmol) a una solución de 5-(2,2-difluoroetoxi)-3-fluoropiridin-2-carboxilato de etilo (242 mg, 0,97 mmol) en THF (10 ml). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 5 días. La reacción se interrumpe mediante la adición de HCl 4 M en dioxano (1,25 ml, 5 mmol) y la solución se concentra para producir el compuesto crudo del título (493 mg, 229 %). ES/MS (m/e): 222,0 (M+1).

Preparación 32

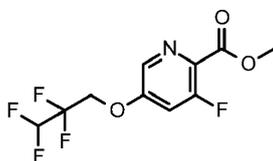
10 2-cloro-3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridina



15 Se disuelve 6-cloro-5-fluoro-piridin-3-ol (300 mg, 2,03 mmol) en DMF (10 ml). Se agrega carbonato de potasio (562 mg, 4,07 mmol) seguido de trifluorometanosulfonato de 2,2,3,3-tetrafluoropropilo (591 mg, 2,24 mmol) (para la preparación de este reactivo, véase el documento US2013/143900, Ejemplo 1). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 18 horas y luego se deja reposar a temperatura ambiente durante 4 días. La reacción se diluye con NaHCO₃ acuoso y acetato de etilo. Las capas se separan y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo (2x).
20 Las capas orgánicas combinadas se lavan con salmuera y se concentran. El material crudo se purifica por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo /hexanos al 0-10 % para producir el compuesto del título (440 mg, 83 %). ES/MS (m/e): 262,0 (M+1).

Preparación 33

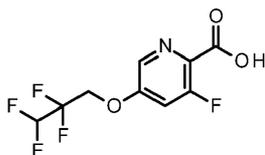
25 3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxilato de metilo



30 Se agrega 2-cloro-3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridina (440 mg, 1,68 mmol) a un autoclave Parr que contiene acetato de paladio (II) (0,04 g, 0,18 mmol) y 1,1'-bis (difenilfosfino)ferroceno (0,12 g, 0,21 mmol). Se agrega acetonitrilo (9 ml) seguido de metanol (6 ml). Se agrega trietilamina (0,6 ml, 4,3 mmol) y el autoclave se sella, se purga con N₂, se purga con CO, y luego se presuriza con 689,476 KPa de CO y se calienta a 100 °C durante 18 horas. La solución se concentra para producir el producto crudo que se purifica por cromatografía en gel de sílice
35 usando un gradiente de acetato de etilo /hexanos al 0-25 % para producir el compuesto del título (430 mg, 90 %). ES/MS (m/e): 286,0 (M+1).

Preparación 34

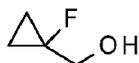
40 Ácido 3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxílico



45 Se agrega hidróxido de sodio (2 M en agua, 2 ml, 4,0 mmol) a una solución de 3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxilato de metilo (430 mg, 0,151 mmol) en THF (15 ml). La reacción se agita a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se interrumpe mediante la adición de HCl 4 M en dioxano (1,25 ml, 5 mmol) y la solución se concentra para producir el compuesto crudo del título (476 mg, 99 %). ES/MS (m/e): 222,0 (M+1).

Preparación 35

(1-fluorociclopropil)metanol



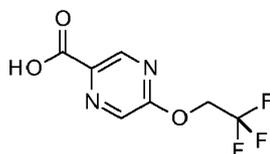
5

Una solución a 0 °C de ácido 1-fluoro-ciclopropanocarboxílico (0,78 g, 7,49 mmol) en THF (8 ml) se trata gota a gota con complejo de borano-tetrahidrofurano 1 M (8,99 ml, 8,99 mmol) durante 10 minutos. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó bajo atmósfera de nitrógeno durante 18 minutos. Se agrega complejo de borano-tetrahidrofurano 1 M adicional (3,75 ml, 3,75 mmol) y la reacción se agita durante 2 horas. La reacción se interrumpe con agua (se observa calentamiento exotérmico) seguido de HCl 1 N (25 ml). La mezcla se extrae con acetato de etilo y se separa. La capa acuosa se extrae con acetato de etilo (2 veces) y las capas orgánicas se combinan. Las capas orgánicas combinadas se secan (MgSO₄), se filtran y el disolvente se elimina a vacío para producir el producto del título (0,848 g, 100 %).

15

Preparación 36

Ácido 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazin-2-carboxílico



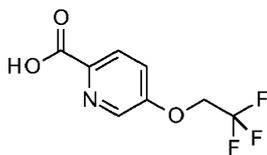
20

A una solución de 5-cloropirazin-2-carboxilato de metilo (25 g, 144,87 mmol) en DMF (250 ml) bajo atmósfera de nitrógeno se agrega carbonato de cesio (47,2 g, 144,8 mmol) y 2,2,2-trifluoro-etanol (15,7 ml, 217,3 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 72 horas a temperatura ambiente. La mezcla se vierte sobre agua (1 l) y se recoge por filtración un sólido de color marrón pálido. El sólido se lava con agua y se seca al vacío hasta peso constante. El material en crudo seco se recristaliza dos veces en una mezcla de agua (200 ml) y alcohol isopropílico (40 ml) para obtener el compuesto intermediario 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxilato de metilo (15 g, 93 %) como un sólido de color crema pálido y se usa sin purificación adicional. Se agita una solución del compuesto intermedio 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxilato de metilo (5 g, 21,17 mmol) en metanol (50 ml) y solución acuosa de hidróxido de sodio 1 M (42,3 ml, 42,3 mmol) a temperatura ambiente durante 2 horas. Se agrega ácido clorhídrico al 35 % p/p para ajustar el pH a 2. Se evapora el metanol y se aísla el sólido de color crema pálido por filtración. El sólido se lava con agua y se seca a vacío para producir el compuesto del título (3 g, 51 %). ES/MS (m/z): 223,1 (M+1).

