

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-116544- -00000-0000

Fecha: 2014-05-29 16:17:55 Dep. 2020 DIR: NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTE IYII Eve: 378 FASE NACIONAL I  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

# Industria y Comercio

## SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL  
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

TITULO: INHIBIDORES DE LA PÉPTIDO DESFORMILASA

SOLICITANTE: GlaxoSmithKline Intellectual Property (NO. 2)  
Limited.

DIRECCIÓN: 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS  
Reino Unido.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 29 de mayo de 2014

P2014/000083

# OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & AS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-116544-00000-0000

Fecha: 2014-05-29 16:17:55 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

## PETITORIO - FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2014/000083

### SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE  
(71)

Nombre: GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL  
PROPERTY (NO. 2) LIMITED.

Dirección: 980 Great West Road, Brentford,  
Middlesex TW8 9GS (GB).

Nacionalidad o Domicilio: Reino Unido

Lugar de Constitución: Reino Unido

Teléfono: \_\_\_\_\_

Fax: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

### IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

REPRESENTANTE  
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,  
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

### IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual \_\_\_\_\_

Número 79.782.747Bta  
TP 74.295

INVENTOR (ES)  
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.

5

### PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2012/067235

Fecha

Noviembre 30, 2012

Publicación Internacional No. WO 2013/082388

Fecha

Junio 6, 2013

6

Título (54) INHIBIDORES DE LA PÉPTIDO DESFORMILASA

Clasificación Internacional (51) A61K 31/4985

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Diciembre 2, 2011

Diciembre 2, 2011

(31) Número de Solicitud

61/566,263

61/566,398

9

Comprobante de pago No. 14-

Fecha

10

**ANEXOS**

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. Poderes, si fuere el caso.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☒

Declaraciones. Declaración bajo la Regla 417(ii) del PCT.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

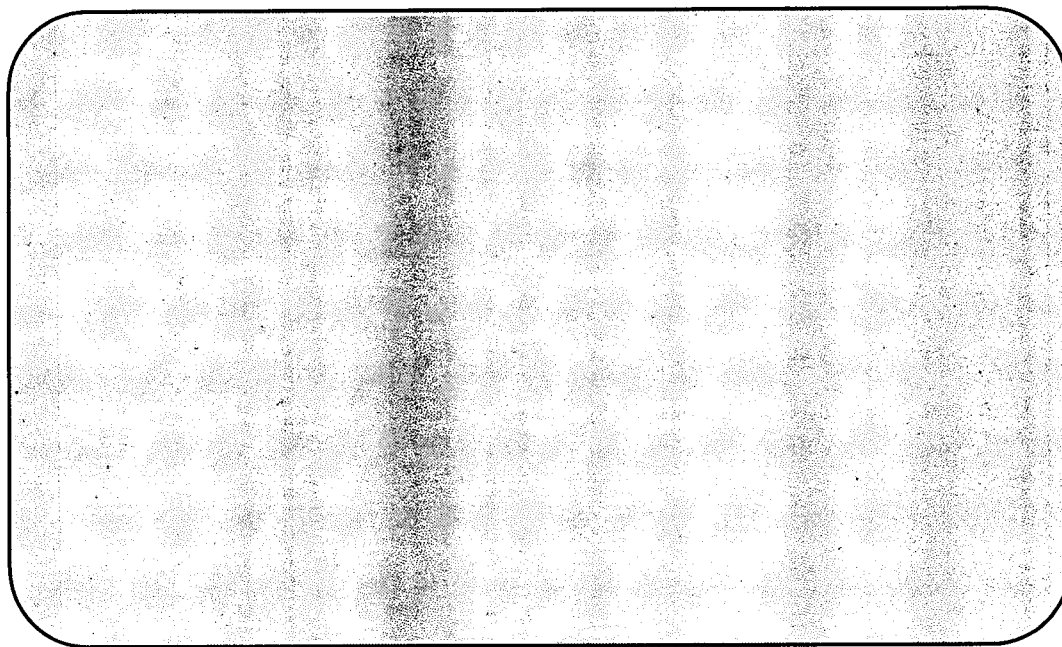
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

**FIGURA CARACTERÍSTICA:**

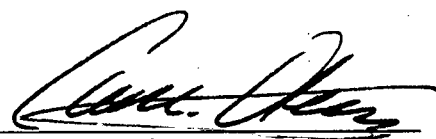


12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

  
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

**LISTA DE INVENTORES**

**PCT/US2012/067235**

**Kelly Marshall AUBART**  
1250 South Collegeville Road,  
Collegeville, PA 19426  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Jason Michael GILLIAN**  
Five Moore Drive,  
Research Triangle  
Park, NC 27709  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Donghui QIN**  
709 Swedeland Road,  
King Of Prussia, PA 19406  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Robert Rahn MCKEOWN**  
Five Moore Drive,  
Research Triangle  
Park, NC 27709  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Glenn R. WILLIAMS**  
709 Swedeland Road,  
King Of Prussia, PA 19406  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

# SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



**Industria y Comercio**  
SUPERINTENDENCIA

## RECIBO DE CAJA

**No. 14 - 0051220**

Bogotá D.C., Mayo 14 de 2014 - 16:17:43

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS

NI 830.122.870

### \*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 601309041 | 14/05/2014 | 10.609.000.00 |

### \*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO              | CONCEPTO                                   | Vr. UNDITARIO | Vr. CONCEPTO        |
|-------|-------------------------|--------------------------------------------|---------------|---------------------|
| 1     | 50005-01-01 SOLICITUDES | 1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN | 515.000.00    | 515.000.00          |
|       |                         |                                            |               | <b>\$515.000.00</b> |

**SON: \*\*QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\***

Responsable: \_\_\_\_\_

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



**No. 14-116544- -00000-0000**  
 Fecha: 2014-05-29 16:17:55 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: [www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co) e-mail: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co) Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Mayo 14 de 2014 - 16:17:46

5

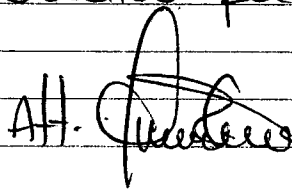
|                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br><b>Industria y Comercio</b><br>SUPERINTENDENCIA                            | PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA<br>RELACIÓN DE ANEXOS                                                                                  |
| Dependencia:<br><div style="text-align: center; font-size: 1.5em;">2020</div>                                                                                   | Fecha: ____/____/____<br><div style="text-align: center;">AAAA   MM   DD</div> <div style="text-align: center; font-size: 1.5em;">2014   5   29</div> |
| Recorrido:<br><div style="text-align: center; font-size: 2em;">4</div>                                                                                          |                                                                                                                                                       |
| Tipo de Radicación:    Entrada: <input type="checkbox"/> Salida: <input type="checkbox"/> Traslado: <input type="checkbox"/> Convenio: <input type="checkbox"/> |                                                                                                                                                       |
| Radicador:                                                                                                                                                      | Planilla:                                                                                                                                             |

| ID | No. Radicación | Consecutivo | Item |
|----|----------------|-------------|------|
| 1  | 14 - 116544 -  | 0           | 7    |
| 2  |                |             |      |
| 3  |                |             |      |
| 4  |                |             |      |
| 5  |                |             |      |
| 6  |                |             |      |
| 7  |                |             |      |
| 8  |                |             |      |
| 9  |                |             |      |
| 10 |                |             |      |
| 11 |                |             |      |
| 12 |                |             |      |
| 13 |                |             |      |
| 14 |                |             |      |
| 15 |                |             |      |
| 16 |                |             |      |
| 17 |                |             |      |

| Item                                  | Unidad de Conservación |
|---------------------------------------|------------------------|
| 1                                     | Bolsa                  |
| 2                                     | Caja                   |
| 3                                     | Libro                  |
| 4                                     | Sobre                  |
| 5                                     | Tomo                   |
| 6                                     | Otro                   |
| Item                                  | Soporte Documental     |
| 7 <input checked="" type="checkbox"/> | CD                     |
| 8                                     | Disquete               |
| 9                                     | DVD                    |
| 10                                    | Folleto                |
| 11                                    | Foto                   |
| 12                                    | Periódico              |
| 13                                    | Plano                  |
| 14                                    | Publicación Periódica  |
| 15                                    | USB                    |
| 16                                    | Otro                   |

**Observaciones:**

Folio 5, el cd anexo contiene 10 Archivos en formato PDF/TIFF, los cuales fueron procesados correctamente.



PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE U

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐

Indicación que se solicita una PCT

☐

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD  
PATENTE PCT  
ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2014/000083

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE  
(71)

Nombre: GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL  
PROPERTY (NO. 2) LIMITED.

Dirección: 980 Great West Road, Brentford,  
Middlesex TW8 9GS (GB).

Nacionalidad o Domicilio: Reino Unido

Lugar de Constitución: Reino Unido

Teléfono: \_\_\_\_\_

Fax: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

REPRESENTANTE  
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,  
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: [office@olartemoure.com](mailto:office@olartemoure.com)

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número 79.782.747Bta  
TP 74.295

INVENTOR (ES)  
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2012/067235 Fecha Noviembre 30, 2012

Publicación Internacional No. WO 2013/082388 Fecha Junio 6, 2013

6

Título (54) INHIBIDORES DE LA PÉPTIDO DESFORMILASA

Clasificación Internacional (51) A61K 31/4985

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Diciembre 2, 2011

Diciembre 2, 2011

(31) Número de Solicitud

61/566,263

61/566,398

9

Comprobante de pago No. 14-

Fecha \_\_\_\_\_



10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☒

Declaraciones. Declaración bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: \_\_\_\_\_  
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

## LISTA DE INVENTORES

PCT/US2012/067235

**Kelly Marshall AUBART**

1250 South Collegeville Road,  
Collegeville, PA 19426  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Jason Michael GILLIAN**

Five Moore Drive,  
Research Triangle  
Park, NC 27709  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Donghui QIN**

709 Swedeland Road,  
King Of Prussia, PA 19406  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Robert Rahn MCKEOWN**

Five Moore Drive,  
Research Triangle  
Park, NC 27709  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

**Glenn R. WILLIAMS**

709 Swedeland Road,  
King Of Prussia, PA 19406  
Estados Unidos de América  
Nacionalidad: Estadounidense

# OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

The undersigned,

domiciled in

Los suscritos,

GlaxoSmithKline Intellectual Property (NO.2) Limited  
domiciliados en

980 Great West Road  
Brentford, Middlesex  
TW8 9GS  
United Kingdom

hereby appoint to **Carlos R. Olarte and/or Juan Guillermo Moure** legal representatives with faculties to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents in **Patents for Inventions, Utility Models and Industrial Designs**, in the Republic of Colombia, to initiate before said authorities all the necessary actions to accomplish said purposes and to intervene in all instances, grades and procedural levels; to file and prosecute applications, declarations, complaints, to claim, counterclaim, answer claims and counterclaims; to make amendments; oppositions and all types of objections and writings of any nature; cancellations and administrative injunction proceedings; to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive documents and monies; act as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to request preliminary injunctions of any nature, settle, make arrangements, to submit to arbitrators, to desist from claims or procedures, to accept claims, to collect, to ratify legal proceedings subscribed before the appointment and/or presentation of this Power, substitute or delegate the legal representation and other acts prescribed by law, in short, with all such further powers as may be required; to comply with all other requirements and, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests.

nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o Juan Guillermo Moure** nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en **Patentes de Invención, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales**, en la República de Colombia, ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y recon convenciones; formular enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos, administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses.

Signature/Firma:

Name/Nombre:

Title/Cargo:

Date/Fecha:

City/Country/Ciudad,País:

NO LEGALIZATION IS REQUIRED

Signature/Firma:

Name/Nombre: Theodore R. Furman

Title/Cargo:

Authorized Attorney and Official on behalf of  
GlaxoSmithKline Intellectual Property (NO.2)  
Limited

Date/Fecha: 06 February 2013

City/Country/Ciudad,País:

King of Prussia, Pennsylvania, USA

Carlos R. Olarte  
Juan G. Moure

Alexander Agudelo  
Carlos A. Parra  
Juan Felipe Acosta  
Andrés Rincón  
Mónica Guevara  
Andrés Alvarado  
Ella Ponce  
Liliana Galindo  
María Clara Calderón  
Mauricio Ávila  
Laura Escobar  
José Jairo Dangond  
Gina Cáceres  
Isabella Herrera  
Zaava Ravid

Medellín  
María Clara Múnera

COMMONWEALTH OF PENNSYLVANIA

)

) SS

)

Before me, Deborah A. Becker, a Notary Public in and for the

Commonwealth and County aforesaid, personally came Theodore R. Furman known to me to be the person whose name is subscribed to the foregoing Power of Attorney and known to me to be an Authorized Attorney and Official for GlaxoSmithKline Intellectual Property (NO.2) Limited and acknowledged to me that he executed said instrument for the purposes and consideration therein expressed and as the act of said Corporation.

Given under my hand and official seal of office this 6th day

Of February 2013.

NOTARY PUBLIC



NOTARIAL SEAL

DEBORAH A. BECKER, Notary Public  
Upper Merion Twp., Montgomery County  
My Commission Expires April 6, 2016

Assignment

WHEREAS, I/we, **Kelly Marshall AUBART** having an address at 1250 South Collegeville, Pennsylvania 19426, **Jason Michael GILLIAN and Robert Rahn McKEOWN** having an address of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, **Donghui QIN and Glenn R. WILLIAMS** having an address 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, USA, all citizens of the United States of America has/have invented or discovered certain improvements in **“PEPTIDE DEFORMYLASE INHIBITORS”** hereinafter referred to as said invention and improvements for which a priority application **61/566263 filed on 02 December 2011 and 61/566398 filed on 02 December 2011** in the United States Patent Office and for which PCT international application PCT/US2012/067235 filed 30 November 2012 designating the United States of America and naming assignor as inventor, and in the United States only applicant/inventor.

WHEREAS, **GLAXOSMITHKLINE LLC**, a corporation incorporated in the State of Delaware, USA, who has an office at One Franklin Plaza, 200 North 16<sup>th</sup> Street, Philadelphia, PA 19102, USA, is desirous of acquiring the whole right, title and interest in and to said invention and improvements, and in and to any applications for said invention and improvements and any Letters Patent to be obtained therefor, in all countries, including the United States, its territories and possessions;

NOW, THEREFORE, to all whom it may concern, be it known that I/we, **Kelly Marshall AUBART, Jason Michael GILLIAN, Donghui QIN, Robert Rahn McKEOWN, and Glenn R. WILLIAMS** for good and valuable consideration unto me/us moving, the receipt whereof is hereby acknowledged, have sold, assigned and transferred, and by these presents do sell, assign and transfer my/our whole right, title and interest in and to said invention and improvements to said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, throughout the United States of America, its territories and possessions, and in and to said application and any extensions, reissues, continuations, continuations-in-part, and any divisions thereof, and in and to any and all Letters Patent of the United States of America;

AND, my/our whole right, title and interest in and to said invention and improvements to **GLAXOSMITHKLINE LLC**, in all other countries throughout the world, and in and to any applications in said other countries, and continuations-in-part, patents of addition, revalidation patents, patents of importation, registrations, and any renewals, extensions and divisions thereof, and in and to any and all Letters Patent of said all other countries which may be granted on said invention and improvements including any priority rights under the International Convention.

AND, I/we do hereby authorize and request the issue of any Letters Patent in the respective areas referred to, to said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, as assignees of my/our whole right, title and interest in and to the same for the sole use and behalf of the said assignees, their successors and assigns as their interests appear herein;

AND, I/we warrant that I/we have not knowingly conveyed to others any right in said invention, improvements, applications or patents or any license to use the same or to make, use or sell anything embodying or utilizing said invention and improvements and that I/we have good right to assign the same to **GLAXOSMITHKLINE LLC**;

AND, I/we the undersigned **Kelly Marshall AUBART, Jason Michael GILLIAN, Donghui QIN, Robert Rahn McKEOWN, and Glenn R. WILLIAMS** for the consideration aforesaid, do hereby agree that I/we or my/our executors or legal representatives, will provide information and make, execute and deliver any and all other instruments in writing, and any and all further acts, application papers, affidavits, assignments and other documents which may be necessary or desirable to more effectually secure to and vest in said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, their successors and assigns, the whole right, title and interest in and to the said invention and improvements, applications, Letters Patent, rights, title and interest hereby sold, assigned and conveyed, or intended so to be. *This assignment should be deemed effective as of 02 December 2011.*

IN WITNESS WHEREOF, I/we have hereunto set my/our hand(s) and affixed my/our seal(s) on the date(s) indicated below.

Kelly Aubart 12/10/12  
Inventor: Kelly Marshall AUBART Date

\_\_\_\_\_  
Inventor: Jason Michael GILLIAN Date

\_\_\_\_\_  
Inventor: Donghui QIN Date

\_\_\_\_\_  
Inventor: Robert Rahn McKeown Date

\_\_\_\_\_  
Inventor: Glen R. WILLIAMS Date

**Assignment**

WHEREAS, I/we, **Kelly Marshall AUBART** having an address at 1250 South Collegeville, Pennsylvania 19426, **Jason Michael GILLIAN and Robert Rahn McKEOWN** having an address of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, **Donghui QIN and Glenn R. WILLIAMS** having an address 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, USA, all citizens of the United States of America has/have invented or discovered certain improvements in **“PEPTIDE DEFORMYLASE INHIBITORS”** hereinafter referred to as said invention and improvements for which a priority application **61/566263 filed on 02 December 2011 and 61/566398 filed on 02 December 2011** in the United States Patent Office and for which PCT international application PCT/US2012/067235 filed 30 November 2012 designating the United States of America and naming assignor as inventor, and in the United States only applicant/inventor.

WHEREAS, **GLAXOSMITHKLINE LLC**, a corporation incorporated in the State of Delaware, USA, who has an office at One Franklin Plaza, 200 North 16<sup>th</sup> Street, Philadelphia, PA 19102, USA, is desirous of acquiring the whole right, title and interest in and to said invention and improvements, and in and to any applications for said invention and improvements and any Letters Patent to be obtained therefor, in all countries, including the United States, its territories and possessions;

NOW, THEREFORE, to all whom it may concern, be it known that I/we, **Kelly Marshall AUBART, Jason Michael GILLIAN, Donghui QIN, Robert Rahn McKEOWN, and Glenn R. WILLIAMS** for good and valuable consideration unto me/us moving, the receipt whereof is hereby acknowledged, have sold, assigned and transferred, and by these presents do sell, assign and transfer my/our whole right, title and interest in and to said invention and improvements to said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, throughout the United States of America, its territories and possessions, and in and to said application and any extensions, reissues, continuations, continuations-in-part, and any divisions thereof, and in and to any and all Letters Patent of the United States of America;

AND, my/our whole right, title and interest in and to said invention and improvements to **GLAXOSMITHKLINE LLC**, in all other countries throughout the world, and in and to any applications in said other countries, and continuations-in-part, patents of addition, revalidation patents, patents of importation, registrations, and any renewals, extensions and divisions thereof, and in and to any and all Letters Patent of said all other countries which may be granted on said invention and improvements including any priority rights under the International Convention.

AND, I/we do hereby authorize and request the issue of any Letters Patent in the respective areas referred to, to said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, as assignees of my/our whole right, title and interest in and to the same for the sole use and behalf of the said assignees, their successors and assigns as their interests appear herein;

AND, I/we warrant that I/we have not knowingly conveyed to others any right in said invention, improvements, applications or patents or any license to use the same or to make, use or sell anything embodying or utilizing said invention and improvements and that I/we have good right to assign the same to **GLAXOSMITHKLINE LLC**;

AND, I/we the undersigned **Kelly Marshall AUBART, Jason Michael GILLIAN, Donghui QIN, Robert Rahn McKEOWN, and Glenn R. WILLIAMS** for the consideration aforesaid, do hereby agree that I/we or my/our executors or legal representatives, will provide information and make, execute and deliver any and all other instruments in writing, and any and all further acts, application papers, affidavits, assignments and other documents which may be necessary or desirable to more effectually secure to and vest in said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, their successors and assigns, the whole right, title and interest in and to the said invention and improvements, applications, Letters Patent, rights, title and interest hereby sold, assigned and conveyed, or intended so to be. *This assignment should be deemed effective as of 02 December 2011.*

IN WITNESS WHEREOF, I/we have hereunto set my/our hand(s) and affixed my/our seal(s) on the date(s) indicated below.

Inventor: Kelly Marshall AUBART

Date

Inventor: Jason Michael GILLIAN

Date

Inventor: Donghui QIN

Date

Inventor: Robert Rahn McKeown

Date

Inventor: Glenn R. WILLIAMS

Date



Assignment

WHEREAS, I/we, **Kelly Marshall AUBART** having an address at 1250 South Collegeville, Pennsylvania 19426, **Jason Michael GILLIAN** and **Robert Rahn McKEOWN** having an address of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, **Donghui QIN** and **Glenn R. WILLIAMS** having an address 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, USA, all citizens of the United States of America has/have invented or discovered certain improvements in "**PEPTIDE DEFORMYLASE INHIBITORS**" hereinafter referred to as said invention and improvements for which a priority application **61/566263** filed on **02 December 2011** and **61/566398** filed on **02 December 2011** in the United States Patent Office and for which PCT international application PCT/US2012/067235 filed 30 November 2012 designating the United States of America and naming assignor as inventor, and in the United States only applicant/inventor.

WHEREAS, **GLAXOSMITHKLINE LLC**, a corporation incorporated in the State of Delaware, USA, who has an office at One Franklin Plaza, 200 North 16<sup>th</sup> Street, Philadelphia, PA 19102, USA, is desirous of acquiring the whole right, title and interest in and to said invention and improvements, and in and to any applications for said invention and improvements and any Letters Patent to be obtained therefor, in all countries, including the United States, its territories and possessions;

NOW, THEREFORE, to all whom it may concern, be it known that I/we, **Kelly Marshall AUBART**, **Jason Michael GILLIAN**, **Donghui QIN**, **Robert Rahn McKEOWN**, and **Glenn R. WILLIAMS** for good and valuable consideration unto me/us moving, the receipt whereof is hereby acknowledged, have sold, assigned and transferred, and by these presents do sell, assign and transfer my/our whole right, title and interest in and to said invention and improvements to said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, throughout the United States of America, its territories and possessions, and in and to said application and any extensions, reissues, continuations, continuations-in-part, and any divisions thereof, and in and to any and all Letters Patent of the United States of America;

AND, my/our whole right, title and interest in and to said invention and improvements to **GLAXOSMITHKLINE LLC**, in all other countries throughout the world, and in and to any applications in said other countries, and continuations-in-part, patents of addition, revalidation patents, patents of importation, registrations, and any renewals, extensions and divisions thereof, and in and to any and all Letters Patent of said all other countries which may be granted on said invention and improvements including any priority rights under the International Convention.

AND, I/we do hereby authorize and request the issue of any Letters Patent in the respective areas referred to, to said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, as assignees of my/our whole right, title and interest in and to the same for the sole use and behalf of the said assignees, their successors and assigns as their interests appear herein;

AND, I/we warrant that I/we have not knowingly conveyed to others any right in said invention, improvements, applications or patents or any license to use the same or to make, use or sell anything embodying or utilizing said invention and improvements and that I/we have good right to assign the same to **GLAXOSMITHKLINE LLC**;

AND, I/we the undersigned **Kelly Marshall AUBART, Jason Michael GILLIAN, Donghui QIN, Robert Rahn McKEOWN, and Glenn R. WILLIAMS** for the consideration aforesaid, do hereby agree that I/we or my/our executors or legal representatives, will provide information and make, execute and deliver any and all other instruments in writing, and any and all further acts, application papers, affidavits, assignments and other documents which may be necessary or desirable to more effectually secure to and vest in said **GLAXOSMITHKLINE LLC**, their successors and assigns, the whole right, title and interest in and to the said invention and improvements, applications, Letters Patent, rights, title and interest hereby sold, assigned and conveyed, or intended so to be. *This assignment should be deemed effective as of 02 December 2011.*

IN WITNESS WHEREOF, I/we have hereunto set my/our hand(s) and affixed my/our seal(s) on the date(s) indicated below.

Inventor: Kelly Marshall AUBART

Date

Inventor: Jason Michael GILLIAN

Date

Inventor: Donghui QIN

Date

Inventor: Robert Rahn McKeown

Date

Inventor: Glen R. WILLIAMS

Date

**Box No. VIII (ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT**

*The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII (i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to International Application No. PCT/US2012/067235

GLAXOSMITHKLINE LLC is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

an assignment from

AUBART, Kelly Marshall of 1250 South Collegeville Road, Collegeville, Pennsylvania 19426, to GlaxoSmithKline LLC dated 10 December 2012

GILLIAN, Jason Michael of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, to GlaxoSmithKline LLC dated 11 January 2013

QIN, Donghui of 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, to GlaxoSmithKline LLC dated 14 December 2012

McKEOWN, Robert Rahn of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, to GlaxoSmithKline LLC dated 10 January 2013

WILLIAMS, Glenn R. of 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, to GlaxoSmithKline LLC dated 10 January

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (ii)".

**Box No. VIII(iv) DECLARATION: INVENTORSHIP (only for the purposes of the designation of the United States of America).** The declaration must conform to the following standardized wording provided for in Section 214; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (iv). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

**Declaration of Inventorship (Rules 4.17(iv) and 51bis.1(a)(iv))  
for the purposes of the designation of the United States of America:**

I hereby declare that I believe that I am the original inventor or an original joint inventor of a claimed invention in the application.

This declaration is directed to the international application of which it forms a part (if filing declaration with application).

This declaration is directed to international application No. PCT/US2012/067235 filed on  
(if furnishing declaration pursuant to Rule 26ter).

30 November 2012

I hereby state that I have reviewed and understand the contents of the above identified specification, including the claims, as amended by any amendment referred to above.

I acknowledge the duty to disclose information which is material to the patentability as defined in Title 37, Code of Federal Regulations, Section 1.56.

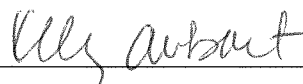
I hereby declare that the above-identified application was made or authorized to be made by me.

I hereby acknowledge that any willful false statement made in this declaration is punishable under 18 U.S.C. 1001 by fine or imprisonment of not more than five (5) years, or both.

Name: Kelly Marshall AUBART

Residence: 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature:  Date: 12/10/12

Name: Jason Michael GILLIAN

Residence: Five Moore Drive, Research Triangle Park, NC 27709

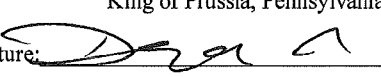
Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

Name: Donghui QIN

Residence: 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature:  Date: 1/10/13

☒ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(iv)".

**Continuation of Box No. VIII (i) to (v) DECLARATION**

*If the space is insufficient in any of Boxes Nos. VIII (i) to (v) to furnish all the information, including in the case where more than two inventors are to be named in Box No. VIII (iv), in such case, write "Continuation of Box No. VIII ..." (indicate the item number of the Box) and furnish the information in the same manner as required for the purposes of the Box in which the space was insufficient. If additional space is needed in respect of two or more declarations, a separate continuation box must be used for each such declaration. If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

Continuation of Box VIII(v)

Name: Robert Rahn McKeown

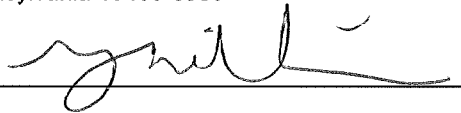
Residence: Five Moore Drive, Research Triangle Park, NC 27709

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

Name: Glenn R. WILLIAMS

Residence: 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939Inventor's Signature:  Date: 01/10/2013

Name:

Residence:

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

Name:

Residence:

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

**Box No. VIII(iv) DECLARATION: INVENTORSHIP** (only for the purposes of the designation of the United States of America). The declaration must conform to the following standardized wording provided for in Section 214; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (iv). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

**Declaration of Inventorship (Rules 4.17(iv) and 51bis.1(a)(iv))  
for the purposes of the designation of the United States of America:**

I hereby declare that I believe that I am the original inventor or an original joint inventor of a claimed invention in the application.

This declaration is directed to the international application of which it forms a part (if filing declaration with application).

This declaration is directed to international application No. PCT/US2012/067235 filed on  
(if furnishing declaration pursuant to Rule 26ter).

30 November 2012

I hereby state that I have reviewed and understand the contents of the above identified specification, including the claims, as amended by any amendment referred to above.

I acknowledge the duty to disclose information which is material to the patentability as defined in Title 37, Code of Federal Regulations, Section 1.56.

I hereby declare that the above-identified application was made or authorized to be made by me.

I hereby acknowledge that any willful false statement made in this declaration is punishable under 18 U.S.C. 1001 by fine or imprisonment of not more than five (5) years, or both.

Name: Kelly Marshall AUBART

Residence: 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426

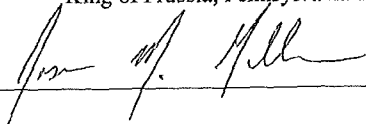
Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

Name: Jason Michael GILLIAN

Residence: Five Moore Drive, Research Triangle Park, NC 27709

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature:  Date: 11 Jan 2013

Name: Donghui QIN

Residence: 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

☒ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(iv)".

**Continuation of Box No. VIII (i) to (v) DECLARATION**

*If the space is insufficient in any of Boxes Nos. VIII (i) to (v) to furnish all the information, including in the case where more than two inventors are to be named in Box No. VIII (iv), in such case, write "Continuation of Box No. VIII..." (indicate the item number of the Box) and furnish the information in the same manner as required for the purposes of the Box in which the space was insufficient. If additional space is needed in respect of two or more declarations, a separate continuation box must be used for each such declaration. If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

Continuation of Box VIII(v)

Name: Robert Rahn McKeown

Residence: Five Moore Drive, Research Triangle Park, NC 27709

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: 

Date: 10-Jan-2013

Name: Glenn R. WILLIAMS

Residence: 709 Swedeland Road, King of Prussia, PA 19406

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_

Date: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Residence: \_\_\_\_\_

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_

Date: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Residence: \_\_\_\_\_

Mailing Address: GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property - UW2220, P.O. Box 1539  
King of Prussia, Pennsylvania 19406-0939

Inventor's Signature: \_\_\_\_\_

Date: \_\_\_\_\_

**Box No. VIII (iii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO CLAIM PRIORITY**

*The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 213; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(i) to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (iii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)):

in relation to International Application No. PCT/US2012/067235

GLAXOSMITHKLINE LLC is entitled to claim priority of earlier application No. 61/566398 filed in the United States of America by virtue of the following:

an assignment from

AUBART, Kelly Marshall of 1250 South Collegeville Road, Collegeville, Pennsylvania 19426, to GlaxoSmithKline LLC dated 10 December 2012

GILLIAN, Jason Michael of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, to GlaxoSmithKline LLC dated 11 January 2013

QIN, Donghui of 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, to GlaxoSmithKline LLC dated 14 December 2012

McKEOWN, Robert Rahn of Five Moore Drive, Research Triangle Park, North Carolina 27709, to GlaxoSmithKline LLC dated 10 January 2013

WILLIAMS, Glenn R. of 709 Swedeland Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, to GlaxoSmithKline LLC dated 10 January

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (iii)".



(51) International Patent Classification:  
*A61K 31/4985* (2006.01)(21) International Application Number:  
PCT/US2012/067235(22) International Filing Date:  
30 November 2012 (30.11.2012)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
61/566,263 2 December 2011 (02.12.2011) US  
61/566,398 2 December 2011 (02.12.2011) US(71) Applicant: GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL  
PROPERTY (NO. 2) LIMITED [GB/GB]; 980 Great  
West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS (GB).

(72) Inventors; and

(71) Applicants (for US only): AUBART, Kelly, Marshall  
[US/US]; 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA  
19426 (US). GILLIAN, Jason, Michael [US/US]; Five  
Moore Drive, Research Triangle Park, NC 27709 (US).  
QIN, Donghui [US/US]; 709 Swedeland Road, King Of  
Prussia, PA 19406 (US). MCKEOWN, Robert, Rahn  
[US/US]; Five Moore Drive, Research Triangle Park, NC27709 (US). WILLIAMS, Glenn, R. [US/US]; 709  
Swedeland Road, King Of Prussia, PA 19406 (US).(74) Agents: HSU, Grace, C. et al.; GlaxoSmithKline, Corpor-  
ate Intellectual Property, UW2220, 709 Swedeland Road,  
P.O. Box 1539, King of Prussia, PA 19406-0939 (US).(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,  
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,  
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,  
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,  
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,  
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,  
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,  
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,  
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,  
ZM, ZW.(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ,  
UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,  
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,  
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,

[Continued on next page]

(54) Title: PEPTIDE DEFORMYLASE INHIBITORS

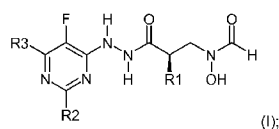
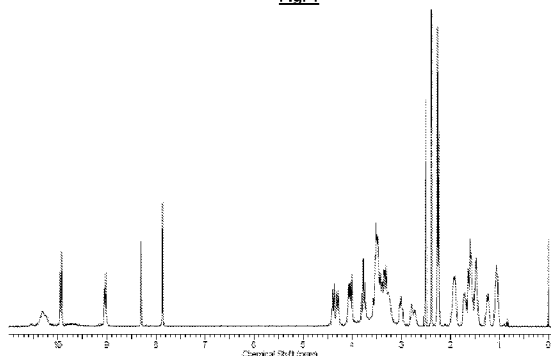


Fig. 1

Figure 1: <sup>1</sup>H NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-(5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl)hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in DMSO-d<sub>6</sub>

(57) Abstract: The present invention relates to {2-(alkyl)-3-[2-(5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazino]-3-oxopropyl}hydroxyformamide compounds of Formula (I); or pharmaceutically acceptable salts thereof, corresponding pharmaceutical compositions, processes for making and use of such compounds in the inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and in treatment methods for bacterial infections.



TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— *of inventorship (Rule 4.17(iv))*

**Declarations under Rule 4.17:**

**Published:**

— *as to applicant's entitlement to apply for and be granted  
a patent (Rule 4.17(ii))*

— *with international search report (Art. 21(3))*

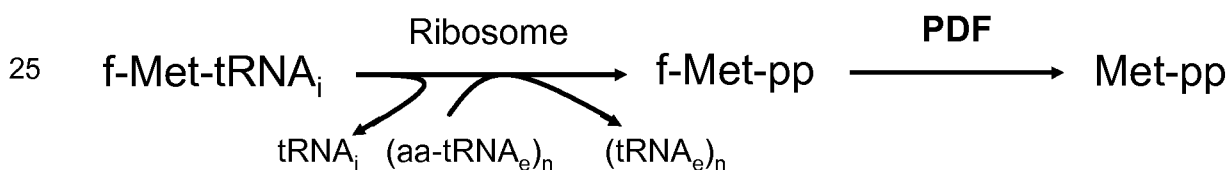
— *as to the applicant's entitlement to claim the priority of  
the earlier application (Rule 4.17(iii))*

**PEPTIDE DEFORMYLASE INHIBITORS****FIELD OF THE INVENTION**

In general, the present invention relates to {2-(alkyl)-3-[2-(5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazino]-3-oxopropyl}hydroxyformamide compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof, corresponding pharmaceutical compositions, processes for making and use of such compounds in the inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and in treatment methods for bacterial infections.

**BACKGROUND OF THE INVENTION**

Bacterial protein synthesis starts with N-formyl-methionyl-tRNA (f-Met-tRNA<sub>i</sub>) and, as a consequence, all newly synthesized polypeptides contain an N-formyl-methionine terminus (f-Met-pp) (Scheme I). Peptide deformylase (PDF) is a metalloenzyme that removes the N-formyl group of the polypeptides as they emerge from the ribosome during the elongation process [Adams, J.M. (1968) J. Mol. Biol. 33, 571-589; Livingston, D.M. and Leder, P. (1969) Biochemistry 8, 435-443; Ball, L.A. and Kaesberg, P. (1973) J. Mol. Biol. 79, 531-537]. Depending on the nature of their second amino acid, polypeptides are further processed by methionine amino peptidase (MAP) to yield the mature protein. Deformylation plays an indispensable role in protein maturation as MAP, an essential enzyme for bacterial growth, cannot hydrolyze N-blocked peptides.

**Scheme I. Role of PDF in protein synthesis**

PDF is ubiquitous in bacteria, with at least one *pdf* gene present in all bacterial genomes sequenced to date.

PDF does not play a role in eukaryotic cytoplasmic protein synthesis which does not involve N-formylation, but nuclear-encoded PDF proteins, containing a chloroplast/mitochondria localization signal, have been identified in parasites, plants and mammals, including humans. PDF is essential in plant and parasite organelles since their genomes encode for a number of proteins which require deformylation for activity, but there is evidence to suggest that this is not the case in animals. In fact,

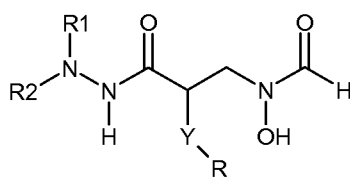
characterization of human mitochondrial PDF has shown that it is much less active than its bacterial counterpart. Furthermore, PDF inhibitors which are active against the human PDF enzyme *in vitro* have no effect on the growth of normal human cell lines [Nguyen, K.T., Hu, X., Colton, C., Chakrabarti, R., Zhu, M.X. and Pei, D. (2003)

5 Biochemistry 42, 9952-9958].

Thus, PDF inhibitors represent a promising new class of antibacterial agents with a novel mode of action covering a broad-spectrum of pathogens.

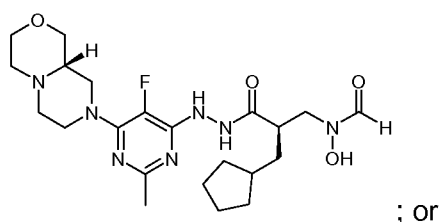
PDF inhibitors have been described in the art. Patent applications have been filed on hydrazine-3-oxopropyl hydroxyformamide derivatives of the following formula,

10 see WO 03/101442 and WO2006/055663



Also WO09/061879 (i.e., which corresponds to U.S. Pat. No. 7,893,056 to Qin et al., Issued: February 22, 2011) discloses [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-

15 [(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide, which is the compound structure as shown below:



; or

a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20 Thus, attempts have been made to prepare compounds that inhibit PDF activity and a number of such compounds have been disclosed in the art. However, there remains a continuing need for inhibitors of PDF which can be used in the treatment of bacterial infections.

In light of the foregoing, a pharmaceutically acceptable salt, and/or novel  
25 crystalline form of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide with greater aqueous solubility, chemical stability, etc. would offer many potential benefits for provision of medicinal products, especially for

inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and in treatment methods for bacterial infections.

Surprisingly, it has now been shown that novel pharmaceutically acceptable salts of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide can be isolated as pure, crystalline solids, which exhibit much higher aqueous solubility than the corresponding free base. Such novel crystalline forms also improve aqueous solubility and stability in solution of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide or pharmaceutically acceptable salts thereof, in respective salt forms or in pharmaceutical compositions or formulations.

There also exists a need to develop methods for inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and for bacterial infections, which comprises administration of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions or formulations.

The present invention is directed to overcoming these and other problems encountered in the art.

### **SUMMARY OF THE INVENTION**

In general, the present invention relates to pharmaceutically acceptable salts of {2-(alkyl)-3-[2-(5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazino]-3-oxopropyl}hydroxyformamide compounds of Formula (I), corresponding pharmaceutical compositions, processes for making and use of such compounds in the inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and in treatment methods for bacterial infections.

In particular, the present invention relates to novel salts of compounds of Formula (I), which may include, but are not limited to

- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Forms 1 and 2;
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (or i.e., also identified as [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate); and

- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate, and

5 corresponding pharmaceutical compositions or formulations.

The present invention also relates to processes for making pharmaceutically acceptable salts of compounds of Formula (I).

The present invention also relates to methods for treating bacterial infections,  
10 which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of a salt of a compound of Formula (I) or a corresponding pharmaceutical composition.

### **BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS**

Figure 1 relates to a <sup>1</sup>H NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in  
15 DMSO-d<sub>6</sub>.

Figure 2 relates to a <sup>13</sup>C NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in  
20 DMSO-d<sub>6</sub>.

Figure 3 relates to an X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1.

Figure 4 relates to an ATR-IR Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1.

Figure 5 relates to a Differential Scanning Calorimetry of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1.  
30

Figure 6 relates to a Thermogravimetric Analysis of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1.

Figure 7 relates to an X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate.  
35

Figure 8 relates to a Differential Scanning Calorimetry (DSC) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate.

5 Figure 9 relates to a Thermo-Gravimetric Analysis (TGA) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate.

10 Figure 10 relates to an X-Ray Powder Diffraction Pattern of 1:1 [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

Figure 11: Differential Scanning Calorimetry of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

15 Figure 12:  $^{13}\text{C}$  Solid State NMR ( $^{13}\text{C}$  SSNMR) spectrum of crystalline anhydrate of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 1.

20 Figure 13:  $^{19}\text{F}$  Solid State NMR ( $^{19}\text{F}$  SSNMR) spectrum of crystalline anhydrate of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 1.

25 Figure 14: ATR-IR Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydro pyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate polymorphic Form 2.

Figure 15: X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2.

30 Fig. 16:  $^1\text{H}$  Nuclear Magnetic Resonance Solution State Spectrum ( $^1\text{H}$  NMR) of [(2R)-2-(Cyclopentyl methyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2 in  $\text{DMSO-d}_6$  at  $25^\circ\text{C}$ .

35 Figure 17:  $^{13}\text{C}$  Solid State NMR (SSNMR) spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-

yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
methanesulphonate polymorphic crystalline anhydrate Form 2.

Figure 18: <sup>19</sup>F Solid State NMR (SSNMR) spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
methanesulphonate polymorphic crystalline anhydrate Form 2.

Figure 19: <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Solution State Spectrum (<sup>1</sup>H NMR) for [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide  
camphorsulfonate at 25°C in DMSO-d<sub>6</sub>

Figure 20: X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2.

## **DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION**

In general, the present invention relates to pharmaceutically acceptable salts of {2-(alkyl)-3-[2-(5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazino]-3-oxopropyl}hydroxyformamide compounds of Formula (I), corresponding pharmaceutical compositions, processes for making and use of such compounds in the inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and in treatment methods for bacterial infections.

In particular, the present invention relates to novel salts of compounds of Formulas (I), which may include, but are not limited to

- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Forms 1 and 2;
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (or i.e., also identified as [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate); and
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate; and

corresponding pharmaceutical compositions or formulations.

The present invention also relates to processes for making salts of compounds of Formula (I).

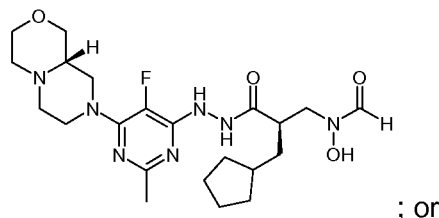


The present invention also relates to methods for treating bacterial infections, which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of a salt of a compound of Formula (I) or a corresponding pharmaceutical composition.

## 5 **Compounds**

In general, the present invention relates to {2-(alkyl)-3-[2-(5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazino]-3-oxopropyl}hydroxyformamide compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof.

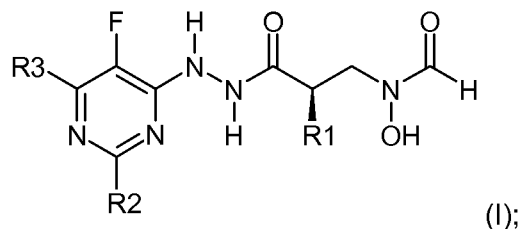
WO9/061879 (corresponds to U.S. Pat. No. 7,893,056 to Qin et al., Issued: February 22, 2011) discloses [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide, which is the compound structure as shown below:



; or

a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In light of the above, in one aspect, the present invention relates to a compound of Formula (I):



where:

R1 is selected from the group consisting of C2-C7 alkyl and  $-(CH_2)_n$ -C3-C6 cycloalkyl;

R2 is selected from the group consisting of C1-C3 alkyl; cyclopropyl; C1-C3 alkoxy; C1-C3 haloalkyl; C1-C3 sulfanyl; 5-membered heteroaryl; 5-membered heterocycloalkyl; halo; hydroxymethyl; and  $-NRaRb$ ;

R3 is selected from the group consisting of  $-NR4R5$ ; halo; phenyl, optionally substituted by one to three R6 groups; and heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups;

R4 is selected from the group consisting of H; C1-C6 alkyl, optionally substituted with one or two R7 groups; C1-C6 alkoxy; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one to three R6 groups; heterocycloalkyl, optionally substituted by one to three R6 groups; heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups; and  
5 phenyl, optionally substituted by one to three R6 groups;

R5 is selected from H; C1-C6 alkyl, optionally substituted with one or two R7 groups; C1-C6 alkoxy; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one to three R6 groups; heterocycloalkyl, optionally substituted by one to three R6 groups; heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups; and phenyl, optionally substituted by  
10 one to three R6 groups; or

R4 and R5 are joined together with the N-atom to which they are attached, forming a heterocycloalkyl group optionally substituted with one to three R6 groups; where:

each R6 is independently selected from the group consisting of C1-C6  
15 alkyl, optionally substituted with one to three R7 groups; hydroxy; C1-C3 alkoxy; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; -C(O)ORc; heterocycloalkyl; C3-C6 cycloalkyl optionally substituted with one -NRaRb or pyrrolidinyl; oxo; cyano; -NRaRb; phenyl; heteroaryl; and halo;

each R7 is independently selected from the group consisting of  
20 hydroxy; C1-C3 alkoxy; halo; phenyl; cyano; -NRaRb; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one hydroxy, heterocycloalkyl or -NRaRb group; heterocycloalkyl; and heteroaryl optionally substituted with one methyl, -NRaRb or hydroxy;

each Ra as defined above is independently selected from the group  
25 consisting of H and C1-C3 alkyl optionally substituted with one hydroxy, methoxy, or dimethylamine;

each Rb as defined above is independently selected from the group consisting of H and C1-C3 alkyl;

each Rc as defined above is independently selected from the group  
30 consisting of C1-C3 alkyl optionally substituted with one methoxy group; phenyl; heterocycloalkyl; and heteroaryl; and

n is an integer from 0 to 2; or

a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In one aspect of the present invention R1 is -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C3-C6 cycloalkyl. Suitably,  
35 R1 is -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C3-C6 cycloalkyl wherein n is 1. Suitably R1 is -CH<sub>2</sub>-cyclopentyl.

In another embodiment of the present invention R2 is C1-C3 alkyl; C1-C3 alkoxy; C1-C3 haloalkyl; C1-C3 sulfanyl; or halo. Suitably R2 is methyl; ethyl; thiomethyl; thioethyl; fluoromethyl; difluoromethyl; 1-fluoromethyl; chloro; cyclopropyl; or methoxy. Suitably R2 is methyl; ethyl; thiomethyl; or chloro.

5 In another aspect of the present invention R3 is -NR4R5; C1-C6 alkoxy; or heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups. Suitably R3 is -NR4R5 wherein R4 is C1-C6 alkyl, optionally substituted with one or two R7 groups; or C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted by one to three R6 groups; and R5 is H, C1-C6 alkyl, or C1-C6 alkoxy.

10 In another aspect of the present invention R4 is cyclopropyl; cyclobutyl; cyclopentyl; tetrahydro-2H-pyran-2-yl; 2-oxohexahydro-1H-azepin-2-yl; 2-oxo-2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepin-2-yl; 5-fluoro-pyridin-2-yl; or C1-C6 alkyl optionally substituted with one of the following R7 groups selected from the group consisting of hydroxyl; methoxy; cyano; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; morpholin-2-yl; pyridin-2-yl; 1,3-thiazol-2-yl; 2-amino-1,3-thiazol-2-yl; thien-2-yl; furan-2-yl; phenyl; and 1-hydroxy-1H-imidazol-2-yl; and R5 is H; C1-C3 alkyl; cyclopropyl; or piperazin-1-yl optionally substituted with one R6 group.

In another aspect R4 is methyl; ethyl optionally substituted with one substituent selected from the group consisting of: hydroxyl, methoxy and -NRaRb; propyl; isopropyl; cyclopropyl; cyclobutyl; and cyclopentyl.

20 In another aspect of the present invention R5 is selected from the group consisting of H; C1-C6 alkyl; C1-C6 alkoxy; and C3-C6 cycloalkyl. Suitably R5 is H; methyl; or methoxy. Suitably R5 is H; C1-C3 alkyl; cyclopropyl; or piperazin-1-yl optionally substituted with one R6 group.

In another aspect of the present invention R3 is -NR4R5 wherein R4 and R5 are joined together with the N-atom to which they are attached to form a heterocycloalkyl group optionally substituted with one to three R6 groups, where heterocycloalkyl groups may include, but are not limited to monocyclic ring systems or are fused, spiro, or bridged bicyclic ring systems.

30 Suitably R3 is -NR4R5 wherein R4 and R5 are joined together with the N-atom to which they are attached forming azetidin-1-yl; pyrrolidin-1-yl; piperazin-1-yl; morpholin-2-yl; 2,5-dihydro-1H-pyrrolo[1,2-a]pyrazin-(1H)-yl; hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-(1H)-yl; isoxazolidin-1-yl; hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-(1H)-yl; or 2,5-diazabicyclo[2.2.1]hept-2-yl each of which may be optionally substituted with one to three R6 groups.

35 In another aspect of the present invention R3 is -NR4R5 wherein R4 and R5 are joined together with the N-atom to which they are attached forming 1-piperidin-1-yl; 4-thiomorpholin-1-yl; 1-pyrazolidin-1-yl; tetrahydro-5H-[1,3]dioxolo[4,5-c]pyrrolo[1,2-a]pyrazin-(1H)-yl; tetrahydro-

1H-furo[3,4-c]pyrrol-(3H)-yl; hexahydropyrrolo[3,4-c]pyrrol-(1H)-yl;  
 hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-(1H)-yl; hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-(1H)-yl;  
 hexahydrofuro[3,4-b]pyrazin-(2H)-yl; octahydro-2H-pyrido[1,2-a]pyrazinyl;  
 octahydropyrazino[1,2-a]azepin-(1H)-yl; octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazinyl;  
 5 octahydro-1H-cyclopenta[b]pyrazinyl; octahydro-1(2H)-quinoxaliny; octahydro-6H-  
 pyrrolo[3,4-b]pyridinyl; 3-azabicyclo[3.1.0]hexyl; 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptyl; 4,7-  
 diazaspiro[2.5]octyl; 5-azaspiro[2.4]heptyl; or 10-oxa-4-azatricyclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>]decyl.

Suitably R3 is -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> wherein R<sub>4</sub> and R<sub>5</sub> are joined together with the N-atom  
 to which they are attached forming azetidiny optionally substituted with one or two R<sub>6</sub>  
 10 groups each independently selected from the group consisting of methyl; ethyl; fluoro;  
 methoxy; hydroxyl; hydroxymethyl; cyclopropyl; dimethylamino; ethylmethylamino; -  
 CH<sub>2</sub>-dimethylamino; morpholinyl; pyrrolidinyl; -CH<sub>2</sub>-pyrrolidinyl; and pyridinyl.

Suitably R3 is -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> wherein R<sub>4</sub> and R<sub>5</sub> are joined together with the N-atom  
 to which they are attached forming pyrrolidinyl optionally substituted with one to three  
 15 R<sub>6</sub> groups each independently selected from the group consisting of methyl; methoxy; -  
 CH<sub>2</sub>-methoxy; hydroxyl; hydroxymethyl; hydroxyethyl; dimethylamino;  
 ethylmethylamino; -CH<sub>2</sub>-dimethylamino; -CH<sub>2</sub>-pyrrolidinyl; -CH<sub>2</sub>-morpholinyl; pyridinyl;  
 2-(dimethylamino)-1,1-dimethylethyl; fluoromethyl; -CH<sub>2</sub>-2-hydroxyethylmethylamino;  
 -CH<sub>2</sub>-2-methoxyethylamino; cyano; -C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 1-(dimethylamino)cyclopropyl;  
 20 -CH<sub>2</sub>-ethylemethylamino; -CH<sub>2</sub>-diethylamino; -C(O)N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; -CH<sub>2</sub>-piperidinyl;  
 -CH<sub>2</sub>-isopropylmethylamino; -CH<sub>2</sub>-propylmethylamino; -NHCOOCH<sub>3</sub>; -CH<sub>2</sub>-3H-  
 [1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-3-yl; and (cis)-10-oxa-4-azatricyclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>]dec-4-yl.

Suitably R3 is -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> wherein R<sub>4</sub> and R<sub>5</sub> are joined together with the N-atom  
 to which they are attached forming piperazinyl optionally substituted with one to three R<sub>6</sub>  
 25 groups each independently selected from the group consisting of methyl; ethyl;  
 isopropyl; hydroxymethyl; hydroxyethyl; -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>; and -COOCH<sub>3</sub>.

Suitably R3 is -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> wherein R<sub>4</sub> and R<sub>5</sub> are joined together with the N-atom  
 to which they are attached forming (9aS)-octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazinyl.

In another aspect of the the present invention R<sub>6</sub> is C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alkyl, optionally  
 30 substituted with one to three R<sub>7</sub> groups; hydroxy; C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> alkoxy; -C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>; or  
 -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>. Suitably R<sub>6</sub> is methyl; ethyl; isopropyl; methoxy; hydroxyl; diethylamino; or  
*N,N*-dimethylacetamido.

In another aspect of the present invention R<sub>6</sub> is heteroaryl. Suitably R<sub>6</sub> is a 6-  
 membered heteroaryl. Suitably R<sub>6</sub> is pyridinyl.

In another aspect of the present invention R7 is C1-C3 alkoxy; hydroxyl; or -NRaRb. Suitably R7 is methoxy.

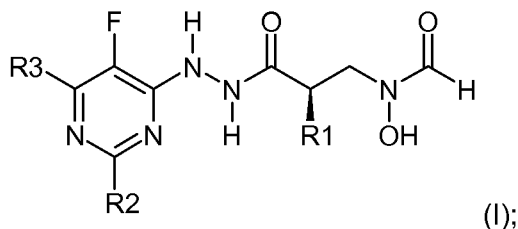
In another aspect of the present invention R7 is heterocycloalkyl. Suitably R7 is a 6-membered heterocycloalkyl. Suitably R7 is morpholinyl.

5 In another aspect of the present invention R7 is heteroaryl. Suitably R7 is pyridinyl; 1,3-thiazolyl; thienyl; furanyl; imidazolyl; 1H-benzamidazolyl; 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-3-yl; or 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yl.

In another aspect of the present invention Ra and Rb are both methyl.

10 In another aspect of the present invention Rc is heterocycloalkyl. Suitably Rc is pyrrolidinyl.

In another aspect of the present invention is a compound according to Formula (I):



where:

15 R1 is selected from the group consisting of C2-C7 alkyl and  $-(CH_2)_n$ -C3-C6 cycloalkyl;

R2 is selected from the group consisting of C1-C3 alkyl; cyclopropyl; C1-C3 alkoxy; C1-C3 haloalkyl; C1-C3 sulfanyl; 5-membered heteroaryl; 5-membered heterocycloalkyl; halo; hydroxymethyl; and -NRaRb;

20 R3 is selected from the group consisting of -NR4R5; halo; phenyl, optionally substituted by one to three R6 groups; and heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups;

R4 is selected from the group consisting of H; C1-C6 alkyl, optionally substituted with one or two R7 groups; C1-C6 alkoxy; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one to three R6 groups; heterocycloalkyl, optionally substituted by one to three R6 groups; heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups; and phenyl, optionally substituted by one to three R6 groups;

25 R5 is selected from the group consisting of H; C1-C6 alkyl, optionally substituted with one or two R7 groups; C1-C6 alkoxy; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one to three R6 groups; heterocycloalkyl, optionally substituted by one to three R6 groups; heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups; and phenyl, optionally substituted by one to three R6 groups; or

R4 and R5 are joined together with the N-atom to which they are attached, forming a heterocycloalkyl group optionally substituted with one to three R6 groups; where:

each R6 is independently selected from the group consisting of C1-C6 alkyl, optionally substituted with one to three R7 groups; hydroxy; C1-C3 alkoxy; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; heterocycloalkyl; C3-C6 cycloalkyl; oxo; cyano; -NRaRb; phenyl; heteroaryl; and halo;

each R7 is independently selected from the group consisting of hydroxy; C1-C3 alkoxy; halo; phenyl; cyano; -NRaRb; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one hydroxy, heterocycloalkyl or -NRaRb group; heterocycloalkyl; and heteroaryl;

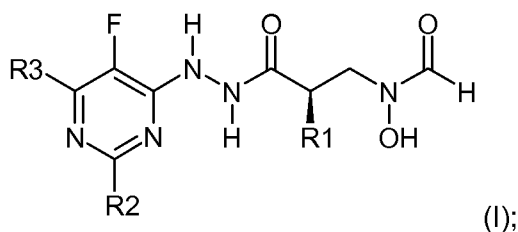
each Ra as defined above is independently selected from the group consisting of H and C1-C3 alkyl;

each Rb as defined above is independently selected from the group consisting of H and C1-C3 alkyl;

each Rc as defined above is independently selected from the group consisting of C1-C3 alkyl; phenyl; heterocycloalkyl; and heteroaryl; and n is an integer from 0 to 2; or

a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another aspect of the present invention is a compound according to Formula (I):



where:

R1 is -CH<sub>2</sub>-cyclopentyl;

R2 is selected from the group consisting of methyl; ethyl; thiomethyl; thioethyl; fluoromethyl; difluoromethyl; 1-fluoromethyl; chloro; cyclopropyl; or methoxy;

R3 is -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>;

R4 is selected from the group consisting of H; C1-C3 alkyl; cyclopropyl; and piperazinyl optionally substituted with one R6 group;

R5 is selected from the group consisting of H; C1-C6 alkyl, optionally substituted with one or two R7 groups; C1-C6 alkoxy; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one to three R6 groups; heterocycloalkyl, optionally substituted by one to three R6

groups; heteroaryl, optionally substituted by one to three R6 groups; and phenyl, optionally substituted by one to three R6 groups; or

R4 and R5 are joined together with the N-atom to which they are attached, forming a heterocycloalkyl group optionally substituted with one to three R6 groups;

5 where:

each R6 is independently selected from the group consisting of C1-C6 alkyl, optionally substituted with one to three R7 groups; hydroxy; C1-C3 alkoxy; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; C(O)ORc; heterocycloalkyl; C3-C6 cycloalkyl optionally substituted with one -NRaRb or pyrrolidinyl; oxo; cyano; -NRaRb; phenyl; heteroaryl; and halo;

each R7 is independently selected from the group consisting of hydroxy; C1-C3 alkoxy; halo; phenyl; cyano; -NRaRb; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; C3-C6 cycloalkyl, optionally substituted with one hydroxy, heterocycloalkyl or -NRaRb group; heterocycloalkyl; and heteroaryl optionally substituted with one methyl, -NRaRb or hydroxy;

each Ra is each independently selected from H and C1-C3 alkyl optionally substituted with one hydroxy, methoxy group or dimethylamine;

each Rb is independently selected from H and C1-C3 alkyl; and

each Rc is independently selected from C1-C3 alkyl optionally substituted with one methoxy group; phenyl; heterocycloalkyl; and heteroaryl; or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In one aspect, the present invention relates to [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In one aspect, the present invention relates to [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesuphonate.