25

Preparación 37

Ácido 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxílico



40

A una solución de 5-hidroxipiridin-2-carboxilato de metilo (10,1 g, 65,95 mmol) y carbonato de cesio (42,9 g, 131,9 mmol) en DMF (1 l) se agrega una solución de trifluorometanosulfonato de 2,2,2-trifluoroetilo (22,96 g, 98,93 mmol) en 20 ml de DMF durante 2 horas. La reacción se agita durante 4 horas a temperatura ambiente y luego se vierte sobre agua (1 l) y se agita durante 1 hora adicional. Se recoge un sólido de color marrón por filtración y se lava con agua adicional. El sólido se seca hasta peso constante para producir el compuesto intermedio (10,3 g 66 %) de 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxilato de metilo que se usa sin purificación adicional. A una solución de 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxilato de metilo (4,5 g, 19,1 mmol) en metanol (45 ml) se le agrega una solución de hidróxido de sodio 1 M (38,2 ml, 38,2 mmol) y la reacción se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. El pH de la mezcla de reacción se ajusta con HCl al 35 % p/p para ajustar el pH = 1 y luego el sólido resultante se aísla por filtración. El sólido se lava con agua y luego se seca a vacío para producir el compuesto del título (3 g, 70 %). ES/MS (m/z): 222,1 (M+1).

45

50

Preparación 38

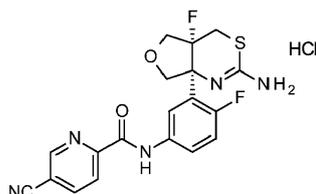
[Benzoil(fenoxicarbonil)amino]potasio

55

5 %). El producto que contiene el eluyente se aisló y se extrajo con una solución de cloroformo: isopropanol 4:1 (3 x 50 ml). Las capas orgánicas se combinan, se lavan con salmuera, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para producir la base libre del compuesto deseado. Este material se disuelve en diclorometano (15 ml) y se trata con HCl 4 M en dioxano (900 µl, 3,6 mmol). La muestra se concentra para producir el compuesto del título (160 mg, 31,2 %). ES/MS (m/e): 422,0 (M+1).

Ejemplo 3

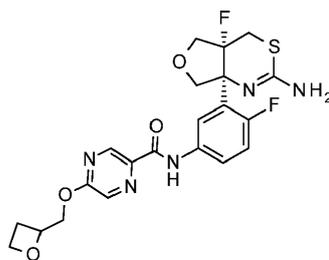
Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridina-2-carboxamida



Esquema 2, etapa K (formación de amida): se agrega cloruro de oxalilo (60,0 µl, 692 µmol) a una solución de dimetilformamida (60,0 µl, 776 µmol) en acetonitrilo (4,0 ml), y la reacción resultante se agita por 16 min. Se agrega ácido 5-cianopiridin-2-carboxílico (106 mg, 715 µmol) a la solución resultante. La reacción se agita durante 33 minutos y se eliminan 2,0 ml de esta solución con una jeringa y se agregan gota a gota a una solución de (4aR, 7aS)-7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina (110 mg, 347 µmol) en etanol (2,0 ml) y agua (2,0 ml) a 50 °C. La solución resultante se calienta a 50 °C durante 44 minutos seguido de purificación mediante columnas SCX (metanol hasta amoníaco 7 M en metanol) para producir un residuo, que se purifica nuevamente mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, eluyendo con amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (0/10) hasta amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (1/10) para producir un residuo como la base libre del producto deseado (120 mg, 83 %). Este material se disuelve en 5 ml de diclorometano/metanol (1/1) y se trata con HCl 1 M en éter (300 µl, 0,30 mmol). La muestra se concentra para producir el compuesto del título (128 mg, 81,6 %). ES/MS (m/e): 416,1 (M+1).

Ejemplo 4

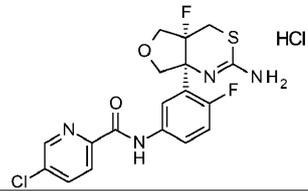
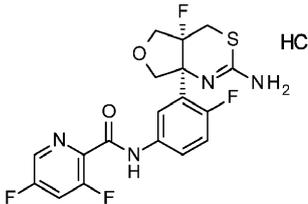
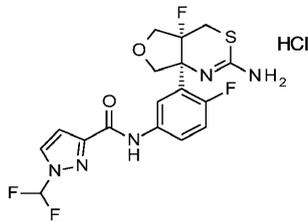
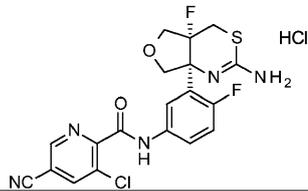
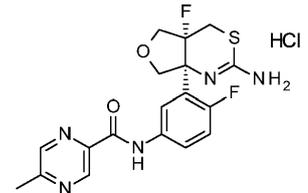
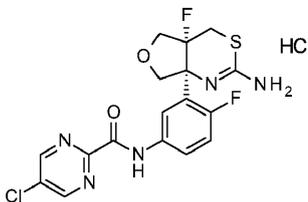
N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(oxetan-2-ilmetoxi)pirazin-2-carboxamida



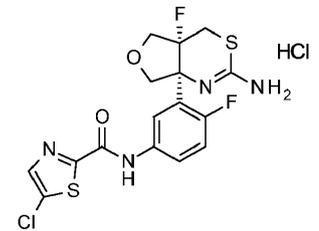
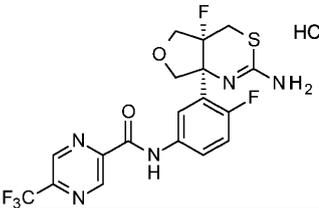
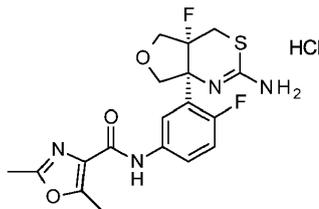
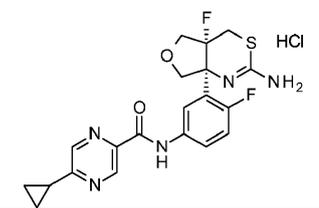
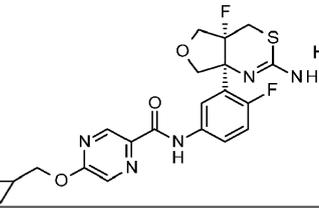
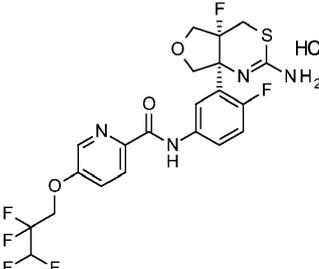
Se agrega una solución de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico al 50 % en peso en acetato de etilo (8,90 µl, 1,50 mmol) a un vial de microondas que contiene una mezcla de (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina (81,2 mg, 0,285 mmol), ácido de 5-(oxetan-2-ilmetoxi)pirazin-2-carboxílico (140 mg, 0,300 mmol) y diclorometano anhídrido (10 ml). El vial se sella y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se reparte luego entre agua y diclorometano y las capas se separan a través de un cartucho de separación de fases. Los compuestos orgánicos se combinan y el disolvente se evapora a presión reducida. El aceite resultante se disuelve en metanol, se filtra y se purifica por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini 10 µm 50*150 mm C-18) (CH₃CN y agua con bicarbonato de amonio 10 mM, 10 % a 100 % de CH₃CN durante 10 minutos a razón de 120 ml/min) (1 inyección). Las fracciones que portan el producto se concentran hasta sequedad durante la noche en un evaporador centrífugo para producir el compuesto del título como un sólido blanco (40 mg, 28 %). ES/MS (m/e): 478,2 (M+1).

Los siguientes compuestos en la Tabla 2 se preparan de una manera esencialmente análoga al procedimiento expuesto en los Ejemplos 1 a 3 utilizando el ácido carboxílico sustituido apropiadamente para la reacción de formación de la amida. Cada uno de los ejemplos mostrados en los Ejemplos 1 a 3 y en la Tabla 2 pueden prepararse como la base libre o como una sal farmacéuticamente aceptable, tal como la sal de HCl, como se describe en el Ejemplo 3.

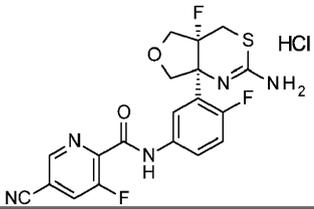
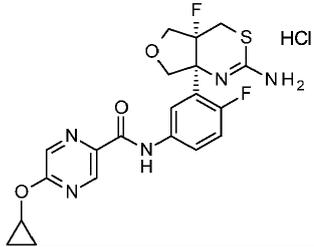
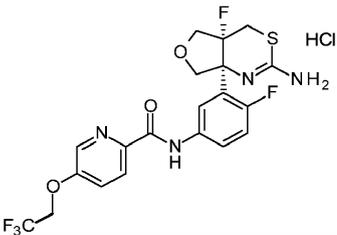
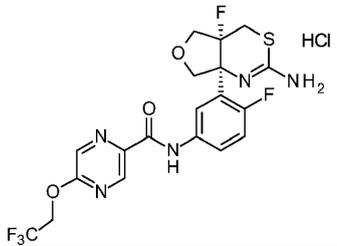
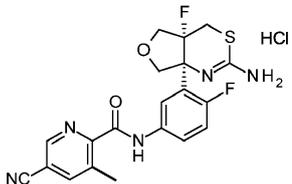
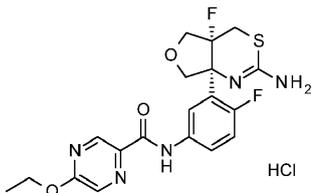
Tabla 2

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
5	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-cloropiridin-2-carboxamida		425,0
6	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-3,5-difluoropiridin-2-carboxamida		427,0
7	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-1-(difluorometil)pirazol-3-carboxamida		430,0
8	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo [3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-3-cloro-5-ciano-piridin-2-carboxamida		450,0
9	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-metilpirazin-2-carboxamida		406,0
10	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-cloropirimidin-2-carboxamida		426,0