In one aspect, the present invention relates to [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesuphonate (or i.e., also identified as [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate).

In one aspect, the present invention relates to [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

## 5 Terms and Definitions

“**Alkyl**” refers to a monovalent saturated hydrocarbon chain having the specified number of member carbon atoms. For example, C1-C7 alkyl refers to an alkyl group having from 1 to 7 member carbon atoms. Alkyl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Alkyl groups may be  
10 straight or branched. Representative branched alkyl groups have one, two, or three branches. Alkyl includes methyl, ethyl, propyl (n-propyl and isopropyl), butyl (n-butyl, isobutyl, and t-butyl), pentyl (n-pentyl, isopentyl, and neopentyl), and hexyl.

“**Alkenyl**” refers to an unsaturated hydrocarbon chain having the specified number of member carbon atoms and having one or more carbon-carbon double bonds  
15 within the chain. For example, C2-C6 alkenyl refers to an alkenyl group having from 2 to 6 member carbon atoms. In certain embodiments, alkenyl groups have one carbon-carbon double bond within the chain. In other embodiments, alkenyl groups have more than one carbon-carbon double bond within the chain. Alkenyl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Alkenyl groups  
20 may be straight or branched. Representative branched alkenyl groups have one, two, or three branches. Alkenyl includes ethylenyl, propenyl, butenyl, pentenyl, and hexenyl.

“**Alkoxy**” refers to an alkyl moiety attached through an oxygen bridge (i.e. a –O-C1-C6 alkyl group wherein C1-C6 is defined herein). Examples of such groups include methoxy, ethoxy, propoxy, butoxy, pentoxy and hexoxy.

“**Alkynyl**” refers to an unsaturated hydrocarbon chain having the specified number of member carbon atoms and having one or more carbon-carbon triple bonds within the chain. For example, C2-C6 alkynyl refers to an alkynyl group having from 2 to 6 member atoms. In certain embodiments alkynyl groups have one carbon-carbon triple bond within the chain. In other embodiments, alkynyl groups have more than one  
30 carbon-carbon triple bond within the chain. For the sake of clarity, unsaturated hydrocarbon chains having one or more carbon-carbon triple bond within the chain and one or more carbon-carbon double bond within the chain are referred to as alkynyl groups. Alkynyl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Representative branched alkynyl groups have one, two, or three  
35 branches. Alkynyl includes ethynyl, propynyl, butynyl, pentynyl, and hexynyl.



**“Aryl”** refers to an aromatic hydrocarbon ring system. Aryl groups are monocyclic ring systems or bicyclic ring systems. Monocyclic aryl ring refers to phenyl. Bicyclic aryl rings refer to naphthyl and to rings wherein phenyl is fused to a cycloalkyl or cycloalkenyl ring having 5, 6, or 7 member carbon atoms. Aryl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein.

**“Cycloalkyl”** refers to a saturated hydrocarbon ring having the specified number of member carbon atoms. Cycloalkyl groups are monocyclic ring systems. For example, C3-C6 cycloalkyl refers to a cycloalkyl group having from 3 to 6 member atoms. Cycloalkyl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Cycloalkyl includes cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and cyclohexyl.

**“Cycloalkenyl”** refers to an unsaturated hydrocarbon ring having the specified number of member carbon atoms and having a carbon-carbon double bond within the ring. For example, C3-C6 cycloalkenyl refers to a cycloalkenyl group having from 3 to 6 member carbon atoms. In certain embodiments, cycloalkenyl groups have one carbon-carbon double bond within the ring. In other embodiments, cycloalkenyl groups have more than one carbon-carbon double bonds within the ring. Cycloalkenyl rings are not aromatic. Cycloalkenyl groups are monocyclic ring systems. Cycloalkenyl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Cycloalkenyl includes cyclopropenyl, cyclobutenyl, cyclopentenyl, cyclohexenyl, and cyclohexadienyl.

**“Enantiomeric excess”** or **“ee”** is the excess of one enantiomer over the other expressed as a percentage. As a result, since both enantiomers are present in equal amounts in a racemic mixture, the enantiomeric excess is zero (0% ee). However, if one enantiomer was enriched such that it constitutes 95% of the product, then the enantiomeric excess would be 90% ee (the amount of the enriched enantiomer, 95%, minus the amount of the other enantiomer, 5%).

**“Enantiomerically enriched”** refers to products whose enantiomeric excess is greater than zero. For example, enantiomerically enriched refers to products whose enantiomeric excess is greater than 50% ee, greater than 75% ee, or greater than 90% ee.

**“Enantiomerically pure”** refers to products whose enantiomeric excess is 99% ee or greater.

**“Halo”** refers to the halogen radicals fluoro, chloro, bromo, and iodo.

**“Haloalkyl”** refers to an alkyl group wherein at least one hydrogen atom attached to a member atom within the alkyl group is replaced with halo. The number of

halo substituents include but are not limited to 1, 2, 3, 4, 5, or 6 substituents. Haloalkyl includes monofluoromethyl, difluoroethyl, and trifluoromethyl.

**"Heteroaryl"** refers to an aromatic ring containing from 1 to 5, suitably 1 to 4, more suitably 1 or 2 heteroatoms as member atoms in the ring. Heteroaryl groups containing more than one heteroatom may contain different heteroatoms. Heteroaryl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Heteroaryl groups are monocyclic ring systems, or are fused bicyclic ring systems. Monocyclic heteroaryl rings have from 5 to 6 member atoms. Bicyclic heteroaryl rings have from 8 to 10 member atoms. Bicyclic heteroaryl rings include those rings wherein the primary heteroaryl and the secondary monocyclic cycloalkyl, cycloalkenyl, heterocycloalkyl, aryl or heteroaryl ring are attached, forming a fused bicyclic ring system. Heteroaryl includes, among others, pyrrolyl, pyrazolyl, imidazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, oxadiazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, thiadiazolyl, furanyl, furazanyl, thienyl, triazolyl, pyridinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazinyl, triazinyl, tetrazinyl, tetrazolyl, indolyl, isoindolyl, indolizynyl, indazolyl, purinyl, quinolynyl, isoquinolynyl, quinoxalynyl, quinazolinyl, pteridinyl, cinnolynyl, benzimidazolyl, benzopyranyl, benzoxazolyl, benzisoxazolyl, benzofuranyl, isobenzofuranyl, benzothiazolyl, benzisothiazolyl, benzothienyl, furopyridinyl, naphthyridinyl, pyrazolopyridyl, pyrazolopyrimidinyl, 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidinyl, and 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridinyl.

**"Heteroatom"** refers to a nitrogen, sulfur, or oxygen atom.

**"Heterocycloalkyl"** refers to a saturated or unsaturated ring containing from 1 to 4 heteroatoms as member atoms in the ring. Heterocycloalkyl rings are not aromatic. Heterocycloalkyl groups containing more than one heteroatom may contain different heteroatoms. Heterocycloalkyl groups may be optionally substituted with one or more substituents as defined herein. Heterocycloalkyl groups are monocyclic ring systems or are fused, spiro, or bridged bicyclic ring systems. Monocyclic heterocycloalkyl rings have from 4 to 7 member atoms. Bicyclic heterocycloalkyl rings have from 7 to 11 member atoms. In certain embodiments, heterocycloalkyl is saturated. In other embodiments, heterocycloalkyl is unsaturated, but not aromatic. Heterocycloalkyl includes, among others, pyrrolidinyl, tetrahydrofuranyl, dihydrofuranyl, pyranyl, tetrahydropyranyl, dihydropyranyl, tetrahydrothienyl, pyrazolidinyl, oxazolidinyl, thiazolidinyl, piperidinyl, homopiperidinyl, piperazinyl, morpholynyl, thiamorpholynyl, 1-pyrazolidinyl, azepinyl, 1,3-dioxanyl, 1,4-dioxanyl, 1,3-oxathiolanyl, 1,3-dithianyl, azetidynyl, isoxazolidinyl, 3-azabicyclo[3.1.0]hexyl, azabicyclo[3.2.1]octyl, azabicyclo[3.3.1]nonyl, azabicyclo[4.3.0]nonyl, 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptanyl, octahydropyrrolo[1,2-a]pyrazinyl, octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazinyl,

oxabicyclo[2.2.1]heptyl, hexahydro-1H-azepinyl, 2,3,4,7-tetrahydro-1H-azepinyl, tetrahydro-5H-[1,3]dioxolo[4,5-c]pyrrolyl, tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrol-(3H)-yl, hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-(1H)-yl, octahydropyrazino[1,2-a]azepin-(1H)-yl, hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-(1H)-yl, hexahydropyrrolo[3,4-c]pyrrol-(1H)-yl, 10-oxa-4-azatricyclo[5.2.1.0<sup>2,6</sup>]decyl, octahydro-1(2H)-quinoxalinyloctahydro-1H-cyclopenta[b]pyrazinyl, hexahydrofuro[3,4-b]pyrazin-(2H)-yl, octahydro-6H-pyrrolo[3,4-b]pyridinyl, 4,7-diazaspiro[2.5]octyl, and 5-azaspiro[2.4]heptyl.

**"Member atoms"** refers to the atom or atoms that form a chain or ring. Where more than one member atom is present in a chain and within a ring, each member atom is covalently bound to an adjacent member atom in the chain or ring. Atoms that make up a substituent group on a chain or ring are not member atoms in the chain or ring.

**"Optionally substituted"** indicates that a group, such as alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cycloalkyl, cycloalkenyl, heterocycloalkyl, or heteroaryl, may be unsubstituted, or the group may be substituted with one or more substituents as defined herein.

**"Pharmaceutically acceptable"** refers to those compounds, materials, compositions, and dosage forms which are, within the scope of sound medical judgment, suitable for use in contact with the tissues of human beings or animals without excessive toxicity, irritation, or other problem or complication, commensurate with a reasonable benefit/risk ratio.

**"Substituted"** in reference to a group indicates that one or more hydrogen atoms attached to a member atom within the group is replaced with a substituent selected from the group of defined substituents. It should be understood that the term "substituted" includes the implicit provision that such substitution be in accordance with the permitted valence of the substituted atom and the substituent, and that the substitution results in a stable compound (i.e. one that does not spontaneously undergo transformation such as by hydrolysis, rearrangement, cyclization, or elimination, and that is sufficiently robust to survive isolation from a reaction mixture). When it is stated that a group may contain one or more substituents, one or more (as appropriate) member atom within the group may be substituted. In addition, a single member atom within the group may be substituted with more than one substituent as long as such substitution is in accordance with the permitted valence of the atom. Suitable substituents are defined herein for each substituted or optionally substituted group.

**"Sulfanyl"** refers to an alkyl moiety attached through a sulphur bridge (i.e. -S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl group wherein C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl is as defined herein). Examples of sulfanyl groups include thiomethyl and thioethyl.

For the avoidance of doubt, the following terms generally are used interchangeably, synonymously herein or any variation thereof: Polymorphic Form 1 or 2 of a compound salt of the present invention, Compound Salt Polymorphic Form 1 or 2, Compound Salt Form 1 or 2 and the like. For example, the following terms to describe specific compounds of the present invention are used interchangeably, synonymously or any variation thereof:

with regard to:

- Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate;
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1;
- Polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate; or
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Polymorphic Form 1; and the like.; and/or

with regard to:

- Form 2 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate;
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2;
- Polymorphic Form 2 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate; or
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Polymorphic Form 2; and the like.

## **ENANTIOMERS, DIASTEREOMERS AND POLYMORPHS**

The compounds according to Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, may contain one or more asymmetric centers (also referred to as a chiral center) and may, therefore, exist as individual enantiomers, diastereomers, or other stereoisomeric forms, or as mixtures thereof.

Chiral centers, such as chiral carbon atoms, may also be present in a substituent such as an alkyl group. Where the stereochemistry of a chiral center

present in Formula I, or in any chemical structure illustrated herein, is not specified, the structure is intended to encompass all individual stereoisomers and all mixtures thereof.

Thus, compounds according to Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof, containing one or more chiral centers may be used as racemic mixtures,  
5 diastereomeric mixtures, enantiomerically enriched mixtures, diastereomerically enriched mixtures, or as enantiomerically and diastereomerically pure individual stereoisomers.

Individual stereoisomers of a compound according to Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof which contain one or more asymmetric centers  
10 may be resolved by methods known to those skilled in the art. For example, such resolution may be carried out (1) by formation of diastereoisomeric salts, complexes or other derivatives; (2) by selective reaction with a stereoisomer-specific reagent, for example by enzymatic oxidation or reduction; or (3) by gas-liquid or liquid chromatography in a chiral environment, for example, on a chiral support such as silica  
15 with a bound chiral ligand or in the presence of a chiral solvent. The skilled artisan will appreciate that where the desired stereoisomer is converted into a diastereomeric salt, complex or derivative, a further step is required to liberate the desired form. Alternatively, specific stereoisomers may be synthesized by asymmetric synthesis using optically active reagents, substrates, catalysts or solvents, or by converting one  
20 enantiomer to the other by asymmetric transformation.

When a disclosed compound or its salt is named or depicted by structure, it is to be understood that the compound or salt, including solvates (particularly, hydrates) thereof, may exist in crystalline forms, non-crystalline forms or a mixture thereof. The compound or salt, or solvates (particularly, hydrates) thereof, may also exhibit  
25 polymorphism (i.e. the capacity to occur in different crystalline forms). These different crystalline forms are typically known as "polymorphs."

In light of this, salt forms of the present invention (i.e., which may include different polymorphs, anhydrous forms, solvates, or hydrates thereof) may exhibit characteristic polymorphism. As conventionally understood in the art, polymorphism is defined as an  
30 ability of a compound to crystallize as more than one distinct crystalline or "polymorphic" species. A polymorph is defined as a solid crystalline phase of a compound with at least two different arrangements or polymorphic forms of that compound molecule in the solid state.

Polymorphic forms of any given compound, including those of the present  
35 invention, are defined by the same chemical formula or composition and are as distinct in chemical structure as crystalline structures of two different chemical compounds. Such

compounds may differ in packing, geometrical arrangement of respective crystalline lattices, etc.

It is to be understood that when named or depicted by structure, the disclosed compound, or solvates (particularly, hydrates) thereof, also include all polymorphs thereof. Polymorphs have the same chemical composition but differ in packing, geometrical arrangement, and other descriptive properties of the crystalline solid state.

In light of the foregoing, chemical and/or physical properties or characteristics vary with each distinct polymorphic form, which may include variations in solubility, melting point, density, hardness, crystal shape, optical and electrical properties, vapor pressure, stability, etc.

Solvates and/or hydrates of crystalline salt forms of the present invention also may be formed when solvent molecules are incorporated into the crystalline lattice structure of the compound molecule during the crystallization process. For example, solvate forms of the present invention may incorporate nonaqueous solvents such as methanol and the like as described herein below. Hydrate forms are solvate forms, which incorporate water as a solvent into a crystalline lattice.

Anhydrous with respect to solid state polymorphism refers to a crystalline structure that does not contain a repeating, crystalline solvent in the lattice. However, crystalline materials can be porous and may exhibit reversible surface adsorption of water.

For example:

- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 is an anhydrous, crystalline polymorph of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate.

The aforementioned [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Polymorphic Form 1 can adsorb up to 0.4% (wt/wt) of labile water reversibly up to 70% relative humidity, at which point it deliquesces.; and

- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 is an anhydrous, crystalline polymorph of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate.

The aforementioned [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-

oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 can adsorb up to 2% (wt/wt) labile water reversibly up to 95% relative humidity.

In light of that, novel salt compounds of the present invention may exist as  
5 crystalline anhydrous forms or crystalline anhydrates, hydrated forms (i.e., hydrate forms are solvate forms, which incorporate water as a solvent into a crystalline lattice) or mixtures thereof.

In one aspect, the compound (Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 may exist as a crystalline  
10 anhydrate or crystalline anhydrous form, a hydrate, or a mixture thereof.

In another aspect, the compound (Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 may exist as a crystalline  
15 anhydrate or crystalline anhydrous form, a hydrate, or a mixture thereof.

Polymorphs, therefore, may have different physical properties such as shape, density, hardness, deformability, stability, and dissolution properties. Polymorphs typically exhibit different melting points, IR spectra, and X-ray powder diffraction patterns, which may be used for identification. One of ordinary skill in the art will appreciate that different  
20 polymorphs may be produced, for example, by changing or adjusting the conditions used in crystallizing/recrystallizing the compound.

The compounds according to Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof may also contain double bonds or other centers of geometric asymmetry. Where the stereochemistry of a center of geometric asymmetry present in Formula I, or in any  
25 chemical structure illustrated herein, is not specified, the structure is intended to encompass the trans (*E*) geometric isomer, the cis (*Z*) geometric isomer, and all mixtures thereof. Likewise, all tautomeric forms are also included in Formula I whether such tautomers exist in equilibrium or predominately in one form.

The skilled artisan will further appreciate that certain compounds of the invention  
30 that exist in crystalline form, including the various solvates thereof, may exhibit polymorphism (i.e. the capacity to occur in different crystalline structures). These different crystalline forms are typically known as "polymorphs." The invention includes all such polymorphs.

Polymorphs have the same chemical composition but differ in packing,  
35 geometrical arrangement, and other descriptive properties of the crystalline solid state.

Polymorphs, therefore, may have different physical properties such as shape, density, hardness, deformability, stability, and dissolution properties.

According to the instant invention, the various forms (i.e., which may include, but are not limited to polymorphic, salt, solvate, anhydrate, hydrate, crystalline, forms etc.) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (i.e. which include salts and/or solvates thereof) are distinguished from each other using different characterization or identification techniques. Such techniques, include solid state <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance (NMR), <sup>31</sup>P Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Infrared (IR), Raman, X-ray powder diffraction, etc. and/or other techniques, such as Differential Scanning Calorimetry (DSC) (i.e., which measures the amount of energy (heat) absorbed or released by a sample as it is heated, cooled or held at constant temperature). For example, Polymorphs typically exhibit different melting points, IR spectra, and X-ray powder diffraction patterns, which may be used for identification.

The skilled artisan will appreciate that different polymorphs may be produced, for example, by changing or adjusting the reaction conditions or reagents used in making the compound, or by using different isolation or purification procedures. For example, changes in temperature, pressure, or solvent may result in polymorphs. In addition, one polymorph may spontaneously convert to another polymorph under certain conditions.

As is known, the crystalline state of a compound can be described by several crystallographic parameters: unit cell dimensions, space groups, and atomic position of the atoms in the compound relative to the origin of its unit cell. These parameters are experimentally determined by crystal X-ray analysis. It is possible for a compound to form more than one type of crystal. These different crystalline forms are called polymorphs.

Characteristic powder X-ray diffraction pattern peak positions are reported for polymorphs in terms of the angular positions (two theta) with an allowable variability, generally of about 0.1 +/- °2-theta or 0.1 +/- °3-theta. The entire pattern, or most of the pattern peaks may also shift by about 0.1 +/- ° due to difference in calibration, setting, and other variations from instrument to instrument and from operator to operator.

Specifically, the following pharmaceutically acceptable forms of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide or pharmaceutically acceptable salts thereof are substantially shown by the data described in Figures 1 to 20:



- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Forms 1 and 2;
- 5 - [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (or i.e., also identified as [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate); and
- 10 - [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

For example, crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 is identified by:

- a  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR Spectrum, respectively, of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in DMSO- $d_6$  (see Figures 1 and 2, respectively, and Tables 1 and 2, respectively,);
- 20 - an x-Ray Powder Diffraction Pattern of Form 1 [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 (see Table 3 and Figure 3);
- 25 an X-ray diffraction pattern as shown substantially in Figure 3, which depicts characteristic peaks from  $0^\circ$  degrees 2-theta ( $2\theta$ ) to  $55^\circ$  degrees 2-theta ( $2\theta$ ) at about  $5.3 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $9.7 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $10.8 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $11.4 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $13.5 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $14.9 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $17.8 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $18.9 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $21.2 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ) and  $22.1 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ) (see, Example 6: Form 1);
- 30 - an ATR-IR Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 (see Figure 4 and Table 4);
- 35 - a Differential Scanning Calorimetry of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 (see Figure 5);
- 40 - a Thermogravimetric Analysis of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 (see Figure 6); and
- 45 - a  $^{13}\text{C}$  NMR and  $^{19}\text{F}$  Solid State Nuclear Magnetic Resonance Spectra of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 (see Figures 12 and 13).

For example, crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 is identified by:

- an ATR-IR Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 (see Figure 14 and Table 7);
- an X-Ray Powder Diffraction Pattern [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 (see Figure 15 and Table 8);  
an X-ray diffraction pattern as shown substantially in Figure 15, which depicts characteristic peaks from 0° degrees 2-theta (2θ) to 55° degrees 2-theta (2θ) at about 5.5 ± 0.3 (2θ), 9.3 ± 0.3 (2θ), 9.7 ± 0.3 (2θ), 10.8 ± 0.3 (2θ), 13.6 ± 0.3 (2θ), 14.5 ± 0.3 (2θ), 15.0 ± 0.3 (2θ), 16.2 ± 0.3 (2θ), 17.8 ± 0.3 (2θ) and 19.6 ± 0.3 (2θ) (see, Example 11: Form 2)
- a <sup>1</sup>H NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form2 (see Figures 16) ;
- a <sup>13</sup>C NMR and <sup>19</sup>F Solid State Spectrum, respectively, of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 (see, Figures 17 and 18); and
- Figure 20: X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2.

For example, crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate is identified by:

- an X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (see, Figure 7);
- a Differential Scanning Calorimetry (DSC) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (see, Figure 8); and
- a Thermo-Gravimetric Analysis (TGA) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (see Figure 9).

For example, crystalline [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulphonate is identified by:

- 5       - an X-Ray Powder Diffraction Pattern of 1:1 [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate (see Figure 10); and
- 10       - a Differential Scanning Calorimetry of [(2*R*)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*h*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate (see Figure 11).

### **Salts**

In certain embodiments, compounds according to Formula I or a  
 15 pharmaceutically acceptable salt thereof may contain an acidic functional group. In certain other embodiments, compounds according to Formula I may contain a basic functional group. Thus, the skilled artisan will appreciate that salts of the compounds according to Formula I may be prepared. Indeed, in certain embodiments of the invention, salts of the compounds according to Formula I may be preferred over the  
 20 respective free base or free acid because, for example, such salts may impart greater stability or solubility to the molecule thereby facilitating formulation into a dosage form.

Because of their potential use in medicine, the salts of the compounds of Formulas (I) are suitably pharmaceutically acceptable salts. Suitable pharmaceutically acceptable salts include those described by Berge, Bighley and Monkhouse  
 25 J.Pharm.Sci (1977) 66, pp 1-19.

When a compound of the invention is a base (contain a basic moiety), a desired salt form may be prepared by any suitable method known in the art, including treatment of the free base with an inorganic acid, such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid, and the like, or with an organic acid, such as  
 30 acetic acid, trifluoroacetic acid, maleic acid, succinic acid, mandelic acid, fumaric acid, malonic acid, pyruvic acid, oxalic acid, glycolic acid, salicylic acid, pyranosidyl acid, such as glucuronic acid or galacturonic acid, alpha-hydroxy acid, such as citric acid or tartaric acid, amino acid, such as aspartic acid or glutamic acid, aromatic acid, such as benzoic acid or cinnamic acid, sulfonic acid, such as p-toluenesulfonic acid,  
 35 methanesulfonic acid, ethanesulfonic acid or the like. Examples of pharmaceutically acceptable salts include sulfates, pyrosulfates, bisulfates, sulfites, bisulfites, phosphates, chlorides, bromides, iodides, acetates, propionates, decanoates, caprylates, acrylates, formates, isobutyrate, caproates, heptanoates, propiolates,

oxalates, malonates succinates, suberates, sebacates, fumarates, maleates, butyne-1,4-dioates, hexyne-1,6-dioates, benzoates, chlorobenzoates, methylbenzoates, dinitrobenzoates, hydroxybenzoates, methoxybenzoates, phthalates, phenylacetates, phenylpropionates, phenylbutrates, citrates, lactates,  $\gamma$ -hydroxybutyrates, glycollates, tartrates mandelates, and sulfonates, such as xylenesulfonates, methanesulfonates, propanesulfonates, naphthalene-1-sulfonates and naphthalene-2-sulfonates.

**Base salts:** Pharmaceutically acceptable base salts include ammonium salts, alkali metal salts such as those of sodium and potassium, alkaline earth metal salts such as those of calcium and magnesium and salts with organic bases, including salts of primary, secondary and tertiary amines, such as isopropylamine, diethylamine, ethanolamine, trimethylamine, dicyclohexyl amine and N-methyl-D-glucamine.

If an inventive basic compound is isolated as a salt, the corresponding free base form of that compound may be prepared by any suitable method known to the art, including treatment of the salt with an inorganic or organic base, suitably an inorganic or organic base having a higher  $pK_a$  than the free base form of the compound.

**Acid salts:** Suitable addition salts are formed from acids which form non-toxic salts and examples are hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, sulphate, bisulphate, nitrate, phosphate, hydrogen phosphate, acetate, maleate, malate, fumarate, malonate, lactate, tartrate, citrate, formate, gluconate, succinate, piruvate, oxalate, oxaloacetate, trifluoroacetate, saccharate, benzoate, methanesulphonate, ethanesulphonate, benzenesulphonate, p-toluenesulphonate, methanesulphonic, ethanesulphonic, p-toluenesulphonic, and isethionate.

Certain of the compounds of this invention may form salts with one or more equivalents of an acid (if the compound contains a basic moiety) or a base (if the compound contains an acidic moiety). The present invention includes within its scope all possible stoichiometric and non-stoichiometric salt forms.

When a compound of the invention is an acid (contains an acidic moiety), a desired salt may be prepared by any suitable method known to the art, including treatment of the free acid with an inorganic or organic base, such as an amine (primary, secondary, or tertiary), an alkali metal or alkaline earth metal hydroxide, or the like. Illustrative examples of suitable salts include organic salts derived from amino acids such as glycine and arginine, ammonia, primary, secondary, and tertiary amines, and cyclic amines, such as ethylene diamine, dicyclohexylamine, ethanolamine, piperidine, morpholine, and piperazine, as well as inorganic salts derived from sodium, calcium, potassium, magnesium, manganese, iron, copper, zinc, aluminum, and lithium.

Because the compounds of this invention may contain both acid and base moieties, pharmaceutically acceptable salts may be prepared by treating these compounds with an alkaline reagent or an acid reagent, respectively. Accordingly, this invention also provides for the conversion of one pharmaceutically acceptable salt of a compound of this invention, e.g., a hydrochloride salt, into another pharmaceutically acceptable salt of a compound of this invention, e.g., a sodium salt.

As used herein, the term "pharmaceutically acceptable salts" refers to salts that retain the desired biological activity of the subject compound and exhibit minimal undesired toxicological effects. These pharmaceutically acceptable salts may be prepared *in situ* during the final isolation and purification of the compound, or by separately reacting the purified compound in its free acid or free base form with a suitable base or acid, respectively.

As used herein, the term "compounds of the invention" means both the compounds according to Formula I and salts thereof, including pharmaceutically acceptable salts. The term "a compound of the invention" also appears herein and refers to both a compound according to Formula I and its salts, including pharmaceutically acceptable salts.

The compounds of the invention may exist in solid or liquid form. In the solid state, the compounds of the invention may exist in crystalline or noncrystalline form, or as a mixture thereof. For compounds of the invention that are in crystalline form, the skilled artisan will appreciate that pharmaceutically-acceptable solvates may be formed wherein solvent molecules are incorporated into the crystalline lattice during crystallization. Solvates may involve nonaqueous solvents such as ethanol, isopropanol, DMSO, acetic acid, ethanolamine, and ethyl acetate, or they may involve water as the solvent that is incorporated into the crystalline lattice. Solvates wherein water is the solvent that is incorporated into the crystalline lattice are typically referred to as "hydrates." Hydrates include stoichiometric hydrates as well as compositions containing variable amounts of water. The invention includes all such solvates.

## **SOLVATES**

For solvates of the compounds of the invention, or salts thereof, that are in crystalline form, the skilled artisan will appreciate that pharmaceutically-acceptable solvates may be formed wherein solvent molecules are incorporated into the crystalline lattice during crystallization. Solvates may involve nonaqueous solvents such as ethanol, isopropanol, DMSO, acetic acid, ethanolamine, and ethyl acetate, or they may involve water as the solvent that is incorporated into the crystalline lattice. Solvates

wherein water is the solvent that is incorporated into the crystalline lattice are typically referred to as "hydrates." Hydrates include stoichiometric hydrates as well as compositions containing variable amounts of water. The invention includes all such solvates.

5

### **DEUTERATED COMPOUNDS**

The invention also includes various deuterated forms of the compounds of Formulas (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof. Each available hydrogen atom attached to a carbon atom may be independently replaced with a deuterium atom.

10 A person of ordinary skill in the art will know how to synthesize deuterated forms of the compounds of Formulas (I) to (II) of the present invention. For example, deuterated materials, such as alkyl groups may be prepared by conventional techniques (see for example: methyl-*d*<sub>3</sub>-amine available from Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, Cat. No. 489,689-2).

15

### **ISOTOPES**

The subject invention also includes isotopically-labeled compounds which are identical to those recited in Formulas (I) and (II) but for the fact that one or more atoms are replaced by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number most commonly found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of the invention include isotopes of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, fluorine, iodine and chlorine such as <sup>3</sup>H, <sup>11</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>123</sup>I or <sup>125</sup>I.

20

Compounds of the present invention and pharmaceutically acceptable salts of said compounds that contain the aforementioned isotopes and/or other isotopes of other atoms are within the scope of the present invention. Isotopically labeled compounds of the present invention, for example those into which radioactive isotopes such as <sup>3</sup>H or <sup>14</sup>C have been incorporated, are useful in drug and/or substrate tissue distribution assays. Tritiated, ie. <sup>3</sup>H, and carbon-14, ie. <sup>14</sup>C, isotopes are particularly preferred for their ease of preparation and detectability. <sup>11</sup>C and <sup>18</sup>F isotopes are particularly useful in PET (positron emission tomography).

25

30

### **PURITY**

Because the compounds of the present invention are intended for use in pharmaceutical compositions it will readily be understood that they are each preferably provided in substantially pure form, for example at least 60% pure, more suitably at

35

least 75% pure and preferably at least 85%, especially at least 98% pure (% are on a weight for weight basis). Impure preparations of the compounds may be used for preparing the more pure forms used in the pharmaceutical compositions.

## 5 **ABBREVIATIONS AND SYMBOLS**

In describing the invention, chemical elements are identified in accordance with the Periodic Table of the Elements. Abbreviations and symbols utilized herein are in accordance with the common usage of such abbreviations and symbols by those skilled in the chemical and biological arts. Specifically, the following abbreviations may be

used in the examples and throughout the specification:

|    |                                             |                                       |
|----|---------------------------------------------|---------------------------------------|
|    | g (grams);                                  | mg (milligrams);                      |
|    | kg (kilograms);                             | μg (micrograms);                      |
|    | L (liters);                                 | mL (milliliters);                     |
|    | μL (microliters);                           | psi (pounds per square inch);         |
| 15 | M (molar);                                  | mM (millimolar);                      |
|    | μM (micromolar);                            | nM (nanomolar);                       |
|    | pM (picomolar);                             | nm (nanometers);                      |
|    | mm (millimeters);                           | wt (weight);                          |
|    | N (Normal);                                 | CFU (colony forming units);           |
| 20 | I. V. (intravenous);                        | Hz (Hertz);                           |
|    | MHz (megahertz);                            | mol (moles);                          |
|    | mmol (millimoles);                          | RT (room temperature);                |
|    | min (minutes);                              | h (hours);                            |
|    | b.p. (boiling point);                       | TLC (thin layer chromatography);      |
| 25 | T <sub>r</sub> (retention time);            | RP (reverse phase);                   |
|    | MeOH (methanol);                            | <i>i</i> -PrOH (isopropanol);         |
|    | TEA (triethylamine);                        | TFA (trifluoroacetic acid);           |
|    | TFAA (trifluoroacetic anhydride);           | THF (tetrahydrofuran);                |
|    | DMSO (dimethylsulfoxide);                   | EtOAc (ethyl acetate);                |
| 30 | DME (1,2-dimethoxyethane);                  | DCM (dichloromethane);                |
|    | DCE (dichloroethane);                       | DMF ( <i>N,N</i> -dimethylformamide); |
|    | DMPU ( <i>N,N'</i> -dimethylpropyleneurea); | CDI (1,1-carbonyldiimidazole);        |
|    | IBCF (isobutyl chloroformate);              | AcOH (acetic acid);                   |
| 35 | HOAt (1-hydroxy-7-azabenzotriazole);        |                                       |
|    | THP (tetrahydropyran);                      | NMM ( <i>N</i> -methylmorpholine);    |

- 5 Pd/C (Palladium on Carbon); MTBE (*tert*-butyl methyl ether);  
HOBT (1-hydroxybenzotriazole); mCPBA (meta-chloroperbenzoic acid);  
EDC (1-[3-dimethylamino) propyl]-3-ethylcarbodiimide hydrochloride);  
Boc (*tert*-butoxycarbonyl); Fmoc (9-fluorenylmethoxycarbonyl);  
10 DCC (dicyclohexylcarbodiimide); CBZ (benzyloxycarbonyl);  
Ac (acetyl); atm (atmosphere);  
TMSE (2-(trimethylsilyl)ethyl); TMS (trimethylsilyl);  
TIPS (triisopropylsilyl); TBS (*t*-butyldimethylsilyl);  
DMAP (4-dimethylaminopyridine); BSA (bovine serum albumin)  
10 NAD (nicotinamide adenine dinucleotide);  
HPLC (high pressure liquid chromatography);  
LC/MS (liquid chromatography/mass spectrometry);  
BOP (bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinic chloride);  
TBAF (tetra-*n*-butylammonium fluoride);  
15 HBTU(O-Benzotriazole-1-yl-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluoro  
phosphate).  
HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethane sulfonic acid);  
DPPA (diphenylphosphoryl azide); LAH (Lithium aluminum hydride);  
fHNO<sub>3</sub> (fuming HNO<sub>3</sub>); NaOMe (sodium methoxide);  
20 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid);  
TMEDA (N,N,N',N'-tetramethyl-1,2-ethanediamine);  
NBS (N-bromosuccinimide); DIPEA (diisopropylethylamine);  
dppf (1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene); and  
NIS (N-iodosuccinimide).  
25 All references to ether are to diethyl ether and brine refers to a saturated  
aqueous solution of NaCl.

### **SYNTHETIC SCHEMES AND GENERAL METHODS OF PREPARATION**

30 The present invention also relates to processes for making compounds of  
Formula (I), or pharmaceutically acceptable salt thereof.

The compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof,  
may be obtained by using synthetic procedures illustrated in the Schemes below or by  
drawing on the knowledge of a skilled organic chemist.

35 The synthesis provided in these Schemes are applicable for producing  
compounds of the invention having a variety of different functional groups employing  
appropriate precursors, which are suitably protected if needed, to achieve compatibility



with the reactions outlined herein. Subsequent deprotection, where needed, affords compounds of the nature generally disclosed. While the Schemes are shown with compounds, they are illustrative of processes that may be used to make the compounds of the invention.

5 Intermediates (compounds used in the preparation of the compounds of the invention) may also be present as salts. Thus, in reference to intermediates, the phrase "compound(s) of formula (number)" means a compound having that structural formula or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The present invention also relates to processes for making compounds of  
10 Formulas (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof. The compounds according to Formulas (I) to (II), respectively, or pharmaceutically acceptable salts thereof, are prepared using conventional organic syntheses.

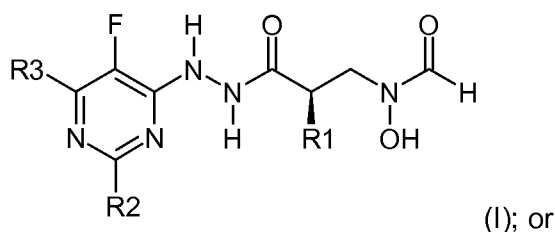
The compounds of the present invention may be obtained by using synthetic procedures illustrated in Schemes below or by drawing on the knowledge of a skilled  
15 organic chemist.

Suitable synthetic routes are depicted below in the following general reaction schemes.

#### **COMPOUND PREPARATION**

The compounds according to Formula I:

20



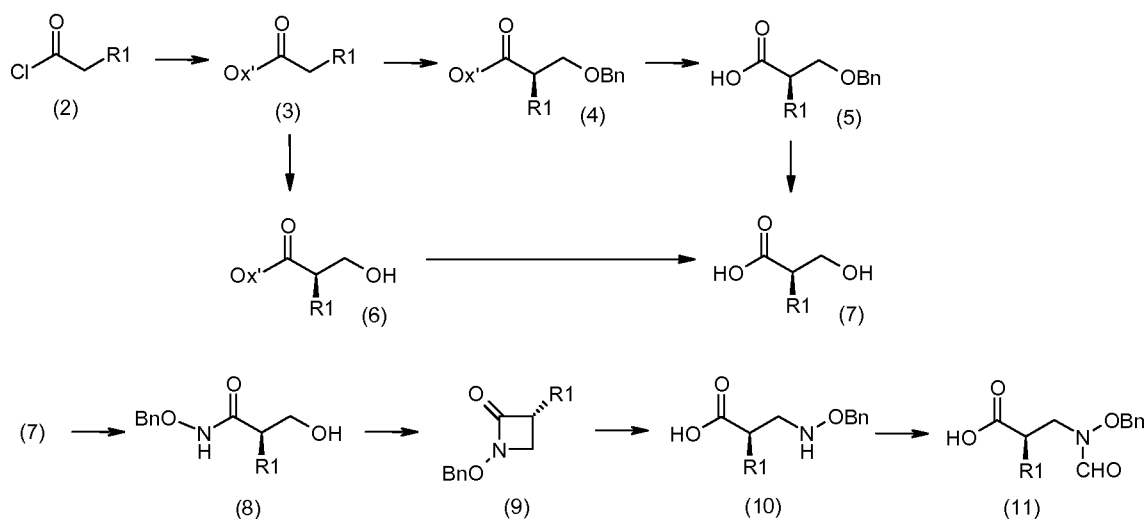
pharmaceutically acceptable salts thereof are prepared using conventional organic syntheses. Suitable synthetic routes are depicted below in the following general reaction schemes.

25 The skilled artisan will appreciate that if a substituent described herein is not compatible with the synthetic methods described herein, the substituent may be protected with a suitable protecting group that is stable to the reaction conditions. The protecting group may be removed at a suitable point in the reaction sequence to provide a desired intermediate or target compound. Suitable protecting groups and the  
30 methods for protecting and de-protecting different substituents using such suitable protecting groups are well known to those skilled in the art; examples of which may be found in T. Greene and P. Wuts, Protecting Groups in Chemical Synthesis (3rd ed.),

John Wiley & Sons, NY (1999). In some instances, a substituent may be specifically selected to be reactive under the reaction conditions used. Under these circumstances, the reaction conditions convert the selected substituent into another substituent that is

5 compound.

Scheme 1



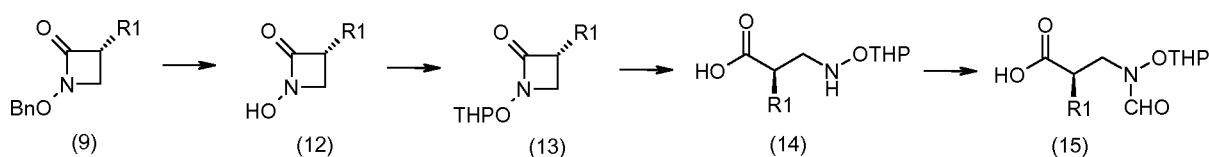
As shown in Scheme 1, (11) can be prepared by reacting an appropriate acid chloride (2) with a chiral agent, such as (S)-(-)-4-benzyl-2-oxazolidinone (Evans' chiral oxazolidinone), in the presence of a base, such as n-butyl lithium, to afford the chiral intermediate (3). Treatment of the compound (3) with a base, such as diisopropylethylamine, in the presence of a chelating agent, such as titanium tetrachloride, in a solvent, such as tetrahydrofuran, followed by addition of an electrophile, such as benzyloxymethylchloride, provides compound (4). Conversion of compound (4) to the corresponding hydroxyacid (7) can be achieved by a sequence comprising oxidative cleavage of the chiral oxazolidinone, using, for example H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and lithium hydroxide, to the respective intermediate (5), followed by hydrogenolysis, to afford intermediate (7). Compound (3) can also be converted to intermediate (7) in an alternative two-step procedure. For this transformation, (3) can be treated with a base, such as diisopropylethylamine, in the presence of a chelating agent, such as titanium tetrachloride, in a solvent, such as tetrahydrofuran, followed by addition of trioxane or a suitable alternative formaldehyde equivalent to provide compound (6), which is then submitted to oxidative cleavage of the chiral oxazolidinone, using, for example H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and lithium hydroxide, to the respective acid (7).

Coupling of acid (7) with benzyloxyamine in the presence of coupling agents, such as EDC and DMAP, yields the amide (8). This can be cyclized to azetidin-2-one (9) using Mitsunobu conditions. Hydrolysis of the azetidin-2-one (9), using for example lithium hydroxide in an appropriate solvent, gives the corresponding acid (10).

- 5 Conversion of compound (10) to product (11) can be achieved using an appropriate formylating agent, such as formic acid/acetic anhydride or methyl formate, in neat reagents or in an appropriate solvent, such as dichloromethane.

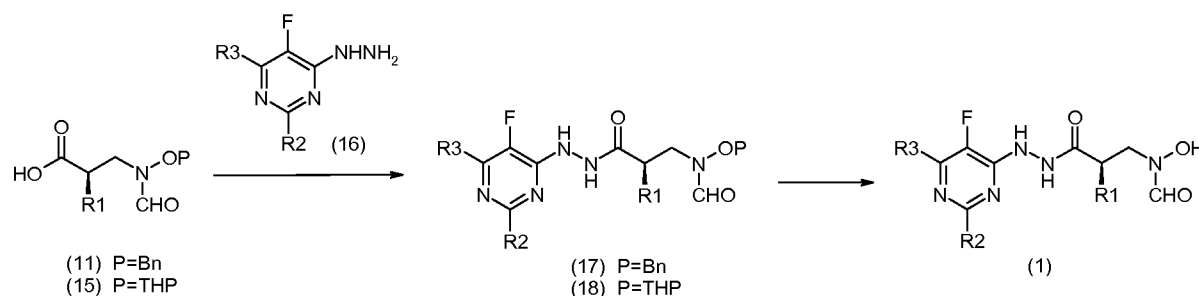
## Scheme 2

10



As shown in Scheme 2, THP-protected intermediate (15) can be prepared by hydrogenation of azetidin-2-one (9) using a catalyst, such as 10% Pd/C, in an appropriate solvent, such as ethanol to provide (12). Treatment of (12) with dihydropyran under acid catalysis, such as pyridinium p-toluenesulfonate, in an appropriate solvent, such as methylene chloride, provides THP-protected azetidin-2-one (13). Hydrolysis of azetidin-2-one (13), using for example lithium hydroxide in an appropriate solvent, gives the corresponding acid (14). Conversion of compound (14) to the product (15) can be achieved using an appropriate formylating agent, such as formic acid/acetic anhydride or methyl formate, in neat reagents or in an appropriate solvent, such as dichloromethane. Conversion of compound (14) to product (15) can also be accomplished using 5-methyl-2-thioxo-[1,3,4]thiadiazole-3-carbaldehyde (Yazawa, Hisatoyo; Goto, Shunsuke; Tetrahedron Lett. 26; 31; 1985; 3703-3706) as a formylating agent in an appropriate solvent, such as acetone.

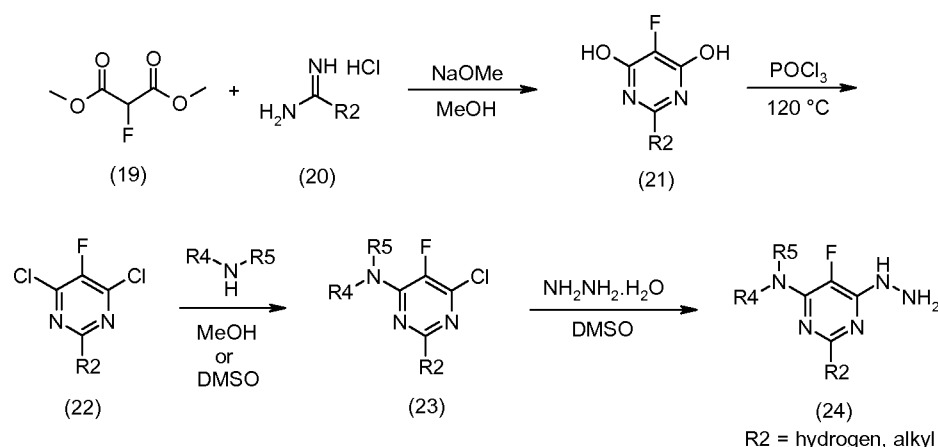
Intermediate (15) can also be prepared according to literature procedures [Bracken, Bushell, Dean, Francavilla, Jain, Lee, Seepersaud, Shu, Sundram, Yuan; PCT Int. Appl. (2006), WO 2006127576 A2].

Scheme 3

- 5 As shown in Scheme 3, coupling of the chiral acid (11 or 15) with the pyrimidinyl hydrazine (16, R2 = alkyl, halo, H), using conditions such as EDC-HOAt-NMM, provides the hydrazide (17 or 18). Final deprotection (hydrogenolysis using a catalyst, such as 10% Pd/C, in an appropriate solvent, such as ethanol, in the case that P is Bn; treatment with 80% acetic acid-water at room temperature or 40 °C in the case that P is
- 10 THP) gives the final desired compounds (1), where R2 = alkyl, halo, H.

Hydrazines of general structure (16) may be prepared according to literature methods by those skilled in the art. The following examples of specific structures of hydrazines (16) and the synthetic methods used to generate them are merely illustrative and are not to be construed as a limitation of the scope of the present invention.

- 15 Hydrazines (24) where R2 is alkyl and R3 is an amino group (R4R5N) may be prepared from the appropriate precursors as shown in Scheme 4.

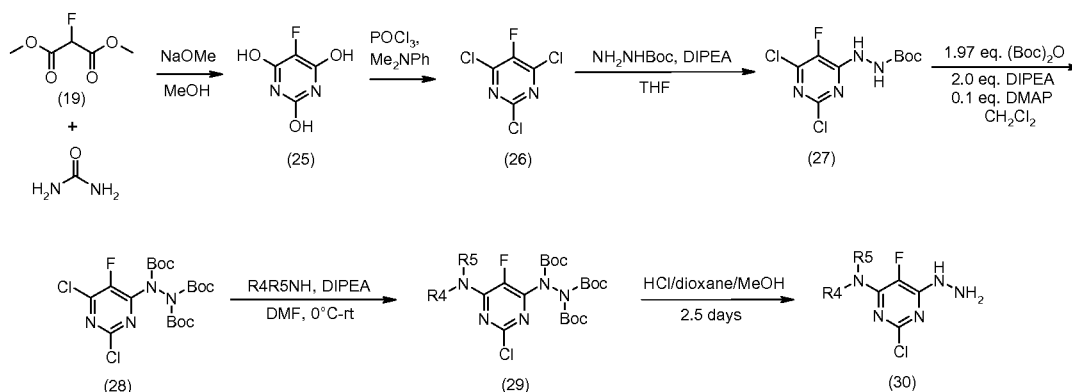
Scheme 4

- 20 As shown in Scheme 4, hydrazine (24) when R2 is hydrogen or alkyl can be prepared from the condensation of commercially-available fluoromalonate (19) and the appropriate amidine (20) under basic conditions to provide pyrimidinone (21). Amidines (20) are commercially available or may be prepared according to literature methods by

those skilled in the art. Treatment of pyrimidinone (21) with  $\text{POCl}_3$  provides dichloropyrimidine (22). Treatment of dichloropyrimidine (22) with the desired amine  $\text{R}_4\text{R}_5\text{NH}$  at room temperature in an appropriate solvent, such as methanol or DMSO, followed by further treatment with hydrazine monohydrate, in an appropriate solvent, such as DMSO, usually with heating, then provides the desired product (24) where  $\text{R}_2$  is hydrogen or alkyl.

Hydrazines of formula (30) [(16) in which  $\text{R}_2 = \text{chloro}$ ] may be prepared as shown in either Schemes 5 or 6.

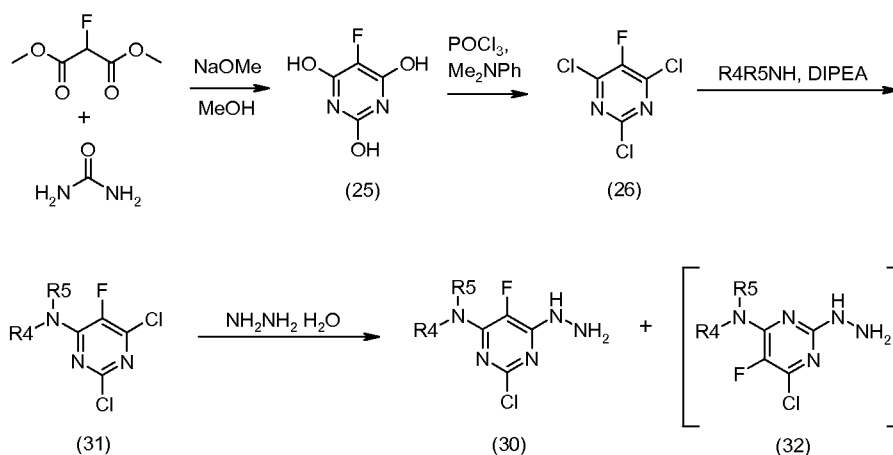
#### 10 Scheme 5



Condensation of commercially-available fluoromalonate (19) and urea under basic conditions provides pyrimidinone (25). Treatment of pyrimidinone (25) with  $\text{POCl}_3$  provides trichloropyrimidine (26). Treatment of trichloropyrimidine (26) with Boc-protected hydrazine and diisopropylethylamine at room temperature in an appropriate solvent, such as THF, provides intermediate (27). Further treatment with di-*t*-butyldicarbonate in the presence of diisopropylethylamine and DMAP, in an appropriate solvent, such as methylene chloride, then provides the desired tri-Boc-protected product (28). Treatment of (28) with amine  $\text{R}_4\text{R}_5\text{NH}$ , in an appropriate solvent such as DMF, provides pyrimidine (29), and deprotection of (29) under acidic conditions, followed by a basic workup, provides the desired hydrazines (30).

Alternatively, hydrazines of formula (30) may be prepared as shown in Scheme 6.

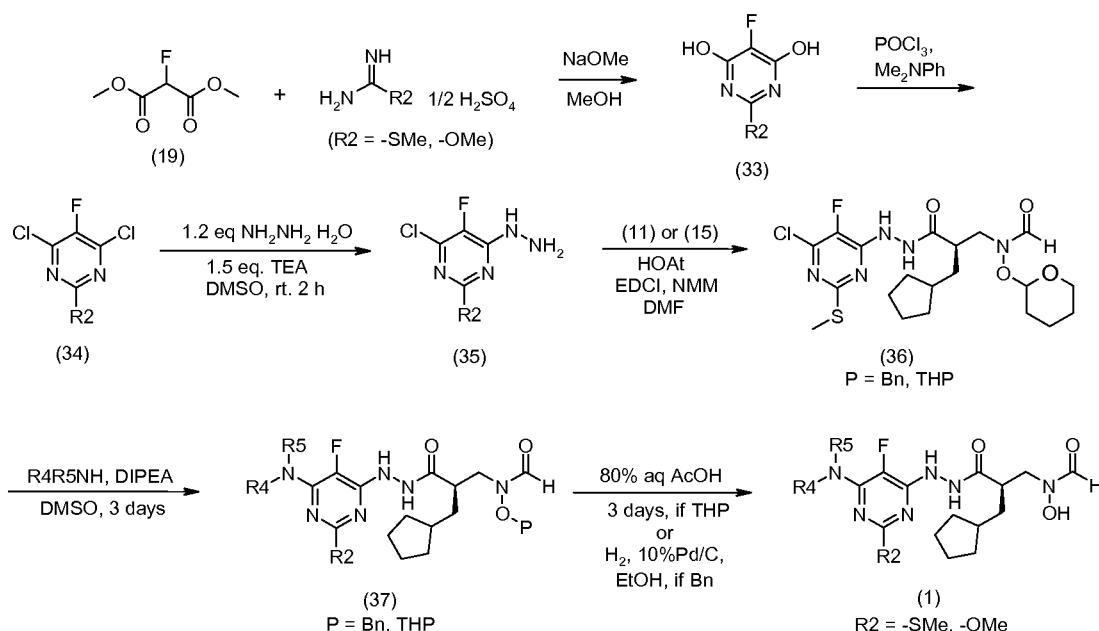
## Scheme 6



Treatment of trichloropyrimidine (26) with the desired amine  $\text{R}_4\text{R}_5\text{NH}$  at room temperature in an appropriate solvent, such as DMSO, followed by further treatment with hydrazine monohydrate and heating, provides the desired product (30), as well as the regioisomeric product (32). The two regioisomers can usually be separated chromatographically, such as by HPLC.

Final compounds (1) where  $\text{R}_2$  is thiomethyl or methoxy can be prepared as shown in Scheme 7.

## Scheme 7



Condensation of commercially-available fluoromalonate (19) and either O-methylisourea hemisulfate or S-methylisothiurea hemisulfate under basic conditions provides pyrimidinone (33), in which  $\text{R}_2$  is methoxy or thiomethyl, respectively.

Treatment of pyrimidinone (33) with POCl<sub>3</sub> provides dichloropyrimidine (34). Treatment of dichloropyrimidine (34) with hydrazine monohydrate, in an appropriate solvent, such as methanol, provides pyrimidinylhydrazine (35), which is then coupled to acid (11) or (15) using conditions such as EDC-HOAt-NMM to provide intermediate (36). Addition of R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>NH to intermediate (36) provides either the O-Bn-protected or O-THP-protected product (37). Final deprotection by either hydrogenolysis using a catalyst such as 10% Pd/C, in an appropriate solvent, such as ethanol, in the case that P is Bn; or treatment with 80% acetic acid-water at room temperature or 40 °C in the case that P is THP, gives the final desired compounds (1) when R<sub>2</sub> is methoxy or thiomethyl, respectively.

Amines R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>NH may be purchased from available commercial sources, prepared according to literature methods by those skilled in the art, or prepared as disclosed in the examples herein.

### **Pharmaceutical Compositions, Dosage Forms, and Regimens**

The present invention relates to pharmaceutical compositions comprised of novel compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof and at least one pharmaceutically acceptable excipient(s).

Suitable compounds for use in pharmaceutical compositions of the present invention, may include, but are not limited to:

- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesuphonate Forms 1 and 2;
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesuphonate (or i.e., also identified as [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate); or
- [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

The compounds of the invention will normally, but not necessarily, be formulated into pharmaceutical compositions prior to administration to a patient.

Accordingly, in another aspect, the invention is directed to pharmaceutical compositions comprising a compound of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof of the present invention and one or more pharmaceutically acceptable

excipient(s). In particular, the present invention also may relate to a pharmaceutical composition or formulation, which comprises a compound as defined by Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and at least one pharmaceutically acceptable excipient(s), and optionally one or more other therapeutic ingredients.

5           The pharmaceutical compositions of the invention may be prepared and packaged in bulk form wherein a safe and effective amount of a compound of the invention can be extracted and then given to the patient such as with powders or syrups. Alternatively, the pharmaceutical compositions of the invention may be prepared and packaged in unit dosage form wherein each physically discrete unit  
10       contains a safe and effective amount of a compound of the invention. When prepared in unit dosage form, the pharmaceutical compositions of the invention typically contain from 25 mg to 1.5 g, suitably 100 to 500 mg, of compound of the invention.