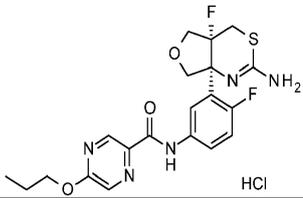
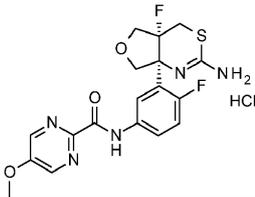
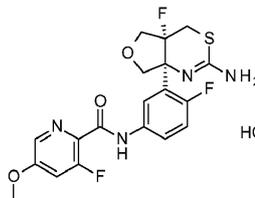
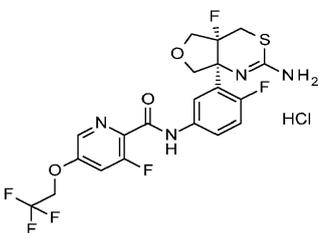
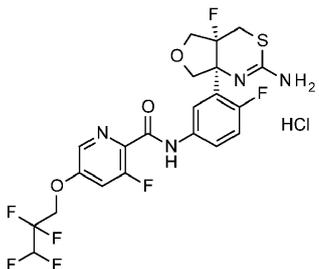
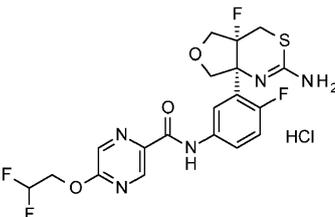
(continuación)

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
11	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-cloro-tiazol-2-carboxamida		431,0
12	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(trifluorometil)pirazin-2-carboxamida		460,0
13	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-2,5-dimetil-oxazol-4-carboxamida		409,0
14	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-ciclopropil-pirazin-2-carboxamida		433,0
15	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(ciclopropilmetoxi)pirazin-2-carboxamida		463,0
16	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxamida		521,0

(continuación)

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
17	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-ciano-3-fluoro-piridin-2-carboxamida		434,0
18	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(ciclopropoxi)pirazin-2-carboxamida		449,0
19	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxamida		489,0
20	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazin-2-carboxamida		490,2
21	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-ciano-3-metil-piridin-2-carboxamida		430,0
22	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-etoxi-pirazin-2-carboxamida		536,0

(continuación)

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
23	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-propoxi-pirazin-2-carboxamida		450,0
24	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-metoxi-pirimidin-2-carboxamida		422,2
25	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-3-fluoro-5-metoxi-piridin-2-carboxamida		439,0
26	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-3-fluoro-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxamida		507,2
27	N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoro-propoxi)piridin-2-carboxamida		539,0
28	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2-difluoroetoxi)pirazin-2-carboxamida		472,1

(continuación)

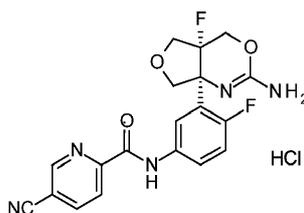
Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
29	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2-metoxietoxi)piridin-2-carboxamida		465,2
30	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2-metoxietoxi)pirazin-2-carboxamida		466,0
31	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)pirazin-2-carboxamida		522,2
32	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-[(2,2-difluorociclopropil)metoxi]pirazin-2-carboxamida		498,2
33	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2-difluoropropoxi)pirazin-2-carboxamida		486,2

Ejemplo 34

- 5 Clorhidrato de N-[3-[(4aR, 7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d] [1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida

Procedimiento A

10



15

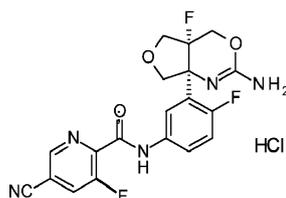
La base libre N-[3-[(4aR, 7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3] oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida (458 mg, 1.15 mmol, preparada en la preparación 15) se disuelve en diclorometano (3 ml) y metanol (3 ml). Se agrega ácido clorhídrico (4 M en 1,4-dioxano, 380 µl, 1,52 mmol). La solución se evapora a sequedad para proporcionar el compuesto del título (380 mg, 76 %) como un sólido amarillo pálido. ES/MS (m/z): 400 (M+1).

Procedimiento B Ejemplo 34

5 A una solución de N-[3-[(4aR, 7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo [3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida (9,1 g, 22,7 mmol) en metanol (182 ml) se agrega una solución de cloruro de hidrógeno 1,2 M en alcohol isopropílico (18,9 ml, 22,7 mmol). La mezcla se agita durante 15 minutos. El disolvente se evapora para producir el compuesto del título como un sólido cristalino blanco (9,8 g, 99 %). ES/MS (m/z): 400 (M+1).

Ejemplo 35

10 Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-3-fluoro-piridin-2-carboxamida



15 Esquema 3, etapa M, subetapa 2 (amidación): se agrega dimetilformamida (10 µl, 0,14 mmol) y cloruro de oxalilo (119 µl, 1,38 mmol) a acetonitrilo (3,7 ml) y se agita a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se agrega ácido 5-ciano-3-fluoro-piridin-2-carboxílico (213 mg, 1,28 mmol) y la mezcla se agita durante otros 10 minutos. Esta mezcla se agrega luego en una sola porción a una solución de (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluorofenil)-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-2-amina (247 mg, 0,917 mmol) en etanol (3,7 ml) y agua (3,7 ml) calentada a 55 °C. La mezcla de reacción se agita durante 1,5 horas y luego se concentra a presión reducida. El residuo se diluye con acetato de etilo, se lava con solución de bicarbonato de sodio mediante saturada. La capa acuosa se extrae con acetato de etilo y las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran para producir un residuo, que se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice eluyendo con un gradiente de amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (1/99) hasta amoníaco 7 M en metanol/diclorometano (10/90) para producir la base libre del compuesto del título (328 mg, 0,786 mmol). La base libre se disuelve en diclorometano (5 ml) y metanol (0,2 ml), y se trata con ácido clorhídrico (1 M en éter dietílico, 865 µl, 0,865 mmol) y se concentra a presión reducida. Se agrega éter dietílico (3 ml) al residuo y se concentra y esto se repite una segunda vez para producir el compuesto del título (349 mg, 0,769 mmol, 83,8 %). ES/MS (m/z): 418,0 (M+1).

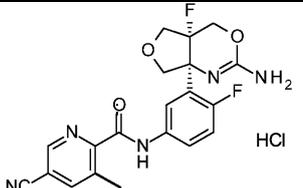
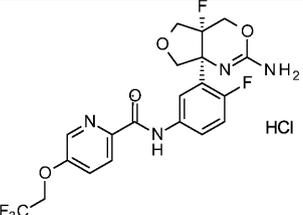
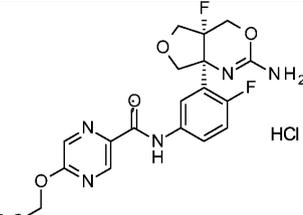
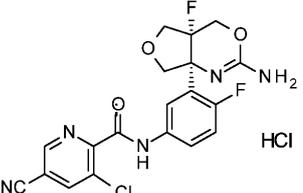
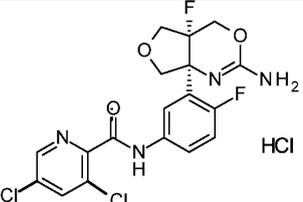
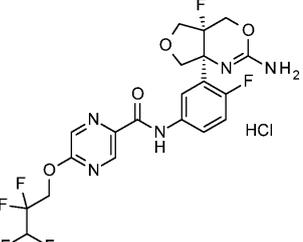
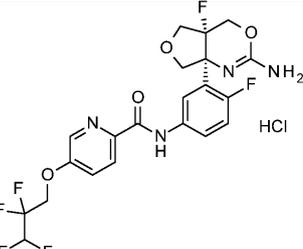
30 Los siguientes compuestos enumerados en la Tabla 3 se preparan de una forma esencialmente análoga al procedimiento expuesto en el Ejemplo 35 que utiliza el ácido carboxílico sustituido apropiadamente en la reacción de formación de la amida. Además, se prepara la sal de HCl a partir de la base libre correspondiente de una manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 35.

35

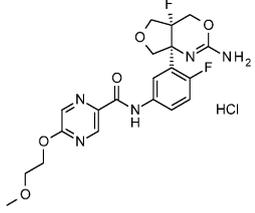
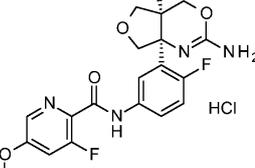
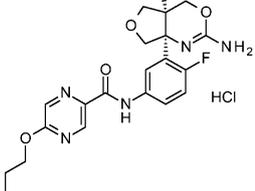
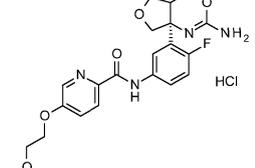
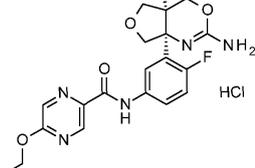
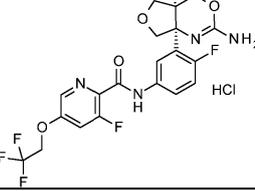
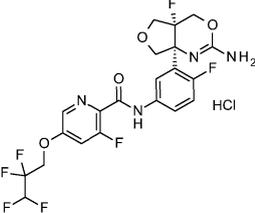
Tabla 3

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
36	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-cloro-piridin-2-carboxamida (La base libre correspondiente se prepara en la preparación 16)		409,1
37	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida		406,0
38	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-fluoro-piridin-2-carboxamida		393,1

(continuación)

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
39	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-3-metil-piridin-2-carboxamida		414,1
40	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxamida		473,4
41	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazin-2-carboxamida		474,4
42	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-3-cloro-5-ciano-piridin-2-carboxamida		434,1
43	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-3,5-dicloro-piridin-2-carboxamida		443,0
44	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)pirazin-2-carboxamida		506,1
45	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxamida		505,2

(continuación)

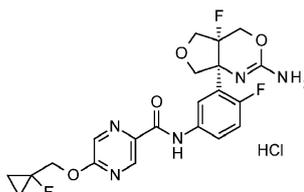
Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
46	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2-metoxietoxi)pirazin-2-carboxamida		450,2
47	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-3-fluoro-5-metoxi-piridin-2-carboxamida		423,0
48	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-propoxi-pirazin-2-carboxamida		434,2
49	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2-metoxietoxi)piridin-2-carboxamida		449,0
50	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-etoxi-pirazin-2-carboxamida		420,0
51	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-3-fluoro-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-carboxamida		491,1
52	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-3-fluoro-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)piridin-2-carboxamida		523,0

(continuación)

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
53	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2-difluoroetoxi)pirazin-2-carboxamida		456,0
54	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-[(2,2-difluorociclopropil)metoxi]pirazin-2-carboxamida		482,1
55	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2-difluoropropoxi)pirazin-2-carboxamida		470,0
56	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2-difluoroetoxi)-3-fluoropiridin-2-carboxamida		473,1

Ejemplo 57

- 5 Clorhidrato de N-[3-[(4aR, 7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-[(1-fluorociclopropil)metoxi] pirazin-2-carboxamida,