          The pharmaceutical compositions of the invention typically contain one compound of the invention. However, in certain embodiments, the pharmaceutical  
15       compositions of the invention may contain more than one compound of the invention. For example, in certain embodiments the pharmaceutical compositions of the invention may contain two compounds of the invention. In addition, the pharmaceutical compositions of the invention may optionally further comprise one or more additional pharmaceutically active compounds.

20           As used herein, "pharmaceutically acceptable excipient" means a pharmaceutically acceptable material, composition or vehicle that, for example, are involved in giving form or consistency to the pharmaceutical composition. Each excipient must be compatible with the other ingredients of the pharmaceutical composition when commingled such that interactions which would substantially reduce  
25       the efficacy of the compound of the invention when administered to a patient and interactions which would result in pharmaceutical compositions that are not pharmaceutically acceptable are avoided. In addition, each excipient must of course be of sufficiently high purity to render it pharmaceutically-acceptable.

          The compound of the invention and the pharmaceutically acceptable excipient or  
30       excipients will typically be formulated into a dosage form adapted for administration to the patient by the desired route of administration. For example, dosage forms include those adapted for (1) oral administration such as tablets, capsules, caplets, pills, troches, powders, syrups, elixers, suspensions, solutions, emulsions, sachets, and cachets; (2) parenteral administration such as sterile solutions, suspensions, and  
35       powders for reconstitution; (3) transdermal administration such as transdermal patches; (4) rectal administration such as suppositories; (5) inhalation such as dry powders,



aerosols, suspensions, and solutions; and (6) topical administration such as creams, ointments, lotions, solutions, pastes, sprays, foams, and gels.

Suitable pharmaceutically-acceptable excipients will vary depending upon the particular dosage form chosen. In addition, suitable pharmaceutically acceptable  
5 excipients may be chosen for a particular function that they may serve in the composition.

For example, certain pharmaceutically-acceptable excipients may be chosen for their ability to facilitate the production of uniform dosage forms. Certain pharmaceutically acceptable excipients may be chosen for their ability to facilitate the  
10 production of stable dosage forms. Certain pharmaceutically-acceptable excipients may be chosen for their ability to facilitate the carrying or transporting of the compound or compounds of the invention once administered to the patient from one organ, or portion of the body, to another organ, or another portion of the body. Certain pharmaceutically acceptable excipients may be chosen for their ability to enhance patient compliance.  
15 Moreover, pharmaceutical compositions, formulations, dosage forms, and the like, etc. may conveniently be presented in unit dosage form and may be prepared by any of the methods well known in the art of pharmacy.

All methods include the step of bringing the active ingredient into association with the carrier which constitutes one or more accessory ingredients. In general the  
20 formulations are prepared by uniformly and intimately bringing into association the active ingredient with liquid carriers or finely divided solid carriers or both and then, if necessary, shaping the product into the desired formulation.

Suitable pharmaceutically acceptable excipients include the following types of excipients: Diluents, fillers, binders, disintegrants, lubricants, glidants, granulating  
25 agents, coating agents, wetting agents, solvents, co-solvents, suspending agents, emulsifiers, sweeteners, flavoring agents, flavor masking agents, coloring agents, anticaking agents, hemectants, chelating agents, plasticizers, viscosity increasing agents, antioxidants, preservatives, stabilizers, surfactants, and buffering agents. The skilled artisan will appreciate that certain pharmaceutically acceptable excipients may  
30 serve more than one function and may serve alternative functions depending on how much of the excipient is present in the formulation and what other ingredients are present in the formulation.

Skilled artisans possess the knowledge and skill in the art to enable them to select suitable pharmaceutically-acceptable excipients in appropriate amounts for use in  
35 the invention. In addition, there are a number of resources that are available to the skilled artisan which describe pharmaceutically-acceptable excipients and may be

useful in selecting suitable pharmaceutically-acceptable excipients. Examples include Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited), and The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the  
5 Pharmaceutical Press).

The pharmaceutical compositions of the invention are prepared using techniques and methods known to those skilled in the art. Some of the methods commonly used in the art are described in Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

10 The compounds of the invention and the pharmaceutically-acceptable excipient or excipients will typically be formulated into a dosage form adapted for administration to the patient by the desired route of administration.

With regard to the present invention, conventional dosage forms include those adapted for (1) oral administration such as tablets, capsules, caplets, pills, troches,  
15 powders, syrups, elixirs, suspensions, solutions, emulsions, sachets, and cachets; (2) parenteral administration such as sterile solutions, suspensions, and powders for reconstitution; (3) transdermal administration such as transdermal patches; (4) rectal administration such as suppositories; (5) inhalation such as aerosols and solutions; (6) topical administration such as creams, ointments, lotions, solutions, pastes, sprays,  
20 foams, and gels.

In general, pharmaceutical compositions of the present invention are prepared using conventional materials and techniques, such as mixing, blending and the like.

The term "active agent" is defined for purposes of the present invention as any chemical substance or composition of the present invention, which can be delivered  
25 from the device into an environment of use to obtain a desired result.

The percentage of the compound in compositions can, of course, be varied as the amount of active in such therapeutically useful compositions is such that a suitable dosage will be obtained.

In one aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition  
30 comprising a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof and one or more pharmaceutically acceptable excipients.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition comprising a compound of Formula (II) or a pharmaceutically acceptable salt thereof and one or more pharmaceutically acceptable excipients.

35 In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition comprising a compound or compound species or a pharmaceutically

acceptable salt thereof of the present invention as defined herein and one or more pharmaceutically acceptable excipients.

It will be appreciated that the actual preferred dosages of the compounds being used in the compositions of this invention will vary according to the particular  
5 composition formulated, the mode of administration, the particular site of administration and the host being treated.

The active compounds of the present invention may be orally administered, for example, with an inert diluent, or with an assimilable edible carrier, or they can be enclosed in hard or soft shell capsules, or they can be compressed into tablets, or they  
10 can be incorporated directly with the food of the diet, etc.

In one aspect, the invention is directed to a solid oral dosage form such as a tablet or capsule comprising a safe and effective amount of a compound of the invention and a diluent or filler. Suitable diluents and fillers include lactose, sucrose, dextrose, mannitol, sorbitol, starch (e.g. corn starch, potato starch, and pre-gelatinized  
15 starch), cellulose and its derivatives (e.g. microcrystalline cellulose), calcium sulfate, and dibasic calcium phosphate. The oral solid dosage form may further comprise a binder. Suitable binders include starch (e.g. corn starch, potato starch, and pre-gelatinized starch), gelatin, acacia, sodium alginate, alginic acid, tragacanth, guar gum, povidone, and cellulose and its derivatives (e.g. microcrystalline cellulose). The oral  
20 solid dosage form may further comprise a disintegrant. Suitable disintegrants include crospovidone, sodium starch glycolate, croscarmellose, alginic acid, and sodium carboxymethyl cellulose. The oral solid dosage form may further comprise a lubricant. Suitable lubricants include stearic acid, magnesuim stearate, calcium stearate, and talc.

Where appropriate, dosage unit formulations for oral administration can be  
25 microencapsulated. The composition can also be prepared to prolong or sustain the release as for example by coating or embedding particulate material in polymers, wax or the like.

The compounds of the invention may also be coupled with soluble polymers as targetable drug carriers. Such polymers can include polyvinylpyrrolidone, pyran  
30 copolymer, polyhydroxypropylmethacrylamide-phenol, polyhydroxyethylaspartamidephenol, or polyethyleneoxidepolylysine substituted with palmitoyl residues. Furthermore, the compounds of the invention may be coupled to a class of biodegradable polymers useful in achieving controlled release of a drug, for example, polylactic acid, polepsilon caprolactone, polyhydroxy butyric acid,  
35 polyorthoesters, polyacetals, polydihydropyrans, polycyanoacrylates and cross-linked or amphipathic block copolymers of hydrogels.

In another aspect, the invention is directed to a liquid oral dosage form. Oral liquids such as solution, syrups and elixirs can be prepared in dosage unit form so that a given quantity contains a predetermined amount of a compound of the invention. Syrups can be prepared by dissolving the compound of the invention in a suitably  
5 flavored aqueous solution, while elixirs are prepared through the use of a non-toxic alcoholic vehicle. Suspensions can be formulated by dispersing the compound of the invention in a non-toxic vehicle. Solubilizers and emulsifiers such as ethoxylated isostearyl alcohols and polyoxy ethylene sorbitol ethers, preservatives, flavor additive such as peppermint oil or natural sweeteners or saccharin or other artificial sweeteners,  
10 and the like can also be added.

In another aspect, the invention is directed to parenteral administration, that is by intravenous, intramuscular, subcutaneous intranasal, intrarectal, intravaginal, intraperitoneal administration, intrasternal injection or infusion techniques. The subcutaneous and intramuscular forms of parenteral administration are generally  
15 preferred. In one aspect, the compositions are administered parenterally, most suitably intravenously. Appropriate dosage forms for such administration may be prepared by conventional techniques.

Pharmaceutical compositions of the invention can be formulated so as to allow a compound of the present invention to be bioavailable upon administration of the  
20 composition to a subject.

Pharmaceutical compositions adapted for parenteral administration include aqueous and non-aqueous sterile injection solutions which may contain anti-oxidants, buffers, bacteriostats and solutes which render the formulation isotonic with the blood of the intended recipient; and aqueous and non-aqueous sterile suspensions which may  
25 include suspending agents and thickening agents. The compositions may be presented in unit-dose or multi-dose containers, for example sealed ampoules, vials, pouches and the like and may be stored in a freeze-dried (lyophilized) condition requiring only the addition of the sterile liquid carrier, for example water for injections, immediately prior to use. Extemporaneous injection solutions and suspensions may be prepared from  
30 sterile powders, granules and tablets.

The pharmaceutical composition can be in the form of a liquid, e.g., an elixir, syrup, solution, emulsion or suspension. The liquid can be useful for oral administration or for delivery by injection. When intended for a composition for administration by injection, one or more of a surfactant, preservative, wetting agent, dispersing agent,  
35 suspending agent, buffer, stabilizer and isotonic agent can also be included.

The liquid compositions of the invention, whether they are solutions, suspensions or other like form, can also include one or more of the following: sterile diluents such as water for injection, saline solution, preferably physiological saline, Ringer's solution, isotonic sodium chloride, fixed oils such as synthetic mono or diglycerides which can serve as the solvent or suspending medium, polyethylene glycols, glycerin, cyclodextrin, propylene glycol or other solvents; antibacterial agents such as benzyl alcohol or methyl paraben; antioxidants such as ascorbic acid or sodium bisulfite; chelating agents such as ethylenediaminetetraacetic acid; buffers such as acetates, citrates or phosphates and agents for the adjustment of tonicity such as sodium chloride or dextrose. A parenteral composition can be enclosed in ampoule, a disposable syringe or a multiple-dose vial made of glass, plastic or other material. Physiological saline is a preferred adjuvant. An injectable composition is preferably sterile.

The amount of a compound of the present invention that is effective in the treatment of a particular disorder or condition will depend on the nature of the disorder or condition, and can be determined by standard clinical techniques. In addition, in vitro or in vivo assays can optionally be employed to help identify optimal dosage ranges. The precise dose to be employed in the compositions will also depend on the route of administration, and the seriousness of the disease or disorder, and should be decided according to the judgment of the practitioner and each patient's circumstances.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition which comprises [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition which comprises [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 or Form 2, respectively, which is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form, a hydrate, or a mixture thereof.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition which comprises [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 which is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition which comprises [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-

hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 which is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical  
5 composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical  
10 composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical  
15 composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical  
20 composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical  
25 composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical  
30 composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulphonate and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

**ADMINISTRATION**

Treatment regimen for the administration of compounds of Formula (I), or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions of the present invention also may be determined readily by those with ordinary skill in art.

5 In one aspect, the present invention relates to administration of compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions thereof.

Suitable compounds for administration, alone, or in a pharmaceutical composition of the present invention, include, but are not limited to:

- 10 - [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Forms 1 and 2, respectively;
- 15 - [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (or i.e., also identified as [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate); or
- 20 - [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate and the like.

25 The quantity of the compound, pharmaceutical composition, or dosage form of the present invention administered may vary over a wide range to provide in a unit dosage in an effective amount based upon the body weight of the patient per day to achieve the desired effect and as based upon the mode of administration.

The scope of the present invention includes all compounds, pharmaceutical  
30 compositions, or controlled-release formulations or dosage forms, which is contained in an amount effective to achieve its intended purpose. While individual needs vary, determination of optimal ranges of effective amounts of each component is within the skill of the art.

Compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof or  
35 corresponding pharmaceutical compositions of the present invention may be administered by any suitable route of administration, including both systemic administration and topical administration. Systemic administration includes oral administration, parenteral administration, transdermal administration, rectal administration, and administration by inhalation.

Parenteral administration refers to routes of administration other than enteral, transdermal, or by inhalation, and is typically by injection or infusion. Parenteral administration includes intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection or infusion. Inhalation refers to administration into the patient's lungs whether inhaled through the mouth or through the nasal passages. In one aspect, pharmaceutical compositions, formulations, dosages, dosage forms or dosing regimens of the present invention are adapted for administration by inhalation.

Topical administration includes application to the skin as well as intraocular, intravaginal, and intranasal administration.

Compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions of the present invention may be administered once or according to a dosing regimen wherein a number of doses are administered at varying intervals of time for a given period of time. For example, doses may be administered one, two, three, or four times per day. Doses may be administered until the desired therapeutic effect is achieved or indefinitely to maintain the desired therapeutic effect.

Suitable dosing regimens for compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions of the present invention depend on the pharmacokinetic properties of that compound, such as absorption, distribution, and half-life, which can be determined by the skilled artisan. In addition, suitable dosing regimens, including the duration such regimens are administered, for a compound of the invention depend on the condition being treated, the severity of the condition being treated, the age and physical condition of the patient being treated, the medical history of the patient being treated, the nature of concurrent therapy, the desired therapeutic effect, and like factors within the knowledge and expertise of the skilled artisan. It will be further understood by such skilled artisans that suitable dosing regimens may require adjustment given an individual patient's response to the dosing regimen or over time as individual patient needs change.

In another aspect, the invention is directed to a liquid oral dosage form. Oral liquids such as solution, syrups and elixirs can be prepared in dosage unit form so that a given quantity contains a predetermined amount of a compound of the invention. Syrups can be prepared by dissolving the compound of the invention in a suitably flavored aqueous solution, while elixirs are prepared through the use of a non-toxic alcoholic vehicle. Suspensions can be formulated by dispersing the compound of the invention in a non-toxic vehicle. Solubilizers and emulsifiers such as ethoxylated isostearyl alcohols and polyoxy ethylene sorbitol ethers, preservatives, flavor additive



such as peppermint oil or natural sweeteners or saccharin or other artificial sweeteners, and the like can also be added.

In another aspect, the invention is directed to parenteral administration.

Pharmaceutical compositions adapted for parenteral administration include aqueous  
5 and non-aqueous sterile injection solutions which may contain anti-oxidants, buffers, bacteriostats and solutes which render the formulation isotonic with the blood of the intended recipient; and aqueous and non-aqueous sterile suspensions which may include suspending agents and thickening agents. The compositions may be presented in unit-dose or multi-dose containers, for example sealed ampoules and vials, and may  
10 be stored in a freeze-dried (lyophilized) condition requiring only the addition of the sterile liquid carrier, for example water for injections, immediately prior to use. Extemporaneous injection solutions and suspensions may be prepared from sterile powders, granules and tablets.

Typical daily dosages may vary depending upon the particular route of  
15 administration chosen. Typical daily dosages for oral administration, to a human weighing approximately 70kg, would range from 7mg to 7g, suitably 3.5mg to 3.5g of a compound of the invention a day.

Compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions of the present invention may be  
20 administered parenterally or orally as an injecting agent, capsules, tablets, and granules, and preferably, administered as an injecting agent. Amounts to be administered may usually be, per 1 kg of body weight of a patient or animal, about 0.1 to 100 mg/day, preferably, about 0.5 to 50 mg/day, if desired, divided into 2-4 times per day. Carriers when used as an injecting agent is for example, distilled water, saline and  
25 the like, and base and the like may be used for pH adjustment. When used as capsules, granules or tablets, carriers may be known excipients (e.g., starch, lactose, sucrose, calcium carbonate, calcium phosphate and the like), binders (e.g., starch, acacia gum, carboxymethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, crystalline cellulose, and the like), lubricants (e.g., magnesium stearate, talc and the like), and the like.

30 For all methods of use disclosed herein for the compounds of Formulas (I) to (II), the daily oral dosage regimen will preferably be from about 0.05 to about 80 mg/kg of total body weight, preferably from about 0.1 to 30 mg/kg, more preferably from about 0.5 mg to 15mg/kg, administered in one or more daily doses. For example, the daily parenteral dosage regimen about 0.1 to about 80 mg/kg of total body weight, preferably  
35 from about 0.2 to about 30 mg/kg, and more preferably from about 0.5 mg to 15mg/kg, administered in one or more daily doses. The daily topical dosage regimen will

preferably be from 0.01 mg to 150 mg, administered one to four times daily. The daily inhalation dosage regimen will preferably be from about 0.05 microgram/kg to about 5 mg/kg per day, or from about 0.2 microgram/kg to about 20 microgram/kg, administered in one or more daily doses.

5 It will also be recognized by one of skill in the art that the optimal quantity and spacing of individual dosages of a compound of Formulas (I) to (II), respectively, or a pharmaceutically acceptable salt thereof will be determined by the nature and extent of the condition being treated, the form, route and site of administration, and the particular patient being treated, and that such optimums can be determined by conventional  
10 techniques. It will also be appreciated by one of skill in the art that the optimal course of treatment, i.e., the number of doses of a compound of Formulas (I) to (II), respectively, or a pharmaceutically acceptable salt thereof given per day for a defined number of days, can be ascertained by those skilled in the art using conventional course of treatment determination tests.

15 The amount of a compounds of Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof or corresponding pharmaceutical compositions of the present invention which is required to achieve a therapeutic effect will, of course, vary with the particular compound, the route of administration, the subject under treatment, and the particular disorder or disease being treated.

20 Suitable dosing regimens for a compound of the invention depend on the pharmacokinetic properties of that compound, such as absorption, distribution, and half-life, which can be determined by the skilled artisan. In addition, suitable dosing regimens, including the duration such regimens are administered, for a compound of the invention depend on the condition being treated, the severity of the condition being  
25 treated, the age and physical condition of the patient being treated, the medical history of the patient to be treated, the nature of concurrent therapy, the desired therapeutic effect, and like factors within the knowledge and expertise of the skilled artisan. It will be further understood by such skilled artisans that suitable dosing regimens may require adjustment given an individual patient's response to the dosing regimen or over  
30 time as individual patient needs change.

Additionally, the compounds of the present invention may be administered as prodrugs. As used herein, a "prodrug" of a compound of the invention is a functional derivative of the compound which, upon administration to a patient, eventually liberates the compound of the invention *in vivo*. Administration of a compound of the invention  
35 as a prodrug may enable the skilled artisan to do one or more of the following: (a) modify the onset of the compound *in vivo*; (b) modify the duration of action of the

compound *in vivo*; (C) modify the transportation or distribution of the compound *in vivo*; (d) modify the solubility of the compound *in vivo*; and (e) overcome a side effect or other difficulty encountered with the compound. Typical functional derivatives used to prepare prodrugs include modifications of the compound that are chemically or enzymatically cleaved *in vivo*. Such modifications, which include the preparation of phosphates, amides, esters, thioesters, carbonates, and carbamates, are well known to those skilled in the art.

The invention also provides a compound of the invention for use in medical therapy, particularly in bacterial infections. Thus, in a further aspect, the invention is directed to the use of a compound according to Formula I or a pharmaceutically-acceptable salt thereof in the preparation of a medicament for the treatment of bacterial infections.

In another aspect, the present invention is directed to a [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, may be formulated for oral administration, suitably in a liquid or tablet form, or for parenteral administration.

In another aspect, the present invention is directed to a pharmaceutical composition or formulation as defined above, where each is formulated for intravenous (iv) administration.

### **Methods of Use**

The present invention also relates to methods for treating bacterial infections, which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of Formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The compounds of the invention are inhibitors of microbial peptide deformylase (PDF) and are, therefore, capable of preventing bacterial growth. These compounds are potentially useful in the treatment of infectious diseases wherein the underlying pathology is (at least in part) attributable to (i.e. caused by) a variety of prokaryotic organisms.

Examples include, but are not limited to, Gram positive and Gram negative aerobic and anaerobic bacteria from the genera *Streptococcus*, e.g. *S. pneumoniae* and *S. pyogenes*, *Staphylococcus*, e.g. *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *S. saprophyticus*, *Moraxella*, e.g. *M. catarrhalis*, *Haemophilus*, e.g. *H. influenzae*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, e.g. *M. pneumoniae*, *Legionella*, e.g. *L. pneumophila*, *Chlamydia*, e.g. *C. pneumoniae*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, and *Peptostreptococcus*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Streptococcus*, more suitably *S. pneumoniae* or *S. pyogenes*.

5 Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Staphylococcus*, more suitably *S. aureus*, *S. epidermidis*, or *S. saprophyticus*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Moraxella*, more suitably *M. catarrhalis*.

10 Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Haemophilus*, more suitably *H. influenzae*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Neisseria*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Mycoplasma*, more suitably *M. pneumoniae*.

15 Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Legionella*, more suitably *L. pneumophila*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Chlamydia*, more suitably *C. pneumoniae*.

20 Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Bacteroides*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Clostridium*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Fusobacterium*.

25 Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Propionibacterium*.

Suitably the compounds of the present invention may be useful in the treatment of bacterial infections caused by *Peptostreptococcus*.

30 The compounds of the invention may also be useful in the treatment of bacterial infections caused by bacteria that are resistant to  $\beta$ -lactam, quinolone, macrolides, ketolides, glycopeptide, and oxazolidinone classes of antibiotics. Such drug resistant bacterial infections include, but are not limited to, penicillin, macrolide or levofloxacin resistant *S. pneumoniae*; methicillin or macrolide resistant, and vancomycin intermediate *S. aureus*; methicillin resistant *S. epidermidis*; and oxazolidinone resistant  
35 *S. aureus*.

The compounds of the invention may be used to treat a bacterial infection in mammals, specifically humans. Such infections include, but are not limited to, ear infections, sinusitis, upper and lower respiratory tract infections, genital infections, skin and soft tissue infections, and bacterial endocarditis. The compounds of the invention may also be used to prevent a bacterial infection in mammals, specifically humans, such as a bacterial infection that may result from medical or dental procedures.

Suitably the compounds of the invention may be used to treat ear infections.

Suitably the compounds of the invention may be used to treat sinusitis.

Suitably the compounds of the invention may be used to treat upper and lower respiratory tract infections.

Suitably the compounds of the invention may be used to treat genital infections.

Suitably the compounds of the invention may be used to treat skin and soft tissue infections.

Suitably the compounds of the invention may be used to treat bacterial endocarditis.

As used herein, "infectious disease" refers to any disease characterized by the presence of a microbial infection, such as a bacterial infection.

As used herein, "treat" in reference to a condition means: (1) to ameliorate or prevent the condition or one or more of the biological manifestations of the condition, (2) to interfere with (a) one or more points in the biological cascade that leads to or is responsible for the condition or (b) one or more of the biological manifestations of the condition, (3) to alleviate one or more of the symptoms or effects associated with the condition, or (4) to slow the progression of the condition or one or more of the biological manifestations of the condition.

As indicated above "treatment" of a condition includes prevention of the condition. The skilled artisan will appreciate that "prevention" is not an absolute term. In medicine, "prevention" is understood to refer to the prophylactic administration of a drug to substantially diminish the likelihood or severity of a condition or biological manifestation thereof, or to delay the onset of such condition or biological manifestation thereof.

As used herein, "effective amount" in reference to a compound of the invention means an amount of the compound sufficient to treat the patient's condition, but low enough to avoid serious side effects (at a reasonable benefit/risk ratio) within the scope of sound medical judgment. An effective amount of a compound will vary with the particular compound chosen (e.g., consider the potency, efficacy, and half-life of the compound); the route of administration chosen; the condition being treated; the severity

of the condition being treated; the age, size, weight, and physical condition of the patient being treated; the medical history of the patient being treated; the duration of the treatment; the nature of concurrent therapy; the desired therapeutic effect; and like factors, and can be routinely determined by the skilled artisan.

5           As used herein, "patient" refers to a human or other mammal.

The compounds of the invention may be administered by any suitable route of administration, including both systemic administration and topical administration.

Systemic administration includes oral administration, parenteral administration, transdermal administration, rectal administration, and administration by inhalation.

10          Parenteral administration refers to routes of administration other than enteral, transdermal, or by inhalation, and is typically by injection or infusion. Parenteral administration includes intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection or infusion. Inhalation refers to administration into the patient's lungs whether inhaled through the mouth or through the nasal passages. Topical administration includes  
15          application to the skin as well as intraocular, intravaginal, and intranasal administration.

The compounds of the invention may be administered once or according to a dosing regimen wherein a number of doses are administered at varying intervals of time for a given period of time. For example, doses may be administered one, two, three, or four times per day. Doses may be administered until the desired therapeutic effect is  
20          achieved or indefinitely to maintain the desired therapeutic effect. Suitable dosing regimens for a compound of the invention depend on the pharmacokinetic properties of that compound, such as absorption, distribution, and half-life, which can be determined by the skilled artisan. In addition, suitable dosing regimens, including the duration such regimens are administered, for a compound of the invention depend on the condition  
25          being treated, the severity of the condition being treated, the age and physical condition of the patient being treated, the medical history of the patient being treated, the nature of concurrent therapy, the desired therapeutic effect, and like factors within the knowledge and expertise of the skilled artisan. It will be further understood by such skilled artisans that suitable dosing regimens may require adjustment given an  
30          individual patient's response to the dosing regimen or over time as individual patient needs change.

Typical daily dosages may vary depending upon the particular route of administration chosen. Typical daily dosages for oral administration, to a human weighing approximately 70kg, would range from 50mg to 3g, suitably 100mg to 2g of a  
35          compound of the invention a day.

Additionally, the compounds of the invention may be administered as prodrugs. As used herein, a "prodrug" of a compound of the invention is a functional derivative of the compound which, upon administration to a patient, eventually liberates the compound of the invention *in vivo*. Administration of a compound of the invention as a prodrug may enable the skilled artisan to do one or more of the following: (a) modify the onset of the compound *in vivo*; (b) modify the duration of action of the compound *in vivo*; (c) modify the transportation or distribution of the compound *in vivo*; (d) modify the solubility of the compound *in vivo*; and (e) overcome a side effect or other difficulty encountered with the compound. Typical functional derivatives used to prepare prodrugs include modifications of the compound that are chemically or enzymatically cleaved *in vivo*. Such modifications, which include the preparation of phosphates, amides, esters, thioesters, carbonates, and carbamates, are well known to those skilled in the art.

The invention also provides a compound of the invention for use in medical therapy, particularly in bacterial infections. Thus, in a further aspect, the invention is directed to the use of a compound according to Formula I or a pharmaceutically-acceptable salt thereof in the preparation of a medicament for the treatment of bacterial infections.

The methods of treatment of the invention, specifically methods for the treatment of infectious diseases including bacterial infections, comprise administering an effective amount of a compound according to Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to a patient in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection in humans comprising administration of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection in humans comprising administration of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection in humans comprising administration of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-

c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection in humans comprising administration of a therapeutically effective amount of  
5 [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection in humans comprising administration of a therapeutically effective amount of  
10 [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (or i.e., [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate).

15 In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection in humans comprising administration of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

20 In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection comprising administration of a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and at  
25 least on pharmaceutically acceptable excipient to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection comprising administration of a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate and at least one pharmaceutically  
30 acceptable excipient to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection comprising administration of a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-  
35



3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 and at least one pharmaceutically acceptable excipient to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection comprising administration of a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
5 [(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 and at least one pharmaceutically acceptable excipient to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial  
10 infection comprising administration of a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate (or i.e., [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-  
15 yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimesylate) and at least one pharmaceutically acceptable excipient to a human in need thereof.

In one aspect, the present invention provides for a method of treating a bacterial infection comprising administration of a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
20 [(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate and at least one pharmaceutically acceptable excipient to a human in need thereof.

For each of the aspects above, the bacterial infection recited above for each method, may be caused by *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*,  
25 *Neisseria*, *Mycoplasma*, *Legionella*, *Chlamydia*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, or *Peptostreptococcus*.

For each of the aspects above, the bacterial infection as recited for each method may be selected from an ear infection, sinusitis, upper respiratory tract infection, lower respiratory tract infection, genital infection, skin and soft tissue infection, bacterial  
30 endocarditis and the like.

### **Biology and Biological Assays**

As stated above, compounds according to Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof are useful in the inhibition of bacterial peptide deformylase (PDF) activity and in treatment methods for bacterial infections. The biological activity of  
35 the compounds according to Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof can be determined using suitable assays such as those measuring such inhibition and

those evaluating the ability of the compounds to inhibit bacterial growth *in vitro* or in animal models of infection.

The biological activity of the compounds according to Formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof can be determined using suitable assays such as those measuring inhibition of the enzymatic activity of PDF and those evaluating the ability of the compounds to inhibit bacterial growth *in vitro* or in animal models of infection.

Certain Examples of the invention possess greater *in vitro* antibacterial activity (MIC and/or MIC90) and/or better *in vivo* efficacy over the examples from WO

03/101442. These Examples include, but are not limited to, the following:

- [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a**S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide.

#### **PDF IC<sub>50</sub> Assay**

Enzymatic activity of PDF was measured using a formate dehydrogenase (FDH)-coupled assay [Lazennec and Meinel (1997) Anal. Biochem. 244, 180-182]. Once formate is released from methionine by PDF, it is oxidized by FDH thereby reducing one molecule of NAD to NADH and resulting in an increase in absorbance at 340 nm. Reactions were initiated by adding PDF to microtiter plates containing all other reaction components and were continuously monitored for 20 min at 25°C. The final reaction composition for the *Staphylococcus aureus* PDF (SaPDF) assay was 50 mM potassium phosphate, pH 7.6, 5 units/mL FDH, 7 mM NAD, 5% DMSO, 1 nM SaPDF, and 2.9 mM formyl-Met-Ala-Ser in 50 µL total volume. Serial dilutions of inhibitors were performed in DMSO. Reagents and assay format were identical for *Haemophilus influenzae* PDF except that formyl-Met-Ala-Ser was 6 mM final. In the *Streptococcus pneumoniae* PDF assay, reaction conditions were similar but contained 30 pM enzyme, 2 mM NAD and 4 mM formyl-Met-Ala-Ser. The varying formyl-Met-Ala-Ser concentrations reflect  $K_M$  values for substrate using the different PDF isozymes. IC<sub>50</sub>s were determined by fitting to the equation: %Inhibition =  $100/1+(IC_{50}/[I])^s$ , where *s* is a slope factor, *I* is the inhibitor concentration and the IC<sub>50</sub> is the concentration of compound that causes 50% inhibition.

#### **Results**

Examples 1-4 inhibit *S. aureus*, *H. influenzae* and *S. pneumoniae* PDF activities with IC<sub>50</sub>s < 100 nM.

### Antimicrobial Activity Assay

Whole-cell antimicrobial activity was determined by broth microdilution using the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS) recommended methodology (NCCLS Document M7-A6, "Methods for Dilution Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically – Approved Standard Sixth Edition", 2003). Compounds were tested in serial two-fold dilutions ranging from 64 to 0.06 µg/mL. A panel of 12 strains was evaluated in the assay. This panel consisted of the following laboratory strains: *Staphylococcus aureus* Oxford, *Staphylococcus aureus* WCUH29, *Enterococcus faecalis* I, *Enterococcus faecalis* 7, *Haemophilus influenzae* Q1, *Haemophilus influenzae* NEMC1, *Moraxella catarrhalis* 1502, *Streptococcus pneumoniae* 1629, *Streptococcus pneumoniae* N1387, *Streptococcus pneumoniae* Ery2, *Escherichia coli* 7623 (AcrABEFD+) and *Escherichia coli* 120 (AcrAB-). The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined as the lowest concentration of compound that inhibited visible growth. A mirror reader was used to assist in determining the MIC endpoint.

### Results

Each of the Examples 1-4 have a minimal inhibitory concentration (MIC)  $\leq 4$  µg/mL against at least one of the organisms listed above. For at least one strain of every organism listed above, at least one example had an MIC  $\leq 4$  µg/mL, with the exception of *Enterococcus faecalis* I, and *Enterococcus faecalis* 7, for which most examples had MICs  $\geq 16$  µg/mL.

Antimicrobial Activity data (MIC's in µg/mL) for specific Examples is given in Table 2.

**Table 2**

|                                                    | <b>Example 24*</b><br>µg/mL |
|----------------------------------------------------|-----------------------------|
| <b>Organism</b>                                    |                             |
| <i>S. aureus</i> Oxford                            | 2                           |
| <i>S. aureus</i> WCUH29                            | 0.375                       |
| <i>E. faecalis</i> I                               | 48                          |
| <i>E. faecalis</i> 7                               | 32                          |
| <i>H. influenzae</i> Q1                            | 0.5                         |
| <i>H. influenzae</i> NEMC1                         | 1                           |
| <i>M. catarrhalis</i> 1502                         | 0.375                       |
| <i>S. pneumoniae</i> 1629                          | 0.75                        |
| <i>S. pneumoniae</i> N1387                         | 0.5                         |
| <i>S. pneumoniae</i> ERY2                          | 0.375                       |
| <i>E. coli</i> 7623 AcrABEFD+                      | 16                          |
| <i>E. coli</i> 120 AcrAB-                          | 0.1875                      |
| Number of times entire panel of 12 strains was run | 6                           |

\* MIC data is expressed as the median of all results obtained

5

### Animal models of infection

All procedures were performed in accordance with protocols approved by the GSK Institutional Animal Care and Use Committee, and meet or exceed the standards of the American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC), the United States Department of Health and Human Services and all local and federal animal welfare laws.

10

### Rat respiratory tract infection (RTI) model with *H. influenzae* or *S. pneumoniae*.

In this model, anesthetized rats (male Sprague Dawley [Cr1:CD (SD) 100g] (Charles River) were infected by intrabronchial instillation of  $2-3 \times 10^6$  bacterial CFU/rat in 100 µL of agar directly into the lungs [G. Smith (1991) Lab Animals vol 25, 46-49]. Animals (n = 6 per group) were dosed with different amounts of compound (2-fold dilution ranging from 37.5 to 300 mg/kg) by oral gavage twice daily for 4 days starting 1 h after infection. Control animals were dosed with diluent on the same schedule. The rats were euthanized 96 h post infection and the lungs removed aseptically and homogenized in 1 mL of sterile saline with a stomacher machine. Ten fold serial dilutions were done in sterile saline to enumerate viable bacteria numbers. This rat lung infection model has been shown to be able to predict human efficacy in community-

20

acquired pneumonia (CAP) caused by *S. pneumoniae* [Hoover J. L., C. Mininger, R. Page, R. Straub, S. Rittenhouse, and D. Payne. (2007). Abstract A-17. Proceedings of the 47th ICAAC, Chicago, Illinois].

5 **Murine groin *S. aureus* abscess model of skin and soft tissue infection (SSTI).**

In this model, anesthetized mice (male CD1, 20 g) (Charles River) were infected with *S. aureus* in semi-solid agar ( $1 \times 10^6$  CFU/mouse) subcutaneously in the groin area (Jarvest, R.L., Berge, J.M., Berry, V., Boyd, H.F., Brown, M.J., Elder, J.S., Forrest, A.K., Fosberry, A.P., Gentry, D.R., Hibbs, M.J., Jaworski, D.D., O'Hanlon, P.J., Pope, A.J.,  
10 Rittenhouse, S. Sheppard, R.J., Slater-Radosti, C. and Worby, A. (2002) J. Med Chem., 45, 1959-1962). The animals (n=6 per group) were dosed with different amounts of compound (2-fold dilution ranging from 37.5 to 300 mg/kg) by oral gavage twice daily starting 1 h after infection. Control animals were dosed with diluent on the same  
15 removed and homogenized. Ten fold serial dilutions were done in sterile saline to enumerate viable bacteria numbers.

Results

Some of the Examples described herein have demonstrated oral efficacy in one or more of the above animal models of infection, reducing the amount of bacteria  
20 recovered from lungs or abscesses, with respect to the untreated control animals, by  $\geq 3 \log_{10}$  CFU/mL.

**EXAMPLES**

The following examples illustrate the invention. These examples are not intended to limit the scope of the present invention, but rather to provide guidance to  
25 the skilled artisan to prepare and use the compounds, compositions, and methods of the present invention.

While particular embodiments of the present invention are described, the skilled artisan will appreciate that various changes and modifications can be made without departing from the spirit and scope of the invention.

30 As used herein the symbols and conventions used in these processes, schemes and examples are consistent with those used in the contemporary scientific literature, for example, the *Journal of the American Chemical Society* or the *Journal of Biological Chemistry*. Standard single-letter or three-letter abbreviations are generally used to designate amino acid residues, which are assumed to be in the L-configuration unless  
35 otherwise noted. Unless otherwise noted, all starting materials were obtained from commercial suppliers and used without further purification.

All references to ether are to diethyl ether; brine refers to a saturated aqueous solution of NaCl. Unless otherwise indicated, all temperatures are expressed in °C (degrees Centigrade). All reactions are conducted under an inert atmosphere at room temperature unless otherwise noted, and all solvents are highest available purity unless  
5 otherwise indicated.

<sup>1</sup>H NMR (hereinafter also "NMR") spectra were recorded on a Varian VXR-300, a Varian Unity-300, a Varian Unity-400 instrument, a Bruker AVANCE-400, a General Electric QE-300 or a Bruker AM 400 spectrometer. Chemical shifts are expressed in parts per million (ppm,  $\delta$  units). Coupling constants are in units of hertz (Hz). Splitting  
10 patterns describe apparent multiplicities and are designated as s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), quint (quintet), m (multiplet), br (broad).

Mass spectra were run on an open access LC-MS system using electrospray ionization. LC conditions: 10% to 80% CH<sub>3</sub>CN (0.018% TFA) in 3.0 min with a 1.25 min hold and 0.5 min re-equilibration; detection by MS, UV at 214 nm, and a light scattering  
15 detector (ELS). Column: 2.1 X 50 mm Zorbax SB-C8.

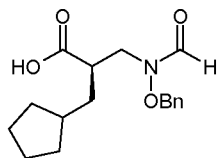
For preparative (prep) HPLC; ca. 100 mg of the final products were injected in 1000  $\mu$ L of MeOH, DMSO, or DMF onto a SunFire Prep C18 OBD 5  $\mu$ m 30 x 75 mm column at 35 mL/min with a 10 min gradient from 5% CH<sub>3</sub>CN to 95% CH<sub>3</sub>CN in H<sub>2</sub>O, followed by a 90% CH<sub>3</sub>CN in H<sub>2</sub>O hold for 1.9 min. Flash chromatography was run over  
20 Merck Silica gel 60 (230 - 400 mesh), or using a Teledyne Isco Combiflash Companion with normal phase, disposable Redi-Sep flash columns.

XRPD spectrum were recorded using a PANalytical X'Pert Pro MPD-XRD, PW3040.

ATR-IR spectrum were recorded using a Thermo Electron Nexus 470 FTIR with  
25 Diamond ATR accessory.

**Intermediates****Intermediate A****(2R)-3-Cyclopentyl-2-({formyl[(phenylmethyl)oxy]methyl})propanoic acid**

5

**Part A:****(4S)-Benzyl-3-(3-cyclopentylpropanoyl)oxazolidin-2-one**

To a solution of (S)-(-)-4-benzyl-2-oxazolidinone (25 g, 141 mmol) in THF (350 mL) at -78 °C was added dropwise n-BuLi (56.4 mL, 2.5M solution in hexane, 141 mmol). After stirring for 60 min at the same temperature, the reaction mixture was then treated with 3-cyclopentylpropionyl chloride (21.6 mL, 141 mmol) over 0.25 h. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The reaction was quenched with saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl solution (320 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 x 200 mL). The combined organic layers were dried (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated to yield (4S)-benzyl-3-(3-cyclopentylpropanoyl)oxazolidin-2-one as a white solid (42.4 g, 100 %). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 302.3.

**Part B:****(4S)-3-((2R)-3-Cyclopentyl-2-({[(phenylmethyl)oxy]methyl})propanoyl)-4-(phenylmethyl)-1,3-oxazolidin-2-one**

To a solution of (4S)-benzyl-3-(3-cyclopentylpropanoyl)oxazolidin-2-one (42.4 g, 141 mmol) in dichloromethane (500 mL) at 0 °C under nitrogen was added titanium (IV) chloride (1 M in DCM, 155 mL, 155 mmol) in a slow steady stream. After 5 min, diisopropylethylamine (27 mL, 155 mmol) was added dropwise. After stirring at 0 °C for 1 h, benzyloxymethylchloride (TCI-America) (39 mL, 280 mmol) was added in a slow steady stream to the resulting titanium enolate, and the mixture was maintained at 0 °C for 3.5 h. The reaction mixture was then quenched with water (400 mL). The aqueous layer was extracted with dichloromethane (150 mL x 2). The organic extracts were washed with saturated NaHCO<sub>3</sub>, were dried (MgSO<sub>4</sub>) and were evaporated. The residue was washed with ether (2x), and then was triturated with hexanes/ether to provide 2 crops of (4S)-3-((2R)-3-cyclopentyl-2-({[(phenylmethyl)oxy]methyl})propanoyl)-

4-(phenylmethyl)-1,3-oxazolidin-2-one as a pale yellow solid (42.7 g, 72%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 422.2.

Part C:

5 **(4S)-3-[(2R)-3-Cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)propanoyl]-4-(phenylmethyl)-1,3-oxazolidin-2-one**

A solution of (4S)-3-[(2R)-3-cyclopentyl-2-  
{[(phenylmethyl)oxy]methyl}propanoyl]-4-(phenylmethyl)-1,3-oxazolidin-2-one (42.7 g,  
10 0.1 mol) in ethanol (800 mL) and DMF (180 mL) was subjected to catalytic  
hydrogenation using 10% Pd/C (4 g) and a balloon of hydrogen. The reaction was 50%  
complete by LCMS after 24 h. The reaction was purged with nitrogen and a fresh  
balloon of hydrogen was introduced. After an additional 60 h, the reaction was again  
purged with nitrogen, was filtered, and the filtrate solvents were removed to provide  
15 (4S)-3-[(2R)-3-cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)propanoyl]-4-(phenylmethyl)-1,3-  
oxazolidin-2-one (33.1 g, 100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 332.3.

Part D:

**(2R)-3-Cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)propanoic acid**

20 (4S)-3-[(2R)-3-Cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)propanoyl]-4-(phenylmethyl)-1,3-  
oxazolidin-2-one (33.1 g, 0.1 mol) was stirred in a mixture of THF (330 mL) and water  
(55 mL) and cooled to 0 °C. 30% Hydrogen peroxide (96 mL, 1 mol) was added,  
followed by lithium hydroxide monohydrate (8.4 g, 0.2 mol). The reaction was warmed  
to room temperature, and then stirred overnight. The THF was removed by rotary  
25 evaporation. The aqueous residue was washed with dichloromethane (3 x 100 mL), was  
acidified with 6N HCl, and was extracted with ethyl acetate (4 x 100 mL). The organic  
extracts were dried (MgSO<sub>4</sub>) and were evaporated to provide (2R)-3-cyclopentyl-2-  
(hydroxymethyl)propanoic acid as a clear, colorless oil (18.5 g, >100%). LCMS:  
(M+H)<sup>+</sup>: not detected. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.3 (br s, 1H), 3.79 (d, J=5.83 Hz,  
30 2H), 2.64-2.71 (m, 1H), 1.45-1.87 (m, 9H), 1.05-1.14 (m, 2H).

Part E:

**(2R)-3-Cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)-N-[(phenylmethyl)oxy]propanamide**

To a mixture of (2R)-3-cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)propanoic acid (18.3 g, 106  
35 mmol), O-benzyl hydroxyamine hydrochloride (18.62 g, 117 mmol) and 4-  
(dimethylamino)pyridine (28.5 g, 233 mmol) in dichloromethane (110 mL) at 0 °C was



added 1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (22.3 g, 117 mmol). The mixture was maintained at 0 °C for 3 h. After this time, 500 mL of 1N cold, aqueous HCl solution was added, and the mixture was stirred for another 30 min. The resulting white solid precipitate was collected by filtration. The precipitate was washed  
5 with 1N HCl, with water, and with cold DCM. Drying overnight in a vacuum dessicator provided (2*R*)-3-cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)-*N*-[(phenylmethyl)oxy]propanamide (19.1 g, 65%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 278.1.

Part F:

10 **(3*R*)-3-(Cyclopentylmethyl)-1-[(phenylmethyl)oxy]-2-azetidinone**

To a mixture of (2*R*)-3-cyclopentyl-2-(hydroxymethyl)-*N*-[(phenylmethyl)oxy]propanamide (22.5 g, 81 mmol) and triphenylphosphine (22.5 g, 97 mmol) in THF (800 mL) at 0 °C was added dropwise diisopropyl azodicarboxylate (18.9 mL, 97 mmol). The reaction mixture was maintained at 0 °C for 45 min and was then evaporated.

15 Purification by chromatography on silica gel using an eluting system of hexane/EtOAc (95:5) provided (3*R*)-3-(cyclopentylmethyl)-1-[(phenylmethyl)oxy]-2-azetidinone (16.9 g, 81%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 260.1.

Part G:

20 **(2*R*)-3-Cyclopentyl-2-({[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid**

A mixture of (3*R*)-3-(cyclopentylmethyl)-1-[(phenylmethyl)oxy]-2-azetidinone (20 g, 77.1 mmol) and LiOH·H<sub>2</sub>O (32.4 g, 0.77 mol) in THF/water (500 mL/170 mL) was stirred at room temperature for 36 h. To the reaction mixture was added 6M HCl (130 mL), and then 1 N NaOH was added until a neutral pH was obtained. The layers were  
25 separated, and the aqueous layer was extracted once with EtOAc. The combined organics were dried (MgSO<sub>4</sub>) and concentrated to provide (2*R*)-3-cyclopentyl-2-({[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid (22.85 g, >100%) as a clear, colorless oil. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 277.9.

30 Part H:

**(2*R*)-3-Cyclopentyl-2-({formyl[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid**

Under a nitrogen atmosphere, formic acid (192 mL, 5 mol) was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (450 mL) and cooled to 0 °C. Acetic anhydride (73 mL, 0.77 mol) was then added, and the reaction mixture was stirred for 45 min. After this time, a solution of  
35 (2*R*)-3-cyclopentyl-2-({[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid (22.85 g crude

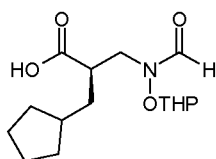
material, assumed 77.1 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (450 mL) was added, and the resulting mixture was stirred for 1.5 h at 0 °C. The volatiles were then removed, the crude residue was dissolved in EtOAc (500 mL), and the mixture was washed with brine (4 X 100 mL). The organics were dried ( $\text{MgSO}_4$ ) and concentrated to provide (2*R*)-3-cyclopentyl-2-  
 5 ({formyl[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid (23.5 g, 100%) as a thick syrup. LCMS:  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 306.1.

The (2*R*)-3-cyclopentyl-2-({formyl[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid, diisopropylethylamine salt, isopropanol solvate can be prepared in the following manner:

10 To a solution of (2*R*)-3-cyclopentyl-2-  
 ({formyl[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid (25.9 g, 85 mmol) in diethyl ether (85 mL) was added diisopropylethylamine (19.7 mL, 113 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for approximately 3 h. The reaction mixture was then diluted with additional diethyl ether (85 mL) and water (400 mL). The layers were  
 15 separated, and the organic layer was extracted two more times with a water/brine mixture (250 mL water with 30 mL brine added and 200 mL water with 30 mL brine added). The combined aqueous layers were then extracted with 40% isopropanol in chloroform (3 x 300 mL). The combined isopropanol/chloroform layers were dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtered and evaporated to provide the 2(*R*)-3-cyclopentyl-2-  
 20 ({formyl[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid, diisopropylethylamine salt, isopropanol solvate (30.29 g) as a clear beige oil. LCMS:  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 306.2.

### **Intermediate B**

**(2*R*)-3-Cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]amino]methyl} propanoic acid**



### **Part A:**

**(3*R*)-3-(Cyclopentylmethyl)-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]-2-azetidinone**

(3*R*)-3-(Cyclopentylmethyl)-1-[(phenylmethyl)oxy]-2-azetidinone (100 g, 386  
 30 mmol) was dissolved in ethanol (1.2 L), and the solution was degassed. Pd on C (10%, dry, 8 g) was added and the suspension was purged with hydrogen and stirred under a hydrogen atmosphere (balloon) until the reaction was complete by LC-MS (approximately 6 h). The suspension was then sparged with nitrogen, filtered through Celite, and evaporated to dryness. The resulting solid was redissolved in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 L)

and dihydropyran (70 mL, 767 mmol) was added, followed by pyridinium p-toluenesulfonate (PPTS, 5%, 4.85 g). The reaction mixture was stirred 3 days at room temperature, then concentrated and chromatographed on silica gel using 10-20% ethyl acetate in hexanes to provide (3*R*)-3-(cyclopentylmethyl)-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-2-azetidinone as a colorless liquid (100%).

Part B:

**(2*R*)-3-Cyclopentyl-2-[[tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy]amino]methyl}propanoic acid**

(3*R*)-3-(Cyclopentylmethyl)-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-2-azetidinone (68 g, 268 mmol) was dissolved in THF (1 L) and placed in a 3-necked 3 L round bottomed flask that had been fitted with an internal thermocouple, reflux condenser, and a mechanical stirrer. A solution of lithium hydroxide monohydrate (56.3 g, 1.34 mol) in 400 mL H<sub>2</sub>O was prepared and added dropwise *via* the addition funnel, with vigorous stirring. The reaction mixture was stirred at room temperature for 36 h before being diluted with H<sub>2</sub>O (350 mL) and washed with hexanes (300 mL). The organic layer was extracted with H<sub>2</sub>O (100 mL) and the combined aqueous layers were cooled to 0 °C and carefully acidified with 2M citric acid (~525 mL) drop wise over the course of 90 min, keeping the internal temperature below 10 °C. The acidified material was extracted with ethyl acetate (3 x 250 mL) and the combined organic layers were washed with water (2x), dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and evaporated. Benzene (500 mL) was added and evaporated, and the residue was dried *in vacuo* to obtain (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy]amino]methyl}propanoic acid (70.9 g, 98%) as a colorless liquid.

Part C:

**(2*R*)-3-Cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl}propanoic acid**

To a solution of (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy]amino]methyl}propanoic acid (97.05 g, 358 mmol) in acetone (1.1 L) at room temperature was added 5-methyl-2-thioxo-[1,3,4]thiadiazole-3-carbaldehyde (57.3 g, 358 mmol) (Tetrahedron Lett. **1985**, 26, 3703-3706). When the reaction was deemed complete, the acetone was removed *in vacuo*. The residue was suspended in a mixture of hexanes (320 mL) and methyl-*t*-butyl ether (180 mL), then sonicated. After 10 min, the white solid (presumably 5-methyl-3*H*-[1,3,4]thiadiazole-2-thione) was filtered off, and the filtrate was evaporated *in vacuo* to give (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl}propanoic acid as a pale yellow gum

(124 g, >100%). NMR shows the product contains a small amount of MTBE and 5-methyl-3H-[1,3,4]thiadiazole-2-thione.

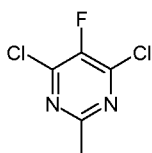
(2*R*)-3-Cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl]propanoic acid can also be prepared according to literature procedures [Bracken, Bushell, Dean, Francavilla, Jain, Lee, Seepersaud, Shu, Sundram, Yuan; PCT Int. Appl. (2006), WO 2006127576 A2].

The (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl]propanoic acid, diisopropylethylamine salt can be prepared in the following manner:

A solution of (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl]propanoic acid (39.45 g, 145 mmol) in methyl formate (300 mL) and diisopropylethylamine (27.9 mL, 160 mmol) was placed in a sealed tube and heated to 50 °C for 4 days. After cooling to room temperature, the methyl formate was removed *in vacuo*, and the remaining residue was dissolved in diethyl ether. The ether solution was extracted with water, and the layers were separated. The aqueous layer was then back-extracted with a solution of 40% isopropanol in chloroform (2X). The combined isopropanol/chloroform layers were then concentrated *in vacuo* to provide (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl]propanoic acid as the diisopropylethyl amine salt (28 g, containing a residual amount of chloroform and isopropanol).

### **Intermediate C**

#### **4,6-Dichloro-5-fluoro-2-methylpyrimidine**



#### **Part A:**

#### **5-Fluoro-4,6-dihydroxy-2-methylpyrimidine**

A solution of 200 mL of 25% wt sodium methoxide in methanol (0.84 mol) was diluted with an additional 200 mL of methanol. Acetamidine-HCl (40 g, 0.42 mol) was added to the sodium methoxide solution (white precipitate formed), followed by addition of dimethyl fluoromalonate (70 g, 0.46 mol). The contents were stirred at room temperature overnight, then concentrated *in vacuo* to dryness. The resulting residue was redissolved in hot water (300 mL). After cooling the aqueous solution to room temperature, concentrated HCl was added slowly until crystal formation (fine white prisms) took place at about pH 5. Concentrated HCl was added dropwise until pH 3,

and then the contents were filtered. The isolated crystals were rinsed with 1M HCl and dried under vacuum to provide 5-fluoro-4,6-dihydroxy-2-methylpyrimidine (65.5 g, >100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 145.

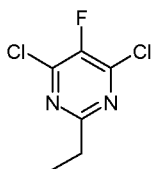
5            Part B:

**4,6-Dichloro-5-fluoro-2-methylpyrimidine**

5-Fluoro-4,6-dihydroxy-2-methylpyrimidine (assumed 60 g, 0.42 mol) was treated with 300 mL of POCl<sub>3</sub> at 120 °C for 3 h. The reaction mixture was then cooled to room temperature and concentrated *in vacuo* until the rate of solvent removal slowed to a drop rate of less than 1 drop/second. The product is somewhat volatile and excessive concentration *in vacuo* will reduce the yield. The crude residue was poured over crushed ice, and the resulting slurry was stirred for 1 h, during which time the solution came to room temperature. A yellow solid formed which was filtered off, washed with water, and air dried briefly until free flowing. This solid was collected and placed in a dessicator over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> until dry, providing pure 4,6-dichloro-5-fluoro-2-methylpyrimidine (59 g, 79%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 181/183 .

**Intermediate D**

**4,6-Dichloro-2-ethyl-5-fluoropyrimidine**



Part A:

**2-Ethyl-5-fluoro-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone**

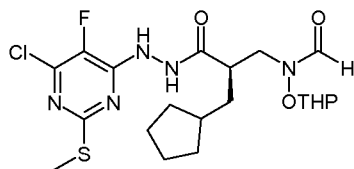
Propionamide hydrochloride salt (30.0 g, 276.3 mmol) and dimethyl fluoromalonate (41.4 g, 276.3 mmol) in anhydrous methanol (400 mL) were treated with solid NaOMe (45 g, 829 mmol) portion-wise at room temperature. After the addition, the white suspension was heated to 85 °C and stirred for 2 h. The solvent was then evaporated to dryness. To the residue was added 70 mL of 6 N HCl solution with vigorous stirring. The suspension was stirred for 10 min until the residue was fully neutralized. The white precipitate was collected by filtration and dried over vacuum to give 2-ethyl-5-fluoro-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone as a white solid . LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 159.0; (M+Na)<sup>+</sup>:181.1. In some cases, this product may contain co-precipitated NaCl, causing the yield to exceed the theoretical value. In such cases, this product was carried forward through the next step with the NaCl present.

Part B:**4,6-Dichloro-2-ethyl-5-fluoropyrimidine**

2-Ethyl-5-fluoro-6-hydroxy-4(1*H*)-pyrimidinone (20 g, 126.6 mmol) in POCl<sub>3</sub> (58 mL, 633 mmol) was heated at 125 °C (oil bath) for 2 h. An additional 68 mL of fresh  
5 POCl<sub>3</sub> was added to the hot solution. The resulting solution was heated for an additional 2 h until all the starting material was consumed. The excess POCl<sub>3</sub> was distilled (62 °C – 68 °C) in *vacuo* to give a light brown residue. After being cooled to room temperature, the residue was diluted with 50 mL of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, then poured into ice water (200 mL). To this mixture was added 200 mL of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and the subsequent  
10 mixture was stirred for 10 min. After separation of the two layers, the aqueous layer was further extracted with 100 mL of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The combined organic layers were dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, then filtered through a short silica gel pad, which was then washed with 150 mL of 1% MeOH in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Evaporation of the solvent provided 4,6-dichloro-2-ethyl-5-fluoropyrimidine (21 g, 85%) as a light yellow liquid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: not  
15 detected.

Intermediate E

[(2*R*)-3-{2-[6-Chloro-5-fluoro-2-(methylthio)-4-pyrimidinyl]hydrazino}-2-(cyclopentyl methyl)-3-oxopropyl](tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)formamide

Part A:**5-Fluoro-6-hydroxy-2-methylthio-4(1*H*)-pyrimidinone**

To a stirred solution of 2-methyl-2-thiopseudourea sulfate (41.7 g, 0.15 mol) and  
25 dimethyl fluoromalonate (45 g, 0.30 mol) in MeOH (600 mL) at 0 °C (ice bath) was added NaOMe (48.6 g, 0.90 mol) in portions. After the addition was complete, the ice bath was withdrawn and the reaction mixture was stirred at room temperature overnight. LCMS showed the formation of the desired pyrimidinone product. The reaction mixture was concentrated to near dryness under vacuum, diluted with water (50 mL), and  
30 acidified with 6N HCl (~150 mL) to ~pH 2 to precipitate the product. After filtration, the solid was washed with 1N HCl (2 x 10 mL) and dried under vacuum to afford 5-fluoro-6-hydroxy-2-methylthio-4(1*H*)-pyrimidinone (35.7 g, 68%) as a white solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 177.3.

Part B:**4,6-Dichloro-5-fluoro-2-(methylthio)pyrimidine**

A mixture of 5-fluoro-6-hydroxy-2-(methylthio)-4(1*H*)-pyrimidinone (35.7 g, 0.20 mol) in POCl<sub>3</sub> (150 mL) was heated at 115 °C for 3 h. After cooling to room

temperature, the reaction mixture was slowly poured into an ice-water mixture (1500 mL) and stirred for 20 min. The product was extracted into ethyl acetate (3 x 800 mL), and the combined organic extracts were washed with water (2 x 1000 mL), brine (1000 mL), and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Evaporation of the solvent provided 4,6-dichloro-5-fluoro-2-(methylthio)pyrimidine as a pale yellow solid (37.8 g, 89%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: not

detected.

Part C:**4-Chloro-5-fluoro-6-hydrazino-2-(methylthio)pyrimidine**

4,6-Dichloro-5-fluoro-2-(methylthio)pyrimidine (16.8 g, 78.85 mmol) and triethylamine (16.49 mL, 118.3 mmol) were dissolved in DMSO (200 mL) and stirred. The mixture was cooled to ~5 °C with an ice water bath. To this solution was slowly added hydrazine monohydrate (4.59 mL, 94.62 mmol). After the addition was complete, the reaction mixture was warmed up to RT and stirring was continued for 1 h. The reaction mixture was diluted with water (500 mL), and the aqueous solution was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 300 mL). The combined organic solution was washed with water (3 x 250 mL) and brine (250 mL), then dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and concentrated *in vacuo* to afford 4-chloro-5-fluoro-6-hydrazino-2-(methylthio)pyrimidine as a red foamy solid (9.70 g, 59%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 208.9.

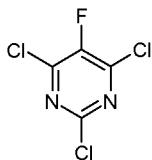
Part D:**[(2*R*)-3-{2-[6-Chloro-5-fluoro-2-(methylthio)-4-pyrimidinyl]hydrazino}-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl](tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)formamide**

A mixture of 4-chloro-5-fluoro-6-hydrazino-2-(methylthio)pyrimidine (9.70 g, 46.5 mmol), (2*R*)-3-cyclopentyl-2-[[formyl(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)amino]methyl]propanoic acid (19.9 g, 46.5 mmol), HOAt (6.96 g, 51.2 mmol), EDCI (9.82 g, 51.2 mmol) and N-methyl morpholine (25.6 mL, 232.5 mmol) in DMF (300 mL) was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate/hexanes (3:2, 1 L) and washed with water (3 x 500 mL), and the organics were dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by Gilson RP-HPLC (35-95% acetonitrile/water, 8 min gradient time) to afford [(2*R*)-3-{2-[6-chloro-5-fluoro-2-(methylthio)-4-pyrimidinyl]hydrazino}-2-(cyclopentylmethyl)-3-

oxopropyl](tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)formamide as a red glass (12.89 g, 56.0%).  
LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 490.4.

### **Intermediate F**

#### **5 2,4,6-Trichloro-5-fluoropyrimidine**



#### **Part A:**

#### **5-Fluoro-6-hydroxy-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione**

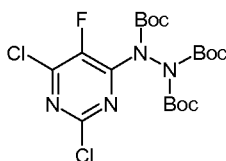
A mechanically stirred solution of urea (60.06 g, 1 mol) and dimethyl  
10 fluoromalonate (150.11 g, 1 mol) in methanol (1 L) was treated with 25 wt% NaOMe in  
methanol (~4.6 M, 435 mL, 2 mol). The mixture was refluxed for 3 h and then allowed  
to cool to room temperature. The mixture was filtered, the wet cake was dissolved in  
warm water (~1.2 L), and the resulting aqueous solution was acidified with concentrated  
15 aqueous HCl (~160 mL) to pH = 2 while stirring over 1 h. The mixture was allowed to  
cool to room temperature, and the product was filtered and washed thoroughly with  
water, then dried under vacuum to give 5-fluoro-6-hydroxy-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione  
(80 g, 55%) as a white solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 147.0.

#### **Part B:**

#### **2,4,6-Trichloro-5-fluoropyrimidine**

20 Finely powdered 5-fluoro-6-hydroxy-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione (74 g, 0.507  
mol) was added portionwise over 30 min to POCl<sub>3</sub> (232 mL, 2.5 mol) with stirring  
(exothermic). Upon complete addition, the mixture was held at 60 °C while N,N,-  
dimethylaniline (65 mL) was added dropwise by syringe. After addition, the mixture was  
heated to 100-110 °C (internal) until the reaction was judged complete, usually in 4-8 h.  
25 The mixture was cooled and the bulk of the remaining POCl<sub>3</sub> was removed by careful  
vacuum distillation at 80-90 °C (some product can be detected in the POCl<sub>3</sub> distillate).  
The remaining residue was poured onto ice (~1 L) and stirred for 30 min, then extracted  
with ether (1 x 400 mL, 2 x 150 mL). The combined extracts were washed with water  
and brine, then dried (MgSO<sub>4</sub>). Filtration and atmospheric distillation of the ether  
30 provided the crude product, which was distilled under reduced pressure to provide the  
product (28.8 g, 28%) as a low melting white crystalline solid (b.p. 80-85 °C, 12 mm).  
LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: not detected.



**Intermediate G****Tris(1,1-dimethylethyl)2-(2,6-dichloro-5-fluoro-4-pyrimidinyl)-1,1,2-hydrazine tricarboxylate**

5

**Part A:****1,1-Dimethylethyl 2-(2,6-dichloro-5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazinecarboxylate**

2,4,6-Trichloro-5-fluoropyrimidine (20.92 g, 104.1 mmol) was dissolved in THF (300 mL) at room temperature and stirred. To this stirring solution was added *t*-butyl carbazate (13.74 g, 104.1 mmol), followed by diisopropylethylamine (19.0 mL, 109.3 mmol). The reaction mixture turned light yellow, and after several minutes a precipitate formed. The reaction appeared complete after 1.5 h, as monitored by TLC (10% EtOAc/Hex). The reaction mixture was concentrated *in vacuo* to remove most of the THF, and the residue was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (~400 mL). The solution was washed with ~400 mL of sat. aq. NH<sub>4</sub>Cl. The organics were dried and concentrated to give a pale yellow solid (31.37 g). LCMS: (M+H+2Na-Boc)<sup>+</sup>: 241.

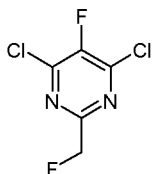
**Part B:****Tris(1,1-dimethylethyl)2-(2,6-dichloro-5-fluoro-4-pyrimidinyl)-1,1,2-hydrazine tricarboxylate**

1,1-Dimethylethyl 2-(2,6-dichloro-5-fluoro-4-pyrimidinyl)hydrazinecarboxylate (31.37 g, 104.1 mmol assumed) was suspended in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (400 mL). Di-*t*-butyl dicarbonate (44.75 g, 205.0 mmol) was added to the solution, followed by diisopropylethylamine (36.3 mL, 208.2 mmol). When almost everything was dissolved, DMAP (1.27 g, 10.4 mmol) was added slowly. The reaction mixture turned reddish, and after ~5 min, mild bubbling was observed. After 45 min, the reaction appeared complete by LCMS, and the mixture had turned light orange. The reaction mixture was washed with ~300 mL sat. NH<sub>4</sub>Cl, and the organics were set aside. A slurry was prepared with ~1800 mL Florsil in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, which was poured onto a large fritted funnel. The entire organic solution was then poured through the Florsil pad, washing with 2 L of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A red band was left behind on the Florsil, and TLC showed that the product had finished eluting from the pad. The filtrate was concentrated to a foamy colorless oil,

which crystallized overnight in the refrigerator (37.87 g, 73% from 2,4,6-trichloro-5-fluoropyrimidine). LCMS:  $(M+3H+2Na-3Boc)^+$ : 241.

### **Intermediate H**

#### **5 4,6-Dichloro-5-fluoro-2-(fluoromethyl)pyrimidine**



#### **Part A:**

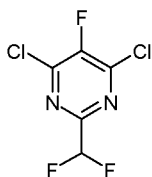
#### **5-Fluoro-2-(fluoromethyl)-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone**

2-Fluoro-acetamide hydrochloride salt (11.2 g, 100 mmol) and dimethyl  
10 fluoromalonate (15 g, 100 mmol) in anhydrous methanol (300 mL) were treated with  
solid NaOMe (16.2 g, 300 mmol) and heated to 50 °C with stirring. When LCMS  
showed formation of the desired product, the solvent was evaporated to dryness, and  
the residue was neutralized with concentrated HCl (20 mL). The white precipitate was  
collected by filtration to give 5-fluoro-2-(fluoromethyl)-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone  
15 (100% yield). LCMS:  $(M+H)^+$ : 163.1.

#### **Part B:**

#### **4,6-Dichloro-5-fluoro-2-(fluoromethyl)pyrimidine**

5-Fluoro-2-(fluoromethyl)-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone (6 g, 37 mmol) was  
suspended in POCl<sub>3</sub> (20 mL, 222 mmol) and stirred at 120 °C for 2 h. After evaporation  
20 of the excess POCl<sub>3</sub>, the residue was poured onto ice and the resulting mixture was  
extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> solution was passed through a silica gel pad, and  
the resulting filtrate was concentrated to provide the pure 4,6-dichloro-5-fluoro-2-  
(fluoromethyl)pyrimidine (6 g, 81%) as a colorless liquid. LCMS:  $(M+H)^+$ : not detected.

**Intermediate I****4,6-Dichloro-2-(difluoromethyl)-5-fluoropyrimidine****Part A****5      2,2-Difluoroethanimidamide.HCl**

To a stirred suspension of ammonium chloride (5.1 g, 95 mmol) in toluene (150 mL) at 0 °C was added trimethyl aluminum (46 mL, 2M, 92 mmol), stirring until effervescence ceased. Methyl difluoroacetate (2.38 mL, 27 mmol) was added, and the resulting mixture was stirred overnight at 80 °C. Upon cooling to 0 °C, methanol was added slowly and the resulting solution was stirred for 90 minutes at reduced temperature, causing a solid to form. This was removed by filtration through Celite, and the filtrate was evaporated to yield 2,2-difluoroethanimidamide.HCl (1.7 g, 48 5%) as a yellow tinged solid.

**15      Part B****2-(Difluoromethyl)-5-fluoro-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone**

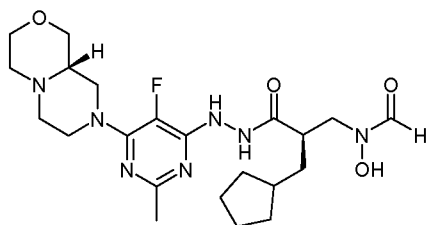
Sodium metal (0.91 g, 40 mmol) was dissolved in MeOH (100 mL) to form sodium methoxide. 2,2-Difluoroethanimidamide.HCl (1.73 g, 13 mmol) was added followed by dimethyl fluoropropanedioate (2.0 g, 13 mmol). The resulting solution was stirred at 80 °C for 3 hours, then cooled to room temperature. Aqueous HCl (6 mL, 6M, 36 mmol) was added and the resulting mixture was concentrated *in vacuo*. The remaining solid was washed with cold water and filtered yielding 2-(difluoromethyl)-5-fluoro-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone (1.43 g, 61%)

**25      Part C****4,6-Dichloro-2-(difluoromethyl)-5-fluoropyrimidine**

A mixture of 2-(difluoromethyl)-5-fluoro-6-hydroxy-4(1H)-pyrimidinone (1.43 g, 8.0 mmol) and POCl<sub>3</sub> (6 mL) was heated at 110 °C for 2.5 hours. After cooling to room temperature, the reaction mixture was poured over ice and stirred for 30 min. The product was extracted into DCM and the combined organics were washed once with aqueous saturated sodium bicarbonate. The combined organics were dried over sodium sulfate and concentrated *in vacuo*. This yielded 4,6-dichloro-2-(difluoromethyl)-5-fluoropyrimidine (460 mg, 27%) as a yellow oil.

**Compound Examples****Example 1**

5 [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-  
c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]  
hydroxyformamide

**Part A:**

10 ***N*-(Phenylmethyl)-D-serine**

As per the procedures of WO2005058245, a mixture of D-serine methyl ester hydrochloride (98.84 g, 635.3 mmol) in MeOH (280 mL) was cooled to 10 °C. To the mixture was slowly added triethylamine (88.5 mL, 635.0 mmol). The mixture was warmed to room temperature and the resulting solution was cooled to 10 °C. To the solution was added benzaldehyde (64 mL, 630.2 mmol), and the solution was stirred for 30 min. To the solution was added sodium borohydride (24.03 g, 635.2 mmol) portionwise over 30 min, and the mixture was stirred for a further 30 min. In a separate flask, MeOH (114 mL) was added to water (170 mL), and to this solution was added a solution of NaOH (77.25 g, 1931 mmol) in water (155 mL). The solution was cooled to 15 °C, and the reductive amination mixture was slowly added to the NaOH – water – MeOH solution over 15 min. The solution was stirred and warmed to room temperature over 30 min, and water (170 mL) was added, followed by sufficient 6 N aqueous HCl to adjust the pH to 9.5. The solution was washed with EtOAc (2 x 60 mL), and sufficient 6 N aqueous HCl was added to adjust the pH to 6.5. The mixture was cooled to 0 °C and held overnight. The resulting solid was collected by vacuum filtration and washed with water (2 x 200 mL) followed by heptane (2 x 200 mL). The white solid was dried at 40 °C under high vacuum for 3 days to afford *N*-(phenylmethyl)-D-serine (79.51 g, 64%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 196.1.

30 **Part B:**

**(3*R*)-5-Oxo-4-(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxylic acid**

As per the procedures of WO2005058245, a solution of *N*-(phenylmethyl)-D-serine (79.51 g, 407.3 mmol) in THF (485 mL) was cooled to 0 °C, and a precooled 0

°C solution of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (168.87 g, 1222 mmol) in water (485 mL) was added. To the well-stirred mixture was added chloroacetyl chloride (45.4 mL, 570.0 mmol) slowly while keeping the internal temperature below 5 °C. The mixture was vigorously stirred at 0 °C for 30 min, and then an additional portion of chloroacetyl chloride (4.54 mL, 57.0 mmol) was slowly added. The mixture was stirred for an additional 30 min at 0 °C. To the mixture was added a sufficient quantity of precooled 0 °C aqueous NaOH (50% w/w) to adjust the pH > 13.5 while keeping the internal temperature between 5 °C and 10 °C. The mixture was stirred at 0 °C for 2 h, and then warmed to 20 °C. The mixture was washed with heptane (165 mL) followed by a second portion of fresh heptane (240 mL). The aqueous phase was cooled to 0 °C, and adjusted to pH < 2 with concentrated aqueous HCl while keeping the internal temperature less than 10 °C. The mixture was placed in a 0 °C freezer overnight, and the solid was collected by vacuum filtration. The solid was washed with water (2 x 300 mL) and dried in vacuo at 42 °C overnight. The resulting (3*R*)-5-oxo-4-(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxylic acid (72.20 g, 75%) was isolated as a white solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 236.1.

#### Part C:

##### **(3*R*)-5-Oxo-*N*,4-bis(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxamide**

A mixture of (3*R*)-5-oxo-4-(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxylic acid (69.67 g, 296.2 mmol) and 1-hydroxybenzotriazole (48.01 g, 355.4 mmol) in DCM (990 mL) was cooled to 0 °C. To the mixture was added 4-methylmorpholine (163 mL, 1483 mmol), benzyl amine (35.6 mL, 325.9 mmol), and EDC (62.46 g, 325.8 mmol). The yellow solution was stirred overnight at room temperature, and was then washed with water (500 mL), 6 N aqueous HCl (300 mL), and water (200 mL). The organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo* to give crude (3*R*)-5-oxo-*N*,4-bis(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxamide (97.05 g, >100% crude yield) as a yellow foam. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 325.2.

#### Part D:

##### **1-Phenyl-*N*-{[(3*S*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}methanamine**

To a 0 °C solution of (3*R*)-5-oxo-*N*,4-bis(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxamide (assumed 96.07 g, 296.2 mmol) in PhMe (750 mL) was added Red-Al (65% w/w in PhMe, 645 mL) via addition funnel. After approximately 50 mL of Re-Al had been added, the resulting mixture was warmed to room temperature, and the remainder of the Red-Al was then added over 30 min. The mixture was then heated at 50 °C and stirred overnight. The solution was cooled to 0 °C, and the reaction was

quenched by the slow dropwise addition of 1 N aqueous NaOH (50 mL). An additional portion of 1 N aqueous NaOH (500 mL) was then added, followed by Et<sub>2</sub>O (200 mL). The phases were separated, and the organic phase was washed with fresh 1 N aqueous NaOH (400 mL). The combined aqueous phase was extracted with fresh 4:1 PhMe – Et<sub>2</sub>O (250 mL), and the combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo* to give 1-phenyl-*N*-{[(3*S*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}methanamine as a yellow oil that was used without further purification. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 297.1.

Part E:

**Ethyl oxo((phenylmethyl){[(3*S*)-4-(phenylmethyl)-3 morpholinyl]methyl}amino)acetate**

A solution of 1-phenyl-*N*-{[(3*S*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}methanamine (assumed 87.79 g, 296.2 mmol) and *N,N*-diisopropylethylamine (67.1 mL, 385.2 mmol) in THF (1000 mL) was cooled to 0 °C. To the solution was added ethyl chloro(oxo)acetate (36.3 mL, 326.2 mmol) dropwise via addition funnel. The resulting mixture was allowed to stir and warm to room temperature for 1 h. The solvent was then removed *in vacuo* to approximately 20% volume, and the residue was partitioned between EtOAc (600 mL), water (100 mL) and sat. aqueous NaHCO<sub>3</sub> (500 mL). The aqueous phase was extracted with a fresh portion of EtOAc (200 mL), and the combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was then azeotroped with EtOH (100 mL) to provide ethyl oxo((phenylmethyl){[(3*S*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}amino)acetate as a yellow oil that was used without further purification. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 397.2.

Part F:

**(9*aS*)-8-(Phenylmethyl)hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine-6,7-dione**

To a solution of ethyl oxo((phenylmethyl){[(3*S*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}amino)acetate (assumed 117.43 g, 296.2 mmol) in EtOH (1000 mL) was added 10% Pd/C (23 g). The resulting mixture was hydrogenated under balloon pressure for 5 days, and then filtered through a glass fiber filter with EtOH washes. The solution was then concentrated *in vacuo* and crystallized from EtOH – EtOAc to give approximately 15 g of a white solid. The Pd/C filter cake was then slurried with MeOH (600 mL), and the mixture was filtered through a glass fiber filter with MeOH washes. The solution was then concentrated *in vacuo* and crystallized from EtOH – EtOAc to give a white

solid that was combined with the initial batch of solid. The combined mother liquors were then concentrated *in vacuo* and crystallized from EtOH – EtOAc to give a white solid that was combined with the first two batches of solid to afford (9aS)-8-(phenylmethyl)hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine-6,7-dione (39.97 g, 52% yield for 4  
5 steps). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 261.1.

Part G:

**(9aS)-8-(Phenylmethyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine**

To a 0 °C mixture of two combined batches of (9aS)-8-(phenylmethyl)  
10 hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine-6,7-dione (combined total 42.29 g, 162.5 mmol) in Et<sub>2</sub>O (406 mL) was added 1 M LiAlH<sub>4</sub> in Et<sub>2</sub>O (406 mL, 406 mmol) via dropping funnel over 40 min. The mixture was then warmed to 35 °C and stirred for 6 days. The mixture was then cooled to 0 °C, and EtOAc (100 mL) was slowly added, followed by water (20 mL), 15% aqueous NaOH (20 mL), and water (60 mL). The mixture was  
15 vigorously stirred for 1 h, and then diluted with EtOAc (500 mL). The mixture was filtered, and the filter cake was diluted with 1 N aqueous NaOH (500 mL) and extracted with Et<sub>2</sub>O (2 x 200 mL). The combined organic phase (filtrate and Et<sub>2</sub>O extractions) was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, concentrated *in vacuo*, azeotroped with MeOH (100 mL), and dried overnight under high vacuum. The resulting colorless oil was  
20 combined with a second batch of product prepared in the same fashion from (9aS)-8-(phenylmethyl)hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine-6,7-dione (0.3047 g, 1.1 mmol) to give crude (9aS)-8-(phenylmethyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine (combined total 38.59 g, >100% crude yield). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 233.1.

Part H:

25 **(9aS)-Octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine dihydrochloride**

To a solution of (9aS)-8-(phenylmethyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine (assumed 38.02 g, 163.6 mmol) in MeOH (330 mL) was added 6 N aqueous HCl (55 mL, 330 mmol) and 10% Pd/C (3.80 g). The mixture was hydrogenated overnight, and then filtered through a glass fiber filter. The filter cake was washed with MeOH, and the  
30 combined solution was concentrated *in vacuo* and azeotroped with MeOH (4 x 150 mL) to provide (9aS)-octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine dihydrochloride (34.78 g, 99% yield for 2 steps) as a red oil that solidified under high vacuum. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 142.9.

Part I:**(9aS)-8-(6-Chloro-5-fluoro-2-methyl-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine**

To a mixture of (9aS)-octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine dihydrochloride (23.28 g, 108.2 mmol) in DCM (360 mL) was added 4,6-dichloro-5-fluoro-2-methylpyrimidine (19.59 g, 108.2 mmol) and N,N-diisopropylethylamine (68 mL, 390.4 mmol). The mixture was stirred for 2 h, and the resulting solution was diluted with DCM (100 mL) and washed with saturated aq. NaHCO<sub>3</sub> (200 mL). The aqueous phase was extracted with a fresh portion of DCM (100 mL), and this organic phase was washed with saturated aq. NaHCO<sub>3</sub> (50 mL). The combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo* to give (9aS)-8-(6-chloro-5-fluoro-2-methyl-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine as a light yellow oil that was used without further purification. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 287.1.

Part J:**(9aS)-8-(5-Fluoro-6-hydrazino-2-methyl-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine**

To a solution of (9aS)-8-(6-chloro-5-fluoro-2-methyl-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine (assumed 31.03 g, 108.2 mmol) in dioxane (430 mL) was added hydrazine monohydrate (31 mL). The mixture was heated and stirred at 80 °C overnight, and then at 85 °C for 7 h. The mixture was cooled to room temperature and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in DCM (500 mL) and washed with saturated aq. NaHCO<sub>3</sub> (200 mL). The aqueous phase was extracted with a fresh portion of DCM (100 mL), and this organic phase was washed with saturated aq. NaHCO<sub>3</sub> (100 mL). The combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, concentrated *in vacuo*, and dried under high vacuum overnight to provide (9aS)-8-(5-fluoro-6-hydrazino-2-methyl-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine (27.98 g, 92% yield for 2 steps) as a light yellow solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 283.3.

Part K:**[(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide**

To a solution of (2R)-3-cyclopentyl-2-({formyl[(phenylmethyl)oxy] amino}methyl)propanoic acid, N,N-diisopropylethylamine salt, isopropanol solvate (33.64 g,



68.0 mmol) in DMF (230 mL) was added (9aS)-8-(5-fluoro-6-hydrazino-2-methyl-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazine (20.16 g, 71.4 mmol), N-methylmorpholine (30 mL, 273 mmol), 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (11.10 g, 81.6 mmol), and EDC (15.64 g, 81.6 mmol). The solution was stirred overnight and then  
5 diluted with Et<sub>2</sub>O (500 mL). The mixture was washed with water (2 x 200 mL), and the combined aqueous phase was extracted with a fresh portion of Et<sub>2</sub>O (100 mL). This Et<sub>2</sub>O phase was then washed with water (50 mL). This extraction – wash procedure was repeated 6 times, and the total combined organic phase was then diluted with DCM (250 mL). The organic phase was then dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and  
10 concentrated *in vacuo* to give crude [(2*R*)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide (42.32 g, > 100% crude yield) as a light yellow foam. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 570.3.

15        Part L:

**[(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide**

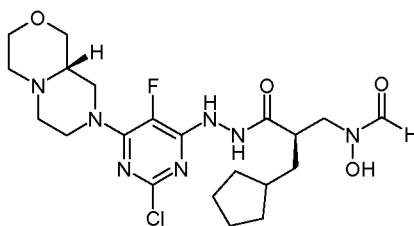
20        To a solution of [(2*R*)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide (assumed 38.74 g, 68.0 mmol) in methanol (225 mL) was added 10% Pd/C (5.81 g). The mixture was hydrogenated under balloon pressure for 4 h, and was then filtered through a glass fiber filter with MeOH washes.  
25        The resulting solution was concentrated *in vacuo* to approximately 10% volume, diluted with EtOAc (400 mL), and concentrated *in vacuo* to approximately 30% volume. The resulting solid was collected by vacuum filtration and washed with EtOAc. The mother liquor and EtOAc washings were concentrated *in vacuo* to approximately 10% volume, and the resulting solid was collected by vacuum filtration and washed with EtOAc. The  
30        two crops of solid were combined and dried at 50 °C for 16 h under high vacuum to afford [(2*R*)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (25.48 g, 78% yield for 2 steps) as a white solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 480.1.

**Alternative Procedure**

To a solution of crude [(2*R*)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide (assumed 39.73 g, 69.74 mmol) in MeOH (350 mL) was added 10% Pd/C (50% water, 7.9 g). The suspension was hydrogenated under balloon pressure for 3 h, and was then filtered through two glass fiber filters with MeOH washings. The resulting solution was concentrated in vacuo to a volume of approximately 70 mL, and was then diluted with EtOAc (500 mL). The solution was concentrated in vacuo to remove approximately 100 mL of solvent. The resulting solid was collected by vacuum filtration, and washed well with EtOAc followed by hexanes. The mother liquor was concentrated in vacuo, and then diluted with EtOAc (200 mL). The mixture was concentrated in vacuo to approximately 50% volume, and the resulting solid was collected by vacuum filtration and washed well with EtOAc followed by hexanes. The two batches of solid were combined and placed under high vacuum overnight. To this material was then added approximately 466 mg of material prepared through a similar sequence, and the combined batch was heated at 50 °C under high vacuum overnight to afford [(2*R*)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (28.27 g, 83% yield for 2 steps). LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>: 480.3. The resulting solid was analytically characterized and found to be polymorphic form, Form 1.

**Example 2**

[(2*R*)-3-(2-{2-Chloro-5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl]hydroxyformamide

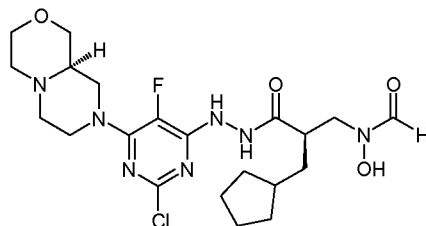


[(2*R*)-3-(2-{2-Chloro-5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl]hydroxyformamide was prepared according to General Procedure E, utilizing (9*a*S)-octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine dihydrochloride (which may be prepared as described in Example 24, Parts A-H) in place of isopropyl amine in Part A, utilizing 2N HCl in ether in Part B,

performing an extractive (ether/water) workup rather than HPLC purification in Part C, and purifying the final product in Part D by recrystallization from EtOAc/ether rather than HPLC. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 501.0.

### 5 **Example 3**

**[(2R)-3-(2-{2-Chloro-5-fluoro-6-[(9aR)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl]hydroxyformamide**



#### Part A:

##### **(3S)-5-Oxo-4-(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxylic acid**

To a 0 °C solution of N-benzylserine (19.15 g, 105.7 mmol) in 2 N aq. NaOH (100 mL) was added chloroacetyl chloride (10.2 mL, 126.4 mmol) dropwise, and the solution was stirred for 45 min. To the solution was added 30% aq. NaOH (40 mL) dropwise, and the reaction was stirred for 1 h, and then stirred and warmed to room temperature for 72 h. The reaction was adjusted to pH 1 and extracted with three portions of EtOAc. The combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was washed with EtOAc/hexane to give (3S)-5-oxo-4-(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxylic acid (4.61 g, 19% yield).

#### Part B:

##### **(3S)-5-Oxo-N,4-bis(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxamide**

To a solution of (3S)-5-oxo-4-(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxylic acid (4.611 g, 19.60 mmol) in DCM (65 mL) was added benzylamine (2.6 mL, 23.80 mmol), N-methylmorpholine (11 mL, 100.0 mmol), 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (3.20 g, 23.51 mmol), and EDC (4.51 g, 23.53 mmol). The solution was stirred overnight and then diluted with DCM (100 mL). The solution was washed with 6 N aq. HCl (2 x 100 mL), and the organic phase was dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo* to provide crude (3S)-5-oxo-N,4-bis(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxamide (6.454 g, >100% crude yield) as a pale yellow foam. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 325.2.

Part C:**1-Phenyl-*N*-{[(3*R*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}methanamine**

To a solution of (3*S*)-5-oxo-*N*,4-bis(phenylmethyl)-3-morpholinecarboxamide (6.3109 g, 19.45 mmol) in 1,2-dimethoxyethane (100 mL) was added LiAlH<sub>4</sub> (2.6 g, 68.51 mmol). The mixture was heated at 100 °C and stirred for 6 h, and then cooled to 60 °C and stirred overnight. The mixture was cooled to 0 °C and quenched by slow addition of 1 N aq. NaOH (100 mL). The mixture was extracted with Et<sub>2</sub>O (2 x 150 mL), and the combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by gradient silica gel chromatography (1% to 5% MeOH in DCM) to give 1-phenyl-*N*-{[(3*R*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}methanamine (3.8342 g, 66%) as a light yellow oil. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 297.1.

Part D:**Methyl oxo((phenylmethyl){[(3*R*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}amino)acetate**

To a solution of 1-phenyl-*N*-{[(3*R*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}methanamine (3.3777 g, 11.40 mmol) in THF (114 mL) was added *N,N*-diisopropylethylamine (3 mL, 17.22 mmol). To the solution was added methyl chloro(oxo)acetate (1.15 mL, 12.50 mmol) dropwise via syringe, and the mixture was stirred for 3 h. The solvent was removed *in vacuo*, and the residue was dissolved in EtOAc (200 mL) and washed with sat. aq. NaHCO<sub>3</sub> followed by water. The organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo* to afford crude methyl oxo((phenylmethyl){[(3*R*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}amino)acetate (4.6881 g, >100% crude yield) as a yellow oil. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 383.1.

Part E:**(9*aR*)-8-(Phenylmethyl)hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine-6,7-dione**

To a solution of crude methyl oxo((phenylmethyl){[(3*R*)-4-(phenylmethyl)-3-morpholinyl]methyl}amino)acetate (assumed 4.3583 g, 11.40 mmol) in MeOH (114 mL) was added 10% Pd/C (50% water, 870 mg). The mixture was hydrogenated under balloon pressure for 16 h, and then filtered through a 0.2 μm membrane. The solution was concentrated *in vacuo*, and the residue was triturated with 20% EtOAc – hexanes. The resulting solid was collected by vacuum filtration and washed with hexanes to

provide (9a*R*)-8-(phenylmethyl)hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine-6,7-dione (2.5610 g, 86% for 2 steps) as a light yellow solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 261.1.

Part F:

5      **(9a*R*)-8-(Phenylmethyl)octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine**

To a 0 °C solution of (9a*R*)-8-(phenylmethyl)hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine-6,7-dione (2.5610 g, 9.84 mmol) in THF (100 mL) was added LiAlH<sub>4</sub> (1.12 g, 29.51 mmol) portionwise. The mixture was heated at 70 °C and stirred for 1 week. The mixture was then cooled to 0 °C and quenched by addition of Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> · 10 H<sub>2</sub>O (2 g) followed by 1 N aq. NaOH (100 mL). The mixture was extracted with Et<sub>2</sub>O (2 x 150 mL), and the combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in DCM (200 mL), dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by gradient silica gel chromatography (0% to 100% EtOAc in hexanes; 1% Et<sub>3</sub>N) to give  
10 (9a*R*)-8-(phenylmethyl)octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine (1.8147 g, 79%) as a  
15 colorless oil. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 233.1.

Part G:

**(9a*R*)-Octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine dihydrochloride**

20 To a solution of (9a*R*)-8-(phenylmethyl)octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine (1.8055 g, 7.77 mmol) in MeOH (80 mL) was added 1 N aq. HCl (15.5 mL, 15.5 mmol) and 10% Pd/C (50% water, 360 mg). The mixture was hydrogenated under balloon pressure overnight, and was then filtered through a 0.2 μm PTFE membrane. The solution was concentrated *in vacuo* and the residue was azeotroped with MeOH (3 x 50  
25 mL) to provide crude (9a*R*)-octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine dihydrochloride (1.7185 g, >100% crude yield) as an orange solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 142.9.

Part H:

30      **Tris(1,1-dimethylethyl) 2-{2-chloro-5-fluoro-6-[(9a*R*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}-1,1,2-hydrazinetricarboxylate**

To a solution of crude (9a*R*)-octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine dihydrochloride (1.7185 g, 7.99 mmol) in DMF (40 mL) was added tris(1,1-dimethylethyl) 2-(2,6-dichloro-5-fluoro-4-pyrimidinyl)-1,1,2-hydrazinetricarboxylate (3.97  
35 g, 7.98 mmol) and N,N-diisopropylethylamine (4.60 mL, 26.41 mmol). The solution was stirred overnight and then diluted with Et<sub>2</sub>O (200 mL). The mixture was washed with

water (2 x 100 mL), and the combined aqueous phase was extracted with a fresh portion of Et<sub>2</sub>O (100 mL). The combined organic phase was washed with a fresh portion of water (50 mL), and then dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The mixture was filtered, concentrated *in vacuo*, and the residue was dissolved in DCM (200 mL) and dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The mixture was filtered, and the solution was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by gradient silica gel chromatography (0% to 100% EtOAc in hexanes; 1 % Et<sub>3</sub>N) to afford tris(1,1-dimethylethyl) 2-{2-chloro-5-fluoro-6-[(9a*R*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}-1,1,2-hydrazinetricarboxylate (4.34 g, 90%) as a white foam. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 603.3.

Part I:

**(9a*R*)-8-(2-Chloro-5-fluoro-6-hydrazino-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine**

To a solution of tris(1,1-dimethylethyl) 2-{2-chloro-5-fluoro-6-[(9a*R*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}-1,1,2-hydrazinetricarboxylate (4.34 g, 7.20 mmol) in MeOH (18 mL) was added 4 N HCl in dioxane (18 mL, 72 mmol). The solution was stirred for 3 days, and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in water (50 mL) and the solution was adjusted to pH 10 with 20% aq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. The mixture was extracted with DCM (2 x 100 mL), and the combined organic phase was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated *in vacuo* to give (9a*R*)-8-(2-chloro-5-fluoro-6-hydrazino-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine (1.41 g, 65%) as an orange solid. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 303.1.

Part J:

**[(2*R*)-3-(2-{2-Chloro-5-fluoro-6-[(9a*R*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide**

To a solution of (9a*R*)-8-(2-chloro-5-fluoro-6-hydrazino-4-pyrimidinyl)octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine (1.41 g, 4.66 mmol) in DMF (45 mL) was added (2*R*)-3-cyclopentyl-2-({formyl[(phenylmethyl)oxy]amino}methyl)propanoic acid (1.36 g, 4.45 mmol), N-methylmorpholine (2.45 mL, 22.3 mmol), 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (0.730 g, 5.364 mmol), and EDC (1.02 g, 5.32 mmol). The solution was stirred overnight and was then diluted with Et<sub>2</sub>O (200 mL). The mixture was washed with water (2 x 100 mL), and the combined aqueous phase was extracted with a fresh portion of Et<sub>2</sub>O (100 mL). This Et<sub>2</sub>O layer was washed with a fresh portion of water (50 mL), and the combined

organic phase was dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in DCM (200 mL), dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was azeotroped with MeOH (50 mL) to give [(2*R*)-3-(2-{2-chloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide (2.4027 g, 91% crude yield) as a red/orange oil. LCMS:  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 590.2.

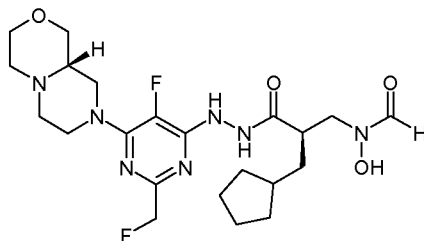
#### Part K:

#### [(2*R*)-3-(2-{2-Chloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl]hydroxyformamide

To a solution of [(2*R*)-3-(2-{2-chloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl][(phenylmethyl)oxy]formamide (2.3947 g, 4.058 mmol) in MeOH (40 mL) was added 20%  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  (50% water, 240 mg). The mixture was hydrogenated under balloon pressure for 2.5 h, and then filtered through a 0.2  $\mu\text{m}$  membrane. The solution was concentrated *in vacuo*, and the residue was purified by Gilson RPLC (10% MeCN in water to 65% MeCN in water; 8 min gradient). The desired fractions were combined, and the MeCN was removed *in vacuo*. The resulting mixture was extracted with EtOAc (2 x 150 mL), and the combined organic phase was dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was then crystallized from EtOAc – hexanes to provide [(2*R*)-3-(2-{2-chloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-2-(cyclopentylmethyl)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (1.2759 g, 63%) as a pale pink solid. LCMS:  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 500.1.

#### Example 4

#### [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-2-(fluoromethyl)-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide



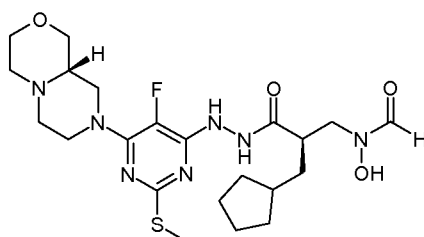
[(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-2-(fluoromethyl)-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-

oxopropyl]hydroxyformamide was prepared according to General Procedure A, utilizing (9a*S*)-octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine dihydrochloride (Example 22) in place of pyrrolidine, using 4,6-dichloro-5-fluoro-2-(fluoromethyl)pyrimidine in place of 4,6-dichloro-5-fluoro-2-methylpyrimidine, and using 3 equivalents of DIPEA in Part A.

LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 498.3.

### Example 5

**((2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-{2-[5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-(methylthio)-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide**



((2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-{2-[5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-(methylthio)-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-

oxopropyl]hydroxyformamide was prepared according to General Procedure C, utilizing (9a*S*)-octahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazine dihydrochloride (Example 22) in place of azetidine hydrochloride in Part A. LCMS: (M+H)<sup>+</sup> 512.2.

### Example 6

**(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino [2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl] hydroxyl form amide methanesulphonate Form 1.**

Crystalline [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydro pyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (500 mg) was dissolved in tetrahydrofuran (THF, 5 mL). Ethyl acetate (20 mL) was added to the solution. Separately, a solution of methanesulphonic acid (100 mg) in ethyl acetate (10 mL) was prepared. The methanesulfonic acid solution was added dropwise over a few minutes to the solution of freebase in tetrahydrofuran and ethyl acetate. A precipitate was formed. The slurry was stirred with low heat (40°C to 50°C) for several hours. The precipitate's crystallinity was verified by polarized light microscopy. The precipitate and supernatant were separated by filtration. The solids were washed with ethyl acetate. The solids were then vacuum dried. The resulting solid was analytically characterized and found to be Form 1 of the



methanesulphonate salt of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide by NMR (Figures 1 and 2, Tables 1 and 2) and XRPD (Figure 3 and Table 3).

**Proton (<sup>1</sup>H) and Carbon (<sup>13</sup>C) Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

The 400 MHz <sup>1</sup>H NMR spectrum and the 101 MHz <sup>13</sup>C NMR spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate in DMSO-*d*<sub>6</sub> (33.3 mg/mL at 25°C) are presented in Figure 1 and Figure 2, respectively. Interpretations of the spectra are given in Table 1 and Table 2, respectively with the numbering sequence shown in the structure below. The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra are concordant with the proposed structure.

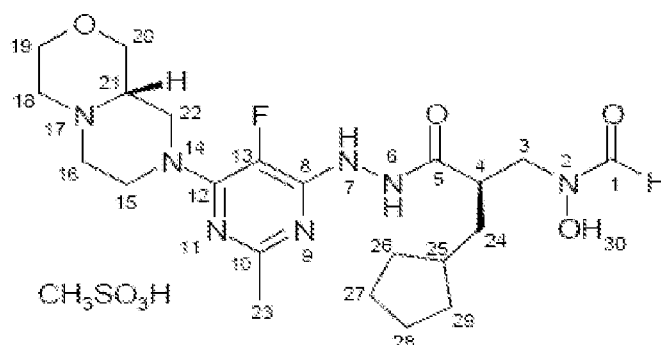


**Table 1: Interpretation of the  $^1\text{H}$  NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in  $\text{DMSO-d}_6$**

| Chemical Shift ( $\delta$ ) <sup>a</sup> | Multiplicity | No. of H Atoms | Assignment                           |
|------------------------------------------|--------------|----------------|--------------------------------------|
| 1.02 – 1.10                              | m (each)     | 2              | 26a/29a, 26'a/29'a                   |
| 1.19 – 1.28                              | m (each)     | 1              | 24a and 24'a                         |
| 1.47 – 1.71                              | overlapped   | 6              | 27a/28a, 27b/28b, 24b, 24'b, 26b/29b |
| 1.91 – 2.00                              | overlapped   | 2              | 25, 25', 26'b/29'b                   |
| 2.23                                     | s            | 1.5 (rotamer)  | 23'                                  |
| 2.26                                     | s            | 1.5 (rotamer)  | 23                                   |
| 2.38                                     | s            | 3 (counterion) | Mesylate                             |
| 2.68 – 2.82                              | m (each)     | 1              | 4 and 4'                             |
| 3.00                                     | t            | 1              | 22a                                  |
| 3.24 – 3.57                              | overlapped   | 8.5 (rotamer)  | 15a, 3'a, 3, 16, 18, 21, 20a         |
| 3.72 – 3.80                              | m (each)     | 1.5 (rotamer)  | 3'b, 19a                             |
| 4.00 – 4.08                              | m (each)     | 2              | 19b, 20b                             |
| 4.30                                     | d            | 1              | 22b                                  |
| 4.38                                     | d            | 1              | 15b                                  |
| 7.67                                     | s            | 0.5 (rotamer)  | 1                                    |
| 8.31                                     | s            | 0.5 (rotamer)  | 1'                                   |
| 9.02                                     | s            | 0.5 (rotamer)  | 7                                    |
| 9.05                                     | s            | 0.5 (rotamer)  | 7'                                   |
| 9.92                                     | s            | 0.5 (rotamer)  | 6                                    |
| 9.96                                     | s            | 0.5 (rotamer)  | 6'                                   |
| 10.32                                    | br           | 2              | Exchangeable**                       |

5

**Table 2: Interpretation of the  $^{13}\text{C}$  NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in  $\text{DMSO-d}_6$**

| Chemical Shift ( $\delta$ ) <sup>a</sup> | Coupling Constant/<br>$J_{13\text{C}-1\text{H}}$ (Hz) | Assignment | Chemical Shift ( $\delta$ ) <sup>a</sup> | Coupling Constant/<br>$J_{13\text{C}-1\text{H}}$ (Hz) | Assignment |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------|
| 24.7                                     | —                                                     | 27/28      | 51.7                                     | —                                                     | 18         |
| 24.9                                     | —                                                     | 23         | 52.0                                     | —                                                     | 3          |
| 31.6                                     | —                                                     | 26'/29'    | 60.1                                     | —                                                     | 21         |
| 32.9                                     | —                                                     | 26/29      | 63.7                                     | —                                                     | 19         |
| 35.5                                     | —                                                     | 24'        | 65.2                                     | —                                                     | 20         |
| 35.8                                     | —                                                     | 24         | 130.3                                    | 248 (d)                                               | 13'        |
| 36.9                                     | —                                                     | 25         | 130.4                                    | 248 (d)                                               | 13         |
| 37.0                                     | —                                                     | 25'        | 148.2                                    | —                                                     | 12         |
| 39.8                                     | —                                                     | Mesylate   | 152.5                                    | 10 (d)                                                | 8          |
| 41.2                                     | —                                                     | 4          | 157.4                                    | —                                                     | 1          |
| 43.4                                     | br                                                    | 15         | 160.1                                    | m                                                     | 10 and 10' |
| 43.8                                     | br                                                    | 22         | 162.0                                    | —                                                     | 1'         |
| 48.9                                     | —                                                     | 3'         | 172.7                                    | —                                                     | 5          |
| 51.4                                     | —                                                     | 16         | 172.8                                    | —                                                     | 5'         |

10

**X-Ray Powder Diffraction of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

5 The XRPD pattern for polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate is presented in Figure 3.

10 The peak list (Table 3) was produced by taking the 1<sup>st</sup> four diffraction peaks followed by the six most intense peaks from the remaining peak list that were clearly defined peaks and not peak shoulders. The X-ray diffraction data was collected with copper K alpha radiation which is composed of K alpha 1 and K alpha 2. Each diffraction peak was profile fitted and the results for the K alpha 1 component are reported. The estimated uncertainty in peak position is +/- 0.3 deg 2theta.

15 The peak list of 10 can vary somewhat with repeated measurements due to preferred orientation causing variation in the relative intensity of the peaks.

**Table 3: XRPD Peak Positions for Polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate based on copper K-alpha 1 radiation**

| 2θ Peak Position ± 0.3 (2θ) |
|-----------------------------|
| 5.3                         |
| 9.7                         |
| 10.8                        |
| 11.4                        |
| 13.5                        |
| 14.9                        |
| 17.8                        |
| 18.9                        |
| 21.2                        |
| 22.1                        |

**Infrared spectrum**

25 The attenuated total reflectance (ATR) infrared spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 is presented in Figure 4. The interpretation of the infrared spectrum is given in Table 4. The absorption characteristics are concordant with the  
30 proposed structure.

**Table 4: Interpretation of the ATR Infrared Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

5

| Peak Wavenumber<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Assignment                                               |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 3204                                   | N-H Stretch (hydrazide) and<br>O-H Stretch (hydroxamide) |
| 2947, 2865                             | C-H Stretch (aliphatic)                                  |
| 2453                                   | N-H Stretch (quarternary<br>amine)                       |
| 1657, 1670                             | C=O Stretch                                              |
| 1606                                   | C=C Stretch (pyrimidine)                                 |
| 1583                                   | Amide II (hydrazide) and<br>C=C Stretch (pyrimidine)     |
| 1225                                   | C-F Stretch                                              |
| 1174, 1151, 1130, 1112                 | C-N Stretch                                              |

### **Thermal Analysis**

Based on differential scanning calorimetry (DSC) seen in Figure 5 and thermogravimetric analysis (TGA) seen in Figure 6, polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate decomposes at ca. 180 °C under nitrogen.

### **Dissolution Rate and Solubility**

[(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide was triturated with a mortar and pestle. The resulting powder (20 g, 1.0 eq, basis) was charged to a 250 mL jacketed vessel. The vessel was equipped with an overhead stirrer which was set to 60 RPM. The jacket fluid was controlled to 23°C. A solution of purified water (125 mL) and methanesulphonic acid (4.0 g, 2.7 mL, 1.0 eq) was prepared. The aqueous methanesulphonic acid solution was added to the vessel containing [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide. The resulting suspension was stirred continuously and monitored by turbidity and visual inspection. After 1 day, the turbidity and pH readings stabilized. The suspension was observed for over 7.1 days and complete dissolution not observed.

[(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate was triturated with a mortar and pestle. The resulting powder (24 g, 1.0 eq) was charged to a similar 250 mL jacketed vessel. The vessel was equipped with an overhead stirrer which was set to 60 RPM. The jacket fluid was controlled to 23°C. Purified water (125 mL) was added to the vessel containing [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate. The resulting suspension was stirred continuously and monitored by turbidity and visual inspection. A clear solution was observed visually and confirmed turbidimetrically at 3 minutes.

[(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate exhibits faster dissolution and enhanced solubility when compared to the free base when subjected to one equivalent of methanesulphonic acid and water at a concentration of 160 mg/mL.

The pH solubility curve can be seen in Table 5 below.

**Table 5:** The pH Solubility Curve.

| Solvent                      | pH   | Solubility (mg/mL) | Input     |
|------------------------------|------|--------------------|-----------|
| 1M Methanesulphonic Acid     | 3.42 | 347*               | Free Base |
| 0.5M Methanesulphonic Acid   | 3.39 | 193*               | Free Base |
| 0.3M Methanesulphonic Acid   | 3.34 | 116*               | Free Base |
| 0.1M Methanesulphonic Acid   | 3.57 | 41.7               | Free Base |
| 0.05M Methanesulphonic Acid  | 3.76 | 22                 | Free Base |
| 0.03M Methanesulphonic Acid  | 3.98 | 13.9               | Free Base |
| 0.01M Methanesulphonic Acid  | 4.33 | 4.98               | Free Base |
| 0.003M Methanesulphonic Acid | 4.86 | 1.93               | Free Base |
| Purified Water               | 3.2  | >452**             | Mesylate  |

\*The solubility behaviour above ca. pH 3.5 is typical of a weak base. Below ca. pH 3.5, (2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c][1,4] oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl] hydroxyl form amide methanesulphonate appears to self-associate and the solubility of (2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl] hydroxyl form amide methanesulphonate Form 1 increases with no decrease in pH as more acid is added

\*\*Equilibrium not reached

### Novel Use

Due to the increased solubility and/or dissolution rate, [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-

yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 can be formulated to improve the following attributes when compared to a lyophilized product of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-

5 oxopropyl]hydroxyformamide:

- 1) drug load per vial from 400 mg to 1200 mg (free base equivalent), 2) degradation rate on processing, storage (degradation rate of 1.7%/month for free base versus 0.2%/month for mesylate at forced conditions: 50°C, ambient humidity), and reconstitution (see Table 6), 3) pH at a set dosing concentration on presentation to the patient from a range of 3.0 to 3.2 for the free base to a range of 3.8 to 4.0 for the mesylate, 4) a direct powder fill option for the final product.

Table 6: **Hydrolytic Degradation Rate of Reconstituted Lyophile at 5 mg/mL**

| API input | Storage Temperature | Degradation Rate |
|-----------|---------------------|------------------|
|           |                     | %hydrolyzed/day  |
| Free base | 5°C                 | 0.06             |
| Free base | 25°C                | 0.53             |
| Mesylate  | 5°C                 | 0.01             |
| Mesylate  | 25°C                | 0.11             |

### **Example 7**

**Polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate.**

1-propanol (600 mL) was added to crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (100 g). The resulting slurry was warmed to 60°C at a rate of 1.5 °C per minute. Methanesulfonic acid (13.54 mL) was added to the slurry. Complete dissolution was observed. The solution was filtered through filter paper. The dissolution vessel and filter paper was rinsed with 1-propanol (100 mL). The temperature of the solution was adjusted to 50°C and [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate seed (1.0 g) was added to induce crystallization. The resulting slurry was aged for 1 hour at 50°C then cooled to 20°C at 0.1°C per minute, then aged for 2 hours, and cooled to 0°C at 0.1°C/min. The slurry was aged for approximately 3 hours at 0°C. The resulting solids and supernatant were separated by filtration at 0°C.

The solids were rinsed with 1-propanol (100 mL). The solids were blown with nitrogen for 45 minutes. The solids were then vacuum dried at 50°C for approximately 40 minutes. The resulting solid was analytically characterized and found to be Form 1.

5 **<sup>13</sup>C Solid State Nuclear Magnetic Resonance (SSNMR) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form I**

10 The <sup>13</sup>C solid state Nuclear Magnetic Resonance (SSNMR) of crystalline anhydrate [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate polymorphic Form I is identified and characterized by the peak pattern substantially shown in Figure 12. The <sup>13</sup>C solid state nuclear magnetic  
15 resonance (SSNMR) spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 100.56 MHz for <sup>13</sup>C observation using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle spinning probe at a rotor frequency of 8 kHz

The <sup>13</sup>C SSNMR spectrum of Figure 12 is identified by characteristic chemical  
20 peak shifts at about 176.47±0.2, 162.53±0.2, 160.63±0.2, 152.70±0.2, 147.69±0.2, 131.27±0.2\* (i.e., \*131.27 and 128.75 ppm arise from a single carbon site split by the <sup>1</sup>J<sub>C-F</sub> coupling), 128.75±0.2\*, 64.86±0.2, 56.15±0.2, 54.77±0.2, 52.22±0.2, 45.94±0.2, 42.51±0.2, 42.03±0.2, 37.96±0.2, 36.66±0.2, 33.27±0.2, 31.67±0.2, 25.50±0.2, and 22.32±0.2 ppm.

25 **<sup>19</sup>F solid state nuclear magnetic resonance (SSNMR) spectrum of crystalline anhydrate [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form I**

30 <sup>19</sup>F solid state nuclear magnetic resonance (SSNMR) spectrum of crystalline anhydrate [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate polymorphic Form 1 is identified and characterized by the peak  
35 pattern substantially shown in Figure 13. The <sup>19</sup>F SSNMR spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 376.21 MHz for <sup>19</sup>F observation using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle spinning probe at a rotor frequency of 12.5 kHz. The <sup>19</sup>F SSNMR comprises an isotropic chemical shift at -166.32±0.2 ppm.

**Example 8**

**[(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide dimethanesulphonate.**

Crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (100 mg) was dissolved in ethyl acetate (10 mL).

Methanesulphonic acid (40.1 mg) in ethyl acetate (ca. 10 mL) was prepared. The methanesulphonic acid solution was added dropwise to the solution of freebase in ethyl acetate. A precipitate was formed. The slurry was stirred and aged overnight. The precipitate's crystallinity was verified by polarized light microscopy. The precipitate and supernatant were separated by filtration. The solids were then vacuum dried. The resulting solid was analytically characterized and found to be Form 1 of the dimethanesulphonate salt of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide by XRPD (see Figure 7).

**X-Ray Powder Diffraction of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate**

The XRPD pattern for polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate is presented in Figure 7. The X-ray powder diffractogram was collected with a diffraction system utilizing copper K $\alpha$  radiation, automated divergent slits, nickel K $\beta$  filter, and multiple strip detector. Sample presentation consisted of a thin powder layer mounted on a silicon zero background wafer.

**Thermal Analysis**

Based on differential scanning calorimetry (DSC) seen in Figure 8 and thermogravimetric analysis (TGA) seen in Figure 9, polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate decomposes at ca. 180 to 185 °C under nitrogen.



**Example 9**

**[(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide camphorsulfonate**

5

Crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (324.3 mg) was added to acetonitrile (MeCN, 3.2 mL). To the slurry, (7,7-dimethyl-2-oxo bicyclo[2.2.1]heptan-1-yl)methanesulfonic acid

10 (camphorsulfonic acid, 171.8 mg) was added. The solids dissolved. The solution was warmed to 40°C and aged for 2 hours then cooled to ambient temperature (ca. 23°C) and aged overnight. Solids were observed and isolated by filtration to yield [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate

15 (421.1 mg). The resulting solid was analytically characterized and found to be Form 1 of the camphorsulfonate salt of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide by NMR (see, Figure 19) and XRPD (see, Figure 10).

20 **<sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Data (<sup>1</sup>H NMR) for [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide camphorsulfonate**

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, referenced to TMS = 0.00 ppm, T = 25C, rotamers present

25 due to hindered rotation, major rotamers listed with integration rounded to nearest 1/2 units) δ ppm 10.6-9.0 (4H, several broad s), 8.30 (1/2 H, s), 7.87 (1/2 H, s), 4.40-4.28 (2H, several multiplet), 4.08-4.00 (2H, several m), 3.82-3.72 (3/2 H, several m), 3.56-3.23 (17/2 H, several m), 3.05-2.99 (1H, m), 2.92 (1H, d, J = 15 Hz), 2.82-2.61 (2H, several m), 2.44 (1H, d, J = 15 Hz), 2.28-2.21 (4H, several s and m), 2.00-1.79 (5H, several m), 1.72-1.47

30 (6H, several m), 1.36-1.20 (3H, several m), 1.10-1.00 (2H, several m), 1.04 (3H, s), 0.75 (3H, s) (see Figure 19).

**X-Ray Powder Diffraction**

The XRPD pattern for polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate is presented in

35 Figure 10. The X-ray powder diffractogram was collected with a diffraction system utilizing copper K $\alpha$  radiation, automated divergent slits, nickel K $\beta$  filter, and multiple strip

detector. Sample presentation consisted of a thin powder layer mounted on a silicon zero background wafer.

### **Thermal Analysis**

Based on differential scanning calorimetry (DSC) seen in Figure 11, polymorphic Form 1 of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate has an apparent melt onset of ca. 140 °C and decomposes at ca. 180 °C under nitrogen.