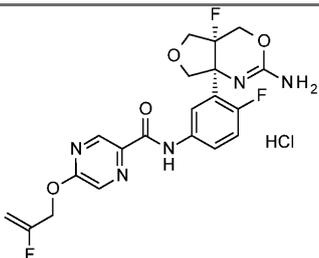


- 10 Se combinan N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-cloropirazin-2-carboxamida (110 mg, 268 μ mol), (1-fluorociclopropil) metanol (73 mg, 805 μ mol) y carbonato de potasio (111 mg, 805,31 μ mol) en un vial de microondas. Se agrega acetonitrilo (3 ml) y la mezcla de reacción se calienta a 150 °C durante 1,5 horas en un reactor de microondas. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo y la capa orgánica se lava con NaHCO₃ acuoso saturado y agua. Las capas acuosas combinadas se extrajeron dos veces con acetato de etilo, se secaron con MgSO₄ y el disolvente se eliminó al vacío para producir el producto crudo.
- 15

El producto crudo se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con 0-3 % (NH₃-metanol 7 N) en diclorometano para producir la base libre del producto del título (37 mg, 30 %). La base libre se disuelve en diclorometano (2 ml) y se trata con ácido clorhídrico (1 M en éter dietílico, 80 µl, 80 µmol) y se concentra a presión reducida para producir el producto del título (39 mg, 29 %). ES/MS (m/e): 464 (M+1)

El siguiente compuesto mostrado en la Tabla 4 se prepara de una manera esencialmente análoga al procedimiento expuesto en el Ejemplo 57 que utiliza 2-fluoroprop-2-en-1-ol. Además, la sal de HCl se prepara a partir de la correspondiente base libre de una manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 35.

Tabla 4

Ej. No.	Nombre Químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
58	Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo[3,4-d][1,3]oxazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-(2-fluoroalilo)pirazina-2-carboxamida		450,0

Procedimientos de ensayo *in vitro*:

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 van de 10 µM a 0,05 nM en una placa de fondo redondo de 96 pozos antes de realizar los ensayos enzimáticos *in vitro* y de células enteras.

Ensayos de inhibición de proteasa *in vitro*:

Expresión y purificación de huBACE1:Fc.

Se clona BACE1 humana (número de acceso: AF190725) a partir de ADNc total de cerebro mediante RT-PCR. Las secuencias de nucleótidos correspondientes a las secuencias de aminoácidos No. 1 a 460 se insertan en el ADNc que codifica el polipéptido de IgG1 humano (Fc) (Vassar et al., Science, 286, 735-742 (1999)). Esta proteína de fusión de BACE1 (1-460) y Fc humano, denominada huBACE1:Fc, se construye en el vector pJB02. BACE1 humana (1-460):Fc (huBACE1:Fc) se expresa transitoriamente en células HEK293. Se mezclan 250 µg de ADNc de cada constructo con Eugene 6 y se agregan a 1 litro de células HEK293. Cuatro días después de la transfección, los medios acondicionados se recogen para la purificación. huBACE1:Fc se purifica mediante cromatografía de Proteína A. La enzima se almacena a -80 °C en pequeñas alícuotas. (Véase Yang, et al., J. Neurochemistry, 91 (6) 1249-59 (2004))

Ensayo FRET de BACE1

Se preparan diluciones en serie de compuestos de prueba como se describió anteriormente. Los compuestos se diluyen adicionalmente 20x en regulador KH₂PO₄. Se agregan 10 µl de cada dilución a cada pozo en la fila A a la H de una placa negra de baja unión a proteínas que contiene la mezcla de reacción (25 µl de KH₂PO₄ 50 mM, pH 4,6, TRITON® X-100 1 mM, 1 mg/ml de albúmina de suero bovino, y 15 µM de sustrato de FRET) (Véase Yang, et al., J. Neurochemistry, 91 (6) 1249-59 (2004)). El contenido se mezcla bien en un agitador de placas durante 10 minutos. Se agregan 15 µl de BACE1(1-460):Fc humana 200 pM (Véase Vasser, et al., Science, 286, 735-741 (1999)) en el regulador de KH₂PO₄ a la placa que contiene el sustrato y los compuestos de prueba para iniciar la reacción. Las RFU de la mezcla en el tiempo 0 se registran a una longitud de onda de excitación de 355 nm y una longitud de onda de emisión de 460 nm, después de mezclar brevemente en un agitador de placas. La placa de reacción se cubre con papel de aluminio y se mantiene en un horno humidificado a oscuras a temperatura ambiente durante 16 a 24 h. Las RFU al final de la incubación se registran con los mismos ajustes de excitación y emisión utilizados en el tiempo 0. La diferencia de las RFU en el tiempo 0 y el final de la incubación es representativa de la actividad de BACE1 bajo el tratamiento del compuesto. Las diferencias de RFU se grafican frente a la concentración de inhibidor y se ajusta la curva con una ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los valores de IC₅₀. (May, et al., Journal of Neuroscience, 31, 16507- 16516 (2011)).

Los compuestos de los Ejemplos 1-58 de la presente invención se prueban esencialmente como se describió anteriormente y exhiben una IC₅₀ para BACE1 inferior a aproximadamente 1 µM, exhibiendo los compuestos de los Ejemplos 1, 2, 3, 34 y 57 la siguiente actividad como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5

Ejemplo #	IC ₅₀ de BACE1 (nM)
1	15,6 (± 3,78, n = 14)
2	13,2 (± 2,70, n = 7)
3	6,66 (± 0,538, n = 4)
34	45,0 (± 13,0, n = 5)
57	25,7 (± 2,12, n = 2)
Media ± ESM; ESM = error estándar de la media	

Estos datos demuestran que los compuestos de los Ejemplos 1 a 58 inhiben la actividad de la enzima BACE1 recombinante purificada *in vitro*.