### **Example 10**

**Pharmaceutical Formulations of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 and Form 2**

#### **Example 10 A**

**Pharmaceutical Formulation of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

The pharmaceutical formulation was prepared by dissolving a target concentration of 120 mg/mL of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 and 50 mg/mL of anhydrous mannitol in a vessel containing purified water. The vessel contents were stirred to obtain a solution, brought to final volume with purified water, and stirred again to ensure complete mixing. The solution was passed through a 0.2 µm sterilizing filter. A known quantity of the solution was then filled into glass vials and the vials were partially stoppered with rubber lyophilization stoppers. The vials were then placed into a tray-type lyophilizer and freeze dried. The lyophilizer was backfilled with dry nitrogen to just below atmospheric pressure (approximately 650 Torr) and the vials were fully stoppered. The vials were unloaded from the lyophilizer and sealed.

**Example 10 B****Pharmaceutical Formulation of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2**

5

The pharmaceutical formulation was prepared by dissolving a target concentration of 120 mg/mL of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 and 50 mg/mL of anhydrous mannitol in a vessel containing purified water. The vessel contents were stirred to obtain a solution, brought to final volume with purified water, and stirred again to ensure complete mixing. The solution was passed through a 0.2 µm sterilizing filter. A known quantity of the solution was then filled into glass vials and the vials were partially stoppered with rubber lyophilization stoppers. The vials were then placed into a tray-type lyophilizer and freeze dried. The lyophilizer was backfilled with dry nitrogen to just below atmospheric pressure (approximately 650 Torr) and the vials were fully stoppered. The vials were unloaded from the lyophilizer and sealed.

**Example 11****[(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulfonate polymorphic Form 2**

Crystalline [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydro pyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxo propyl]hydroxyformamide (15 g) was added to 1-Propanol (nPrOH, 240 mL) and Isooctane (60 mL). To the slurry, methanesulfonic acid (2.992 g) diluted in nPrOH (15 ml) was added at 10°C. The solids dissolved.

The solution was warmed to 35°C and seeded with [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulfonate polymorphic Form 1. The batch was cooled to 10°C, resulting in concomitant nucleation of Form 2. The mixture of forms was heated to 35°C, and cooled to 10°C, and the solids were isolated by filtration to yield [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulfonate (14.32 g).

The resulting solid was analytically characterized and found to be Form 2 of the methansulfonate salt of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-

hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide by IR, NMR and XRPD (See, Figures 14 to 18).

### **Infrared spectrum**

The attenuated total reflectance (ATR) infrared spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 is presented in Figure 14 and the interpretation of the infrared spectrum is given in Table 7. The absorption characteristics are consistent and correspond with the proposed structure.

**Table 7: Interpretation of the ATR Infrared Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2**

| Peak Wavenumber<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Assignment                                        |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 3565, 3468, 2943                       | N-H Stretch (hydrazide)                           |
| 3201                                   | O-H Stretch (alcohol)                             |
| 2863                                   | C-H Stretch (aliphatic)                           |
| 2626                                   | N-H Stretch (quaternary amine)                    |
| 1699, 1653                             | C=O Stretch                                       |
| 1611                                   | C=C Stretch (pyrimidine)                          |
| 1577                                   | Amide II (hydrazide) and C=C Stretch (pyrimidine) |
| 1347, 1329                             | N-O Stretch                                       |
| 1154, 1034                             | C-F Stretch                                       |
| 766                                    | C-H Stretch (pyrimidine)                          |

### **X-Ray Powder Diffraction of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2**

The XRPD pattern for [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydro pyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate polymorphic Form 2 is presented in Figure 15.

The peak list (Table 8) for Form 2 was produced by assigning degrees two theta (2θ) positions to the 10 strongest peaks in the region from 2 to 20 degrees two theta (2θ) from a capillary powder X-ray diffractogram. The X-ray diffraction data was collected with copper K alpha radiation which is composed of K alpha 1 and K alpha 2. Each diffraction peak was profile fitted and the results for the K alpha 1 component are reported. The estimated uncertainty in peak position is +/- 0.3 deg 2theta.

As is conventionally understood by one skilled in the art, the the relative intensities of such peaks may vary from sample to sample and preparation to preparation due to varying preferred orientation of sample particles in the sample holder and instrumentation calibration.

**Table 8: XRPD Peak Positions for Polymorph of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2 based on copper K-alpha 1 radiation**

| 2θ Peak Position ± 0.3 (2θ) |
|-----------------------------|
| 5.5                         |
| 9.3                         |
| 9.7                         |
| 10.8                        |
| 13.6                        |
| 14.5                        |
| 15.0                        |
| 16.2                        |
| 17.8                        |
| 19.6                        |

**<sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>H NMR) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2**

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, referenced to TMS = 0.00 ppm, T = 25°C, rotamers present due to hindered rotation, major rotamers listed with integration rounded to nearest 1/2 units) δ ppm 10.6-9.7 (3H, several broad s), 9.06 (1/2 H, s), 9.03 (1/2 H, s), 8.30 (1/2 H, s), 7.87 (1/2 H, s), 4.38 (1H, d, J = 13 Hz), 4.30 (1H, d, J = 13 Hz), 4.08-4.00 (2H, several m), 3.81-3.72 (3/2 H, several m), 3.56-3.24 (17/2 H, several m), 3.04-3.00 (1H, m), 2.82-2.70 (1H, several m), 2.41 (3H, s), 2.26-2.23 (3H, several s), 1.99-1.90 (2H, several m), 1.71 (1H, broad m), 1.66-1.47 (5H, several m), 1.27-1.20 (1H, m), 1.08-1.02 (2H, several m). (see Figure 16)

**<sup>13</sup>C and <sup>19</sup>F Solid State Nuclear Magnetic Resonance (SSNMR) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2**

<sup>13</sup>C and <sup>19</sup>F solid state NMR data, respectively, as described below, respectively, were acquired using a Bruker Avance 400 triple-resonance spectrometer operating at a <sup>1</sup>H frequency of 399.87 MHz.

The  $^{13}\text{C}$  SSNMR spectra shown were obtained using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle spinning probe at a rotor frequency of 8 kHz. A linear power ramp from 75 to 90 kHz was used on the  $^1\text{H}$  channel to enhance cross-polarization efficiency. Spinning sidebands were eliminated by a five-pulse total sideband suppression pulse sequence.  $^1\text{H}$  decoupling was obtained using the Spinal-64 sequence.

The  $^{19}\text{F}$  SSNMR spectra shown were obtained using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle probe at a rotor frequency of 12.5 kHz. Characteristic  $^{13}\text{C}$  and  $^{19}\text{F}$  NMR peak positions are reported relative to tetramethylsilane at 0 ppm (parts per million) and are quoted to a precision of  $\pm 0.2$  ppm, because of instrumental variability and calibration.

**$^{13}\text{C}$  Solid State Nuclear Magnetic Resonance (SSNMR) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2**

[(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic crystalline anhydrate Form 2 was identified or characterized by  $^{13}\text{C}$  solid state nuclear magnetic resonance (SSNMR) spectrum as depicted by the peak pattern substantially shown in Figure 17, obtained on a spectrometer operating at a frequency of 100.56 MHz for  $^{13}\text{C}$  observation using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle spinning probe at a rotor frequency of 8 kHz.

Figure 17 shows an  $^{13}\text{C}$  SSNMR, which shows characteristic chemical peak shifts at  $174.30 \pm 0.2$ ,  $161.44 \pm 0.2$ ,  $161.16 \pm 0.2$ ,  $160.86 \pm 0.2$ ,  $160.39 \pm 0.2$ ,  $154.28 \pm 0.2$ ,  $153.01 \pm 0.2$ ,  $149.82 \pm 0.2$ ,  $132.12 \pm 0.2^*$ ,  $131.77 \pm 0.2^*$ ,  $129.70 \pm 0.2^*$ ,  $129.31 \pm 0.2^*$ ,  $68.30 \pm 0.2$ ,  $64.57 \pm 0.2$ ,  $63.83 \pm 0.2$ ,  $61.34 \pm 0.2$ ,  $59.89 \pm 0.2$ ,  $54.19 \pm 0.2$ ,  $53.81 \pm 0.2$ ,  $52.92 \pm 0.2$ ,  $52.43 \pm 0.2$ ,  $51.31 \pm 0.2$ ,  $50.16 \pm 0.2$ ,  $45.90 \pm 0.2$ ,  $42.86 \pm 0.2$ ,  $41.87 \pm 0.2$ ,  $40.22 \pm 0.2$ ,  $38.73 \pm 0.2$ ,  $37.75 \pm 0.2$ ,  $36.48 \pm 0.2$ ,  $35.59 \pm 0.2$ ,  $33.97 \pm 0.2$ ,  $32.82 \pm 0.2$ ,  $26.89 \pm 0.2$ ,  $26.23 \pm 0.2$ ,  $25.86 \pm 0.2$ , and  $25.23 \pm 0.2$  ppm. (i.e., where  $^*132.12$ ,  $131.77$ ,  $129.70$  and  $128.75$  ppm arise from two carbon sites, each split by the  $^1\text{J}_{\text{C-F}}$  coupling).

**<sup>19</sup>F solid state nuclear magnetic resonance (SSNMR) spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2**

<sup>19</sup>F solid state nuclear magnetic resonance (SSNMR) spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic crystalline anhydrate Form 2 is characterized and identified by the peak pattern substantially shown in Figure 18, where the SSNMR spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 376.21 MHz for <sup>19</sup>F observation using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle spinning probe at a rotor frequency of 12.5 kHz.

Figure 18 shows an <sup>19</sup>F SSNMR with a characteristic isotropic chemical peak shifts at  $-166.56 \pm 0.2$  and  $-171.26 \pm 0.2$  ppm.

**Example 12**

**Polymorphic of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate Form 2.**

[(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide (33.8 g) was added to a 1 L jacketed lab reactor ("JLR"). N-propanol (473 mL) was added to the 1 L JLR. The contents were heated to 70°C to dissolve. Complete dissolution was confirmed. The reactor was rinsed with n-propanol (68 mL). The contents were cooled to 25°C at 0.25°C/min. Methanesulfonic acid solution (11.4 mL of 20% wt/wt of methanesulfonic acid in n-propanol) was charged to the JLR. [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulfonate polymorphic Form 2 (0.34 g) was added to the slurry. The slurry was aged for more than 30 minutes.

Methanesulfonic acid solution (45.5 mL of 20% wt/wt of methanesulfonic acid in n-propanol) was charged to the JLR at a linear, controlled rate over 6 hours. The resulting slurry was aged for 2 hours. To the slurry, isooctane (144 mL) was added at a controlled rate over 6 hours. The slurry was then cooled to 15°C at a 0.1°C/min and aged for 1 hour. The resulting solids were isolated by filtration.

The solids were washed with a mixture of n-propanol (100 mL) and isooctane (25 mL). The solids were then washed with isooctane (100 mL). The cake was blown with nitrogen for 2 hours and dried under vacuum at 50°C for 48 hours yielding 34.6 g (85.1%

molar yield) of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulfonate polymorphic Form 2 by XRPD (see, Figure 20).

It is to be understood that the invention is not limited to the embodiments  
5 illustrated hereinabove and the right is reserved to the illustrated embodiments and all modifications coming within the scope of the following claims.

The various references to journals, patents, and other publications which are cited herein comprise the state of the art and are incorporated herein by reference as though fully set forth.

10



**CLAIMS**

What is claimed is:

1. A compound which is [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-  
5 3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate.
2. A compound which is polymorphic Form 1 of [(2*R*)-2-  
(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-  
yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
10 methanesulphonate.
3. The compound according to claim 2 having a <sup>1</sup>H NMR Spectrum as  
shown in Figure 1.
- 15 4. The compound according to claim 2 having a <sup>13</sup>C NMR Spectrum as  
shown in Figure 2.
5. The compound according to claim 2 having an X-ray diffraction pattern  
which comprises characteristic peaks in degrees two-theta as shown in Figure 3.  
20
6. The compound according to claim 5 having characteristic peaks from 0°  
degrees 2-theta (2θ) to 55° degrees 2-theta (2θ) at about 5.3 ± 0.3 (2θ), 9.7 ± 0.3 (2θ),  
10.8 ± 0.3 (2θ), 11.4 ± 0.3 (2θ), 13.5 ± 0.3 (2θ), 14.9 ± 0.3 (2θ), 17.8 ± 0.3 (2θ), 18.9 ±  
0.3 (2θ), 21.2 ± 0.3 (2θ) and 22.1 ± 0.3 (2θ).  
25
7. The compound according to claim 2 having an Attenuated Total  
Reflectance Infrared Spectrum which comprises characteristic absorption bands  
expressed in wave numbers as shown in Figure 4.
- 30 8. The compound according to claim 7 having characteristic Infrared  
Spectrum peaks from 500 cm<sup>-1</sup> to 4000 cm<sup>-1</sup> wavenumbers at about 1174 cm<sup>-1</sup>, 1151  
cm<sup>-1</sup>, 1130 cm<sup>-1</sup>, 1112 cm<sup>-1</sup>, 1225 cm<sup>-1</sup>, 1583 cm<sup>-1</sup>, 1606 cm<sup>-1</sup>, 1657 cm<sup>-1</sup>, 1670 cm<sup>-1</sup>,  
2453 cm<sup>-1</sup>, 2947 cm<sup>-1</sup>, 2865 cm<sup>-1</sup> and 3204 cm<sup>-1</sup>.
- 35 9. The compound according to claim 2 having a Differential Scanning  
Calorimetry (DSC) Spectrum as shown in Figure 5.

10. The compound according to claim 2 having a Thermogravimetric Analysis (TGA) Spectrum as shown in Figure 6.

11. A compound which is [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
5 [(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate.

12. The compound according to claim 11 having an X-ray diffraction pattern which comprises characteristic peaks in degrees two-theta as shown in Figure 7.

10

13. The compound according to claim 11 having a Differential Scanning Calorimetry (DSC) Spectrum as shown in Figure 8.

14. The compound according to claim 11 having a Thermogravimetric  
15 Analysis (TGA) Spectrum as shown in Figure 9.

15. A compound which is [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate.

20

16. The compound according to claim 15 having an X-ray diffraction pattern which comprises characteristic peaks in degrees two-theta as shown in Figure 10.

17. The compound according to claim 15 having a Differential Scanning  
25 Calorimetry (DSC) Spectrum as shown in Figure 11.

18. A pharmaceutical composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate and at least  
30 one pharmaceutically acceptable excipient.

19. The pharmaceutical composition according to claim 18, wherein [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
35 methanesulphonate is Form 1 or Form 2.

20. The pharmaceutical composition according to claim 18 formulated for intravenous (iv) administration.

21. A pharmaceutical composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

22. The pharmaceutical composition according to claim 21 formulated for intravenous (iv) administration.

23. A pharmaceutical composition comprising [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulphonate and at least one pharmaceutically acceptable excipient.

24. The pharmaceutical composition according to claim 23 formulated for intravenous (iv) administration.

25. A method for treatment of a bacterial infection comprising administration of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate to a human in need thereof.

26. The method for treatment of a bacterial infection according to claim 25, wherein [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate is selected from [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 or [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2.

27. The method according to claim 25 wherein the bacterial infection is caused by *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Neisseria*,

*Mycoplasma, Legionella, Chlamydia, Bacteroides, Clostridium, Fusobacterium, Propionibacterium, or Peptostreptococcus.*

28. The method according to claim 25 wherein the bacterial infection is an  
5 ear infection, sinusitis, upper respiratory tract infection, lower respiratory tract infection, genital infection, skin and soft tissue infection, or bacterial endocarditis.

29. A method for treatment of a bacterial infection comprising administration  
of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
10 [(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-  
3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate to a human in need thereof.

30. The method according to claim 29 wherein the bacterial infection is  
caused by *Streptococcus, Staphylococcus, Moraxella, Haemophilus, Neisseria,*  
15 *Mycoplasma, Legionella, Chlamydia, Bacteroides, Clostridium, Fusobacterium,*  
*Propionibacterium, or Peptostreptococcus.*

31. The method according to claim 29 wherein the bacterial infection is an  
ear infection, sinusitis, upper respiratory tract infection, lower respiratory tract infection,  
20 genital infection, skin and soft tissue infection, or bacterial endocarditis.

32. A method for treatment of a bacterial infection comprising administration  
of a therapeutically effective amount of [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-  
25 3-oxopropyl]hydroxyformamide camphor sulphonate to a human in need thereof.

33. The method according to claim 32 wherein the bacterial infection is  
caused by *Streptococcus, Staphylococcus, Moraxella, Haemophilus, Neisseria,*  
*Mycoplasma, Legionella, Chlamydia, Bacteroides, Clostridium, Fusobacterium,*  
30 *Propionibacterium, or Peptostreptococcus.*

34. The method according to claim 32 wherein the bacterial infection is an  
ear infection, sinusitis, upper respiratory tract infection, lower respiratory tract infection,  
genital infection, skin and soft tissue infection, or bacterial endocarditis.

35

35. The compound according to claim 2, wherein the compound  
(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-

yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
methanesulphonate Form 1 is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form, a  
hydrate, or a mixture thereof.

5            36.     The compound according to claim 35, wherein the compound  
(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-  
yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
methanesulphonate Form 1 is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form.

10           37.     The compound according to claim 36, having a <sup>13</sup>C Solid State NMR  
(SSNMR) Spectrum as shown in Figure 12.

             38.     The compound according to claim 36, having a <sup>19</sup>F Solid State NMR (<sup>19</sup>F  
SSNMR) spectrum shown in Figure 13.

15

             39.     A pharmaceutical composition which comprises [(2*R*)-2-  
(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-  
yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
methanesulphonate Form 1 which is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous  
20     form.

             40.     A compound which is [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-  
[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-  
3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 2.

25

             41.     The compound according to claim 40, wherein the compound [(2*R*)-2-  
(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-  
yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide  
methanesulphonate Form 2 is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form, a  
30     hydrate, or a mixture thereof.

             42.     The compound according to claim 41, wherein the compound [(2*R*)-2-  
(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9a*S*)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-

yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide

methanesulphonate Form 2 is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form..

43. The compound according to claim 40 having a  $^1\text{H}$  NMR Spectrum as shown in Figure 16.

5

44. The compound according to claim 40 having a  $^{13}\text{C}$  Solid State NMR Spectrum as shown in Figure 17.

45. The compound according to claim 40 having an X-ray diffraction pattern which comprises characteristic peaks in degrees two-theta as shown in Figure 15.

10

46. The compound according to claim 45 having characteristic peaks from  $0^\circ$  degrees 2-theta ( $2\theta$ ) to  $55^\circ$  degrees 2-theta ( $2\theta$ ) at about  $5.5 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $9.3 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $9.7 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $10.8 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $13.6 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $14.5 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $15.0 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $16.2 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ),  $17.8 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ) and  $19.6 \pm 0.3$  ( $2\theta$ ).

15

47. The compound according to claim 40 having an Attenuated Total Reflectance Infrared Spectrum which comprises characteristic absorption bands expressed in wave numbers as shown in Figure 14.

20

48. The compound according to claim 47 having characteristic Infrared Spectrum peaks from  $500\text{ cm}^{-1}$  to  $4000\text{ cm}^{-1}$  wavenumbers at about  $766\text{ cm}^{-1}$ ,  $1034\text{ cm}^{-1}$ ,  $1154\text{ cm}^{-1}$ ,  $1329\text{ cm}^{-1}$ ,  $1347\text{ cm}^{-1}$ ,  $1577\text{ cm}^{-1}$ ,  $1611\text{ cm}^{-1}$ ,  $1653\text{ cm}^{-1}$ ,  $1699\text{ cm}^{-1}$ ,  $2626\text{ cm}^{-1}$ ,  $2863\text{ cm}^{-1}$ ,  $3201\text{ cm}^{-1}$ ,  $2943\text{ cm}^{-1}$ ,  $3468\text{ cm}^{-1}$  and  $3565\text{ cm}^{-1}$ .

25

49. The compound according to claim 40 having a  $^{13}\text{C}$  Solid State NMR as shown in Figure 17.

50. The compound according to claim 40 having a  $^{19}\text{F}$  Solid State NMR Spectrum as shown Figure 18.

30

51. A pharmaceutical composition which comprises [(2*R*)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahydropyrazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide

methanesulphonate Form 2 which is a crystalline anhydrate or crystalline anhydrous form.

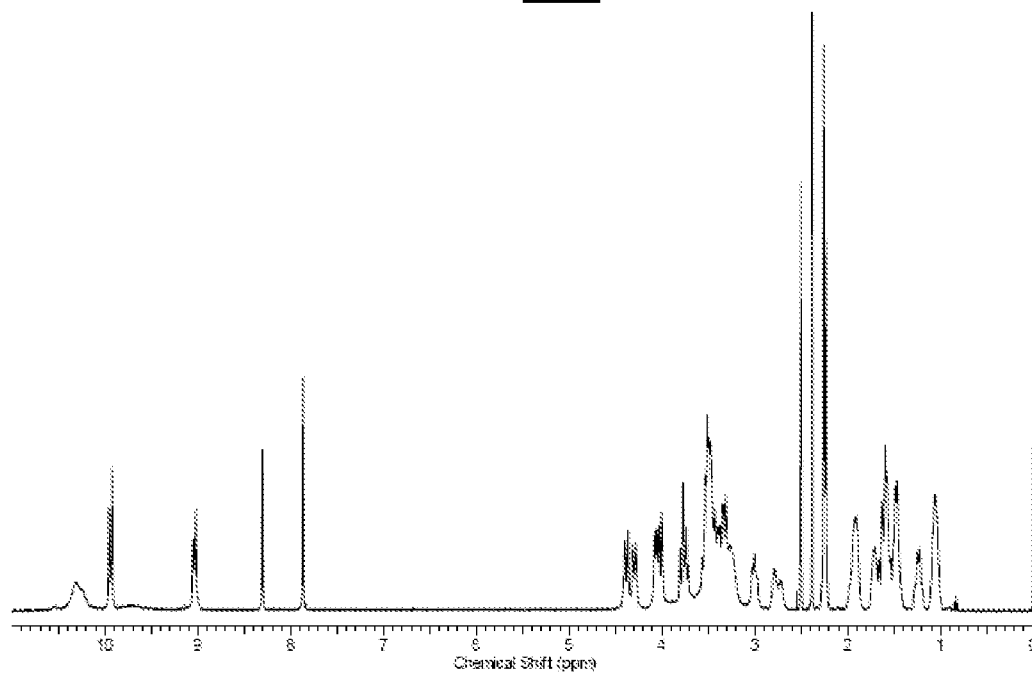
**Fig. 1**

**Figure 1: <sup>1</sup>H NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in DMSO-d<sub>6</sub>**



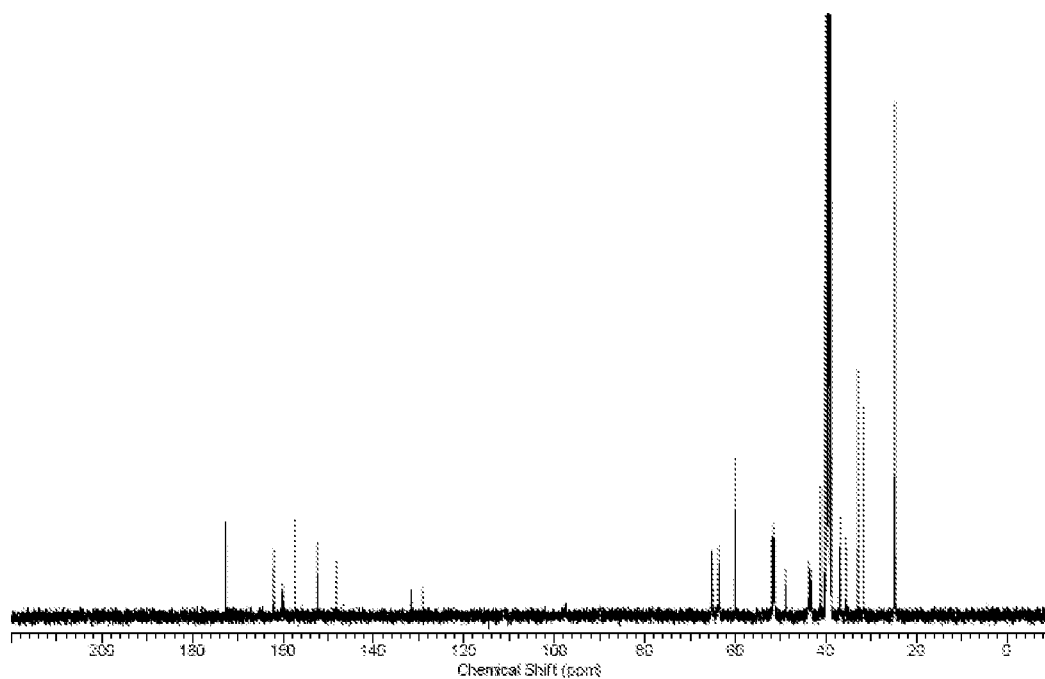
**Fig. 2**

**Figure 2:  $^{13}\text{C}$  NMR Spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1 in  $\text{DMSO-d}_6$**

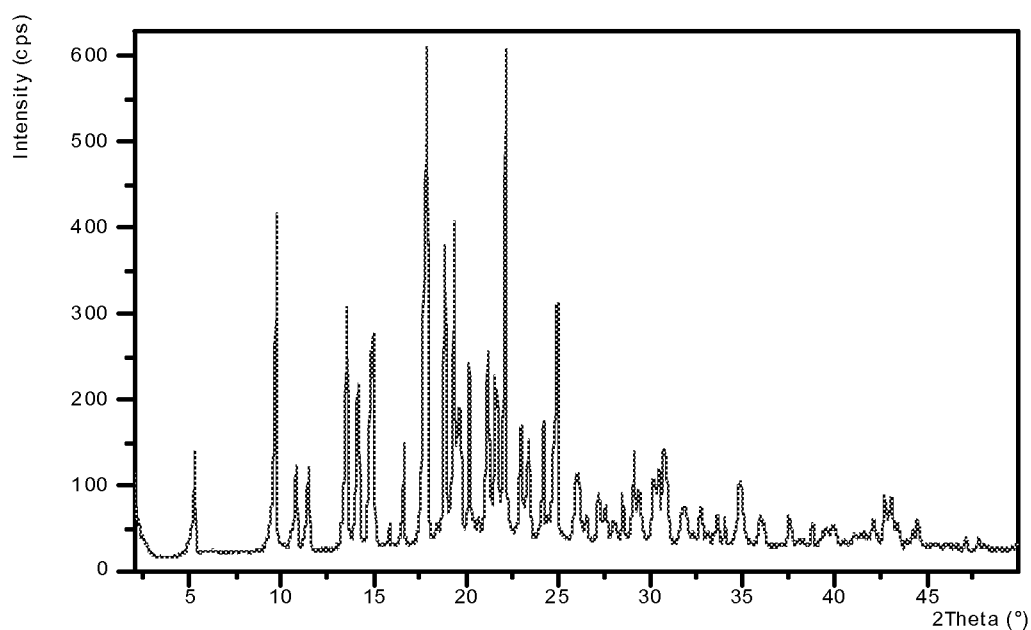
**Fig. 3**

**Figure 3: X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

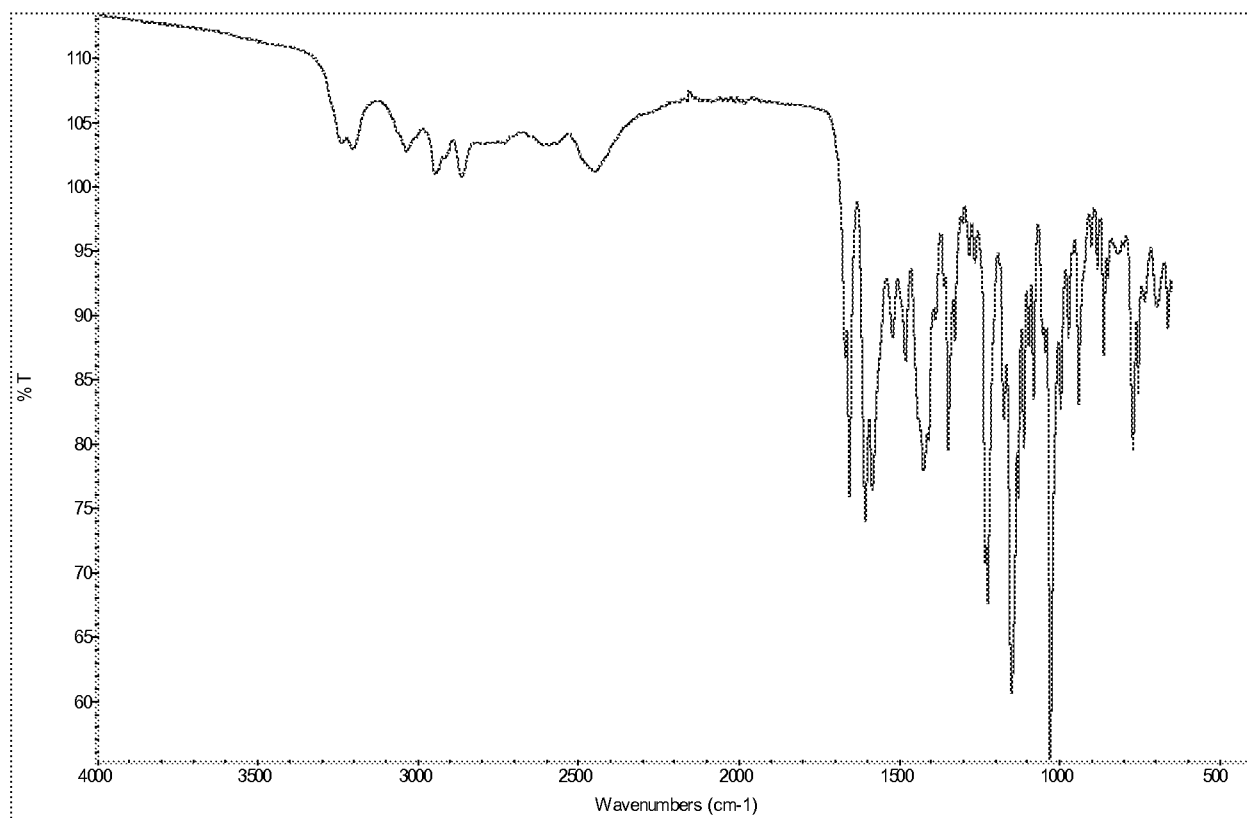
**Fig. 4**

**Figure 4: ATR-IR Spectrum of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

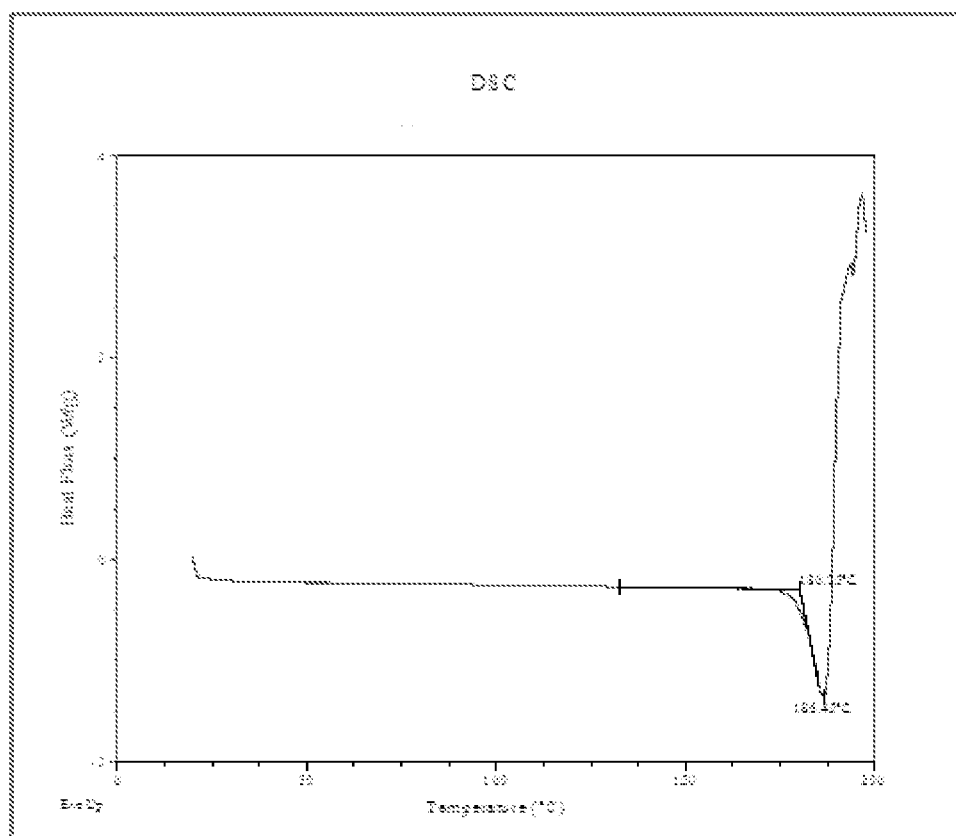
**Fig. 5**

**Figure 5: Differential Scanning Calorimetry of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

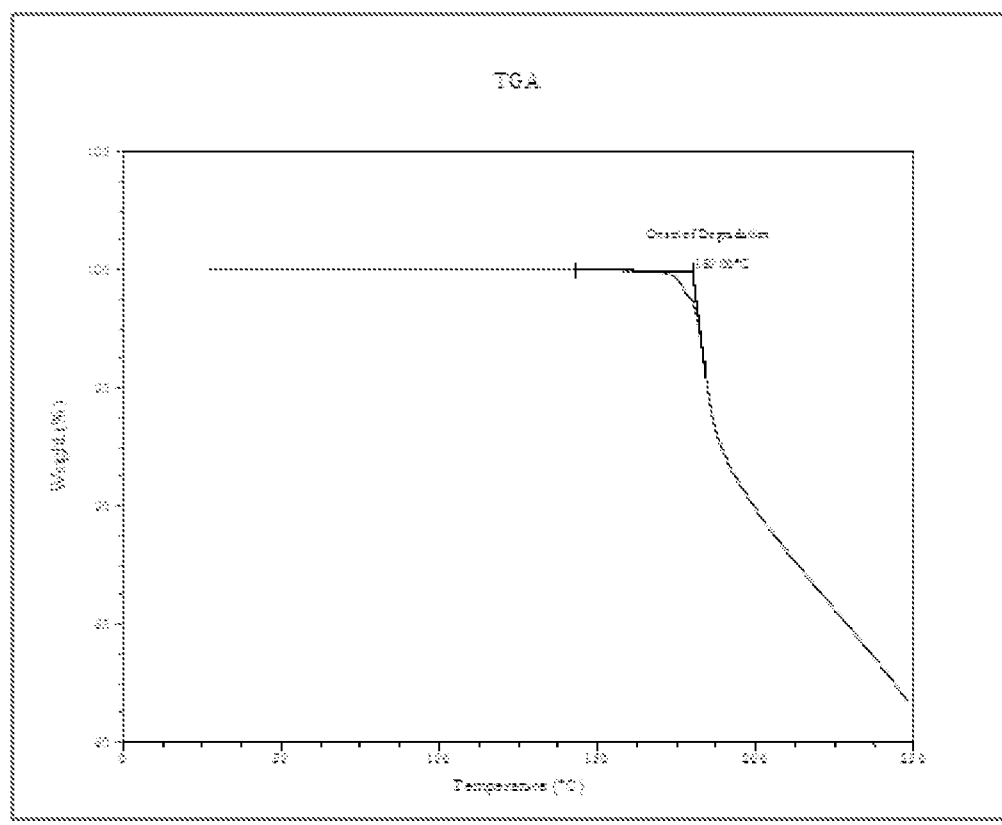
**Fig. 6**

**Figure 6: Thermogravimetric Analysis of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl} hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate Form 1**

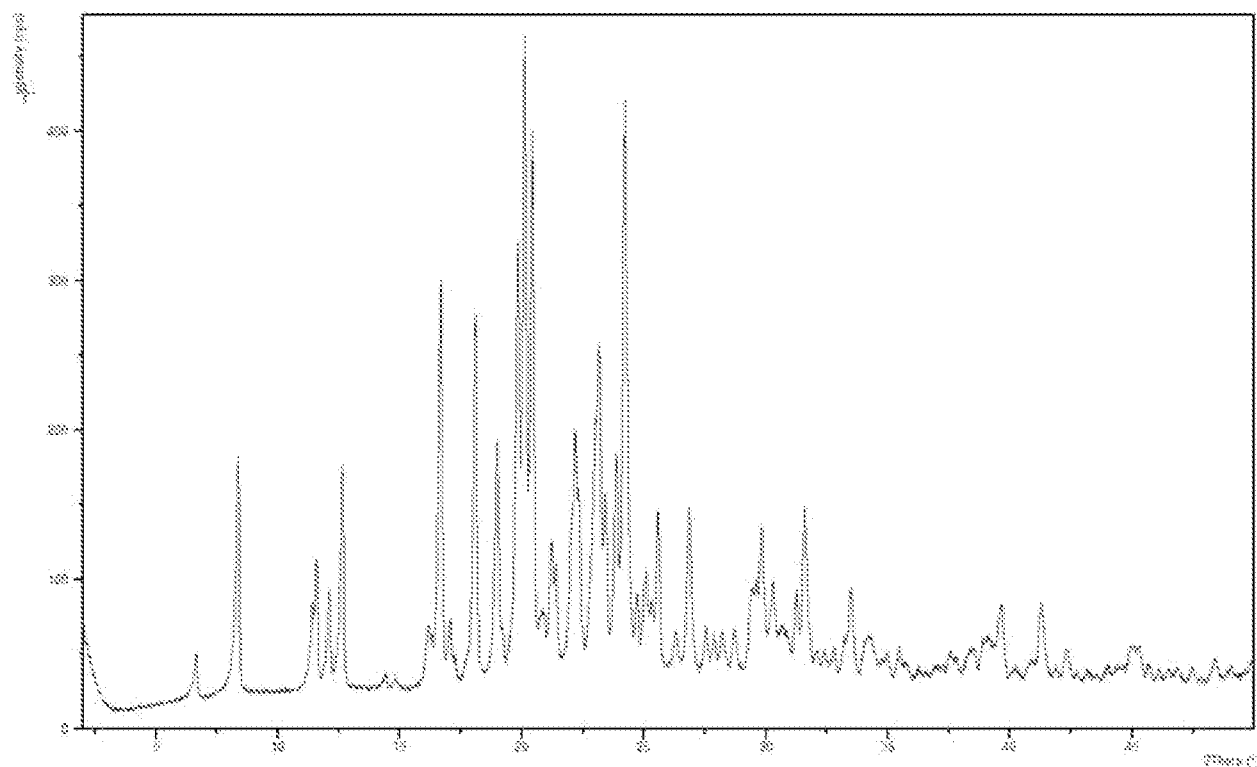
**Fig. 7**

**Figure 7: X-Ray Powder Diffraction Pattern of Form 1 [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate**

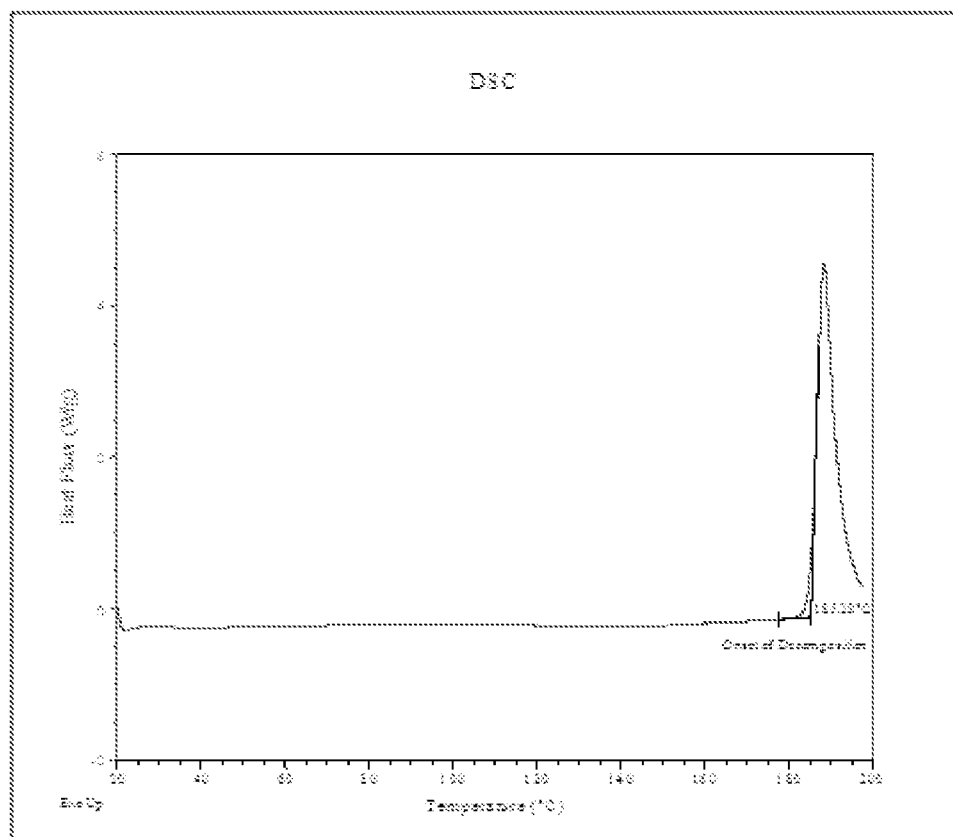
**Fig. 8**

**Figure 8: Differential Scanning Calorimetry of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate**

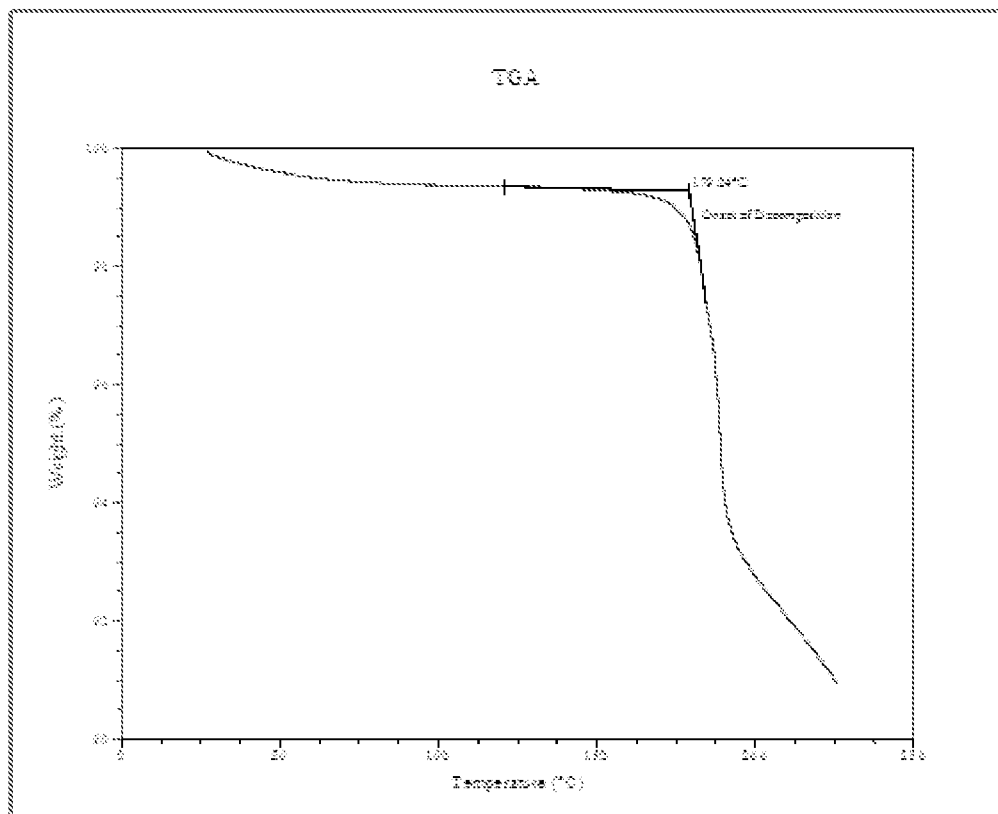
**Fig. 9**

**Figure 9: Thermogravimetric Analysis of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide dimethanesulphonate**



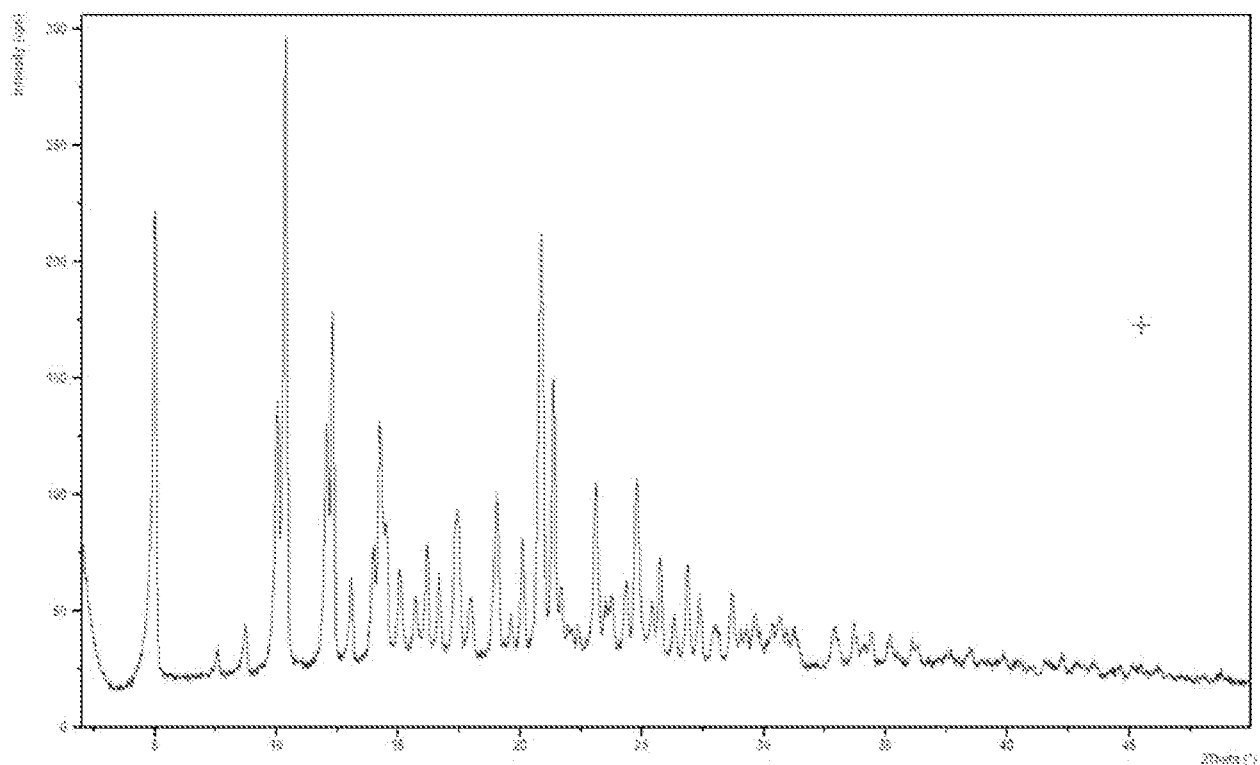
**Fig. 10**

**Figure 10: X-Ray Powder Diffraction Pattern [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate**

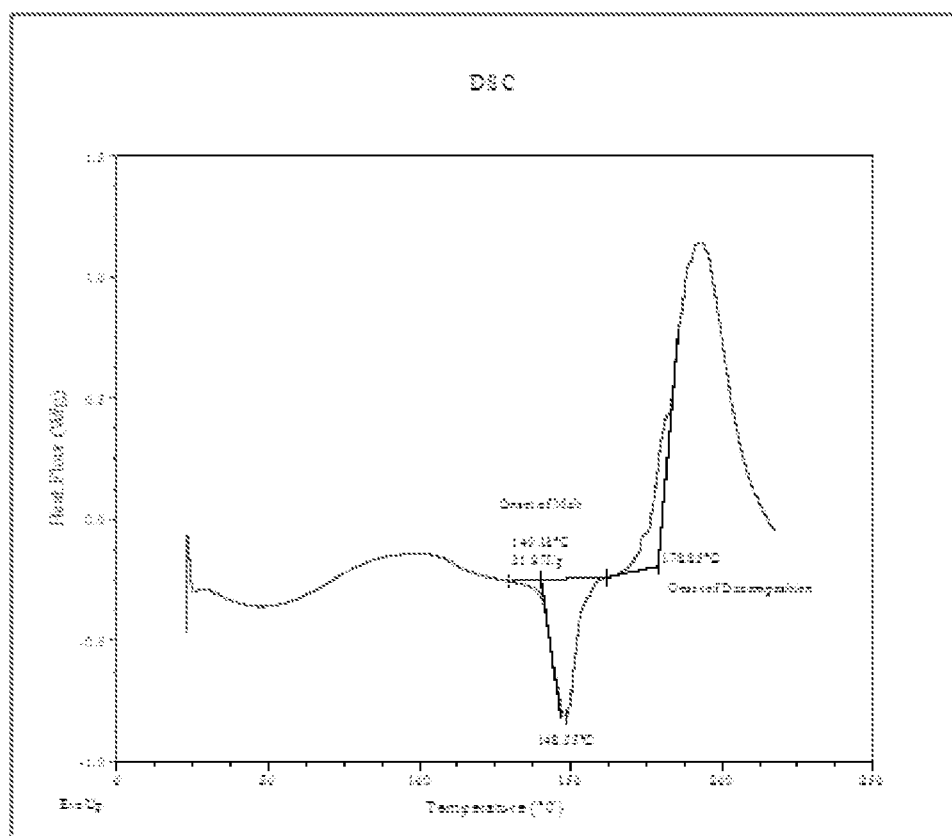
**Fig. 11**

**Figure 11: Differential Scanning Calorimetry of [(2R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide camphorsulfonate**

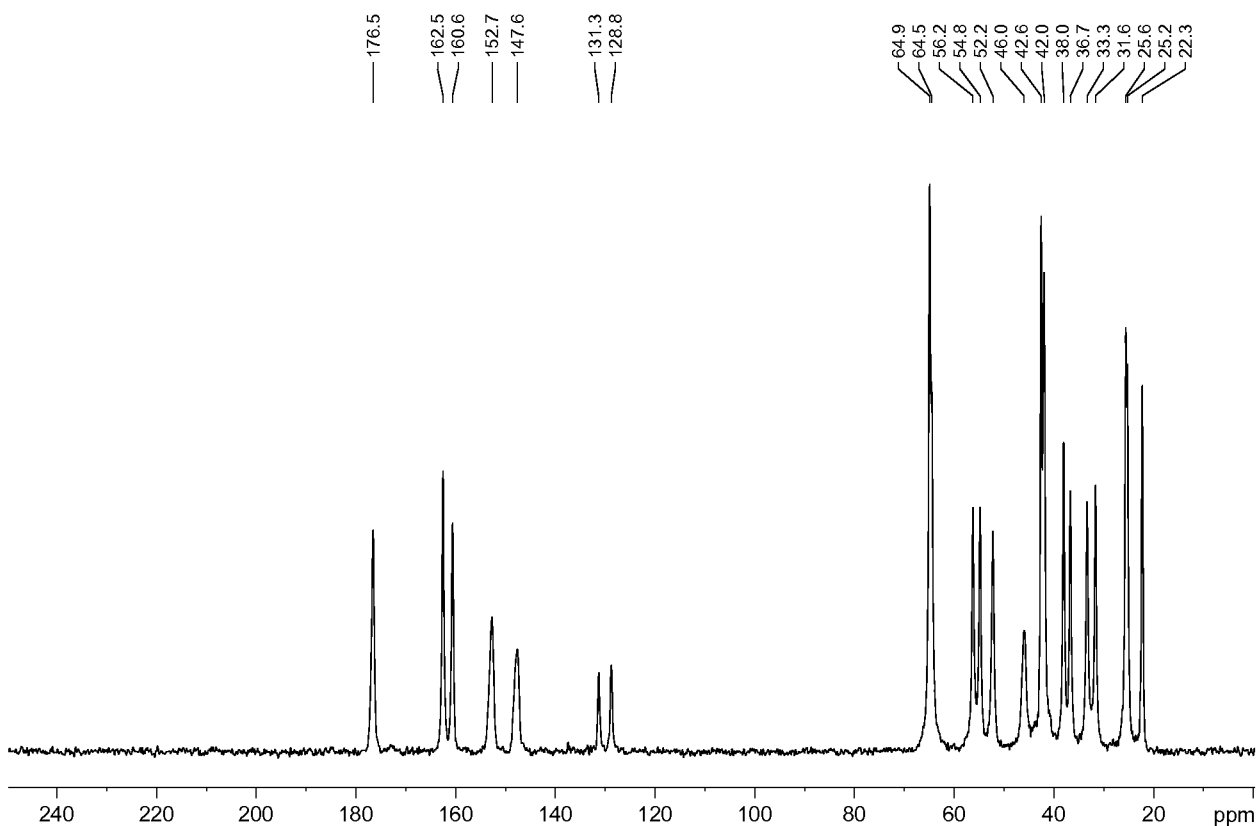
**Fig. 12**

Figure 12 depicts the  $^{13}\text{C}$  Solid State NMR (SSNMR) spectrum of crystalline anhydrate of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydro pyrazino [2,1-c][1,4] oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate polymorphic Form 1. The solid state NMR spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 100.56 MHz for  $^{13}\text{C}$  observation and a spinning speed of 8kHz.

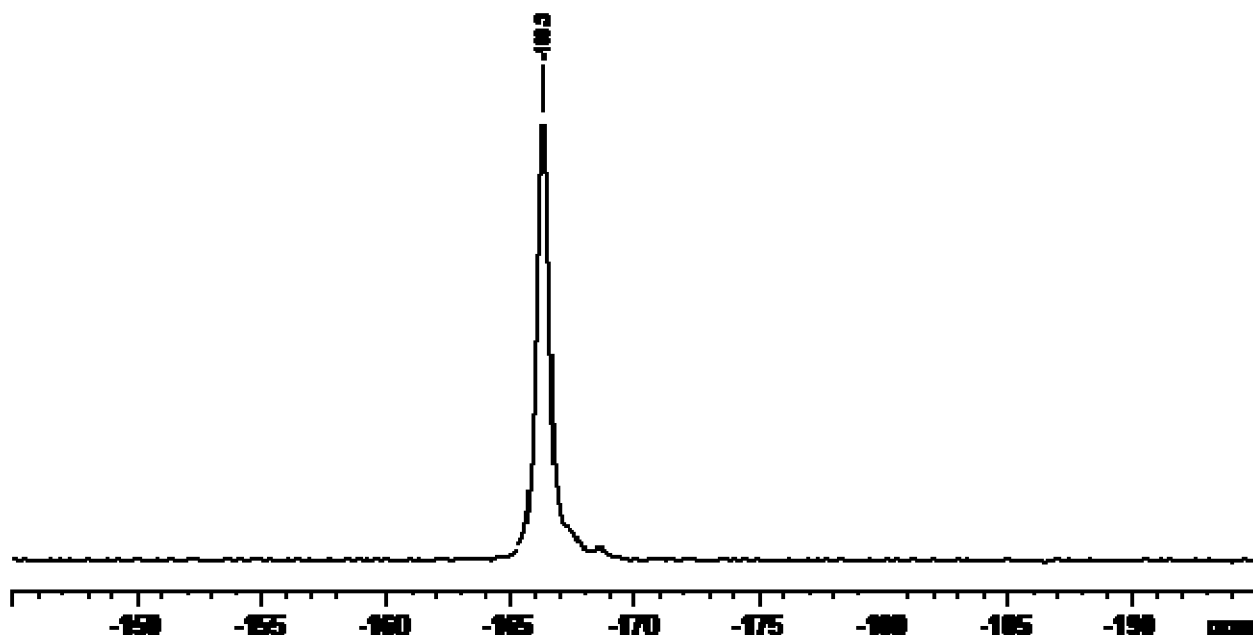
**Fig. 13**

Figure 13: depicts  $^{19}\text{F}$  Solid State NMR ( $^{19}\text{F}$  SSNMR) spectrum of crystalline anhydrate of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4] oxazin -8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 1. The solid state NMR spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 376.21 MHz for  $^{19}\text{F}$  observation using a cross-polarization pulse sequence with a Bruker 4-mm triple resonance magic-angle spinning probe at a rotor frequency of 12.5 kHz.

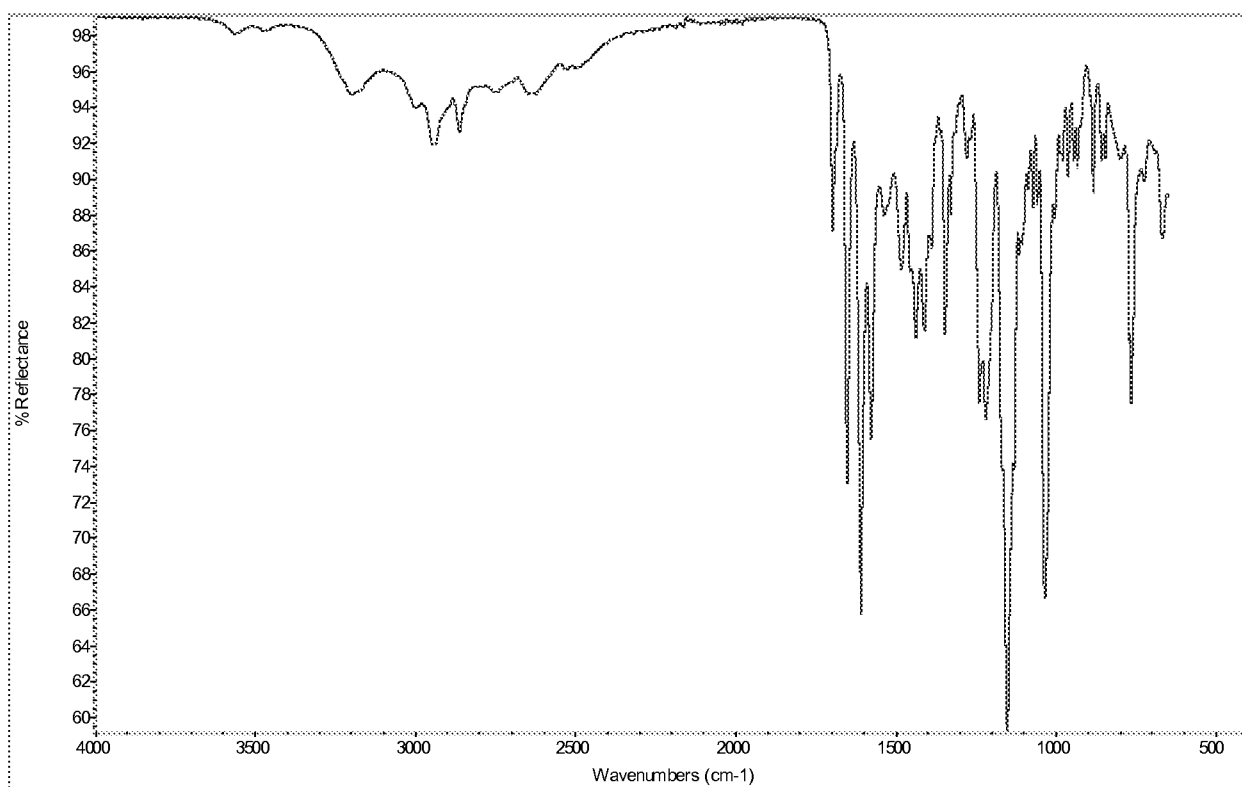
**Fig. 14**

**Figure 14: ATR-IR Spectrum of [(R)-2-(cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydro pyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide methanesulphonate polymorphic Form 2.**

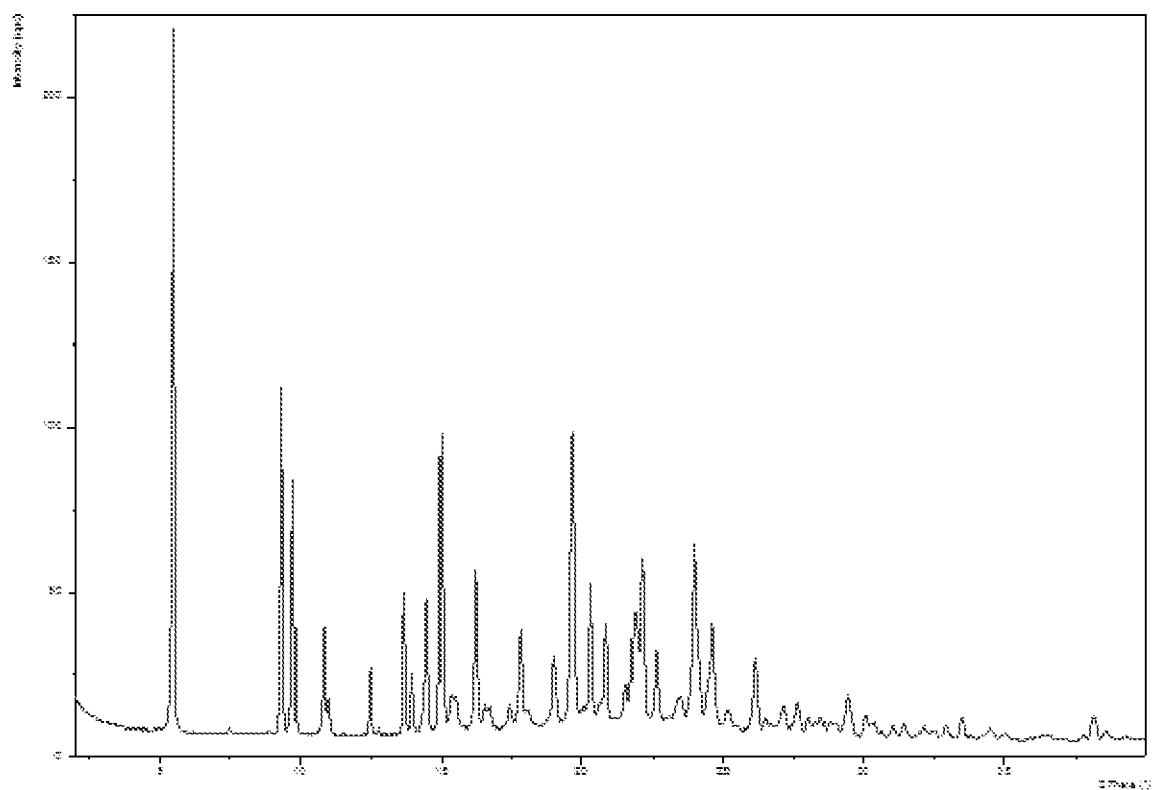
**Fig. 15**

**Figure 15: X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2.**

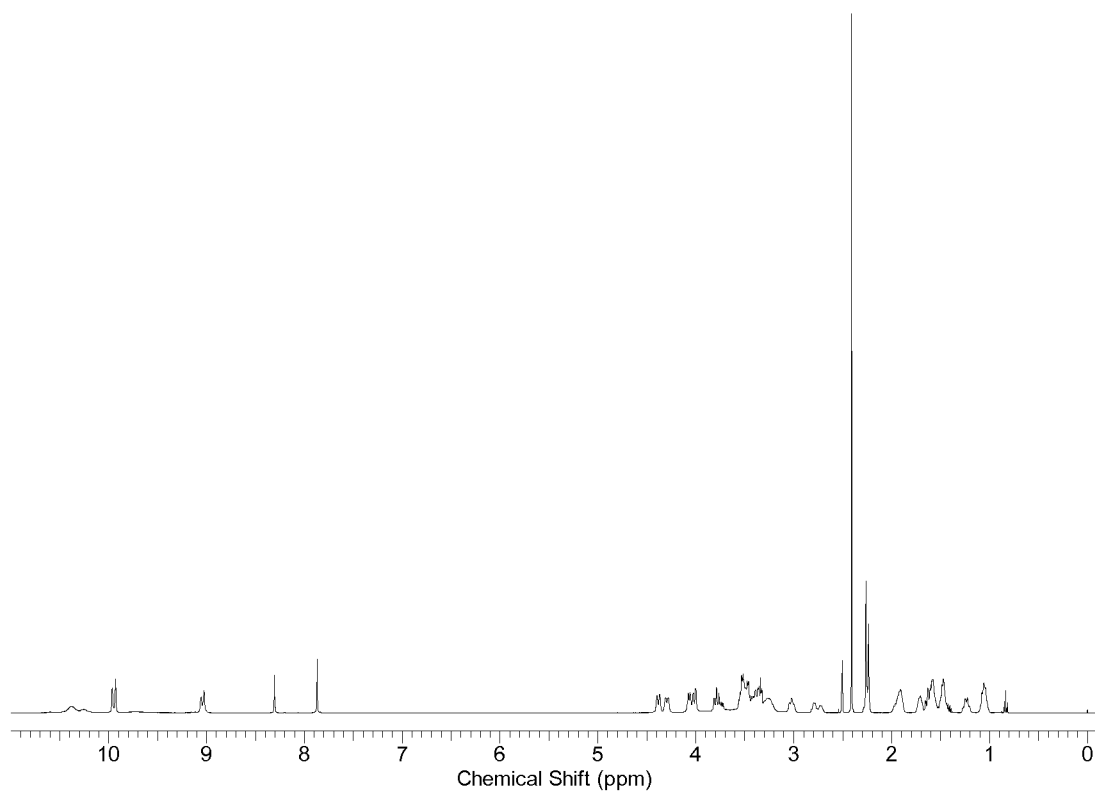
**Fig. 16**

**Fig. 16:  $^1\text{H}$  Nuclear Magnetic Resonance Solution State Spectrum ( $^1\text{H}$  NMR) of [(2R)-2-(Cyclopentyl methyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2 in  $\text{DMSO-d}_6$  at  $25^\circ\text{C}$ .**

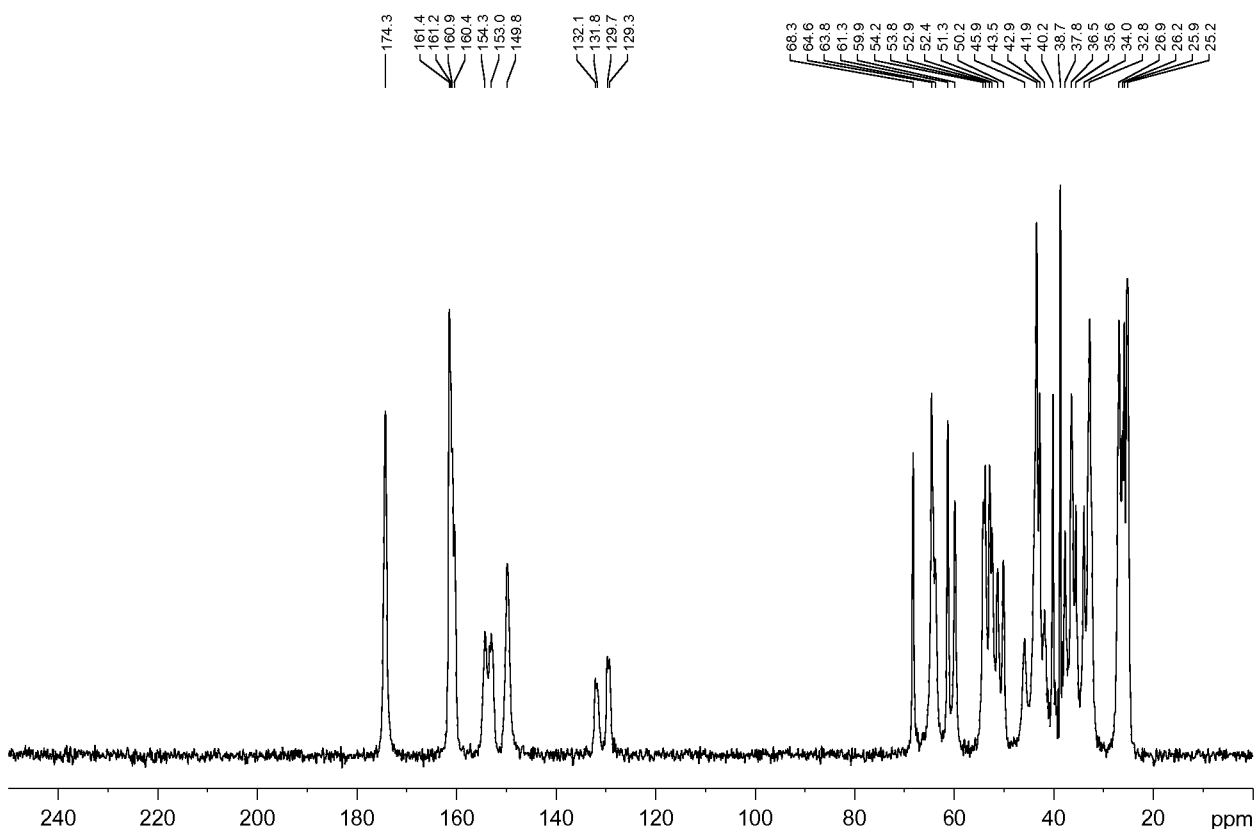
**Fig. 17**

**Figure 17: depicts  $^{13}\text{C}$  solid state NMR (SSNMR) spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentyl methyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic crystalline anhydrate Form 2. The solid state  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 100.56 MHz for  $^{13}\text{C}$  observation and a spinning speed of 8kHz.**



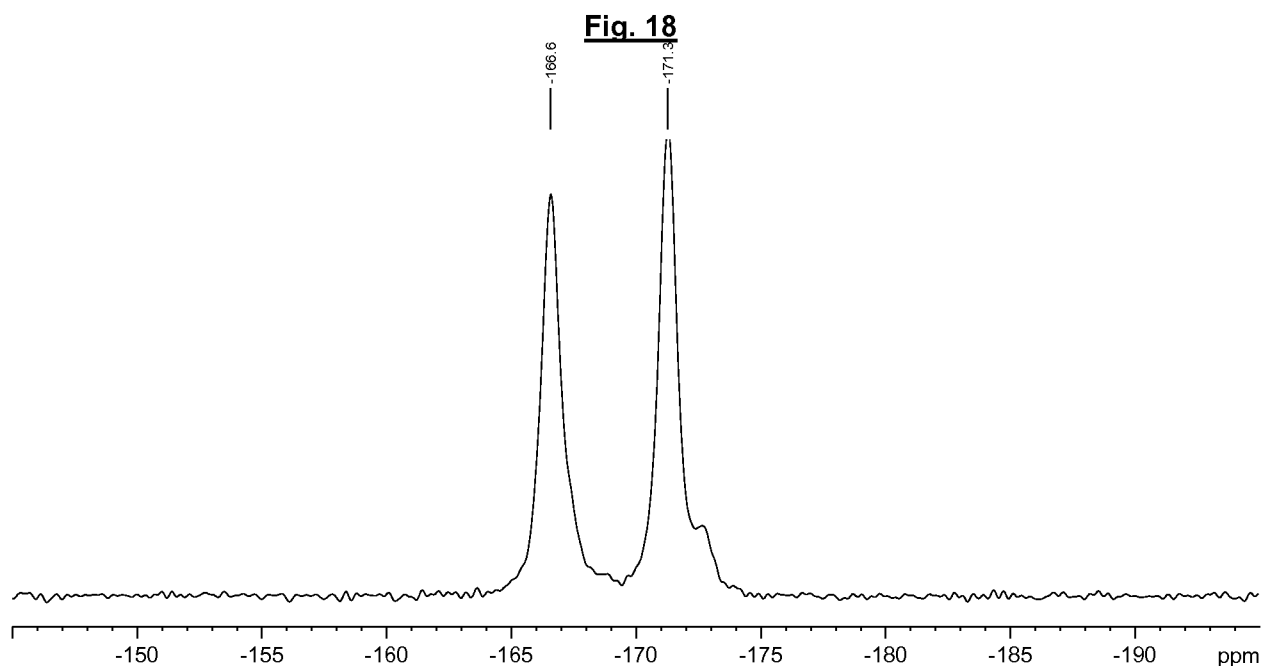


**Figure 18:** depicts  $^{19}\text{F}$  Solid State NMR (SSNMR) spectrum of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic crystalline anhydrate Form 2. The solid state  $^{19}\text{F}$  NMR spectrum was obtained on a spectrometer operating at a frequency of 376.21 MHz for  $^{19}\text{F}$  observation and a spinning speed of 12.5kHz.

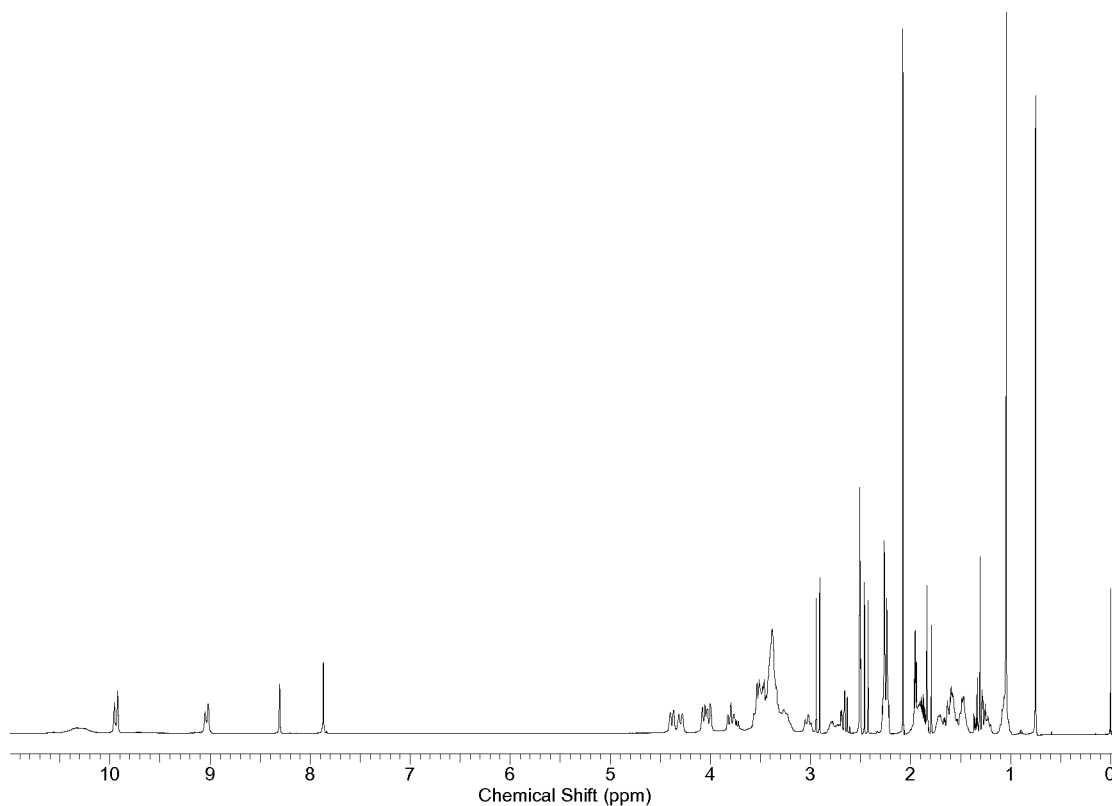
**Fig. 19**

**Figure 19: <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Solution State Spectrum (<sup>1</sup>H NMR) for [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyl formamide camphorsulfonate at 25°C in DMSO-d<sub>6</sub>**

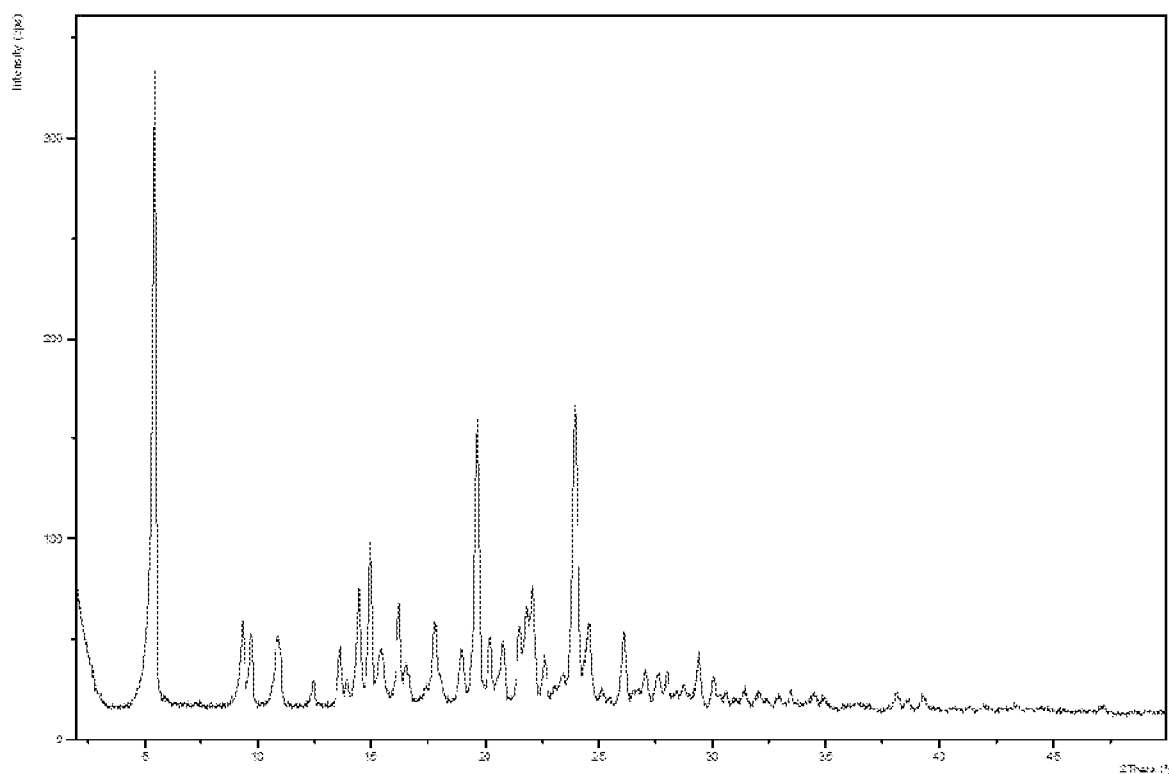
**Fig. 20**

**Figure 20: X-Ray Powder Diffraction Pattern of [(2R)-2-(Cyclopentylmethyl)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahydropyrazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-yl]-2-methyl-4-pyrimidinyl}hydrazino)-3-oxopropyl]hydroxyformamide methanesulphonate polymorphic Form 2.**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/067235

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 31/4985 (2013.01)

USPC - 514/230.5

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(8) - A61K31/4985, A61K31/5383; C07D491/052, C07D498/04 (2013.01)

USPC - 514/230.5, 514/250; 544/105, 544/326, 544/329, 544/350

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

CPC - A61K31/4985, A61K31/5383; C07D491/052, C07D498/04 (2013.01)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PatBase, Orbit.com, STN, PubChem, Google Scholar

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                    | Relevant to claim No.         |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| X         | US 2009/0306066 A1 (QIN et al) 10 December 2009 (10.12.2009) entire document                                                                                                          | 1-10, 18-20, 25-28, 40, 43-50 |
| A         | US 2008/0161249 A1 (HUANG) 03 July 2008 (03.07.2008) entire document                                                                                                                  | 1-51                          |
| A         | US 2006/0172990 A1 (EAST et al) 03 August 2006 (03.08.2006) entire document                                                                                                           | 1-51                          |
| A         | US 2004/0087585 A1 (XIANG et al) 06 May 2004 (06.05.2004) entire document                                                                                                             | 1-51                          |
| A         | SMITH et al. "Structural variation and inhibitor binding in polypeptide deformylase from four different bacterial species." Protein Science (2003), 12: Pgs. 349-360. entire document | 1-51                          |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 February 2013

Date of mailing of the international search report

14 MAR 2013

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Blaine R. Copenheaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

## **INHIBIDORES DE LA PÉPTIDO DESFORMILASA**

### **CAMPO DE LA INVENCION**

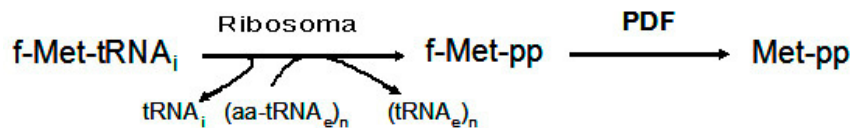
La presente invención se refiere, en general, a compuestos {2-(alquil)-3-  
5 [2-(5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazino]-3-oxopropil}hidroxiformamida de Fórmula (I) o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, a composiciones farmacéuticas correspondientes, a procedimientos para la preparación y uso de dichos compuestos en la inhibición de la actividad de la péptido desformilasa (PDF) bacteriana y en métodos de tratamiento para infecciones bacterianas.

10

### **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La síntesis de proteínas bacterianas comienza con el N-formil-metionil-tRNA (f-met-tRNA<sub>i</sub>) y, como una consecuencia, todos los polipéptidos recién sintetizados contienen un extremo de N-formil-metionina (f-Met-pp) (Esquema I).  
15 La péptido desformilasa (PDF) es un metaloenzima que elimina el grupo N-formilo de los polipéptidos según salen del ribosoma durante el proceso de elongación [Adams, J.M. (1968) J. Mol. Biol. 33, 571-589; Livingston, D.M. y Leder, P. (1969) Biochemistry 8, 435-443; Ball, L.A. y Kaesberg, P. (1973) J. Mol. Biol. 79, 531-537]. Dependiendo de la naturaleza de su segundo aminoácido, los polipéptidos  
20 se procesan posteriormente por la metionina aminopeptidasa (MAP) para producir la proteína madura. La desformilación desempeña un papel indispensable en la maduración de las proteínas ya que la MAP, una enzima esencial para el crecimiento bacteriano, no puede hidrolizar péptidos bloqueados por N.

### **Esquema I. Papel de la PDF en la síntesis de proteínas**



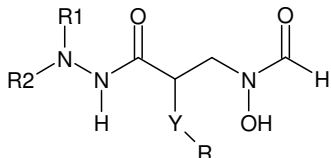
La PDF es ubicua en bacterias, al menos con un gen *pdf* en todos los  
30 genomas bacterianos hasta ahora secuenciados.

En eucariotas, la PDF no desempeña ningún papel en la síntesis de las proteínas citoplásmicas que no implique la N-formilación, pero en parásitos, plantas y mamíferos, incluyendo seres humanos, se han identificado proteínas

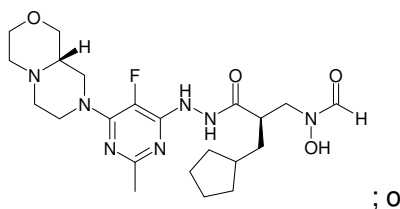
PDF codificadas en el núcleo, que contienen una señal de localización en cloroplastos/mitocondrias. La PDF es esencial en plantas y en orgánulos de parásitos ya que su genoma codifica varias proteínas que para ser activas requieren desformilación, pero existen pruebas que sugieren que en animales esto no ocurre. De hecho, la caracterización de la PDF mitocondrial humana ha mostrado ser mucho menos activa que su homóloga bacteriana. Adicionalmente, los inhibidores de la PDF, que son activos *in vitro* contra la enzima PDF humana, no tienen efecto sobre el crecimiento de líneas celulares humanas normales [Nguyen, K.T., Hu, X., Colton, C., Chakrabarti, R., Zhu, M.X. y Pei, D. (2003) Biochemistry 42, 9952-9958].

Por lo tanto, los inhibidores de la PDF representan una nueva clase prometedora de agentes antibacterianos con un modo de acción novedoso que abarca un amplio espectro de patógenos.

En la técnica se han descrito inhibidores de la PDF. Se han presentado solicitudes de Patente sobre derivados de hidrazin-3-oxopropil hidroxiformamida de la siguiente fórmula, véanse los documentos WO 03/101442 y WO2006/055663



Del mismo modo, el documento WO09/061879 (es decir, correspondiente a la Patente de Estados Unidos N° 7,893,056 de Qin et al., publicada el 22 de febrero del 2011) desvela la [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida, que es la estructura de compuesto que se muestra a continuación:



una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Por lo tanto, se han hecho intentos para preparar compuestos que inhiban la actividad de la PDF y en la técnica se han descrito diversos compuestos de

este tipo. Sin embargo, continúa habiendo una necesidad de inhibidores de la PDF que puedan usarse en el tratamiento de infecciones bacterianas.

A la vista de lo anterior, una sal farmacéuticamente aceptable y/o una nueva forma cristalina de [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida con mayor solubilidad acuosa, estabilidad química, etc. ofrecería muchos beneficios potenciales para el suministro de productos medicinales, especialmente para la inhibición de la actividad de la péptido desformilasa (PDF) bacteriana y en métodos de tratamiento para infecciones bacterianas.

Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que pueden aislarse nuevas sales farmacéuticamente aceptables de la [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida, como sólidos cristalinos, puros, que presentan una solubilidad acuosa mucho más alta que la base libre correspondiente. Dichas nuevas formas cristalinas también mejoran la solubilidad acuosa y la estabilidad en solución de la [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida o sales de la misma farmacéuticamente aceptables, en formas salinas respectivas o en composiciones o formulaciones farmacéuticas.

También existe una necesidad de desarrollar métodos para la inhibición de la actividad de la péptido desformilasa (PDF) bacteriana y para infecciones bacterianas, que comprenden la administración de la [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida o sales de la misma farmacéuticamente aceptables o composiciones o formulaciones farmacéuticas correspondientes.

La presente invención se refiere a superar estos problemas y otros encontrados en la técnica.

30

### **SUMARIO DE LA INVENCION**

En general, la presente invención se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de {2-(alquil)-3-[2-(5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazino]-3-oxopropil}hidroxiformamida de Fórmula (I), composiciones farmacéuticas correspondientes, procesos para la preparación y uso de dichos compuestos en

35

la inhibición de la actividad bacteriana de péptido desformilasa (PDF) y en métodos de tratamiento para infecciones bacterianas.

En particular, la presente invención se refiere a nuevas sales de compuestos de Fórmula (I), que pueden incluir, pero sin limitación

- 5 - Formas 1 y 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;
- dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-
- 10 pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (o es decir, también se identifica como dimesilato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida); y
- Canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-
- 15 hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida y

composiciones farmacéuticas o formulaciones correspondientes.

- 20 La presente invención también se refiere a procesos para preparar sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula (I).

- La presente invención también se refiere a métodos para tratar infecciones bacterianas, que comprende administrar al un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una sal de un compuesto de Fórmula (I) o una
- 25 composición farmacéutica correspondiente.

#### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

- La Figura 1 se refiere a un espectro de <sup>1</sup>H RMN de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-
- 30 hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-d<sub>6</sub>.

- La Figura 2 se refiere a un espectro de <sup>13</sup>C RMN de La Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-
- hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-
- 35 oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-d<sub>6</sub>.



La Figura 3 se refiere a un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

5 La Figura 4 se refiere a un Espectro ATR-IR de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

La Figura 5 se refiere a una Calorimetría de Exploración Diferencial de la  
10 Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

La Figura 6 se refiere un Análisis Termogravimétrico de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-  
15 hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

La Figura 7 se refiere a un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-  
20 hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

La Figura 8 se refiere a una Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

25 La Figura 9 se refiere a un Análisis Termogravimétrico (TGA) de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

La Figura 10 se refiere a un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de  
30 1:1 canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Figura 11: Calorimetría de Exploración Diferencial canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-

c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Figura 12: Espectro de RMN de estado sólido de  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$  SSRMN) de anhidrato cristalino de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4] oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Figura 13: Espectro de RMN de Estado Sólido de  $^{19}\text{F}$  ( $^{19}\text{F}$  SSRMN) de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4] oxazin -8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Figura 14: Espectro de ATR-IR de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida.

Figura 15: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Fig. 16: Espectro de Estado de Solución de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  ( $^1\text{H}$  RMN) de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentil metil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO- $\text{d}_6$  a 25 °C.

Figura 17: Espectro de RMN de Estado Sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) de la Forma 2 anhidrato cristalino polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Figura 18: Espectro de RMN de Estado Sólido de  $^{19}\text{F}$  (SSRMN) de la Forma 2 anhidrato cristalino polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Figura 19: Espectro de Estado de Solución de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  ( $^1\text{H}$  RMN) para canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida a 25 °C en DMSO- $\text{d}_6$ .

Figura 20: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 3 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

5

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

En general, la presente invención se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de {2-(alquil)-3-[2-(5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazino]-3-oxopropil}hidroxiformamida de Fórmula (I), composiciones farmacéuticas correspondientes, procesos para la preparación y uso de dichos compuestos en la inhibición de la actividad bacteriana de péptido deformilasa (PDF) y en métodos de tratamiento para infecciones bacterianas.

En particular, la presente invención se refiere a nuevas sales de compuestos de Fórmula (I), que pueden incluir, pero sin limitación

- 15 - Formas 1 y 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;
- Dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil] hidroxiformamida (o, es decir, también se  
20 identifica como dimesilato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida); y
- Canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-  
25 hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida; y

composiciones farmacéuticas o formulaciones correspondientes.

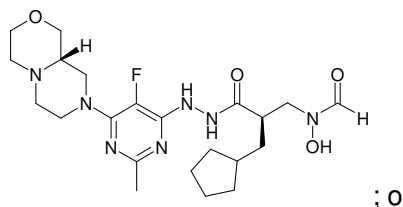
30 La presente invención también se refiere a procesos para preparar sales de compuestos de Fórmula (I).

La presente invención también se refiere a métodos para tratar infecciones bacterianas, que comprenden administrar al un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una sal de un compuesto de Fórmula (I) o una  
35 composición farmacéutica correspondiente.

**Compuestos**

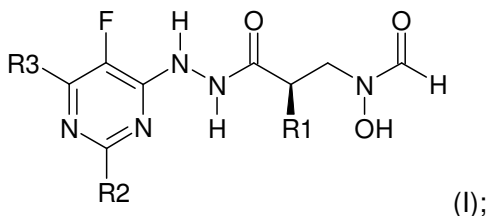
En general, la presente invención se refiere a compuestos de {2-(alquil)-3-[2-(5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazino]-3-oxopropil}hidroxiformamida de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El documento WO 09/061879 (corresponde a la Pat. de Estados Unidos Nº 7.893.056 a Qin et al., Publicada: 22 de febrero de 2011) desvela [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida, que es la estructura de compuesto que se muestra a continuación:



una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

A la luz de lo anterior, en un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (I):



en la que:

R1 se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo C2-C7 y -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-cicloalquilo C3-C6;

R2 se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo C1-C3; ciclopropilo; alcoxi C1-C3; haloalquilo C1-C3; sulfanilo C1-C3; heteroarilo de 5 miembros; heterocicloalquilo de 5 miembros; halo; hidroximetilo; y -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>;

R3 se selecciona entre el grupo que consiste en -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>; halo; fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R<sub>6</sub>; y heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R<sub>6</sub>;

R4 se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R<sub>7</sub>; alcoxi C1-C6; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R<sub>6</sub>; heterocicloalquilo,

opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; y fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6;

5 R5 se selecciona entre H; alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R7; alcoxi C1-C6; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6; heterocicloalquilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; y fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; o

10 R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando un grupo heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6;

en el que:

15 cada R6 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R7; hidroxil; alcoxi C1-C3; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; -C(O)ORc; heterocicloalquilo; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con un -NRaRb o pirrolidinilo; oxo; ciano; -NRaRb; fenilo; heteroarilo; y halo;

20 cada R7 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidroxil; alcoxi C1-C3; halo; fenilo; ciano; -NRaRb; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con un hidroxil, heterocicloalquilo o grupo -NRaRb; heterocicloalquilo; y heteroarilo opcionalmente sustituido con un metilo, -NRaRb o hidroxil;

25 cada Ra como se ha definido anteriormente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H y alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido con un hidroxil, metoxil o dimetilamina;

cada Rb como se ha definido anteriormente se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H y alquilo C1-C3;

30 cada Rc como se ha definido anteriormente se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido con un grupo metoxil; fenilo; heterocicloalquilo; y heteroarilo; y

n es un número entero de 0 a 2; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto de la presente invención, R1 es  $-(CH_2)_n$ -cicloalquilo C3-C6. Adecuadamente, R1 es  $-(CH_2)_n$ -cicloalquilo C3-C6, en el que n es 1. Adecuadamente, R1 es  $-CH_2$ -ciclopentilo.

En otra realización de la presente invención R2 es alquilo C1-C3; alcoxi C1-C3; haloalquilo C1-C3; sulfanilo C1-C3; o halo. Adecuadamente, R2 es metilo; etilo; tiometilo; tioetilo; fluorometilo; difluorometilo; 1-fluorometilo; cloro; ciclopropilo; o metoxi. Adecuadamente, R2 es metilo; etilo; tiometilo; o cloro.

En otro aspecto de la presente invención, R3 es  $-NR_4R_5$ ; alcoxi C1-C6; o heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6. Adecuadamente, R3 es  $-NR_4R_5$ , donde R4 es alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R7; o cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; y R5 es H, alquilo C1-C6 o C1-C6 alcoxi.

En otro aspecto de la presente invención, R4 es ciclopropilo; ciclobutilo; ciclopentilo; tetrahidro-2H-piraniilo; 2-oxohexahidro-1H-azepiniilo; 2-oxo-2,3,4,7-tetrahidro-1H-azepiniilo; 5-fluoro-piridinilo; o alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con uno de los siguientes grupos R7 seleccionados entre el grupo que consiste en hidroxilo; metoxi; ciano;  $-C(O)NR_aR_b$ ;  $-C(O)R_c$ ; morfoliniilo; piridinilo; 1,3-tiazolilo; 2-amino-1,3-tiazolilo; tienilo; furaniilo; fenilo; y 1-hidroxi-1H-imidazolilo; y R5 es H; alquilo C1-C3; ciclopropilo; o piperaziniilo opcionalmente sustituido con un grupo R6.

En otro aspecto, R4 es metilo; etilo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado entre el grupo que consiste en: hidroxilo, metoxi y  $-NR_aR_b$ ; propilo; isopropilo; ciclopropilo; ciclobutilo; y ciclopentilo.

En otro aspecto de la presente invención, R5 se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C1-C6; alcoxi C1-C6; y cicloalquilo C3-C6. Adecuadamente, R5 es H; metilo; o metoxi. Adecuadamente, R5 es H; alquilo C1-C3; ciclopropilo; o piperaziniilo opcionalmente sustituido con un grupo R6.

En otro aspecto de la presente invención, R3 es  $-NR_4R_5$ , donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados para formar un grupo heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6, donde los grupos heterocicloalquilo pueden incluir, pero sin limitación, sistemas de anillos monocíclicos o son sistemas de anillo condensados, espiro o bicíclicos puenteados.

Adecuadamente, R3 es  $-NR_4R_5$ , donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados formando azetidiniilo; pirrolidinilo; piperaziniilo;

morfolinilo; 2,5-dihidro-1H-pirrolilo; hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-(1H)-ilo; isoxazolidinilo; hexahidropirrollo[1,2-a]pirazin-(1H)-ilo; o 2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptil, cada uno de los mismos puede estar opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6 .

5 En otro aspecto de la presente invención, R3 es -NR4R5, donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando 1-piperidinilo; 4-tiomorfolinilo; 1-pirazolidinilo; tetrahidro-5H-[1,3]dioxolo[4,5-c]pirrolilo; tetrahidro-1H-furo[3,4-c]pirrol-(3H)-ilo; hexahidropirrollo[3,4-c]pirrol-(1H)-ilo; hexahidropirrollo[1,2-a]pirazin-(1H)-ilo; hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-(1H)-ilo; hexahidrofuro[3,4-b]pirazin-(2H)-ilo; octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazinilo; octahidropirazino[1,2-a]azepin-(1H)-ilo; octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazinilo; octahidro-1H-ciclopenta[b]pirazinilo; octahidro-1(2H)-quinoxalinilo; octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridinilo; 3-azabicyclo[3,1,0]hexilo; 2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptilo; 4,7-diazaespiro[2,5]octilo; 5-azaespiro[2,4]heptilo; o 10-oxa-4-  
10 (1H)-ilo; hexahidrofuro[3,4-b]pirazin-(2H)-ilo; octahidro-2H-pirido[1,2-a]pirazinilo; octahidropirazino[1,2-a]azepin-(1H)-ilo; octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazinilo; octahidro-1H-ciclopenta[b]pirazinilo; octahidro-1(2H)-quinoxalinilo; octahidro-6H-pirrollo[3,4-b]piridinilo; 3-azabicyclo[3,1,0]hexilo; 2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptilo; 4,7-diazaespiro[2,5]octilo; 5-azaespiro[2,4]heptilo; o 10-oxa-4-  
15 azatriciclo[5,2,1,0<sup>2,6</sup>]decilo.

Adecuadamente, R3 es -NR4R5, donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando azetidino opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R6, seleccionado cada uno independientemente entre el grupo que consiste en metilo; etilo; flúor; metoxi; hidroxilo; hidroximetilo;   
20 ciclopropilo; dimetilamino; etilmetilamino; -CH<sub>2</sub>-dimetilamino; morfolinilo; pirrolidinilo; -CH<sub>2</sub>-pirrolidinilo; y piridinilo.

Adecuadamente, R3 es -NR4R5, donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando pirrolidinilo opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6, seleccionado cada uno   
25 independientemente entre el grupo que consiste en metilo; metoxi; -CH<sub>2</sub>-metoxi; hidroxilo; hidroximetilo; hidroxietilo; dimetilamino; etilmetilamino; -CH<sub>2</sub>-dimetilamino; -CH<sub>2</sub>-pirrolidinilo; -CH<sub>2</sub>-morfolinilo; piridinilo; 2-(dimetilamino)-1,1-dimetiletilo; fluorometilo; -CH<sub>2</sub>-2-hidroxietilmetilamino; -CH<sub>2</sub>-2-metoxietilmetilamino; ciano; -C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 1-(dimetilamino)ciclopropilo; -CH<sub>2</sub>-etiletilmetilamino; -CH<sub>2</sub>-dietilamino; -C(O)N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; -CH<sub>2</sub>-piperidinilo; -CH<sub>2</sub>-isopropilmetilamino; -CH<sub>2</sub>-propilmetilamino; -NHCOOCH<sub>3</sub>; -CH<sub>2</sub>-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pirimidin-3-ilo; y   
30 (cis)-10-oxa-4-azatriciclo[5,2,1,0<sup>2,6</sup>]dec-4-ilo.

Adecuadamente, R3 es -NR4R5, donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando piperazinilo opcionalmente   
35 sustituido con de uno a tres grupos R6, cada uno seleccionado

independientemente entre el grupo que consiste en metilo; etilo; isopropilo; hidroximetilo; hidroxietilo;  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ ; y  $-\text{COOCH}_3$ .

Adecuadamente, R3 es  $-\text{NR}_4\text{R}_5$ , donde R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando (9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazinilo.

En otro aspecto de la presente invención, R6 es alquilo C1-C3, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R7; hidroxi; alcoxi C1-C3;  $-\text{C}(\text{O})\text{NRaRb}$ ; o  $-\text{NRaRb}$ . Adecuadamente, R6 es metilo; etilo; isopropilo; metoxi; hidroxilo; dietilamino; o *N,N*-dimetilacetamido.

En otro aspecto de la presente invención, R6 es heteroarilo. Adecuadamente, R6 es un heteroarilo de 6 miembros. Adecuadamente, R6 es piridinilo.

En otro aspecto de la presente invención, R7 es alcoxi C1-C3; hidroxilo; o  $-\text{NRaRb}$ . Adecuadamente, R7 es metoxi.

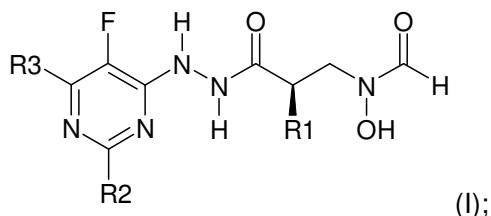
En otro aspecto de la presente invención, R7 es heterocicloalquilo. Adecuadamente, R7 es un heterocicloalquilo de 6 miembros. Adecuadamente, R7 es morfolinilo.

En otro aspecto de la presente invención, R7 es heteroarilo. Adecuadamente, R7 es piridinilo; 1,3-tiazolilo; tienilo; furanilo; imidazolilo; 1H-benzamidazolilo; 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pirimidin-3-ilo; o 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-ilo.

En otro aspecto de la presente invención, Ra y Rb son ambos metilo.

En otro aspecto de la presente invención, Rc es heterocicloalquilo. Adecuadamente, Rc es pirrolidinilo.

En otro aspecto de la presente invención, es un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I):



en la que:

R1 se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo C2-C7 y  $-(\text{CH}_2)_n$ -cicloalquilo C3-C6;



R2 se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo C1-C3; ciclopropilo; alcoxi C1-C3; haloalquilo C1-C3; sulfanilo C1-C3; heteroarilo de 5 miembros; heterocicloalquilo de 5 miembros; halo; hidroximetilo; y -NRaRb;

5 R3 se selecciona entre el grupo que consiste en -NR4R5; halo; fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; y heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6;

10 R4 se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R7; alcoxi C1-C6; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6; heterocicloalquilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; y fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6;

15 R5 se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R7; alcoxi C1-C6; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6; heterocicloalquilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; y fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R6; o

20 R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando un grupo heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R6;

donde:

25 cada R6 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C1-C6, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R7; hidroxilo; alcoxi C1-C3; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; heterocicloalquilo; cicloalquilo C3-C6; oxo; ciano; -NRaRb; fenilo; heteroarilo; y halo;

30 cada R7 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidroxilo; alcoxi C1-C3; halo; fenilo; ciano; -NRaRb; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con un hidroxilo, heterocicloalquilo o grupo -NRaRb; heterocicloalquilo; y heteroarilo;

cada Ra como se ha definido anteriormente se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H y alquilo C1-C3;

cada Rb como se ha definido anteriormente se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H y alquilo C1-C3;

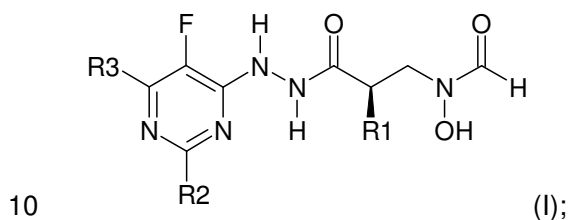
cada Rc como se ha definido anteriormente se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C1-C3; fenilo;

5 heterocicloalquilo; y heteroarilo; y

n es un número entero de 0 a 2; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto de la presente invención, es un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I):



en la que:

R1 es -CH<sub>2</sub>-ciclopentilo;

R2 se selecciona entre el grupo que consiste en metilo; etilo; tiometilo; tioetilo; fluorometilo; difluorometilo; 1-fluorometilo; cloro; ciclopropilo; o metoxi;

15 R3 es -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>;

R4 se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C1-C3; ciclopropilo; y piperazinilo opcionalmente sustituido con un grupo R<sub>6</sub>;

R5 se selecciona entre el grupo que consiste en H; alquilo C1-C<sub>6</sub>, opcionalmente sustituido con uno o dos grupos R<sub>7</sub>; alcoxi C1-C<sub>6</sub>; cicloalquilo C3-C<sub>6</sub>, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R<sub>6</sub>; heterocicloalquilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R<sub>6</sub>; heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R<sub>6</sub>; y fenilo, opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R<sub>6</sub>; o

25 R4 y R5 están unidos junto con el átomo de N al que están acoplados, formando un grupo heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R<sub>6</sub>;

donde:

30 cada R<sub>6</sub> se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C1-C<sub>6</sub>, opcionalmente sustituido con de uno a tres grupos R<sub>7</sub>; hidroxilo; alcoxi C1-C<sub>3</sub>; -C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>; -C(O)R<sub>c</sub>; C(O)OR<sub>c</sub>;

heterocicloalquilo; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con un -NRaRb o pirrolidinilo; oxo; ciano; -NRaRb; fenilo; heteroarilo; y halo;

5 cada R7 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidroxilo; alcoxi C1-C3; halo; fenilo; ciano; -NRaRb; -C(O)NRaRb; -C(O)Rc; cicloalquilo C3-C6, opcionalmente sustituido con un hidroxilo, heterocicloalquilo o grupo -NRaRb; heterocicloalquilo; y heteroarilo opcionalmente sustituido con un metilo, -NRaRb o hidroxilo;

10 cada Ra se selecciona cada uno independientemente entre H y alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido con un hidroxilo, grupo metoxi o dimetilamina; cada Rb se selecciona independientemente entre H y alquilo C1-C3; y cada Rc se selecciona independientemente entre alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido con un grupo metoxi; fenilo; heterocicloalquilo; y heteroarilo; o

15 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, la presente invención se refiere a [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

20 En un aspecto, la presente invención se refiere a metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

25 En un aspecto, la presente invención se refiere a dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (o, es decir, también se identifica como dimesilato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida).

30 En un aspecto, la presente invención se refiere a canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

### 35 **Términos y Definiciones**

**"Alquilo"** se refiere a una cadena de hidrocarburo monovalente sustituida que tiene el número especificado de miembros de átomos de carbono. Por ejemplo, alquilo C1-C7 se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 7 miembros de tomos de carbono. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una dos o tres ramificaciones. Alquilo incluye metilo, etilo, propil (n-propilo e isopropilo), butilo (n-butilo, isobutilo y t-butilo), pentilo (n-pentilo, isopentilo y neopentilo) y hexilo.

**"Alquenilo"** se refiere a una cadena de hidrocarburo insaturada que tiene el número especificado de miembros de átomos de carbono y que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono dentro de la cadena. Por ejemplo, alquenilo C2-C6 se refiere a un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono miembros. En ciertas realizaciones, los grupos alquenilo tienen un doble enlace carbono-carbono dentro de la cadena. En otras realizaciones, los grupos alquenilo tienen más de un doble enlace carbono-carbono dentro de la cadena. Los grupos alquenilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento. Los grupos alquenilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquenilo ramificados representativos tienen una dos o tres ramificaciones. Alquenilo incluye etilenilo, propenilo, butenilo, pentenilo y hexenilo.

**"Alcoxi"** se refiere a un resto alquilo acoplado a través de un puente de oxígeno (es decir, un grupo -O-alquilo C1-C6 grupo en el que C1-C6 se define en el presente documento). Los ejemplos de dichos grupos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentoxi y hexoxi.

**"Alquinilo"** se refiere a una cadena de hidrocarburo insaturada que tiene el número especificado de miembros de átomos de carbono y que tiene uno o más triples enlaces carbono-carbono dentro de la cadena. Por ejemplo, alquinilo C2-C6 se refiere a un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos miembros. En ciertas realizaciones los grupos alquinilo tienen un triple enlace carbono-carbono dentro de la cadena. En otras realizaciones, los grupos alquinilo tienen más de un triple enlace carbono-carbono dentro de la cadena. Para mayor claridad, las cadenas de hidrocarburo insaturadas que tienen uno o más triples enlaces carbono-carbono dentro de la cadena y uno o más dobles enlaces carbono-carbono dentro de la cadena se denominan grupos alquinilo. Los grupos alquinilo

pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se definen en el presente documento. Los grupos alquinilo ramificado representativos tienen una dos o tres ramificaciones. Alquinilo incluye etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo.

- 5           **"Arilo"** se refiere a un sistema de anillos hidrocarburo aromáticos. Los grupos arilo son sistemas de anillos monocíclicos o bicíclicos. Anillo arilo monocíclico se refiere a fenilo. Anillos arilo bicíclicos se refieren a naftilo y a anillos en los que el fenilo está condensado con un anillo cicloalquilo o cicloalquenilo que tiene 5, 6, o 7 átomos de carbono miembros. Los grupos arilo  
10 pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento.

- "Cicloalquilo"** se refiere una cadena de hidrocarburo insaturada que tiene el número especificado de miembros de átomos de carbono. Son grupos cicloalquilo, sistemas de anillo monocíclicos. Por ejemplo, cicloalquilo C3-C6 se  
15 refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos miembros. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento. Cicloalquilo incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

- "Cicloalquenilo"** se refiere a una cadena de hidrocarburo insaturada que  
20 tiene el número especificado de miembros de átomos de carbono y que tiene un doble enlace carbono-carbono dentro del anillo. Por ejemplo, cicloalquenilo C3-C6 se refiere a un grupo cicloalquenilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono miembros. En ciertas realizaciones, los grupos cicloalquenilo tienen un doble enlace carbono-carbono dentro del anillo. En otras realizaciones, los grupos  
25 cicloalquenilo tienen más de un doble enlace carbono-carbono dentro del anillo. Los anillo cicloalquenilo no son aromáticos. Los grupos cicloalquenilo son sistemas de anillo monocíclicos. Los grupos cicloalquenilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento. Cicloalquenilo incluye ciclopropenilo, ciclobutenilo,  
30 ciclopentenilo, ciclohexenilo y ciclohexadienilo.

- "Exceso enantiomérico"** o **"ee"** es el exceso de un enantiómero sobre el otro expresado como un porcentaje. Como resultado, puesto que ambos enantiómeros están presentes en cantidades iguales en una mezcla racémica, el exceso enantiomérico es cero (ee 0%). Sin embargo, si un enantiómero se  
35 enriqueció de manera que constituye el 95% del producto, entonces el exceso

enantiomérico sería ee 90% (la cantidad del enantiómero enriquecido, 95%, menos la cantidad del otro enantiómero, 5%).

“**Enriquecido enantioméricamente**” se refiere a productos cuyos excesos enantioméricos es mayor de cero. Por ejemplo, enriquecido  
5 enantioméricamente se refiere a productos cuyos excesos enantioméricos son mayores de 50% ee. mayores de 75% ee o mayores de 90% ee.

“**Enantioméricamente puro**” se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es 99% ee o superior.

“**Halo**” se refiere a los radicales halógeno flúor, cloro, bromo y yodo.

10 “**Haloalquilo**” se refiere a un grupo alquilo en el que al menos un átomo de hidrógeno unido a un átomo miembro dentro del grupo alquilo está reemplazado por halo. El número de sustituyentes de halo incluye, pero sin limitación, 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 sustituyentes. Haloalquilo incluye monofluorometilo, difluoroetilo y trifluorometilo.

15 “**Heteroarilo**” se refiere a un anillo aromático que contiene de 1 a 5, adecuadamente de 1 a 4, más adecuadamente 1 ó 2 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Los grupos heteroarilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener heteroátomo diferentes. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se  
20 define en el presente documento. Los grupos heteroarilo sin sistemas de anillo monocíclicos o son sistemas de anillo bicíclicos condensados. Los grupos heteroarilo monocíclicos tienen de 5 a 6 átomos miembros. Los grupos heteroarilo bicíclicos tienen de 8 a 10 átomos miembros. Los anillos heteroarilo bicíclicos incluyen aquellos anillos en los que el heteroarilo primario y el cicloalquilo  
25 monocíclico secundario, cicloalqueno, heterocicloalquilo, arilo o anillo heteroarilo están unidos, formando un sistema de anillos bicíclico condensado. Heteroarilo incluye, entre otros, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, furanilo, furazanilo, tienilo, triazolilo, piridinilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, triazinilo, tetrazinilo, tetrazolilo, indolilo, isoindolilo, indolizínilo, indazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, pteridinilo, cinnolinilo, benzoimidazolilo, benzopirranilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzotienilo, furopiridinilo, naftiridinilo, pirazolopiridilo, pirazolopirimidinilo, 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pirimidinilo y 3H-  
35 [1,2,3]triazolo[4,5-b]piridinilo.

**"Heteroátomo"** se refiere a un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno.

**"Heterocicloalquilo"** se refiere a un anillo saturado o insaturado que contiene de 1 a 4 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Los anillos heterocicloalquilo no son aromáticos. Los grupos heterocicloalquilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener heteroátomos diferentes. Los grupos heterocicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento. Los grupos heterocicloalquilo son sistemas de anillos monocíclicos o son sistemas de anillo condensados, espiro o bicíclicos puenteados. Los anillos heterocicloalquilo monocíclico tienen de 4 a 7 átomos miembros. Los anillos heterocicloalquilo bicíclicos tienen de 7 a 11 átomos miembros. En ciertas realizaciones, el heterocicloalquilo está saturado. En otras realizaciones, el heterocicloalquilo está insaturado, pero no es aromático. El heterocicloalquilo incluye, entre otros, pirrolidinilo, tetrahidrofuranoílo, dihidrofuranilo, piranilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidrotienilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, homopiperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiamorfolinilo, 1-pirazolidinilo, azepinilo, 1,3-dioxanilo, 1,4-dioxanilo, 1,3-oxatolanilo, 1,3-ditianilo, azetidino, isoxazolidinilo, 3-azabicyclo[3,1,0]hexilo, azabicyclo[3,2,1]octilo, azabicyclo[3,3,1]nonilo, azabicyclo[4,3,0]nonilo, 2,5-diazabicyclo[2,2,1]heptanilo, octahidropirrol[1,2-a]pirazinilo, octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazinilo, oxabicyclo[2,2,1]heptilo, hexahidro-1H-azepinilo, 2,3,4,7-tetrahidro-1H-azepinilo, tetrahidro-5H-[1,3]dioxolo[4,5-c]pirrolilo, tetrahidro-1H-furo[3,4-c]pirrol-(3H)-ilo, hexahidropirrol[1,2-a]pirazin-(1H)-ilo, octahidropirazino[1,2-a]azepin-(1H)-ilo, hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-(1H)-ilo, hexahidropirrol[3,4-c]pirrol-(1H)-ilo, 10-oxa-4-azatriciclo[5,2,1,0<sup>2,6</sup>]decilo, octahidro-1(2H)-quinoxalinilo; octahidro-1H-ciclopenta[b]pirazinilo, hexahidrofuro[3,4-b]pirazin-(2H)-ilo, octahidro-6H-pirrol[3,4-b]piridinilo, 4,7-diazaespiro[2,5]octilo y 5-azaespiro[2,4]heptilo.

**"Átomos miembros"** se refiere al átomo o átomos que forman la cadena o anillo. Cuando más de un átomo miembro está presente en una cadena y dentro de un anillo, cada átomo miembro está enlazado covalentemente a un átomo miembro adyacente en la cadena o ring. Los átomos que constituyen un grupo sustituyente en una cadena o anillo no son átomos miembros en la cadena o ring.

**"Opcionalmente sustituido"** indica que un grupo, tal como alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicloalquilo o

heteroarilo, puede estar sin sustituir, o el grupo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento.

5       **"Farmacéuticamente aceptable"** se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con tejidos de seres humanos o animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, coherente con una proporción beneficio/riesgo razonable.