5

Ensayo neuronal primario con PDAPP

También se lleva a cabo un ensayo confirmatorio de células enteras en cultivos neuronales primarios generados a partir de ratones embrionarios transgénicos PDAPP (May, et al., Journal of Neuroscience, 31, 16507-16516 (2011)). Las neuronas corticales primarias se preparan a partir de los embriones de PDAPP del día 16 del embrión y se cultivan en placas de 96 pozos (15 x 10⁴ células/pozo en DMEM/F12 (1:1) más FBS al 10 %). Después de 2 días *in vitro*, se reemplaza el medio de cultivo con DMEM/F12 (1:1) libre de suero que contiene suplemento B27 y 2 µM (final) de Ara-C (Sigma, C1768). En el día 5 *in vitro*, se incuban las neuronas a 37 °C durante 24 h en presencia/ausencia de inhibidores (diluidos en DMSO) a la concentración deseada. Al final de la incubación, se analizan los medios condicionados en busca de evidencia de actividad beta-secretasa, por ejemplo, mediante análisis de los péptidos Abeta 1-40 y 1-42 mediante ELISA tipo sándwich específico. Para medir estas isoformas específicas de Abeta, se usa 2G3 monoclonal como anticuerpo de captura para Abeta 1-40, y 21F12 monoclonal como anticuerpo de captura para Abeta 1-42. Tanto los ELISA de Abeta 1-40 y Abeta 1-42 usan 3D6 biotinilado como anticuerpo informante (para la descripción de anticuerpos, véase Johnson-Wood, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 1550-1555 (1997)). La concentración de Abeta liberada en el medio condicionado después del tratamiento compuesto corresponde a la actividad de BACE1 bajo tales condiciones. La curva de inhibición de 10 puntos se gráfica y se ajusta con la ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los valores de IC₅₀ para el efecto de disminución de Abeta. Los siguientes compuestos a modo de ejemplo se analizaron esencialmente como se describió anteriormente y exhiben la siguiente actividad para el efecto de disminución de Abeta:

10

15

20

25

Tabla 6

Ejemplo	IC ₅₀ (nM) por ELISA de A-beta (1-40) de neuronas de PDAPP	IC ₅₀ (nM) por ELISA de A-beta (1-40) de neuronas de PDAPP
1	83,3 (± 36,3, n=4)	76,8 (± 44,8, n=4)
2	29,5 (± 18,4, n=3)	21,9 (± 11,7, n=2)
3	20,2 (± 2,32, n=4)	16,3 (± 11,3, n=4)
34	49,9 (± 5,61, n=3)	36,5 (± 7,41, n=3)
57	186	182
Media ± ESM; ESM = error estándar de la media		

Estos datos demuestran que los compuestos de la Tabla 6 inhiben la producción de Abeta en células completas

30

Inhibición *in vivo* de beta-secretasa

Se pueden usar varios modelos animales, incluyendo ratón, cobaya, perro y mono, para detectar la inhibición de la actividad beta-secretasa *in vivo* después del tratamiento con el compuesto. Los animales usados en esta invención pueden ser animales, de tipo silvestre, transgénicos o con genes desactivados. Por ejemplo, el modelo de ratón PDAPP, preparado como se describe en Games et al., Nature 373, 523-527 (1995), y otros animales no transgénicos o con genes desactivados son útiles para analizar la inhibición *in vivo* de Abeta y la producción sAPPbeta en presencia de compuestos inhibidores. Generalmente, los ratones PDAPP de 2 meses de edad, los ratones con genes desactivados o animales no transgénicos se les administra compuesto formulado en vehículos, tales como aceite de maíz, beta-ciclodextrano, reguladores de fosfato, PHARMASOLVE®, u otros vehículos adecuados por vía oral, subcutánea, intravenosa, alimentación u otra vía de administración. De una a veinticuatro horas después de la administración del compuesto, se sacrifican los animales y se remueven los cerebros para análisis de Abeta 1-x. "Abeta 1-x", como se usa en este documento, se refiere a la suma de especies de 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 es a menudo llamado "Abeta total". Los niveles de péptidos Abeta totales (Abeta 1-x) se miden mediante un ELISA tipo sándwich, usando el anticuerpo monoclonal 266 como anticuerpo de captura y el 3D6 biotinilado como anticuerpo informador. (Véase May, et al., Journal of Neuroscience, 31, 16507- 16516 (2011)).

35

40

45

5 Para estudios agudos, se administra un compuesto o vehículo apropiado y los animales se sacrifican aproximadamente 3 horas después de la dosificación. El tejido de cerebro, se obtiene de animales seleccionados y se analiza para detectar la presencia de Abeta 1-x. Después de la dosificación crónica, tejidos de cerebro de animales transgénicos APP más viejos también se pueden analizar en cuanto a la cantidad de placas de beta-amiloide después del tratamiento con el compuesto.