10       **"Sustituido"**, en referencia a un grupo, indica que uno o más átomos de hidrógeno unidos a un átomo miembro dentro del grupo está reemplazado por un sustituyente seleccionado entre el grupo de sustituyentes definido. Debe entenderse que el término "sustituido" incluye la condición explícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y del sustituyente, y de que la sustitución de como resultado un compuesto estable (es decir, uno que no experimente espontáneamente transformación, tal como por

15       hidrólisis, reordenamiento, ciclación o eliminación, y que sea lo suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento de una mezcla de reacción). Cuando se indica que un grupo puede contener uno o más sustituyentes, uno o más (según sea adecuado) átomos miembros dentro del grupo pueden estar sustituidos. Además, un sólo átomo miembro dentro del grupo puede estar sustituido con más

20       de un sustituyente, siempre y cuando dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo. En el presente documento, se definen sustituyentes adecuados para cada grupos sustituido u opcionalmente sustituido.

**"Sulfanilo"** se refiere a un resto alquilo acoplado a través de puente de azufre (es decir, grupo -S-alquilo C1-C6, en el que alquilo C1-C6 es como se define en el presente documento). Los ejemplos de grupos sulfanilo incluyen

25       tiometilo y tioetilo.

      Para evitar dudas, los siguientes términos se usan generalmente de forma intercambiable, con sinónimos en el presente documento o cualquier variación de los mismos: Forma polimórfica 1 ó 2 de una sal de compuesto de la presente invención, Forma 1 ó 2 polimórfica de sal de Compuesto, Forma 1 ó 2 de sal de

30       compuesto y similares. Por ejemplo, los siguientes términos para describir compuestos específicos de la presente invención se usan de forma intercambiable, con sinónimos o cualquier variación de los mismos:

      con respecto a:



- La Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;
- La Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;
- La Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida; o
- La Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida; y similar; y/o

con respecto a:

- La Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;
- La Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;
- La Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;o
- La Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida; y similares.

### **ENANTIÓMEROS, DIASTEREÓMEROS Y POLIMORFOS**

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden contener uno o más centros asimétricos (también denominados un centro quiral) y pueden, por tanto, existir como enantiómeros individuales, diastereómeros u otras formas estereoisoméricas, o como mezclas de las mismas.

Centros quirales, tales como átomos de carbono quirales, también pueden estar presentes en un sustituyente, tal como un grupo alquilo. Cuando la

esteroquímica de un centro quiral presente en la Fórmula I, o en cualquier estructura química representada en el presente documento, no se especifica, la estructura pretende incluir todos los estereoisómeros individuales y todas las mezclas de los mismos.

5           Por lo tanto, compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que contienen uno o más centros quirales pueden usarse como mezclas racémicas, mezclas diastereoméricas, mezclas enantioméricamente enriquecidas, mezclas diastereoméricamente enriquecidas, o como estereoisómeros individuales enantioméricamente o  
10       diastereoméricamente puros.

          Los estereoisómeros individuales de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que contienen uno o más centros asimétricos pueden resolverse por métodos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, dicha resolución puede realizarse (1) por  
15       formación de sales diastereoméricas, complejo u otros derivados; (2) por reacción selectiva con un reactivo específico estereoisomérico, por ejemplo, por oxidación o reducción enzimáticas; o (3) por cromatografía gas-líquido o líquida en un ambiente quiral, por ejemplo, en un soporte quiral, tal como sílice con un ligando quiral enlazado o en presencia de un disolvente quiral. El experto en la materia  
20       apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en una sal diastereomérica, complejo o derivado, se requiera una etapa adicional para liberar la forma deseada. Como alternativa, pueden sintetizarse estereoisómeros específicos por síntesis asimétrica usando reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores o disolventes, o por conversión de un enantiómero en  
25       otro mediante transformación asimétrica.

          Cuando un compuesto desvelado o su sal se nombra o representa por una estructura, debe entenderse que el compuesto o sal, incluyendo solvatos (particularmente, hidratos) del mismo, pueden existir en formas cristalinas, formas no cristalinas o una mezcla de las mismas. El compuesto o sal, o solvatos  
30       (particularmente, hidratos) de los mismo, también pueden exhibir polimorfismo (es decir, la capacidad de aparecer en formas cristalinas diferentes). Estas formas cristalinas diferentes se conocen típicamente como "polimorfos".

          A la luz de esto, formas de sal de la presente invención (es decir, que pueden incluir polimorfos diferentes, formas anhidras, solvatos o hidratos de los  
35       mismos) pueden mostrar un polimorfismo característico. Como se conoce de forma

convencional en la técnica, se define polimorfismo como la capacidad de un compuesto de cristalizarse como más de una especie cristalina o "polimórfica" distinta. Un polimorfo se define como una fase cristalina sólida de un compuesto con al menos dos ordenamientos o formas polimórficas diferentes de dicha molécula de compuesto en el estado sólido.

Las formas polimórficas de cualquier compuesto dado, incluyendo las de la presente invención, se definen por la misma fórmula química o composición y tienen una estructura química tan diferente como estructuras cristalinas de dos compuestos químicos diferentes. Dichos compuestos pueden diferenciarse en el empaquetamiento, distribución geométrica de redes cristalinas respectivas, etc.

Debe apreciarse que cuando se nombran o se presentan por una estructura, los compuestos desvelados o solvatos (particularmente, hidratos) de los mismos, también incluyen todos los polimorfos de los mismos. Los polimorfos tienen la misma composición química pero se diferencian en el empaquetamiento, distribución geométrica y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino.

A la luz de lo anterior, las propiedades o características químicas y/o físicas varían con cada forma polimórfica distinta, pudiendo incluir variaciones en solubilidad, punto de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, presión de vapor, estabilidad, etc.

También pueden formarse solvatos y/o hidratos de formas de sal cristalinas de la presente invención cuando se incorporan moléculas de disolvente en la estructura de la red cristalina de la molécula de compuesto durante el proceso de cristalización. Por ejemplo, formas de solvato de la presente invención pueden incorporar disolventes no acuosos, tales como metanol y similares como se describe más adelante en el presente documento. Las formas hidrato son formas solvato, que incorporan agua como un disolvente en una red cristalina.

Anhidro, con respecto al polimorfismo de estado sólido se refiere a una estructura cristalina que no contiene ningún disolvente cristalino repetido en la red. Sin embargo, los materiales cristalinos pueden ser porosos y pueden mostrar adsorción superficial reversible de agua

Por ejemplo:

- La Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida es un polimorfo, cristalino

anhidro de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

5 La Forma 1 Polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida mencionada anteriormente puede adsorber de forma reversible hasta 0,4% (p/p) de agua lábil hasta 70% de humedad relativa, punto en el que se licua.; y

10

- La Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida es un polimorfo, cristalino anhidro de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

15

La Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida puede adsorber de forma reversible hasta 2% (p/p) de agua lábil hasta 95% de humedad relativa.

20

A la luz de ello, pueden existir nuevos compuestos de sal de la presente invención como formas anhidras cristalinas o anhidratos cristalinos, formas hidratadas (es decir formas de hidrato, son formas de solvato, que incorporan agua como un disolvente en una red cristalina) o mezclas de los mismos.

25

En un aspecto, la Forma 1 de metanosulfonato de (ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida del compuesto puede existir como una forma anhidrato cristalina o una forma anhidra, un hidrato o una mezcla de las mismas.

30

En otro aspecto, la Forma 2 de metanosulfonato de (ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida del compuesto puede existir

como un anhidrato cristalino o forma anhidra cristalina, un hidrato o una mezcla de las mismas.

Por lo tanto, los polimorfos pueden tener propiedades físicas diferentes, tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de disolución. Típicamente, los polimorfos exhiben diferentes puntos de fusión, espectros IR y patrones de difracción de polvo de rayos-X, que pueden usarse para su identificación. Un experto en la materia apreciará que pueden producirse polimorfos diferentes, por ejemplo, cambiando o ajustando las condiciones usadas en la cristalización/recristalización del compuesto.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, también pueden contener dobles enlaces u otros centros de asimetría geométrica. Cuando la estereoquímica de un centro de asimetría geométrica presente en la Fórmula I, o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, no se especifica, la estructura pretende incluir el isómero geométrico trans (E), el isómero geométrico cis (Z) y todas las mezclas de los mismos. De forma análoga, todas las formas tautoméricas también se incluyen en la Fórmula I, tanto si dichos tautómeros existen en equilibrio como predominantemente en una forma.

El experto apreciará adicionalmente que ciertos compuestos de la invención que existen en forma cristalina, incluyendo los diversos solvatos de los mismos, pueden exhibir polimorfismo (es decir, la capacidad de aparecer en estructuras cristalinas diferentes). Estas formas cristalinas diferentes se conocen típicamente como "polimorfos". La invención incluye todos estos polimorfos.

Los polimorfos tienen la misma composición química pero se diferencian en empaquetamiento, distribución geométrica y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Por lo tanto, los polimorfos pueden tener diferentes propiedades físicas, tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de disolución.

De acuerdo con la presente invención, las diversas formas (es decir, que pueden incluir, pero sin limitación formas polimórficas, de sal, solvato, anhidrato, hidrato, cristalinas, etc.) de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (es decir, que incluyen sales y/o solvatos de los mismos) se distinguen entre sí usando técnicas de caracterización o identificación diferentes. Dichas técnicas incluyen Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup>C de

estado sólido (RMN), Resonancia Magnética Nuclear de  $^{31}\text{P}$  (RMN), Infrarrojos (IR), Raman, difracción de polvo de rayos X, etc., y/u otras técnicas, tal Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) (es decir, que mide la cantidad de energía (calor) absorbida o liberada por una muestra según ésta se calienta, enfría o mantiene a temperatura constante). Por ejemplo, los polimorfos exhiben típicamente diferentes puntos de fusión, espectros IR y patrones de difracción de polvo de rayos-X, que pueden usarse para su identificación.

El experto apreciará que pueden producirse polimorfos diferentes, por ejemplo, cambiando o ajustando las condiciones de reacción o reactivos usados en la preparación del compuesto, o usando procedimientos de aislamiento o purificación distintos. Por ejemplo, cambios en la temperatura, presión o disolvente pueden resultar en polimorfos. Además, un polimorfo puede convertirse espontáneamente en otro polimorfo en determinadas.

Como se sabe, el estado cristalino de un compuesto puede describirse por varios parámetros cristalográficos: dimensión de la celdilla unidad, grupos espaciales y posición atómicas de los átomos en el compuesto en relación al origen de su celdilla unidad. Estos parámetros se determinan experimentalmente mediante análisis de rayos X del cristal. Es posible que un compuesto forme más de un tipo de cristal. Estas formas cristalinas diferentes se llaman polimorfos.

Las posiciones de pico del patrón de difracción de rayos X de polvo características se indican para polimorfos en términos de las posiciones angulares (dos theta) con una variabilidad admisible, de general y aproximadamente  $0,1 \pm 2^\circ$ -theta o  $0,1 \pm 3^\circ$ -theta. Todo el patrón, o la mayoría de los picos del patrón pueden desplazarse  $0,1 \pm$  debido a diferencias en la calibración, ajustes y otras variaciones de instrumento a instrumento y de operario a operario.

Específicamente, las siguientes formas farmacéuticamente aceptables de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida o sales farmacéuticamente aceptables de la misma se muestran sustancialmente por los datos descritos en las Figuras 1 a 20:

- Formas 1 y 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida;

- dimetanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (o, es decir, también se identifica como dimesilato [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida); y
- canforsulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

10

Por ejemplo, la Forma 1 cristalina de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se identifica por:

- un Espectro de <sup>1</sup>H RMN y <sup>13</sup>C RMN, respectivamente, de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-*d*<sub>6</sub> (véanse Figuras 1 y 2, respectivamente, y Tablas 1 y 2, respectivamente);
- un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos X de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato (véanse Tabla 3 y Figura 3);

20

un patrón de difracción de rayos X sustancialmente como se muestra en la Figura 3, que representa picos característicos de 0° grados 2-theta (2θ) a 55° grados 2-theta (2θ) a aproximadamente 5,3 ± 0,3 (2θ), 9,7 ± 0,3 (2θ), 10,8 ± 0,3 (2θ), 11,4 ± 0,3 (2θ), 13,5 ± 0,3 (2θ), 14,9 ± 0,3 (2θ), 17,8 ± 0,3 (2θ), 18,9 ± 0,3 (2θ), 21,2 ± 0,3 (2θ) y 2,1 ± 0,3 (2θ) (véase, Ejemplo 6: Forma 1);

25

- un espectro de ATR-IR de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véanse Figura 4 y Tabla 4);

30

- una Calorimetría de Exploración Diferencial de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-

35

hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase Figura 5);

- un análisis termogravimétrico de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase Figura 6); y
- un Espectro de Resonancia Magnética nuclear de Estado Sólido de  $^{13}\text{C}$  RMN y  $^{19}\text{F}$  de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véanse Figuras 12 y 13).

Por ejemplo, la Forma 2 cristalina de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se identifica por:

- un Espectro de ATR-IR de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véanse Figura 14 y Tabla 7);
- un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véanse Figura 15 y Tabla 8);

un patrón de difracción de rayos X sustancialmente como se muestra en la Figura 15, que representa picos característicos de  $0^\circ$  grados 2-theta ( $2\theta$ ) a  $55^\circ$  grados 2-theta ( $2\theta$ ) a aproximadamente  $5,5 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $9,3 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $9,7 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $10,8 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $13,6 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $14,5 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $15,0 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $16,2 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ),  $17,8 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ) y  $19,6 \pm 0,3$  ( $2\theta$ ) (véase, Ejemplo 11: Forma 2)

- un Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véanse Figuras 16);
- un Espectro de Estado Sólido de  $^{13}\text{C}$  RMN y  $^{19}\text{F}$ , respectivamente, de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-



[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida 2 (véanse, Figuras 17 y 18); y

- Figura 20: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

Por ejemplo, se identifica dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida cristalino por:

- un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase, Figura 7);
- una Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase, Figura 8); y
- un Análisis Termogravimétrico (TGA) de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase Figura 9).

Por ejemplo, se identifica canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida cristalino por:

- un Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de 1:1 canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase Figura 10); y
- una Calorimetría de Exploración Diferencial de canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (véase Figura 11).

**Sales**

En ciertas realizaciones, compuestos de acuerdo con la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden contener un grupo funcional ácido. En determinadas realizaciones diferentes, compuestos de acuerdo con la Fórmula I pueden contener un grupo funcional básico. Por lo tanto, el experto apreciará que pueden prepararse sales de los compuestos de acuerdo con la Fórmula I. De hecho, en ciertas realizaciones de la invención, pueden preferirse sales de los compuestos de acuerdo con la Fórmula I sobre la base libre o ácido libre respectivo porque, por ejemplo, dichas sales pueden conferir mayor estabilidad o solubilidad a la molécula, facilitando así la formulación en una forma de dosificación.

Debido a su uso potencial en medicina, las sales de los compuestos de Formula (I) son adecuadamente, sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen las que se describe por Berge, Bighley y Monkhouse J.Pharm.Sci (1977) 66, pp 1-19.

Cuando un compuesto de la invención es una base (contiene un resto básico), puede prepararse una forma de sal deseada por cualquier método adecuado en la técnica, incluyendo tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, alfa-hidroxi ácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico, aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, ácido aromático, tal como ácido benzoico o ácido cinnámico, ácido sulfónico, tal como ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico o similares. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butin-1,4-dioatos, hexin-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutratos, citratos,

lactatos,  $\gamma$ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos, mandelatos y sulfonatos, tales como xilenosulfonatos, metanosulfonatos, propanosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos y naftaleno-2-sulfonatos.

**Sales de bases:** Las sales de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como las de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos, tales como las de calcio y magnesio, y sales con bases orgánicas, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitclohexilamina y N-metil-D-glucamina.

Si un compuesto básico de la invención se aísla en forma de una sal, la forma de base libre correspondiente de dicho compuesto puede prepararse por cualquier método adecuado conocido en la materia, incluyendo tratamiento de la sal con una base inorgánica u orgánica, adecuadamente una base inorgánica u orgánica que tiene un  $pK_a$  superior que la forma de base libre del compuesto.

**Sales de ácido:** Se forman sales de adición de bases adecuadas a partir de ácidos que forman sales no tóxicas y son ejemplos hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, nitrato, fosfato, hidrogenofosfato, acetato, maleato, malato, fumarato, malonato, lactato, tartrato, citrato, formiato, gluconato, succinato, piruvato, oxalato, oxaloacetato, trifluoroacetato, sacarato, benzoato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, metanosulfónico, etanosulfónico, p-toluenosulfónico e isetionato.

Determinados compuestos de la presente invención pueden formar sales con uno o más equivalentes de un ácido (si el compuesto contiene un resto básico) o una base (si el compuesto contiene un resto ácido). La presente invención incluye dentro de su alcance todas las formas de sal estequiométricas y no estequiométricas posibles.

Cuando un compuesto de la invención es un ácido (contiene un resto ácido), puede prepararse una sal deseada por cualquier método adecuado conocido en la materia, incluyendo tratamiento del ácido libre con una base inorgánica u orgánica, tal como una amina (primaria, secundaria o terciaria), un hidróxido de un metal alcalino o alcalinotérreo, o similar. Los ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen sales orgánicas derivadas de aminoácidos, tales como glicina y arginina, amoniaco, aminas primarias, secundarias y terciarias, y aminas cíclicas, tales como etileno diamina, dicitclohexilamina, etanolamina, piperidina, morfolina y piperazina, así como sales inorgánicas obtenidas a partir

de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, cinc, aluminio y litio.

Debido a que los compuestos de esta invención pueden contener resto de ácido y de base, pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables  
5 tratando estos compuestos con un reactivo alcalino o un reactivo ácido, respectivamente. Por consiguiente, esta invención también proporciona para la conversión de una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de esta invención, por ejemplo, una sal hidrocloreto, en otra sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de esta invención, por ejemplo, una sal de sodio.

10 Como se usa en la presente memoria, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto objeto y muestran efectos toxicológicos indeseados mínimos. Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación finales del compuesto, o  
15 por separado, haciendo reaccionar el compuesto purificado en su forma de ácido libre o base libre con una base o ácido adecuado, respectivamente.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "compuestos de la invención" significa, tanto los compuestos de acuerdo con la Fórmula I como sales de los mismos, incluyendo sales farmacéuticamente aceptables. La  
20 expresión "un compuesto de la invención" también aparece en el presente documento y se refiere tanto a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I como a sus sales, incluyendo sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la invención pueden existir en forma sólida o líquida. En el estado sólido, los compuestos de la invención pueden existir en forma  
25 cristalina o no cristalina, o como una mezcla de las mismas. Para compuestos de la invención que están en forma cristalina, el experto apreciará que pueden formarse solvatos farmacéuticamente aceptables en los que las moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden implicar disolventes no acuosos, tales como etanol, isopropanol, DMSO,  
30 ácido acético, etanolamina y acetato de etilo, o pueden implicar agua como disolvente que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en los que el disolvente es agua que se incorpora en la red cristalina se denominan típicamente "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de de agua. La invención  
35 incluye todos estos solvatos.

### **SOLVATOS**

Para solvatos de los compuestos de la invención, o sales de los mismos, que están en forma cristalina, el experto apreciará pueden formarse solvatos farmacéuticamente aceptables, en los que las moléculas de disolventes se incorporan en la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden implicar disolventes no acuosos, tales como etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina y acetato de etilo, o pueden implicar agua como disolvente que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en los que el disolvente es agua que se incorpora en la red cristalina se denominan típicamente "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. La invención incluye todos estos solvatos.

### **COMPEUSTOS DEUTERADOS**

La invención también incluye diversas formas deuteradas de los compuestos de Formula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Cada átomo de hidrógeno disponible unido a un átomo de carbono puede estar reemplazado independientemente con un átomo de deuterio. Un experto en la materia sabrá cómo sintetizar formas deuteradas de los compuestos de Formulas (I) a (II) de la presente invención. Por ejemplo, materiales deuterados, tales como grupos alquilo, pueden prepararse por técnicas convencionales (véase, por ejemplo: metil- $d_3$ -amina disponible de Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, Cat. N° 489.689-2).

### **ISÓTOPOS**

La presente invención también incluye compuestos marcados isotópicamente que son idénticos a los enumerados en las Fórmulas (I) y (II) pero en los que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra más comúnmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor, yodo y cloro, tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{123}\text{I}$  o  $^{125}\text{I}$ .

Los compuestos de la presente invención y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que se han incorporado isótopos radiactivos, tales como  $^3\text{H}$  o  $^{14}\text{C}$ , son útiles en los ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Se prefieren particularmente isótopos tritados, es decir,  $^3\text{H}$ , y de carbono-14, es decir,  $^{14}\text{C}$ , por su facilidad de preparación y detectabilidad. Los isótopos  $^{11}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$  son particularmente útiles en PET (tomografía de emisión de positrones).

### **PUREZA**

Puesto que los compuestos de la presente invención están hechos expresamente para su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que se proporcionan preferiblemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo al menos 60% puros, más adecuadamente, al menos 75% puros y preferiblemente, al menos 85%, especialmente al menos 98% puros (% se encuentran en peso). Pueden usarse preparaciones impuras de los compuestos para preparar las formas más puras usadas en las composiciones farmacéuticas.

### **ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS**

En la descripción de la invención, se identifican elementos químicos de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos. Las abreviaturas y símbolos utilizados están de acuerdo con el uso común de dichas abreviaturas y símbolos para los expertos en las técnicas químicas y biológicas. Específicamente, las siguientes abreviaturas pueden usarse en los ejemplos y a lo largo de la memoria descriptiva:

|    |                              |                                    |
|----|------------------------------|------------------------------------|
|    | g (gramos);                  | mg (miligramos);                   |
|    | kg (kilogramos);             | $\mu\text{g}$ (microgramos);       |
| 30 | l (litros);                  | ml (mililitros);                   |
|    | $\mu\text{l}$ (microlitros); | psi (libras por pulgada cuadrada); |
|    | M (molar);                   | mM (milimolar);                    |
|    | $\mu\text{M}$ (micromolar);  | nM (nanomolar);                    |
|    | pM (picomolar);              | nm (nanómetros);                   |
| 35 | mm (milímetros);             | p (peso);                          |

|    |                                                                                     |                                        |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
|    | N (Normal);                                                                         | CFU (unidades formadoras de            |
|    | colonias);                                                                          |                                        |
|    | I. V. (intravenoso);                                                                | Hz (Hertzio);                          |
|    | MHz (megahertzio);                                                                  | mol (moles);                           |
| 5  | mmol (milimoles);                                                                   | RT (temperatura ambiente);             |
|    | min (minutos);                                                                      | h (horas);                             |
|    | p.e. (punto de ebullición);                                                         | TLC (cromatografía de capa fina);      |
|    | T <sub>r</sub> (tiempo de retención);                                               | RP (fase inversa);                     |
|    | MeOH (metanol);                                                                     | <i>i</i> -PrOH (isopropanol);          |
| 10 | TEA (triethylamina);                                                                | TFA (ácido trifluoroacético);          |
|    | TFAA (anhídrido trifluoroacético);                                                  | THF (tetrahidrofurano);                |
|    | DMSO (dimetilsulfóxido);                                                            | EtOAc (acetato de etilo);              |
|    | DME (1,2-dimetoxietano);                                                            | DCM (diclorometano);                   |
|    | DCE (dicloroetano);                                                                 | DMF ( <i>N,N</i> -dimetilformamida);   |
| 15 | DMPU ( <i>N,N'</i> -dimetilpropilenourea);                                          | CDI (1,1-carbonildiimidazol);          |
|    | IBCF (cloroformiato de isobutilo);                                                  | AcOH (ácido acético);                  |
|    | HOAt (1-hidroxí-7-azabenzotriazol);                                                 |                                        |
|    | THP (tetrahidropirano);                                                             | NMM ( <i>N</i> -metilmorfolina);       |
|    | Pd/C (Paladio sobre Carbono);                                                       | MTBE ( <i>tert</i> -butil metil éter); |
| 20 | HOBT (1-hidroxibenzotriazol);                                                       | mCPBA (ácido meta-                     |
|    | cloroperbenzoico);                                                                  |                                        |
|    | EDC (hidrocloruro de 1-[3-dimetilamino]propil]-3-etilcarbodiimida);                 |                                        |
|    | Boc ( <i>tert</i> -butiloxycarbonilo);                                              | Fmoc (9-fluorenilmetoxycarbonilo);     |
|    | DCC (diciohexilcarbodiimida);                                                       | CBZ (benciloxycarbonilo);              |
| 25 | Ac (acetilo);                                                                       | atm (atmósfera);                       |
|    | TMSE (2-(trimetilsilil)etilo);                                                      | TMS (trimetilsililo);                  |
|    | TIPS (triisopropilsililo);                                                          | TBS ( <i>t</i> -butildimetilsililo);   |
|    | DMAP (4-dimetilaminopiridina);                                                      | BSA (albúmina de suero bovino)         |
|    | NAD (dinucleótido de adenin nicotinamida);                                          |                                        |
| 30 | HPLC (cromatografía líquida de alta presión);                                       |                                        |
|    | LC/MS (cromatografía líquida/espectrometría de masas);                              |                                        |
|    | BOP (cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico);                                   |                                        |
|    | TBAF (fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio);                                    |                                        |
|    | HBTU(hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio). |                                        |
| 35 | HEPES (4-(2-hidroxietil)-1-piperazina del ácido etanosulfónico);                    |                                        |

DPPA (difenilfosforil azida); LAH (hidruro de litio y aluminio);  
fHNO<sub>3</sub> (HNO<sub>3</sub> fumante); NaOMe (metóxido sódico);  
EDTA (ácido etilendiamintetraacético);  
TMEDA (N,N,N',N'-tetrametil-1,2-etanodiamina);  
5 NBS (N-bromosuccinimida); DIPEA (diisopropiletilamina);  
dppf (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno); y  
NIS (N-yodsuccinimida).

Todas las referencias a éter son para éter dietílico, y salmuera se refiere a una solución acuosa saturada de NaCl.

10

### **ESQUEMAS SINTÉTICOS Y MÉTODOS GENERALES DE PREPARACIÓN**

La presente invención también se refiere a procesos para preparar compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 Los compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden obtenerse usando procedimientos sintéticos ilustrados más adelante en los Esquemas o haciendo uso del conocimiento de un experto en química orgánica.

Las síntesis proporcionadas en estos Esquemas son aplicables para la producción de compuestos de la invención que tienen una diversidad de grupos  
20 funcionales diferentes, empleando precursores adecuados, que se protegen adecuadamente si se necesita, para conseguir la compatibilidad con las reacciones indicadas en el presente documento. La desprotección posterior, cuando se necesita, proporciona compuestos de la índole desvelada de forma general. Aunque los Esquemas se muestran con compuestos, éstos son  
25 ilustrativos de procesos que pueden usarse para preparar los compuestos de la invención.

También pueden presentarse intermedios (compuestos usados en la preparación de los compuestos de la invención) en forma de sales. Por lo tanto, en referencia a los intermedios, la frase "compuesto o compuestos de fórmula  
30 (número)" se refiere a un compuesto que tiene esa fórmula estructura o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también se refiere a procesos para preparar compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos de acuerdo con las Fórmulas (I) a (II), respectivamente,



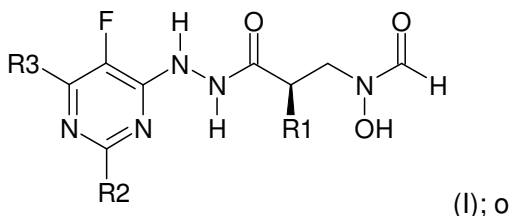
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se preparan usando síntesis orgánicas convencionales.

Los compuestos de la presente invención pueden obtenerse usando procedimientos sintéticos ilustrados a continuación en los Esquemas o haciendo uso del conocimiento de un experto en química orgánica.

A continuación, se representan rutas adecuadas en los siguientes esquemas de reacción generales.

### **PREPARACIÓN DE COMPUESTO**

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula I:

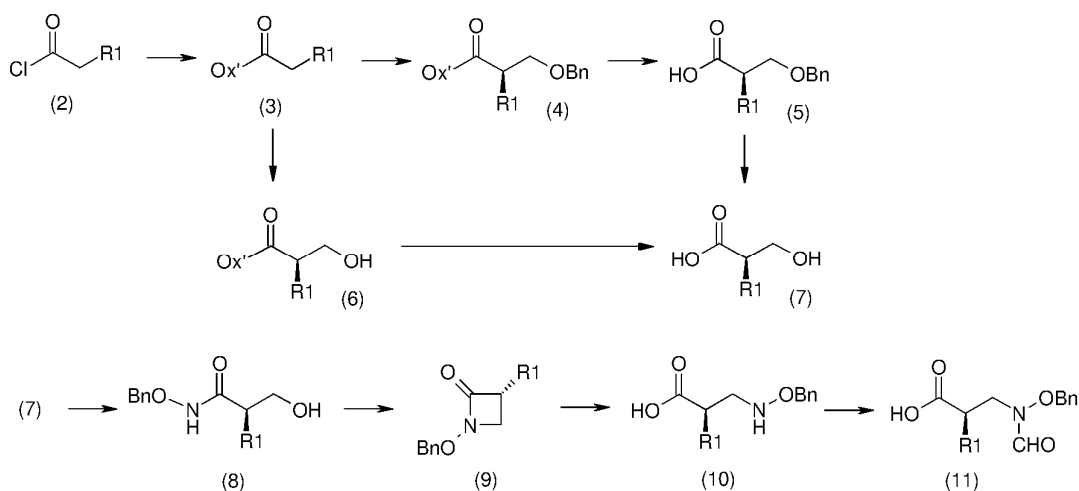


sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se preparan usando síntesis orgánicas convencionales. A continuación, se representan rutas sintéticas adecuadas en los siguientes esquemas de reacción generales.

El experto apreciará que si un sustituyente descrito en el presente documento no es compatible con los métodos sintéticos descritos en el presente documento, el sustituyente puede protegerse con un grupo protector adecuado que sea estable a las condiciones de reacción. El grupo protector puede retirarse en un punto adecuado en la secuencia de reacción para proporcionar un intermedio deseado o compuesto diana. Los grupos protectores adecuados y los métodos para proteger y desproteger diferentes sustituyentes usando dichos grupos protectores adecuados son bien conocidos para los expertos en la materia; pueden encontrarse ejemplos de los mismos en T. Greene y P. Wuts, Protecting Groups in Chemical Synthesis (3ª ed.), John Wiley & Sons, NY (1999).

En algunos casos, un sustituyente puede seleccionarse específicamente para que sea reactivo en las condiciones de reacción usadas. En estas circunstancias, las condiciones de reacción convierten el sustituyente seleccionado en otro sustituyente que sea útil como un compuesto intermedio o sea un sustituyente deseado en un compuesto diana.

### **Esquema 1**

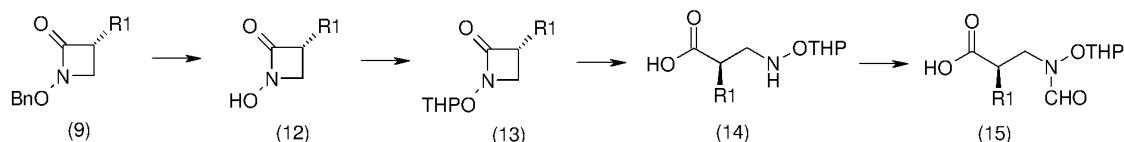


Como se muestra en el Esquema 1, (11) puede prepararse haciendo reaccionar un cloruro de ácido (2) adecuado con un agente quiral, tal como (S)-(-)-4-bencil-2-oxazolidinona (oxazolidinona quiral de Evans), en presencia de una base, tal como n-butilitio, para proporcionar el intermedio quiral (3). El tratamiento del compuesto (3) con una base, tal como diisopropiletilamina, en presencia de un agente quelante, tal como tetracloruro de titanio, en un disolvente, tal como tetrahidrofurano, seguido de la adición de un electrófilo, tal como cloruro de benciloximetilo, proporciona el compuesto (4). La conversión del compuesto (4) en el hidroxiácido correspondiente (7) puede conseguirse mediante una secuencia que comprende escisión oxidativa de la oxazolidinona quiral, usando, por ejemplo  $\text{H}_2\text{O}_2$  e hidróxido de litio, para dar el intermedio respectivo (5), seguido de hidrogenólisis, para proporcionar el intermedio (7). El compuesto (3) también puede convertirse en el intermedio (7) en un procedimiento en dos etapas alternativo. Para esta transformación, (3) puede tratarse con una base, tal como diisopropiletilamina, en presencia de un agente quelante, tal como tetracloruro de titanio, en un disolvente, tal como tetrahidrofurano, seguido de la adición de trioxano o un formaldehído equivalente alternativo adecuado para proporcionar el compuesto (6), que después se somete a escisión oxidativa de la oxazolidinona quiral, usando, por ejemplo  $\text{H}_2\text{O}_2$  e hidróxido de litio, para dar el ácido respectivo (7).

El acoplamiento de del ácido (7) con benciloxiamina en presencia de agentes de acoplamiento, tales como EDC y DMAP, produce la amida (8). Ésta puede ciclarse para dar la azetidin-2-ona (9) usando condiciones de Mitsunobu. La hidrólisis de la azetidin-2-ona (9), usando por ejemplo hidróxido de litio, en un disolvente apropiado, da el ácido correspondiente (10). La conversión del

compuesto (10) en el producto (11) puede conseguirse usando un agente de formilación adecuado, tal como ácido/anhídrido fórmico acético o formiato de metilo, en reactivos puros o en un disolvente apropiado, tal como diclorometano.

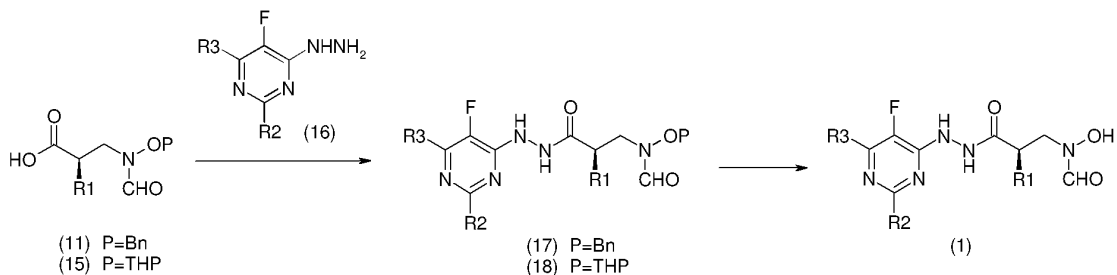
## 5 Esquema 2



Como se muestra en el Esquema 2, el intermedio protegido con THP (15) puede prepararse por hidrogenación de la azetidina-2-ona (9) usando un catalizador, tal como Pd a 10%/C, en un disolvente apropiado, tal como etanol para proporcionar (12). El tratamiento de (12) con dihidropirano en catalizadores ácidos, tal como p-toluenosulfonato de piridinio, en un disolvente apropiado, tal como cloruro de metileno, proporciona la azetidina-2-ona protegida con THP (13). La hidrólisis de la azetidina-2-ona (13), usando, por ejemplo, hidróxido de litio en un disolvente apropiado, da el ácido correspondiente (14). La conversión del compuesto (14) en el producto (15) puede conseguirse usando un agente de formilación adecuado, tal como ácido fórmico /anhídrido acético o formiato de metilo, en reactivos puros o en un disolvente adecuado, tal como diclorometano. La conversión del compuesto (14) en el producto (15) también puede completarse usando 5-metil-2-tioxo-[1,3,4]tiadiazol-3-carbaldehído (Yazawa, Hisatoyo; Goto, Shunsuke; Tetrahedron Lett. 26; 31; 1985; 3703-3706) como agente de formilación en un disolvente apropiado, tal como acetona.

El Intermedio (15) también puede prepararse de acuerdo con procedimientos bibliográficas [Bracken, Bushell, Dean, Francavilla, Jain, Lee, Seepersaud, Shu, Sundram, Yuan; PCT Int. Appl. (2006), WO 2006127576 A2].

## Esquema 3

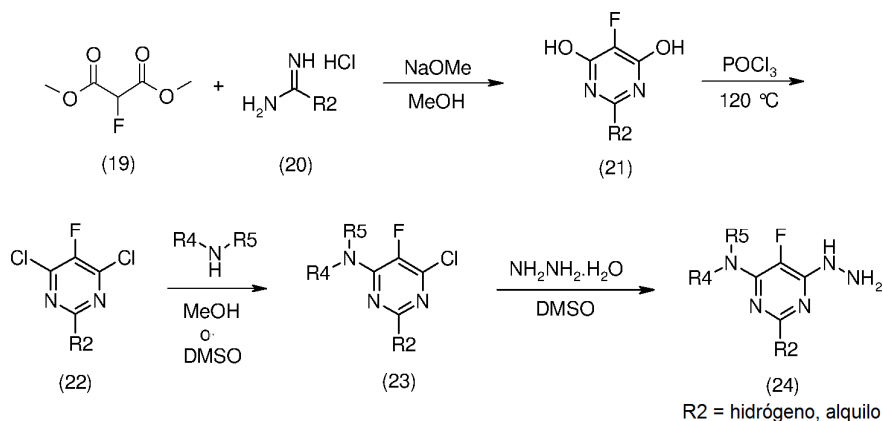


Como se muestra en el Esquema 3, el acoplamiento del ácido quiral (11 o 15) con la pirimidinil hidrazina (16, R2 = alquilo, halo, H), usando condiciones, tales como EDC-HOAt-NMM, proporciona la hidrazida (17 o 18). La desprotección final (hidrogenólisis, usando un catalizador, tal como Pd a 10%/C, en un disolvente apropiado, tal como etanol, en el caso de que P sea Bn; el tratamiento con ácido acético a 80%-agua a temperatura ambiente o 40 °C en el caso de que P sea THP) da los compuestos finales deseados (1), en los que R2 = alquilo, halo, H.

Las hidrazonas de la estructura general (16) pueden prepararse de acuerdo con procedimientos bibliográficos por los expertos en la materia. Los siguientes ejemplos de estructuras específicas de las hidrazinas (16) y los métodos sintéticos usando para generarlos son meramente ilustrativos y no deben interpretarse como una limitación del alcance de la presente invención.

Las hidrazinas (24), cuando R2 es alquilo y R3 es un grupo amino (R4R5N) pueden prepararse a partir de los precursores adecuados como se muestra en el Esquema 4.

#### Esquema 4



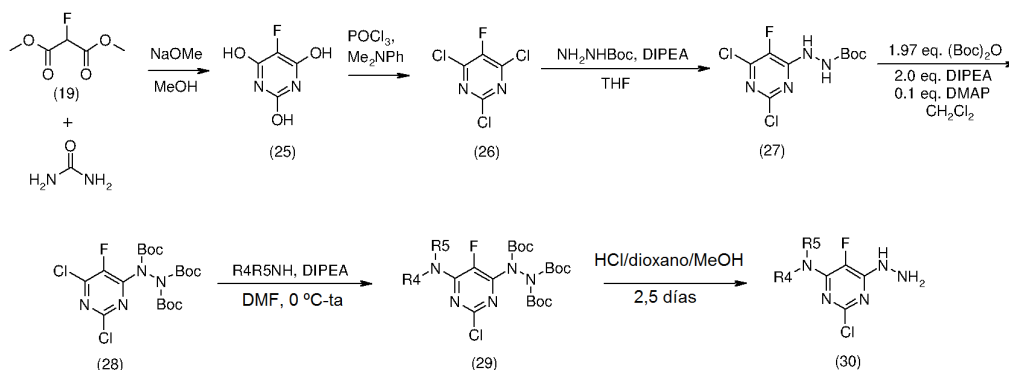
20

Como se muestra en el Esquema 4, la hidrazina (24) cuando R2 es hidrógeno o alquilo, puede prepararse a partir de la condensación de fluoromalonato disponible en el mercado (19) y la amidina adecuada (20) en condiciones básicas, para proporcionar la pirimidinona (21). Las amidinas (20) están disponibles en el mercado o pueden prepararse de acuerdo con procedimientos bibliográficos por los expertos en la materia. El tratamiento de la

pirimidinona (21) con  $\text{POCl}_3$ , proporciona la dicloropirimidina (22). El tratamiento de la dicloropirimidina (22) con la amina deseada  $\text{R}_4\text{R}_5\text{NH}$  a temperatura ambiente en un disolvente apropiado, tal como metanol o DMSO, seguido de tratamiento adicional con monohidrato de hidrazina, en un disolvente apropiado, tal como DMSO, normalmente con calentamiento, proporciona después el producto deseado (24) en el que  $\text{R}_2$  es hidrógeno o alquilo.

Las hidrazinas de fórmula (30) [(16) en la que  $\text{R}_2 = \text{cloro}$ ] puede prepararse como se muestra en los Esquemas 5 o 6.

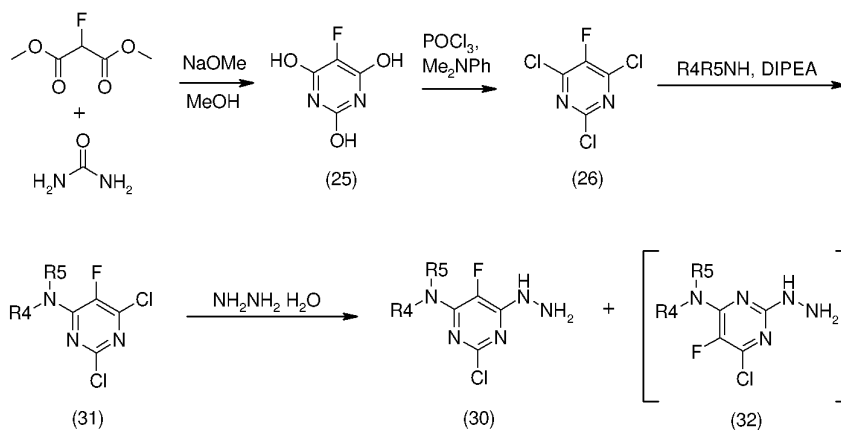
# 10 Esquema 5



La condensación del fluoromalonato disponible en el mercado (19) y urea, en condiciones básicas, proporciona la pirimidinona (25). El tratamiento de la pirimidinona (25) con  $\text{POCl}_3$  proporciona la tricloropirimidina (26). El tratamiento de la tricloropirimidina (26) con hidrazina protegida con Boc y diisopropiletilamina, a temperatura ambiente, en un disolvente apropiado, tal como THF, proporciona el intermedio (27). El tratamiento adicional con dicarbonato de di-*t*-butilo, en presencia de diisopropiletilamina y DMAP, en un disolvente apropiado, tal como cloruro de metileno, proporciona después el producto tri-protegido Boc (28) deseado. El tratamiento de (28) con la amina  $\text{R}_4\text{R}_5\text{NH}$ , en un disolvente apropiado, tal como DMF, proporciona la pirimidina (29) y la desprotección de (29) en condiciones ácidas, seguido de tratamiento básico, proporciona las hidrazinas deseadas (30).

Como alternativa, las hidrazinas de fórmula (30) pueden prepararse como se muestra en el Esquema 6.

# Esquema 6

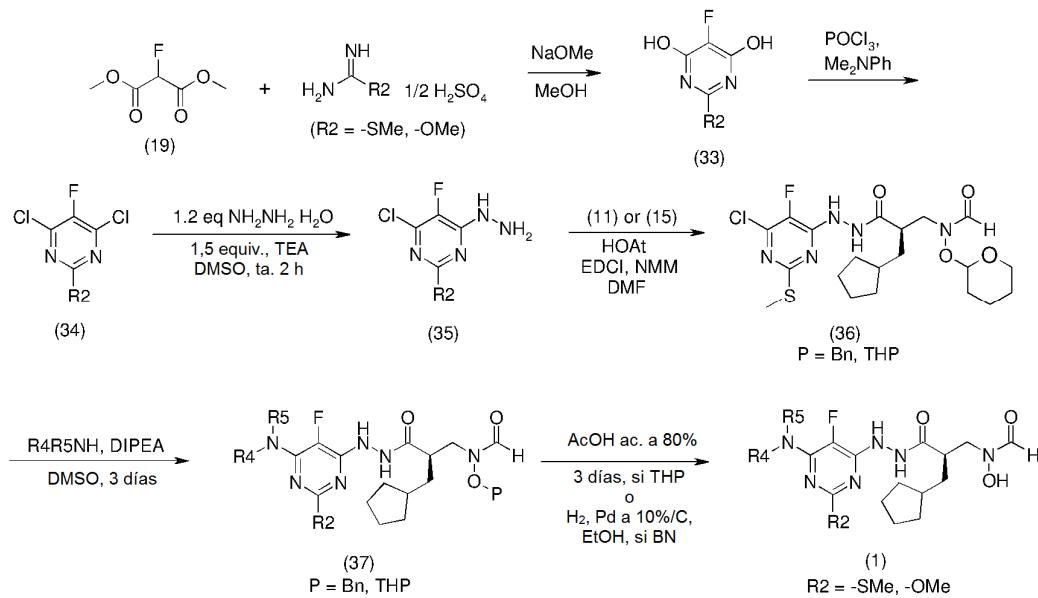


El tratamiento del tricloropirimidina (26) con la amina deseada R<sub>4</sub>R<sub>5</sub>NH a temperatura ambiente, en un disolvente apropiado, tal como DMSO, seguido de tratamiento adicional con monohidrato de hidrazina y calentamiento, proporciona el producto deseado (30), así como o el producto regioisomérico (32). Normalmente, los dos regioisómeros pueden separarse cromatográficamente, tal como por HPLC.

Los compuesto finales (1), en los que R<sub>2</sub> es tiometilo o metoxi, pueden prepararse como se muestra en el Esquema 7.

### Esquema

7



La condensación de fluoromalonato disponible en el mercado (19) y hemisulfato de O-metilisourea o hemisulfato de S-metilisotiourea, en condiciones básicas, proporciona la pirimidinona (33), en la que R2 es metoxi o tiometilo, respectivamente. El tratamiento de la pirimidinona (33) con POCl<sub>3</sub> proporciona la dicloropirimidina (34). El tratamiento de la dicloropirimidina (34) con monohidrato de hidrazina, en un disolvente apropiado, tal como metanol, proporciona la pirimidinilhidrazina (35), que después se acopla al ácido (11) o (15), usando condiciones, tales como EDC-HOAt-NMM, para proporcionar el intermedio (36). La adición de R4R5NH al intermedio (36) proporciona el producto O-Bn-protegido u O-THP-protegido (37). La desprotección final por hidrogenólisis usando un catalizador, tal como Pd a 10%/C, en un disolvente apropiado, tal como etanol, en el de caso de que P sea Bn; o tratamiento con ácido acético a 80%-agua a temperatura ambiente, o 40 °C en el caso de que P sea THP, da los compuestos finales deseados (1) cuando R2 es metoxi o tiometilo, respectivamente.

Las aminas R4R5NH pueden adquirirse de fuentes disponibles comercialmente, prepararse de acuerdo con procedimientos bibliográficos por los expertos en la materia, o prepararse como se describe en los ejemplo, en el presente documento.

## 20 **Composiciones farmacéuticas, Formas y Regímenes de Dosificación**

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden nuevos compuestos de Fórmula (I) o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, y al menos un excipiente (o excipientes) farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos adecuados para su uso en las composiciones farmacéuticas de la presente invención, pueden incluir, pero sin limitación:

- [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil] hidroxiformamida metanosulfonato Formas 1 y 2;
- [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil] hidroxiformamida dimetanosulfonato de (o, es decir, también se identifica como [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-

hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimesilato); o

- 5 - [(2R)-2-(Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida canforsulfonato.

10 Normalmente, aunque no necesariamente, antes de administrar a un paciente los compuestos de la invención, estos se formularán en composiciones farmacéuticas.

Por consiguiente, en otro aspecto, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas de la presente invención que comprenden un compuesto de Fórmula (I) o sales del mismo farmacéuticamente aceptables y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En particular, la presente invención también pueden 15 referirse a una composición o formulación farmacéutica, que comprenda un compuesto, como se define por la Fórmula (I), o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y al menos un excipiente (o excipientes) farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente uno o más ingredientes terapéuticos diferentes.

20 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse y envasarse a granel en la que puede extraerse una cantidad inocua y eficaz de un compuesto de la invención y después administrarse al paciente tal como con polvos o jarabes. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse y envasarse en forma de dosificación unitaria en la 25 que cada unidad físicamente individual contenga una cantidad inocua y eficaz de un compuesto de la invención. Cuando se preparan en forma de dosificación unitaria, las composiciones farmacéuticas de la invención contienen típicamente de 25 mg a 1,5 g, adecuadamente de 100 a 500 mg, del compuesto de la invención.

30 Las composiciones farmacéuticas de la invención contienen típicamente un compuesto de la invención. Sin embargo, en determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener más de un compuesto de la invención. Por ejemplo, en determinadas realizaciones las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener dos compuestos 35 de la invención. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención



también pueden comprender opcionalmente uno o más compuestos adicionales farmacéuticamente activos.

Como se usa en la presente memoria, "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un material, composición o vehículo, farmacéuticamente  
5 aceptable, que, está implicado, por ejemplo, en proporcionar forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cuando se mezclan, cada excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica, de tal manera que, cuando se administra a un paciente, se eviten las interacciones que pudieran reducir sustancialmente la eficacia del compuesto de  
10 la invención y las interacciones que pudieran producir composiciones farmacéuticas que no sean farmacéuticamente aceptables. Por supuesto, cada excipiente debe tener adicionalmente una pureza lo suficientemente alta como para que sea farmacéuticamente aceptable.

El compuesto de la invención y el excipiente, o excipientes, farmacéuticamente  
15 aceptables se formularán típicamente en una forma de dosificación adaptada para la administración al paciente mediante la vía de administración deseada. Por ejemplo, las formas de dosificación incluyen aquellas adaptadas para (1) administración oral tal como comprimidos, cápsulas, comprimidos encapsulados, píldoras, trociscos, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones,  
20 sobrecitos y obleas; (2) administración parenteral, tal como soluciones, suspensiones y polvos estériles para la reconstitución; (3) administración transdérmica tal como parches transdérmicos; (4) administración rectal tal como supositorios; (5) inhalación tal como polvos secos, aerosoles, suspensiones y soluciones y (6) administración tópica tal como cremas, pomadas, lociones,  
25 soluciones, adhesivos, pulverizaciones, espumas y geles.

Los excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables variarán dependiendo de la forma de dosificación particular seleccionada. Además, pueden seleccionarse excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables para una función particular de manera que puedan servir en la composición.

30 Por ejemplo, pueden seleccionarse determinados excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad para facilitar la producción de las formas de dosificación uniformes. Pueden seleccionarse determinados excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad para facilitar la producción de formas de dosificación estables. Pueden seleccionarse determinados excipientes  
35 farmacéuticamente aceptables por su capacidad para facilitar el traslado o

transporte del compuesto, o compuestos, de la invención una vez administrados al paciente desde un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o a otra parte del cuerpo. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse por su capacidad para mejorar el cumplimiento por parte del

5 paciente. Además, las composiciones farmacéuticas, formulaciones, formas de dosificación y similar, etc., pueden presentarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica.

Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el

10 transportador que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando, de manera uniforme e íntima, el ingrediente activo con transportadores líquidos o transportadores sólidos finamente divididos o ambos y después, si fuera necesario, conformando el producto en la formulación deseada.

15 Los excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, emolientes, agentes granulantes, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, disolventes, co-disolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes enmascaradores del sabor, agentes

20 colorantes, agentes antiapelmazamiento, hidratante, agentes quelantes, plastificantes, agentes que aumentan la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos y agentes tamponantes. El experto en la materia apreciará que determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden realizar más de una función y pueden realizar funciones alternativas dependiendo

25 de cuánto excipiente esté presente en la formulación y de cuales otros ingredientes están presentes en la formulación.

Los expertos en la materia poseen el conocimiento y la experiencia en la técnica que los permite seleccionar los excipientes adecuados farmacéuticamente aceptables en cantidades apropiadas para su uso en la invención. Además, existen

30 diversos recursos disponibles para el experto en la materia que describen excipientes farmacéuticamente aceptables y que pueden ser útiles para la selección adecuada de excipientes farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos incluyen Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited) y The Handbook of

35 Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the

Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan usando técnicas y métodos conocidos por los expertos en la materia. Algunos de los métodos normalmente usados en la técnica se describen en Remington's

5 Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

Los compuestos de la invención y el excipiente, o excipientes, farmacéuticamente aceptables, se formularán típicamente en una forma de dosificación adaptada para la administración al paciente mediante la vía de administración deseada.

10 Con respecto a la presente invención, las formas de dosificación convencionales incluyen aquellas adaptadas para (1) administración oral tal como comprimidos, cápsulas, comprimidos encapsulados, píldoras, trociscos, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones, sobrecitos y obleas; (2) administración parenteral, tal como soluciones, suspensiones y polvos estériles  
15 para la reconstitución; (3) administración transdérmica tal como parches transdérmicos; (4) administración rectal tal como supositorios; (5) inhalación tal como aerosoles y soluciones y (6) administración tópica tal como cremas, pomadas, lociones, soluciones, adhesivos, pulverizaciones, espumas y geles.

En general, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se  
20 preparan usando materiales y técnicas convencionales, tales como mezclando, combinando y similares.

Para los fines de la presente invención, la expresión “agente activo” se define como cualquier sustancia o composición química de la presente invención, que pueda administrarse desde el dispositivo en un entorno de uso para obtener un  
25 resultado deseado.

Por supuesto, el porcentaje del compuesto en las composiciones puede variar en función de la cantidad del principio activo en tales composiciones terapéuticamente útiles para obtener una dosificación adecuada.

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición  
30 farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (II), o a una sal del mismo  
35 farmacéuticamente aceptable, y uno o más excipientes farmacéuticamente

aceptables.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto o especies del compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de la presente invención, como se define en la  
5 presente memoria y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Se apreciará que las dosificaciones reales preferidas de los compuestos que van a usarse en la composiciones de la presente invención variarán con la composición particular formulada, el modo de administración, el sitio concreto de administración y el huésped que vaya a tratarse.

10 Los compuestos activos de la presente invención pueden administrarse por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o con un transportador comestible asimilable o pueden incluirse en cápsulas de gelatina blanda o dura o pueden comprimirse en comprimidos o pueden incorporarse directamente en el alimento de la dieta, etc.

15 En un aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación oral sólida tal como un comprimido o cápsula que comprende una cantidad inocua eficaz de un compuesto de la invención y un diluyente o carga. Los diluyentes y cargas adecuados incluyen lactosa, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón (por ejemplo almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado), celulosa y  
20 sus derivados (por ejemplo celulosa microcristalina), sulfato cálcico y fosfato cálcico dibásico. Las formas de dosificación sólidas orales pueden comprender adicionalmente un aglutinante. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado), gelatina, goma arábica, alginato sódico, ácido algínico, tragacanto, goma guar, povidona y  
25 celulosa y sus derivados (por ejemplo celulosa microcristalina). La forma de dosificación sólida oral puede comprender adicionalmente un disgregante. Los disgregantes adecuados incluyen crospovidona, almidón glicolato sódico, croscarmelosa, ácido algínico y carboximetilcelulosa sódica. La forma de dosificación sólida oral puede comprender adicionalmente un lubricante. Los  
30 lubricantes adecuados incluyen ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato de calcio y talco.

Cuando sea apropiado, las formulaciones unitarias de dosificación para administración oral pueden microencapsularse. La composición también puede prepararse para prolongar o sostener la liberación, como por ejemplo, recubriendo o  
35 embebiendo material particulado en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de la invención también pueden acoplarse con polímeros solubles como transportadores farmacológicos direccionables. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxietilaspartamidofenol, o polietilenoxipolilisina sustituida con restos de palmitoílo. Adicionalmente, los compuestos de la invención pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polihidroxipiranos, policianoacrilatos y copolímeros de hidrogeles de bloque anfipáticos o reticulados.

En otro aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación oral líquida. Los líquidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires, pueden prepararse en forma unitaria de dosificación de tal manera que una cuantía determinada contenga una cantidad predeterminada de un compuesto de la invención. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto de la invención en una solución acuosa aromatizada adecuadamente, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto de la invención en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isostearílicos etoxilados y ésteres de polioxi etilen sorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes, tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

En otro aspecto, la invención se refiere a la administración parenteral, que se realiza por técnicas inyección o infusión intravenosa, intramuscular, subcutánea, intranasal, intrarectal, intravaginal, administración intraperitoneal, intraesternal. Generalmente se prefieren las formas subcutáneas e intramusculares de administración parenteral. En un aspecto las composiciones se administran por vía parenteral, más adecuadamente por vía intravenosa. Las formas de dosificación apropiadas para dicha administración pueden prepararse mediante técnicas convencionales.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para permitir que un compuesto de la presente invención se encuentre biodisponible después de la administración de la composición a un sujeto.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden

contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario deseado; y las suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en  
5 envases unidos o multidosis, por ejemplo, ampollas herméticas, viales, bolsitas y similares y pueden conservarse en un estado criodesecado (liofilizado) que solo requiere la adición del transportador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Las soluciones y suspensiones para inyección improvisada pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y  
10 comprimidos estériles.

La composición farmacéutica puede estar en forma de un líquido, por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede ser útil para la administración oral o para la administración por inyección. Cuando se destina para una composición para administrar por inyección, también pueden  
15 incluirse uno o más de uno de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizante y agente isotónico.