10 Los animales (ratones PDAPP u otros ratones transgénicos APP o no transgénicos) a los que se administró un compuesto inhibidor pueden demostrar la reducción de Abeta en tejidos cerebrales, en comparación con controles tratados con vehículo o controles de tiempo cero. Por ejemplo, tres horas después de una dosis oral de 30 mg/kg del compuesto del Ejemplo 1 a ratones hembra jóvenes PDAPP, los niveles de péptido Abeta 1-x se reducen aproximadamente un 37 % en el hipocampo cerebral y aproximadamente un 48 % en la corteza cerebral, $p < 0.01$, en comparación con los ratones tratados con vehículo. Para el Ejemplo 2, una dosis oral de 10 mg/kg para ratones hembra jóvenes PDAPP, los niveles de péptido Abeta 1-x se reducen aproximadamente 40 % en el hipocampo cerebral y aproximadamente 45 % en la corteza cerebral, $p < 0.01$, en comparación con ratones tratados con vehículo tres horas después de la dosificación. Para una dosis oral de 30 mg/kg del Ejemplo 2 a ratones hembra jóvenes PDAPP, los niveles de péptido Abeta 1-x se reducen aproximadamente 52 % en el hipocampo cerebral y aproximadamente 54 % en corteza cerebral, $p < 0,01$, en comparación con ratones tratados con vehículo tres horas después de la dosificación. Para el Ejemplo 3, una dosis oral de 10 mg/kg para ratones PDAPP hembra jóvenes, los niveles de péptido Abeta 1-x se reducen aproximadamente 34 % en el hipocampo cerebral y aproximadamente 46 % en corteza cerebral, $p < 0,01$, en comparación con ratones tratados con vehículo tres horas después de la dosificación. Para el Ejemplo 34, tres horas después de una dosis oral de 10 mg/kg del ejemplo 34 a ratones hembra jóvenes PDAPP, los niveles de péptido Abeta 1-x se reducen aproximadamente 26 %, $p < 0,05$, en el hipocampo cerebral, y aproximadamente 36 % y 24 % en la corteza cerebral para $n = 2$ y $p < 0,01$, en comparación con los ratones tratados con vehículo.

25 Dada la actividad de los Ejemplos 1, 2, 3 y 34 frente a la enzima BACE *in vitro*, estos efectos de reducción de Abe son consistentes con la inhibición de BACE *in vivo*, y además demuestran la penetración en el SNC de los Ejemplos 1, 2, 3 y 34.

30 Estos estudios muestran que los compuestos de la presente invención inhiben BACE y, por lo tanto, son útiles para reducir los niveles de Abeta.

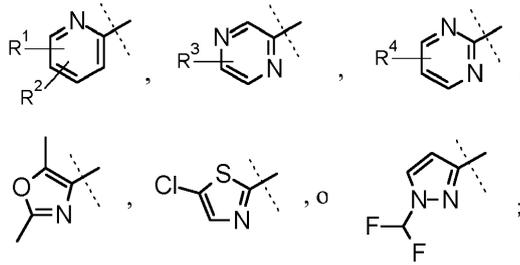
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula:



5

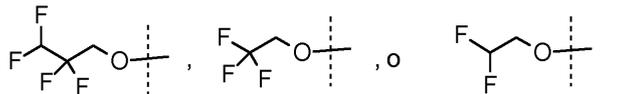
en el que A es:



10

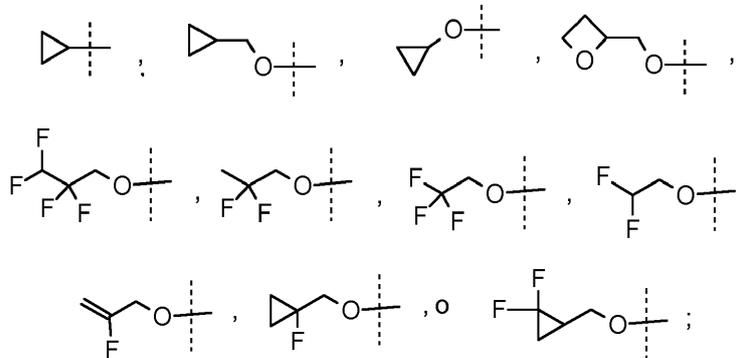
Z es O o S;
R¹ es H, F, Cl, CN, OCH₃, OCH₂CH₂OCH₃,

15



R² es H, F, Cl, o CH₃;
R³ es H, F, Cl, CH₃, CF₃, alcoxi C1-C3, OCH₂CH₂OCH₃,

20



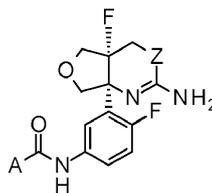
25

y
R⁴ es H, F, Cl, o OCH₃;

30

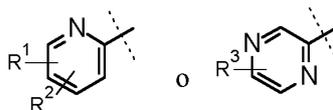
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1 en la configuración (cis):



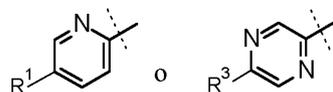
35

3. El compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que A es:



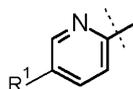
4. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que A es:

5

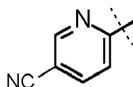


5. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que A es:

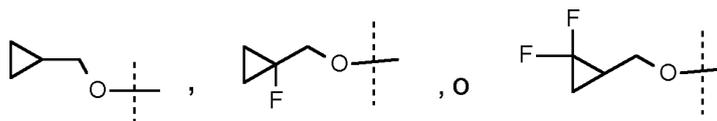
10



6. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que A es:



15 7. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R³ es OCH₃, CH₂CF₃,



20 8. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 7, en el que R³ es OCH₃.

9. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que Z es O.

10. El compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que Z es S.

25 11. El compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1, que es N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo [3,4-d] [1,3]oxazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida.

30 12. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11, que es N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-4a-fluoro-5,7-dihidro-4H-furo [3,4-d] [1,3]oxazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridin-2-carboxamida.

13. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en terapia.

35 14. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

15. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.