Las composiciones líquidas de la invención, tanto si son soluciones, como suspensiones u otras formas similares, también pueden incluir uno más de los  
20 siguientes: diluyentes estériles, tal como agua para inyección, solución salina, preferentemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites no volátiles, tales como mono o diglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos, tales como  
25 alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tal como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos, o fosfatos y agentes para ajustar la tonicidad, tales como cloruro sódico o dextrosa. Una composición parenteral puede incluirse en una ampolla, una jeringa desechable o un vial multidosis  
30 fabricado de vidrio, plástico y otro material. Un adyuvante preferido es la solución salina fisiológica. Una composición inyectable es preferentemente estéril.

La cantidad de un compuesto de la presente invención que es eficaz en el tratamiento de un trastorno o afección particular dependerá de la naturaleza del trastorno o afección y puede determinarse mediante técnicas clínicas  
35 convencionales. Además, para ayudar a identificar intervalos de dosificación

óptimos, opcionalmente, pueden emplearse ensayos *in vitro* o *in viv*. La dosis exacta a emplear en las composiciones también dependerá de la vía de administración y de la gravedad de la enfermedad o trastorno y debe decidirse de acuerdo con el criterio del médico tratante y de las circunstancias de cada paciente.

5           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato.

10           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 1 o Forma 2, respectivamente, que es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina, un hidrato o una mezcla de los mismos.

15           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 1 que es anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina.

20           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 2 que es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina,.

25           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

35           En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición

farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 1 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 2 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimetanosulfonato y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida canforsulfonato y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

### **Administración**

El régimen de tratamiento para la administración de los compuestos de Fórmula (I), o sales de los mismos o composiciones farmacéuticas correspondientes de la presente invención farmacéuticamente aceptables, también  
25 puede determinarse fácilmente por los expertos habituales en la técnica.

En un aspecto, la presente invención se refiere a la administración de compuestos de Fórmula (I), o sales de los mismos o composiciones farmacéuticas correspondientes de los mismos, farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos adecuados para la administración, en solitario, o en una  
30 composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero sin limitación:

- [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil] hidroxiformamida metanosulfonato de Formas 1 y 2, respectivamente;

35 - [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-



c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil] hidroxiformamida dimetanosulfonato de (o, es decir, también se identifica como [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimesilato); o

5

- [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida canforsulfonato y similares.

10 La cuantía administrada del compuesto, composición farmacéutica o forma de dosificación de la presente invención, puede variar a lo largo de un amplio intervalo para proporcionarla, diariamente, en una dosificación unitaria en una cantidad eficaz basándose en el peso corporal del paciente para conseguir el efecto deseado y basándose en el modo de administración.

15 El ámbito de la presente invención incluye todos los compuestos, composiciones farmacéuticas, o formulaciones o formas de dosificación de liberación controlada, que están incluidos en una cantidad eficaz para conseguir su propósito deseado. Aunque las necesidades individuales varíen, la determinación de los intervalos óptimos de cantidades eficaces de cada componente se encuentra  
20 dentro de la habilidad de la técnica.

Los compuestos de Fórmula (I) o sales de los mismos o composiciones farmacéuticas correspondientes de la presente invención farmacéuticamente aceptables pueden administrarse mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo administración sistémica y tópica. La administración  
25 sistémica incluye administración oral, parenteral, transdérmica, rectal y por inhalación.

La administración parenteral se refiere a vías de administración distintas a la enteral, transdérmica, o por inhalación, y típicamente se realiza por inyección o infusión. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa,  
30 intramuscular y subcutánea.

La inhalación se refiere a la administración en los pulmones del paciente, tanto inhalada a través de la boca como a través de las vías nasales. En un aspecto, las composiciones farmacéuticas, formulaciones, dosificaciones, formas de dosificación o regímenes de dosificación de la presente invención se adaptan para  
35 la administración por inhalación.

La administración tópica incluye aplicación en la piel así como administración intraocular, intravaginal e intranasal.

Los compuestos de Fórmula (I), o sales de los mismos o composiciones farmacéuticas correspondientes de la presente invención farmacéuticamente  
5 aceptables pueden administrarse una vez o de acuerdo con un régimen de dosificación en el que se administran varias dosis a diversos intervalos de tiempo durante un periodo de tiempo determinado. Por ejemplo, las dosis pueden administrarse una, dos, tres o cuatro veces al día. Las dosis pueden administrarse hasta que se consiga el efecto terapéutico deseado o indefinidamente para  
10 mantener el efecto terapéutico deseado.

Los regímenes de dosificación adecuados para los compuestos de Fórmula (I) o sales de los mismos o composiciones farmacéuticas correspondientes de la presente invención farmacéuticamente aceptables dependen de los perfiles farmacocinéticos de los compuestos, tales como absorción, distribución y semivida,  
15 que puede determina el experto en la técnica. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluyendo la duración de dichos regímenes a administrar, para un compuesto de la invención, dependen de la afección que vaya a tratarse, de la gravedad de la afección que vaya a tratarse, de la edad y del estado físico del paciente que vaya a tratarse, del historial médico del paciente que vaya a tratarse,  
20 de la naturaleza de la terapia simultánea, del efecto terapéutico deseado y de factores similares dentro del conocimiento y destreza del experto en la materia. Como también sabrán los expertos en la materia, los regímenes de dosificación adecuados pueden requerir ajustes dada una respuesta de un paciente individual con respecto al régimen de dosificación o a lo largo del tiempo según cambien las  
25 necesidades individuales del paciente.

En otro aspecto, la invención se refiere a una forma de dosificación oral líquida. Los líquidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires, pueden prepararse en forma unitaria de dosificación de tal manera que una cuantía determinada contenga una cantidad predeterminada de un compuesto de la  
30 invención. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto de la invención en una solución acuosa aromatizada adecuadamente, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto de la invención en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes  
35 isostearílicos etoxilados y ésteres de polioxi etilen sorbitol, conservantes, aditivos

aromatizantes, tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

En otro aspecto, la invención se refiere a la administración parenteral. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen

5 soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario deseado; y las suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en envases unidos o

10 multidosis, por ejemplo, ampollas y viales herméticos y pueden conservarse en un estado criodesecado (liofilizado) que solo requiere la adición del transportador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Las soluciones y suspensiones para inyección improvisada pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

15 Las dosificaciones diarias típicas pueden variar dependiendo de la vía de administración particular seleccionada. Las dosificaciones diarias típicas para administración oral, a un ser humano de un peso aproximadamente de 70 kg, variarán de 70 mg a 7 g, adecuadamente de 3,5 mg a 3,5 g de un compuesto de la invención al día.

20 Los compuestos de Fórmula (I), o sales de los mismos o composiciones farmacéuticas correspondientes de la presente invención farmacéuticamente aceptables pueden administrarse por vía parenteral o por vía oral como un agente inyectante, cápsulas, comprimidos y gránulos, y preferentemente, se administra como un agente inyectante. Las cantidades a administrar pueden ser normalmente,

25 por 1 kg de peso corporal de un paciente o animal, de aproximadamente 0,1 a 100 mg/día, preferentemente, de aproximadamente 0,5 a 50 mg/día, si se desea, divididas en 2-4 veces al día. Cuando los transportadores se usan como un agente inyectante son, por ejemplo, agua destilada, solución salina y para ajustar el pH pueden usarse bases y similares. Cuando se usan como cápsulas, gránulos o

30 comprimidos, los transportadores pueden ser excipientes conocidos (por ejemplo, almidón, lactosa, sacarosa, carbonato cálcico, fosfato cálcico y similares), aglutinantes (por ejemplo, almidón, goma arábica, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa cristalina y similares), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco y similares), y similares.

35 Para todos los métodos de uso descritos en la presente memoria para los

compuestos de Fórmulas (I) a (II), el régimen de dosificación oral diario será, preferentemente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal total, preferentemente de aproximadamente 0,1 a 30 mg/kg, más preferentemente de aproximadamente 0,5 mg a 15 mg/kg, administrado en una o más dosis diarias. Por ejemplo, el régimen de dosificación parenteral diario será de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal total, preferentemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 30 mg/kg y más preferentemente de aproximadamente 0,5 mg a 15 mg/kg, administrado en una o más dosis diarias. El régimen de dosificación tópico diario será, preferentemente, de 0,01 mg a 150 mg, administrado de una a cuatro veces al día. El régimen de dosificación por inhalación diario será, preferentemente, de aproximadamente 0,5 microgramos/kg a aproximadamente 5 mg/kg al día, o de aproximadamente 0,2 microgramos/kg a aproximadamente 20 microgramos/kg, administrado en una o más dosis diarias.

Un experto en la materia también reconocerá que, la cantidad y la separación óptimas de las dosificaciones individuales de un compuesto de Fórmulas (I) a (II), respectivamente, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, vendrán determinadas por la naturaleza y el grado de afección que vaya a tratarse, por la forma, vía y sitio de administración y del paciente particular que vaya a tratarse, y que dichos valores óptimos pueden determinarse mediante técnicas convencionales. También apreciará el experto en la materia que el ciclo de tratamiento óptimo, es decir, el número de dosis de un compuesto de Fórmulas (I) a (II), respectivamente, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, proporcionado al día durante un número de días definido, puede determinarlo el experto en la materia usando ensayos convencionales de determinación de ciclos de tratamiento.

La cantidad de un compuesto de Fórmula (I), o sales del mismo o composiciones farmacéuticas correspondientes de la presente invención farmacéuticamente aceptables, que se precisa para conseguir un efecto terapéutico, variará, por supuesto, con el compuesto particular, vía de administración, sujeto sometido al tratamiento y trastorno o afección particular que vaya a tratarse.

Los regímenes de dosificación adecuados para un compuesto de la invención dependen de las propiedades farmacocinéticas del compuesto, tales como absorción, distribución y semivida, que pueden determinarse por un experto

en la materia. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluyendo la duración de tales regímenes a administrar, para un compuesto de la invención, dependen de la afección que vaya a tratarse, de la gravedad de la afección que vaya a tratarse, de la edad y del estado físico del paciente que vaya a tratarse, del historial médico del paciente que vaya a tratarse, de la naturaleza de la terapia simultánea, del efecto terapéutico deseado y de factores similares dentro del conocimiento y destreza del experto en la técnica. Como también sabrán los expertos en la materia, los regímenes de dosificación adecuados pueden requerir ajustes dada una respuesta de un paciente individual con respecto al régimen de dosificación o a lo largo del tiempo según cambien las necesidades individuales del paciente.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden administrarse como profármacos. Como se usa en la presente memoria, un “profármaco” de un compuesto de la invención es un derivado funcional del compuesto que, después de la administración a un paciente, libera eventualmente el compuesto de la invención *in vivo*. La administración de un compuesto de la invención como un profármaco puede permitir al experto en la materia realizar uno o más de lo siguiente: (a) modificar la aparición del compuesto *in vivo*; (b) modificar la duración de la acción del compuesto *in vivo*; (c) modificar el transporte o la distribución del compuesto *in vivo*; (d) modificar la solubilidad del compuesto *in vivo* y (e) superar el efecto secundario u otras dificultades encontradas con el compuesto. Los derivados funcionales típicos usados para preparar profármacos incluyen modificaciones del compuesto que se escinden química o enzimáticamente *in vivo*. Tales modificaciones, que incluyen la preparación de fosfatos, amidas, ésteres, tioésteres, carbonatos y carbamatos, son bien conocidas por el experto en la materia.

La invención también proporciona un compuesto de la invención para su uso en terapia médica, particularmente en infecciones bacterianas. Por tanto, en un aspecto adicional, la invención se refiere al uso de compuesto de acuerdo con Fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable en la preparación de un medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida, o una sal del mismo

farmacéuticamente aceptable, que puede formularse para administración oral, adecuadamente en una forma líquida o en comprimidos, o para administración parenteral.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición o formulación farmacéutica, como se ha definido anteriormente, en la que cada una se formula para administración intravenosa (iv).

#### **Métodos de uso**

La presente invención también se refiere a métodos para el tratamiento de infecciones bacterianas, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención son inhibidores de la péptido desformilasa (PDF) microbiana y son, por lo tanto, capaces de prevenir el crecimiento bacteriano. Estos compuestos son potencialmente útiles en el tratamiento de enfermedades infecciosas en las que la patología subyacente es (al menos parcialmente) atribuible a (es decir causada por) una diversidad de organismos procariotas.

Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, bacterias aerobias y anaerobias Gram positivas y Gram negativas de los géneros *Streptococcus*, por ejemplo *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, *Staphylococcus*, por ejemplo *S. aureus*, *S. epidermidis*, y *S. saprophyticus*, *Moraxella*, por ejemplo *M. catarrhalis*, *Haemophilus*, por ejemplo *H. influenzae*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, por ejemplo *M. pneumoniae*, *Legionella*, por ejemplo *L. pneumophila*, *Chlamydia*, por ejemplo *C. pneumoniae*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium* y *Peptostreptococcus*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Streptococcus*, más adecuadamente *S. pneumoniae* o *S. pyogenes*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Staphylococcus*, más adecuadamente *S. aureus*, *S. epidermidis* o *S. saprophyticus*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Moraxella*, más adecuadamente *M. catarrhalis*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Haemophilus*, más adecuadamente *H. influenzae*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Neisseria*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Mycoplasma*, más  
5 adecuadamente *M. pneumoniae*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Legionella*, más adecuadamente *L. pneumophila*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles  
10 en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Chlamydia*, más adecuadamente *C. pneumoniae*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Bacteroides*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles  
15 en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Clostridium*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Fusobacterium*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Propionibacterium*.

Adecuadamente los compuestos de la presente invención pueden ser útiles  
20 en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por *Peptostreptococcus*.

Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas ocasionadas por bacterias que son resistentes a  $\beta$ -lactama, quinolona, macrólidos, cetólidos, glicopéptidos y clases de antibióticos de oxazolidinona. Dichas infecciones bacterianas resistentes a fármacos incluyen,  
25 pero sin limitación, *S. pneumoniae* resistente a penicilina, macrólidos o levofloxacina; *S. aureus* resistente a meticilina o macrólidos y a productos intermedios de vancomicina; *S. epidermidis* resistente a meticilina; y *S. aureus* resistente a oxazolidinona.

Los compuestos de la invención pueden usarse para tratar una infección  
30 bacteriana en mamíferos, especialmente en seres humanos. Dichas infecciones incluyen, pero sin limitación, otitis, sinusitis, infecciones del tracto respiratorio superior e inferior, infecciones genitales, infecciones en la piel y en tejidos y blandos, y endocarditis bacteriana. Los compuestos de la invención también  
35 pueden usarse para prevenir una infección bacteriana en mamíferos, especialmente

en seres humanos, tal como una infección bacteriana que pueda producirse como consecuencia de procedimientos médicos o dentales.

Adecuadamente los compuestos de la invención pueden usarse para tratar otitis.

5           Adecuadamente los compuestos de la invención pueden usarse para tratar sinusitis.

Adecuadamente los compuestos de la invención pueden usarse para tratar infecciones del tracto respiratorio inferior y superior.

10           Adecuadamente los compuestos de la invención pueden usarse para tratar infecciones genitales.

Adecuadamente los compuestos de la invención pueden usarse para tratar infecciones en la piel y en tejidos blandos.

Adecuadamente los compuestos de la invención pueden usarse para tratar endocarditis bacteriana.

15           Como se usa en la presente memoria, "enfermedad infecciosa" se refiere a cualquier enfermedad caracterizada por la presencia de una infección microbiana, tal como una infección bacteriana.

          Como se usa en la presente memoria, "tratar" en referencia a una afección significa: (1) mejorar o prevenir la afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (2) interferir con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a o es responsable de la afección o (b) una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (3) aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados con la afección o (4) disminuir el avance de la afección o de una o más de las manifestaciones biológicas de la afección.

25           Como se ha indicado anteriormente "tratamiento" de una afección incluye prevención de la afección. El experto en la materia apreciará que el término "prevención" no es un término absoluto. En medicina, se entiende que "prevención" se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la posibilidad o gravedad de una afección o su manifestación biológica, o para retrasar la aparición de tal afección o su manifestación biológica.

30           Como se usa en la presente memoria, "cantidad eficaz" en referencia a un compuesto de la invención significa a una cantidad del compuesto que es suficiente para tratar la afección del paciente, pero lo suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves (a una relación de beneficio/riesgo razonable) dentro



del ámbito del buen criterio médico. Una cantidad eficaz de un compuesto variará con el compuesto particular seleccionado (por ejemplo, considerando la fuerza, eficacia y semivida del compuesto); la vía de administración seleccionada; la afección que vaya a tratarse; la gravedad de la afección que vaya a tratarse; la  
5 edad, envergadura, peso y afección física del paciente que vaya a tratarse; el historial médico del paciente que vaya a tratarse; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia simultánea; el efecto terapéutico deseado y factores similares, y puede determinarla rutinariamente un experto en la materia.

Como se usa en la presente memoria, "paciente" se refiere a un ser humano  
10 u a otro mamífero.

Los compuestos de la invención pueden administrarse mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo administración sistémica y administración tópica. La administración sistémica incluye administración oral, administración parenteral, administración transdérmica, administración rectal y  
15 administración por inhalación. La administración parenteral se refiere a vías de administración distintas de la administración enteral, transdérmica o por inhalación y se realiza típicamente por inyección o infusión. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intramuscular y subcutánea. La inhalación se refiere a administración en los pulmones del paciente bien inhalada por la boca o a  
20 través de las vías nasales. La administración tópica incluye la aplicación en la piel así como administración intraocular, intravaginal e intranasal.

Los compuestos de la invención pueden administrarse una vez o de acuerdo con un régimen de dosificación en el que se administran varias dosis a diversos intervalos de tiempo durante un periodo de tiempo determinado. Por ejemplo,  
25 pueden administrarse dosis una, dos, tres o cuatro veces al día. La dosis puede administrarse hasta conseguir el efecto terapéutico deseado o indefinidamente para mantener el efecto terapéutico deseado. Los regímenes de dosificación adecuados para un compuesto de la invención dependen de las propiedades farmacocinéticas del compuesto, tales como absorción, distribución y semivida, que pueden  
30 determinarse por un experto en la materia. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluyendo la duración de dichos regímenes a administrar, para un compuesto de la invención dependen de la afección que vaya a tratarse, de la gravedad de la afección que vaya a tratarse, de la edad y del estado físico del paciente que vaya a tratarse, del historial médico del paciente que vaya a tratarse,  
35 de la naturaleza de la terapia simultánea, del efecto terapéutico deseado y de

factores similares dentro del conocimiento y destreza del experto en la materia. Como también sabrán los expertos en la materia, los regímenes de dosificación adecuados pueden requerir ajustes dada una respuesta de un paciente individual con respecto al régimen de dosificación o a lo largo del tiempo según cambien las necesidades individuales del paciente.

Las dosificaciones diarias típicas pueden variar dependiendo de la vía de administración particular seleccionada. Las dosificaciones diarias típicas para la administración oral, a un ser humano que pesa aproximadamente 70 Kg, variarán de 50 mg a 3 g, adecuadamente de 100 mg a 2 g de un compuesto de la invención al día.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden administrarse como profármacos. Como se usa en la presente memoria, un “profármaco” de un compuesto de la invención es un derivado funcional del compuesto que, después de la administración a un paciente, libera eventualmente el compuesto de la invención *in vivo*. La administración de un compuesto de la invención como un profármaco puede permitir al experto en la materia realizar uno o más de lo siguiente: (a) modificar la aparición del compuesto *in vivo*; (b) modificar la duración de la acción del compuesto *in vivo*; (c) modificar el transporte o la distribución del compuesto *in vivo*; (d) modificar la solubilidad del compuesto *in vivo* y (e) superar el efecto secundario u otras dificultades encontradas con el compuesto. Los derivados funcionales típicos usados para preparar profármacos incluyen modificaciones del compuesto que se escinden química o enzimáticamente *in vivo*. Tales modificaciones, que incluyen la preparación de fosfatos, amidas, ésteres, tioésteres, carbonatos y carbamatos, son bien conocidas por el experto en la materia.

La invención también proporciona un compuesto de la invención para su uso en terapia médica, particularmente en infecciones bacterianas. Por tanto, en un aspecto adicional, la invención se refiere al uso de compuesto de acuerdo con Fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable en la preparación de un medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Los métodos de tratamiento de la invención, especialmente métodos para el tratamiento de enfermedades infecciosas incluyendo infecciones bacterianas, comprenden administrar, a un paciente que lo necesite, una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana en seres humanos que comprende administrar, a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana en seres humanos que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana en seres humanos que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma1.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana en seres humanos que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 2.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana en seres humanos que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimetanosulfonato (o, es decir, [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimesilato).

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana en seres humanos que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-

2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida canforsulfonato.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprenda [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprenda [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprenda [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 1 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprenda [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato Forma 2 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana que comprende, administrar a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprenda [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimetanosulfonato (o, es decir, [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-

pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimesilato) y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una infección bacteriana que comprende, administrar a un ser humano que lo  
5 necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida canforsulfonato y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 Para cada uno de los aspectos indicados anteriormente, las infecciones bacterianas indicadas anteriormente para cada método, pueden producirse por *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, *Legionella*, *Chlamydia*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, o *Peptostreptococcus*.

15 Para cada uno de los aspectos indicados anteriormente, las infecciones bacterianas indicadas anteriormente para cada método pueden seleccionarse entre otitis, sinusitis, infección del tracto respiratorio superior, infección del tracto respiratorio inferior, infección genital, infección en la piel y en tejidos blandos, endocarditis bacteriana y similares.

20

### **Biología y ensayos biológicos**

Como se ha indicado anteriormente, los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, son útiles en la inhibición de la actividad de la péptido desformilasa (PDF) bacteriana y en los  
25 métodos de tratamiento de infecciones bacterianas. La actividad biológica de los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, puede determinarse usando ensayos adecuados tales como aquellos que miden la inhibición y aquellos que evalúan la capacidad de los compuestos para inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro* o en modelos de  
30 infección en animales.

La actividad biológica de los compuestos de acuerdo con Fórmula la (I), o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, puede determinarse usando ensayos adecuados tal como aquellos que miden la inhibición de la actividad enzimática de la PDF y aquellos que evalúan la capacidad de los compuestos para  
35 inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro* o en modelos de infección en animales.

Determinados ejemplos de la invención poseen mayor actividad antibacteriana *in vitro* (MIC y/o MIC90) y/o mejor eficacia *in vivo* sobre los ejemplos del documento WO 03/101442. Estos ejemplos incluyen, pero sin limitación, los siguientes:

- 5        -[(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-  
c][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-  
oxopropil]hidroxiformamida.

### **Ensayo de CI50 de la PDF**

- 10        La actividad enzimática de la PDF se midió usando un ensayo acoplado a la  
formato deshidrogenasa (FDH) [Lazennec y Meinne (1997) Anal. Biochem. 244,  
180-182]. Una vez que la PDF libera el formato de la metionina, se oxida mediante  
la FDH reduciendo así una molécula de NAD a NADH y dando como resultado un  
aumento en la absorbancia a 340 nm. Las reacciones comenzaron añadiendo PDF  
15 a placas de microtitulación que contenían el resto de los componentes de la  
reacción y se controlaron continuamente durante 20 min a 25 °C. La composición  
de la reacción final para el ensayo de la PDF de *Staphylococcus aureus* (SaPDF)  
fue fosfato potásico 50 mM, pH 7,6, 5 unidades/ml de FDH, NAD 7 mM, DMSO al  
5% y SaPDF 1 nM y formil-Met-Ala-Ser 2,9 mM en un volumen total de 50 µl. Se  
20 realizaron diluciones en serie de inhibidores en DMSO. Los reactivos y el formato  
de ensayo fueron idénticos para la PDF de *Haemophilus influenzae* excepto que el  
formil-Met-Ala-Ser fue de 6 mM final. En el ensayo de la PDF de *Streptococcus*  
*pneumoniae*, las condiciones de reacción fueron similares pero contenían enzima  
30 pM, NAD 2 mM y formil-Met-Ala-Ser 4 mM. Las diversas concentraciones de  
25 formil-Met-Ala-Ser reflejan valores  $K_M$  para el sustrato usando las diferentes  
isozimas de la PDF. Los valores  $CI_{50}$  se determinaron ajustándose a la ecuación: %  
de inhibición =  $100/1+(CI_{50}/[I])^s$ , en la que s es un factor de pendiente, I es la  
concentración inhibidora y la  $CI_{50}$  es la concentración del compuesto que produce  
una inhibición del 50%.

### **30 Resultados**

Los ejemplos 1-4 inhiben las actividades de la PDF de *S. aureus*, *H. influenzae* y *S. pneumoniae* con valores de  $CI_{50} < 100$  nM.

### **Ensayo de actividad antimicrobiana**

- 35        Se determinó la actividad antimicrobiana de células completas mediante  
microdilución en caldo usando la metodología recomendada por el Clinical y

Laboratory Standards Institute (CLSI, antes NCCLS) (Documento M7-A6 NCCLS, "Methods for Dilution Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically - Approved Standard Sexta Edición", 2003). Los compuestos se ensayaron en diluciones en serie con factor de dilución de dos que variaban de 64 a 0,06 µg/ml.

- 5 En este ensayo se evaluó un panel de 12 cepas. Este panel consistía en las siguientes cepas de laboratorio: *Staphylococcus aureus* Oxford, *Staphylococcus aureus* WCUH29, *Enterococcus faecalis* I, *Enterococcus faecalis* 7, *Haemophilus influenzae* Q1, *Haemophilus influenzae* NEMC1, *Moraxella catarrhalis* 1502, *Streptococcus pneumoniae* 1629, *Streptococcus pneumoniae* N1387,
- 10 *Streptococcus pneumoniae* Ery2, *Escherichia coli* 7623 (AcrABEFD+) y *Escherichia coli* 120 (AcrAB-). La concentración mínima inhibitoria (MIC) se determinó como la concentración más baja del compuesto que inhibió el crecimiento visible. Se usó un lector especular para ayudar a determinar el criterio de valoración MIC.

## 15 Resultados

- Cada uno de los Ejemplos 1-4 tiene una concentración mínima inhibitoria (MIC)  $\leq 4$  µg/ml contra al menos uno de los organismos indicados anteriormente. Para al menos una cepa de cada organismo indicada anteriormente, al menos un ejemplo tuvo una MIC  $\leq 4$  µg/ml, salvo en *Enterococcus faecalis* I y *Enterococcus*
- 20 *faecalis* 7, para las que la mayoría de los ejemplos tuvieron una MIC de  $\geq 16$  µg/ml.

En la Tabla 2 se proporcionan los datos de la actividad antimicrobiana (las MIC en µg/ml) para ejemplos específicos.

**Tabla 2**

|                            | <b>Ejemplo 24*</b><br>µg/ml |
|----------------------------|-----------------------------|
| <b>Organismo</b>           |                             |
| <i>S. aureus</i> Oxford    | 2                           |
| <i>S. aureus</i> WCUH29    | 0,375                       |
| <i>E. faecalis</i> I       | 48                          |
| <i>E. faecalis</i> 7       | 32                          |
| <i>H. influenzae</i> Q1    | 0,5                         |
| <i>H. influenzae</i> NEMC1 | 1                           |
| <i>M. catarrhalis</i> 1502 | 0,375                       |
| <i>S. pneumoniae</i> 1629  | 0,75                        |
| <i>S. pneumoniae</i> N1387 | 0,5                         |

|                                                                | <b>Ejemplo 24*</b><br>μg/ml |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| <b>Organismo</b>                                               |                             |
| <i>S. pneumoniae</i> ERY2                                      | 0,375                       |
| <i>E. coli</i> 7623 AcrABEFD+                                  | 16                          |
| <i>E. coli</i> 120 AcrAB-                                      | 0,1875                      |
| Número de veces en el que se procesó todo el panel de 12 cepas | 6                           |

\* Los datos MIC se expresan como la media de todos los resultados obtenidos

### Modelos de infección en animales

5            Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los protocolos aprobados por el GSK Institutional Animal Care and Use Committee, y cumplieron o sobrepasaron las normas de la American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC), the United States Department of Health and Human Services y todas las leyes locales y federales del bienestar de animales.

10

### Modelo de infección en tracto respiratorio en rata (RTI) con *H. influenzae* o *S. pneumoniae*.

En este modelo, ratas anestesiadas (macho Sprague Dawley [Cr1:CD (SD] 100 g) (Charles River) se infectaron por instilación intrabronquial de  $2-3 \times 10^6$  CFU bacteriana/rata en 100 μl de agar directamente en los pulmones [G. Smith (1991) 15 Lab Animals vol 25, 46-49]. A los animales (n = 6 por grupo) se les administraron diferentes cantidades del compuesto (factor de dilución 2 que variaban de 37,5 a 300 mg/kg) por sonda oral dos veces al día durante 4 días, comenzando 1 h después de la infección. Siguiendo la misma pauta, a los animales de control se les 20 administró diluyente. Las ratas se sometieron a eutanasia 96 horas después de la infección y se extirparon los pulmones de manera aséptica y se homogeneizaron en 1 ml de solución salina estéril con una máquina stomacher. Para contar las bacterias viables, se realizaron diluciones en serie con factor de dilución 10 en solución salina estéril. Se ha demostrado que este modelo de infección en pulmón 25 de rata es capaz de predecir la eficacia en humanos en neumonía adquirida en comunidad (CAP) producida por *S. pneumoniae* [Hoover J. L., C. Mininger, R. Page, R. Straub, S. Rittenhouse y D. Payne. (2007). Abstract A-17, Proceedings of the



47th ICAAC, Chicago, Illinois].

**Modelo murino de absceso en ingle de infección en la piel y en tejidos blandos (SSTI) por *S. aureus*.**

- 5            En este modelo, se infectaron ratones anestesiados (macho CD1, 20 g) (Charles River) con *S. aureus* en agar semisólido ( $1 \times 10^6$  CFU/ratón) por vía subcutánea en la zona de la ingle (Jarvest, R.L., Berge, J.M., Berry, V., Boyd, H.F., Brown, M.J., Elder, J.S., Forrest, A.K., Fosberry, A.P., Gentry, D.R., Hibbs, M.J., Jaworski, D.D., O'Hanlon, P.J., Pope, A.J., Rittenhouse, S. Sheppard, R.J., Slater-  
10 Radosti, C. y Worby, A. (2002) J. Med Chem., 45, 1959-1962). A los animales ( $n = 6$  por grupo) se les administraron diferentes cantidades del compuesto (factor de dilución 2 que variaban de 37,5 a 300 mg/kg) por sonda oral dos veces al día comenzando una 1 h después de la infección. Siguiendo la misma pauta, a los animales de control se les administró diluyente. Los ratones se sometieron a  
15 eutanasia 96 h después de la infección y el absceso se extirpó asépticamente y se homogeneizó. Para contar las bacterias viables, se realizaron diluciones en serie con factor de dilución 10 en solución salina estéril.

**Resultados**

- 20            Algunos de los Ejemplos descritos en la presente memoria han demostrado eficacia oral en uno o más de los modelos anteriores de infección en animales, reduciendo en  $\geq 3 \log_{10}$  CFU/ml, la cantidad de bacterias recuperadas de pulmones o de abscesos, con respecto a los animales de control no tratados.

**EJEMPLOS**

Los siguientes ejemplos ilustran la invención. Estos ejemplos no pretenden limitar el alcance de la presente intención, si no proporcionar una guía para que el experto en la materia prepare y use los compuestos, composiciones y métodos de la presente invención.

Aunque se describen realizaciones particulares de la presente invención, el experto apreciará que pueden hacerse diversos cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

Como se usa en la presente memoria, los símbolos y convenciones usados en estos procesos, esquemas y ejemplos son coherentes con los que se usan en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society* o el *Journal of Biological Chemistry*. Generalmente, se usan abreviaturas convencionales de una sola letra o de tres letras para designar restos de aminoácidos, que se asume que están en la configuración L, a menos que se indique otra cosa. A menos que se indique otra cosa, todos los materiales de partida se obtuvieron a partir de proveedores comerciales y se usan sin purificación adicional.

Todas las referencias a éter son a éter dietílico; salmuera se refiere a una solución saturada acuosa de NaCl. A menos que se indique otra cosa, todas las temperaturas se expresan en °C (grados Centígrados). Todas las reacciones se realizan en una atmósfera inerte a temperatura ambiente, a menos que se indique otra cosa, y todos los disolventes son de la máxima pureza disponible, a menos que se indique otra cosa.

Se registraron espectros de <sup>1</sup>H RMN (en lo sucesivo denominados "RMN") en un a instrumento Varian VXR-300, un Varian Unity-300, un Varian Unity-400, un espectrómetro Bruker AVANCE-400, un General Electric QE-300 o un Bruker AM 400. los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm, unidades δ). Las constantes de acoplamiento están en unidades de hertzios (Hz). Los patrones de separación describen multiplicidades aparentes y se designan como s (singlete), d (doblete), t (triplete), c (cuadruplete), quint. (quintuplete), m (multiplete), a (ancho).

Se realizaron espectros de masas en un sistemas de LC-MS de acceso libre usando ionización por electronebulización. Condiciones de LC: CH<sub>3</sub>CN de 10% a 80% (TFA a 0,018%) en 3,0 min, con una retención a 1,25 min y una re-

equilibración a 0,5 min; detección por MS, UV a 214 nm, y un detector de dispersión de la luz (ELS). Columna: Zorbax SB-C8 de 2,1 x 50 mm,

Para HPLC preparativa (prep); aprox. 100 mg de los productos finales se inyectaron en 1000 µl de MeOH, DMSO o DMF en una columna SunFire Prep  
 5 C18 OBD, 5 µm, 30 x 75 mm, a 35 ml/min con a gradiente de 10 min de CH<sub>3</sub>CN a 5% a CH<sub>3</sub>CN a 95% en H<sub>2</sub>O, seguido de mantenimiento a CH<sub>3</sub>CN a 90% en H<sub>2</sub>O durante 1,9 min. La cromatografía ultrarrápida se realizó sobre Gel de Sílice 60 de Merck (malla 230 - 400), o usando un Teledyne Isco Combiflash Companion con fase normal, columnas ultrarrápidas desechables de Redi-Sep.

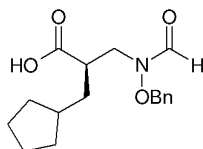
10 Se registraron espectros de XRPD usando un PANalytical X'Pert Pro MPD-XRD, PW3040.

Se registraron espectros de ATR-IR usando un Thermo Electron Nexus 470 FTIR con accesorio de ATR Diamond.

## 15 Intermedios

### Intermedio A

#### Ácido (2*R*)-3-Ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino}metil)propanoico



20

#### Parte A:

#### (4*S*)-Bencil-3-(3-ciclopentilpropanoil)oxazolidin-2-ona

A una solución de (S)-(-)-4-bencil-2-oxazolidinona (25 g, 141 mmol) en THF (350 ml) a -78 °C se le añadió gota a gota n-BuLi (56,4 ml, solución 2,5 M en  
 25 hexano, 141 mmol). Después de agitar durante 60 min a la misma temperatura, después, la mezcla de reacción se trató con cloruro de 3-ciclopentilpropionilo (21,6 ml, 141 mmol) durante 0,25 h. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La reacción se interrumpió con una solución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>Cl (320 ml). La capa acuosa se extrajo  
 30 con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporaron para producir (4*S*)-bencil-3-(3-ciclopentilpropanoil)oxazolidin-2-ona en forma de un sólido de color blanco (42,4 g, 100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 302,3.

Parte B:**(4S)-3-((2R)-3-Ciclopentil-2-[[fenilmetil]oxi]metil]propanoil)-4-(fenilmetil)-1,3-oxazolidin-2-ona**

5

A una solución de (4S)-bencil-3-(3-ciclopentilpropanoil)oxazolidin-2-ona (42,4 g, 141 mmol) en diclorometano (500 ml) a 0 °C, en una atmósfera de nitrógeno, se le añadió cloruro de titanio (IV) (1 M en DCM, 155 ml, 155 mmol) en una corriente constante lenta. Después de 5 min, se añadió gota a gota diisopropiletilamina (27 ml, 155 mmol). Después de agitar a 0 °C durante 1 h, se añadió cloruro de benciloximetil (TCI-America) (39 ml, 280 mmol) en una corriente constante lenta para dar el enolato de titanio resultante, y la mezcla se mantuvo a 0 °C durante 3,5 h. Después, la mezcla de reacción se inactivó con agua (400 ml). La capa acuosa se extrajo con diclorometano (150 ml x 2). Los extractos orgánicos se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> saturado, se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporaron. El residuo se lavó con éter (2 x) y después se trituró con hexanos/éter para proporcionar 2 cultivos de (4S)-3-((2R)-3-ciclopentil-2-[[fenilmetil]oxi]metil]propanoil)-4-(fenilmetil)-1,3-oxazolidin-2-ona, en forma de un sólido de color amarillo pálido (42,7 g, 72%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 422,2.

20

Parte C:**(4S)-3-[(2R)-3-Ciclopentil-2-(hidroximetil)propanoil]-4-(fenilmetil)-1,3-oxazolidin-2-ona**

Una solución de (4S)-3-((2R)-3-ciclopentil-2-[[fenilmetil]oxi]metil]propanoil)-4-(fenilmetil)-1,3-oxazolidin-2-ona (42,7 g, 0,1 mol) en etanol (800 ml) y DMF (180 ml) se sometió a hidrogenación catalítica usando Pd a 10%/C (4 g) y un globo de hidrógeno. La reacción estaba completa a 50% según LCMS después de 24 h. La reacción se purgó con nitrógeno y se introdujo un globo de hidrógeno nuevo. Después de 60 h más, la reacción se purgó de nuevo con nitrógeno, se filtró, y los disolventes de filtrado se retiraron para proporcionar (4S)-3-[(2R)-3-ciclopentil-2-(hidroximetil)propanoil]-4-(fenilmetil)-1,3-oxazolidin-2-ona (33,1 g, 100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 332,3.

Parte D:**Ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-(hidroximetil)propanoico**

Se agitó (4*S*)-3-[(2*R*)-3-Ciclopentil-2-(hidroximetil)propanoil]-4-(fenilmetil)-1,3-oxazolidin-2-ona (33,1 g, 0,1 mol), en una mezcla de THF (330 ml) y agua (55 ml), y se enfrió a 0 °C. Se añadió peróxido de hidrógeno a 30% (96 ml, 1 mol), seguido de hidróxido de litio monohidrato (8,4 g, 0,2 mol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y después se agitó durante una noche. El THF se retiró por evaporación rotatoria. El residuo acuoso se lavó con diclorometano (3 x 100 ml), se acidificó con HCl 6 N y se extrajo con acetato de etilo (4 x 100 ml). Los extractos orgánicos se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporaron para proporcionar ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-(hidroximetil)propanoico en forma de un aceite incoloro y transparente (18,5 g, >100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: no detectado. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,3 (s a, 1H), 3,79 (d, J = 5,83 Hz, 2H), 2,64-2,71 (m, 1H), 1,45-1,87 (m, 9H), 1,05-1,14 (m, 2H).

Parte E:**(2*R*)-3-Ciclopentil-2-(hidroximetil)-*N*-[(fenilmetil)oxi]propanamida**

A una mezcla de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-(hidroximetil)propanoico (18,3 g, 106 mmol), hidrocloreto de O-bencilhidroxiamina (18,62 g, 117 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (28,5 g, 233 mmol) en diclorometano (110 ml) a 0 °C se le añadió hidrocloreto de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida (22,3 g, 117 mmol). La mezcla se mantuvo a 0 °C durante 3 h. Después de este periodo, se añadieron 500 ml de una solución acuosa, fría, 1 N de HCl, y la mezcla se agitó durante 30 min más. El precipitado sólido de color blanco resultante se recogió por filtración. El precipitado se lavó con HCl 1 N, con agua y con DCM frío. El secado durante una noche en un desecador de vacío (2*R*)-3-ciclopentil-2-(hidroximetil)-*N*-[(fenilmetil)oxi]propanamida proporcionó (19,1 g, 65%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 278,1.

Parte F:**(3*R*)-3-(Ciclopentilmetil)-1-[(fenilmetil)oxi]-2-azetidina**

A una mezcla de (2*R*)-3-ciclopentil-2-(hidroximetil)-*N*-[(fenilmetil)oxi]propanamida (22,5 g, 81 mmol) y trifetilfosfina (22,5 g, 97 mmol) en THF (800 ml) a 0 °C se le añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (18,9 ml, 97 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a 0 °C durante 45 min y después se

evaporó. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice usando un sistema de elución de hexano/EtOAc (95:5) proporcionó (3*R*)-3-(ciclopentilmetil)-1-[[fenilmetil]oxi]-2-azetidinona (16,9 g, 81%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 260,1.

5 Parte G:

**Ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-(((fenilmetil)oxi)amino)metil)propanoico**

Una mezcla de (3*R*)-3-(ciclopentilmetil)-1-[[fenilmetil]oxi]-2-azetidinona (20 g, 77,1 mmol) y LiOH•H<sub>2</sub>O (32,4 g, 0,77 mol) en THF/agua (500 ml/170 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 36 h. A la mezcla de reacción se le añadió HCl 6 M (130 ml), y después se añadió NaOH 1 N hasta que se obtuvo un pH neutro. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo una vez con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron para proporcionar ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-(((fenilmetil)oxi)amino)metil)propanoico (22,85 g, >100%) en forma de un aceite incoloro y transparente. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 277,9.

Parte H:

**Ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino)metil)propanoico**

En una atmósfera de nitrógeno, se disolvió ácido fórmico (192 ml, 5 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (450 ml) y se enfrió a 0 °C. Después, se añadió anhídrido acético (73 ml, 0,77 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 45 min. Después de este periodo, una solución de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-(((fenilmetil)oxi)amino)metil)propanoico (22,85 g, material en bruto, asumido 77,1 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (450 ml) se añadió, y la mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0 °C. Después, los volátiles se retiraron el residuo en bruto se disolvió en EtOAc (500 ml) y la mezcla se lavó con salmuera (4 x 100 ml). Los extractos orgánicos se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron para proporcionar ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino)metil)propanoico (23,5 g, 100%) en forma de un sirope espeso. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 306,1.

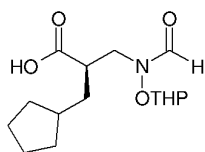
El solvato de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino)metil)propanoico, sal diisopropiletilamina, isopropanol puede prepararse de la siguiente manera:

A una solución de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino)metil)propanoico (25,9 g, 85 mmol) en éter dietílico (85 ml) se le añadió diisopropiletilamina (19,7 ml, 113 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 h. Después, la mezcla de

reacción se diluyó con más cantidad de éter dietílico (85 ml) y agua (400 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se extrajo dos veces más con una mezcla de agua/salmuera (250 ml de agua con 30 ml añadidos de salmuera y 200 ml de agua con 30 ml añadidos de salmuera). Después, las capas acuosas combinadas se extrajeron con isopropanol a 40% en cloroformo (3 x 300 ml). Las capas de isopropanol/cloroformo se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se evaporaron para proporcionar el solvato de ácido 2(*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino}metil)propanoico, sal diisopropiletilamina, isopropanol (30,29 g) en forma de un aceite transparente de color beige. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 306,2.

### **Intermedio B**

**Ácido** (2*R*)-3-ciclopentil-2-{{formil(tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)amino}metil}propanoico



15 **Parte A:**

### **(3*R*)-3-(Ciclopentilmetil)-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)-2-azetidiona**

Se disolvió (3*R*)-3-(ciclopentilmetil)-1-[(fenilmetil)oxi]-2-azetidiona (100 g, 386 mmol) en etanol (1,2 l) y la solución se desgasificó. Se añadió Pd sobre C (10%, seco, 8 g) y la suspensión se purgó con hidrógeno y se agitó en una atmósfera de hidrógeno (globo) hasta que la reacción se completó según LC-MS (aproximadamente 6 h). Después la suspensión se roció con nitrógeno, se filtró a través de Celite y se evaporó a sequedad. El sólido resultante se disolvió de nuevo en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 l) y se añadió dihidropirano (70 ml, 767 mmol), seguido de p-toluenosulfonato de piridinio (PPTS, 5%, 4,85 g). La mezcla de reacción se agitó 3 días a temperatura ambiente, después se concentró y se sometió a cromatografía sobre gel de sílice usando acetato de etilo a 10-20% en hexanos para proporcionar (3*R*)-3-(ciclopentilmetil)-1-(tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)-2-azetidiona en forma de un líquido incoloro (100%).

30 **Parte B:**

**Ácido** (2*R*)-3-ciclopentil-2-{{{tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi}amino}metil}propanoico

Se disolvió (3*R*)-3-(ciclopentilmetil)-1-(tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)-2-azetidinona (68 g, 268 mmol) en THF (1 l) y se puso en un matraz de fondo redondo de 3 bocas y 3 l que se había equipado con un termopar interno, un condensados de reflujo y un agitador mecánico. Una solución de hidróxido de litio monohidrato (56,3 g, 1,34 mol) en 400 ml H<sub>2</sub>O se preparó y se añadió gota a gota mediante el embudo de adición, con agitación vigorosa. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 36 h antes de que se diluyera con H<sub>2</sub>O (350 ml), y se lavó con hexanos (300 ml). La capa orgánica se extrajo con H<sub>2</sub>O (100 ml) y las capas acuosas combinadas se enfriaron a 0 °C y se acidificaron cuidadosamente gota a gota con ácido cítrico 2 M (~525 ml) en el transcurso de 90 min, manteniendo la temperatura interna por debajo de 10 °C. El material acidificado se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x), se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se evaporó. Se añadió benceno (500 ml) y se evaporó, y el residuo se secó al vacío para obtener ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico (70,9 g, 98%) en forma de un líquido incoloro.

#### Parte C:

#### **Ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[formil(tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico**

A una solución de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico (97,05 g, 358 mmol) en acetona (1,1 l) a temperatura ambiente se le añadió 5-metil-2-tioxo-[1,3,4]tiadiazol-3-carbaldehído (57,3 g, 358 mmol) (Tetrahedron Lett. **1985**, 26, 3703-3706). Cuando la reacción se consideró completa, la acetona se retiró al vacío. El residuo se suspendió en una mezcla de hexanos (320 ml) y metil-t-butil éter (180 ml) y después se sometió a ultrasonidos. Después de 10 min, el sólido de color blanco (presumiblemente, 5-metil-3H-[1,3,4]tiadiazol-2-tiona) se retiró por filtración y el filtrado se evaporó al vacío para dar ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[formil(tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico en forma de una goma de color amarillo pálido (124 g, >100%). La RMN muestra que el producto contiene una pequeña cantidad de MTBE y 5-metil-3H-[1,3,4]tiadiazol-2-tiona.

También puede prepararse ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[formil(tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico de acuerdo con procedimientos de la



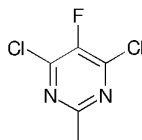
bibliografía [Bracken, Bushell, Dean, Francavilla, Jain, Lee, Seepersaud, Shu, Sundram, Yuan; PCT Int. Appl. (2006), WO 2006127576 A2].

El ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[formil(tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico, sal diisopropiletilamina, puede prepararse de la siguiente manera:

Una solución de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico (39,45 g, 145 mmol) en formiato de metilo (300 ml) y diisopropiletilamina (27,9 ml, 160 mmol) se puso en un tubo cerrado herméticamente y se calentó a 50 °C durante 4 días. Después de enfriar a temperatura ambiente, el formiato de metilo se retiró al vacío y el residuo restante se disolvió en éter dietílico. La solución de éter se extrajo con agua y las capas se separaron. Después, la capa acuosa se extrajo de nuevo con una solución de isopropanol a 40% en cloroformo (2 x). Después, las capas combinadas de isopropanol/cloroformo se concentraron al vacío para proporcionar ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[formil(tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)amino]metil]propanoico como la sal diisopropiletilamina (28 g, conteniendo una cantidad residual de cloroformo e isopropanol).

### **Intermedio C**

#### **4,6-Dicloro-5-fluoro-2-metilpirimidina**



#### **Parte A:**

#### **5-Fluoro-4,6-dihidroxi-2-metilpirimidina**

Una solución de 200 ml de metóxido sódico a 25% en peso, en metanol (0,84 mol) se diluyó con 200 ml más de metanol. Se añadió acetamidina-HCl (40 g, 0,42 mol) a la solución de metóxido sódico (se formó un precipitado de color blanco), seguido de la adición de fluoromalonato de dimetilo (70 g, 0,46 mol). Los contenidos se agitaron a temperatura ambiente durante una noche, después se concentraron a sequedad, al vacío. El residuo resultante se disolvió de nuevo en agua caliente (300 ml). Después de enfriar la solución acuosa a temperatura ambiente, se añadió lentamente HCl concentrado hasta que tuvo lugar la formación de cristal (prismas de color blanco delicados) a aproximadamente pH 5. Se añadió gota a gota HCl concentrado hasta pH 3 y después los contenidos

se filtraron. Los cristales aislados se enjuagaron con HCl 1 M y se secaron al vacío para proporcionar 5-fluoro-4,6-dihidroxi-2-metilpirimidina (65,5 g, >100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 145.

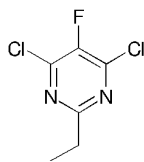
Parte B:

5      **4,6-Dicloro-5-fluoro-2-metilpirimidina**

Se trató 5-fluoro-4,6-dihidroxi-2-metilpirimidina (asumido 60 g, 0,42 mol) con 300 ml de POCl<sub>3</sub> a 120 °C durante 3 h. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío hasta que velocidad de disolvente retirado disminuyó a una velocidad de goteo de menos de 1  
10 gota/segundo. El producto es un poco volátil y la concentración excesiva al vacío reducirá el rendimiento. El residuo en bruto se vertió sobre hielo picado y la suspensión resultante se agitó durante 1 h, tiempo durante el cual, la solución llegó a temperatura ambiente. Un sólido de color amarillo formado, que se retiró por filtración, se lavó con agua, y se secó brevemente al aire hasta que fluyó  
15 libremente. Este sólido se recogió y se puso en un desecador sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> hasta que se secó, proporcionando 4,6-dicloro-5-fluoro-2-metilpirimidina pura (59 g, 79%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 181/183.

Intermedio D

**4,6-Dicloro-2-etil-5-fluoropirimidina**



20

Parte A:

**2-Etil-5-fluoro-6-hidroxi-4(1H)-pirimidinona**

Se trataron en porciones sal hidroc্লoruro de propionamida (30,0 g, 276,3 mmol) y fluoromalonato de dimetilo (41,4 g, 276,3 mmol) en metanol anhidro (400  
25 ml) con NaOMe sólido (45 g, 829 mmol) a temperatura ambiente. Después la adición, la suspensión de color blanco se calentó a 85 °C y se agitó durante 2 h. Después, el disolvente se evaporó a sequedad. Al residuo se le añadieron 70 ml de una solución 6 N de HCl con agitación vigorosa. La suspensión se agitó durante 10 min hasta que el residuo se neutralizó por completo. El precipitado de  
30 color blanco se recogió por filtración y se secó al vacío para dar 2-etil-5-fluoro-6-hidroxi-4(1H)-pirimidinona en forma de un sólido de color blanco . LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 159,0; (M+Na)<sup>+</sup>:181,1. En algunos casos, este producto puede co-precipitar NaCl,

provocando que el rendimiento exceda el valor teórico. En algunos casos, este producto se llevó adelante a través de siguiente etapa con el NaCl presente.

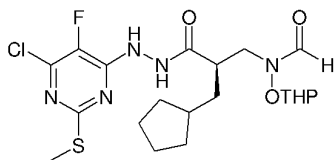
Parte B:

**4,6-Dicloro-2-etil-5-fluoropirimidina**

- 5 Se calentó 2-etil-5-fluoro-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona (20 g, 126,6 mmol) en POCl<sub>3</sub> (58 ml, 633 mmol) a 125 °C (baño de aceite) durante 2 h. Se añadieron 68 ml más de POCl<sub>3</sub> recién preparado a la solución caliente. La solución resultante se calentó durante 2 h más hasta que se consumió todo el material de partida. El exceso de POCl<sub>3</sub> se destiló (62 °C - 68 °C) al vacío para dar un residuo
- 10 de color pardo claro. Después de que se enfriara a temperatura ambiente, el residuo se diluyó con 50 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, después se vertió en agua enfriada con hielo (200 ml). A esta mezcla se le añadieron 200 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y la mezcla posterior se agitó durante 10 min. Después de la separación de las dos capas, la capa acuosa se extrajo adicionalmente con 100 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las capas
- 15 orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, después se filtraron a través de un lecho corto de gel de sílice, que después se lavó con 150 ml de MeOH a 1% en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La evaporación del disolvente proporcionó 4,6-dicloro-2-etil-5-fluoropirimidina (21 g, 85%) en forma de un líquido de color amarillo claro. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: no detectado.

20 **Intermedio E**

**[(2*R*)-3-{2-[6-Cloro-5-fluoro-2-(metiltio)-4-pirimidinil]hidrazino}-2-(ciclopentil metil)-3-oxopropil](tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)formamida**



25 **Parte A:**

**5-Fluoro-6-hidroxi-2-metiltio-4(1*H*)-pirimidinona**

- A una solución agitada de sulfato de 2-metil-2-tiopseudourea (41,7 g, 0,15 mol) y fluoromalonato de dimetilo (45 g, 0,30 mol) en MeOH (600 ml) a 0 °C (baño de hielo) se le añadió en porciones NaOMe (48,6 g, 0,90 mol). Después de que
- 30 se completara la adición, el baño de hielo se retiró y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El análisis LCMS mostró la formación del producto de pirimidinona deseado. La mezcla de reacción se

concentró casi a sequedad al vacío, se diluyó con agua (50 ml) y se acidificó con HCl 6 N (~150 ml) a ~pH 2 para precipitar el producto. Después de la filtración, el sólido se lavó con HCl 1 N (2 x 10 ml) y se secó al vacío para proporcionar 5-fluoro-6-hidroxi-2-metiltio-4(1*H*)-pirimidinona (35,7 g, 68%), en forma de un sólido de color blanco. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 177,3.

Parte B:

**4,6-Dicloro-5-fluoro-2-(metiltio)pirimidina**

Una mezcla de 5-fluoro-6-hidroxi-2-(metiltio)-4(1*H*)-pirimidinona (35,7 g, 0,20 mol) en POCl<sub>3</sub> (150 ml) se calentó a 115 °C durante 3 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió lentamente en una mezcla de hielo-agua (1500 ml) y se agitó durante 20 min. El producto se extrajo en acetato de etilo (3 x 800 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 1000 ml) y salmuera (1000 ml), y se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). La evaporación del disolvente proporcionó 4,6-dicloro-5-fluoro-2-(metiltio)pirimidina en forma de un sólido de color amarillo pálido (37,8 g, 89%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: no detectado.

Parte C:

**4-Cloro-5-fluoro-6-hidrazino-2-(metiltio)pirimidina**

Se disolvieron 4,6-dicloro-5-fluoro-2-(metiltio)pirimidina (16,8 g, 78,85 mmol) y trietilamina (16,49 ml, 118,3 mmol) en DMSO (200 ml) y se agitaron. La mezcla se enfrió a ~5 °C con un baño de agua enfriada con hielo. A esta solución se le añadió lentamente monohidrato de hidrazina (4,59 ml, 94,62 mmol). Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta TA y se continuó agitando durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (500 ml) y la solución acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 300 ml). La solución orgánica combinada se lavó con agua (3 x 250 ml) y salmuera (250 ml), después se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró al vacío para proporcionar 4-cloro-5-fluoro-6-hidrazino-2-(metiltio)pirimidina en forma de un sólido espumoso de color rojo (9,70 g, 59%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 208,9.

Parte D:

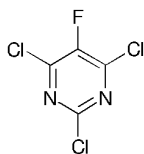
**[(2*R*)-3-{2-[6-Cloro-5-fluoro-2-(metiltio)-4-pirimidinil]hidrazino}-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil](tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)formamida**

Una mezcla de 4-cloro-5-fluoro-6-hidrazino-2-(metiltio)pirimidina (9,70 g, 46,5 mmol), ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-[[formil(tetrahydro-2*H*-piran-2-

iloxi)amino]metil]propanoico (19,9 g, 46,5 mmol), HOAt (6,96 g, 51,2 mmol), EDCI (9,82 g, 51,2 mmol) y N-metil morfolina (25,6 ml, 232,5 mmol) en DMF (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo/hexanos (3:2, 1 l), se lavó con agua (3 x 500 ml) y los extractos orgánicos se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por RP-HPLC Gilson (35-95% de acetonitrilo/agua, tiempo de gradiente de 8 min) para proporcionar [(2*R*)-3-{2-[6-cloro-5-fluoro-2-(metiltio)-4-pirimidinil]hidrazino}-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil](tetrahydro-2*H*-piran-2-iloxi)formamida en forma de un cristal de color rojo (12,89 g, 56,0%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 490,4.

### **Intermedio F**

#### **2,4,6-Tricloro-5-fluoropirimidina**



#### **Parte A:**

#### **15 5-Fluoro-6-hidroxi-2,4(1*H*,3*H*)-pirimidinadiona**

Una solución agitada mecánicamente de urea (60,06 g, 1 mol) y fluoromalonato de dimetilo (150,11 g, 1 mol) en metanol (1 l) se trató con NaOMe a 25% en p en metanol (~4,6 M, 435 ml, 2 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 h y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla se filtró, la torta húmeda se disolvió en agua caliente (~1,2 l) y la solución acuosa resultante se acidificó con HCl acuoso concentrado (~160 ml) a pH = 2 mientras se agitaba durante 1 h. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y el producto se filtró y se lavó vigorosamente con agua, después se secó al vacío para dar 5-fluoro-6-hidroxi-2,4(1*H*,3*H*)-pirimidinadiona (80 g, 55%) en forma de un sólido de color blanco. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 147,0,

#### **Parte B:**

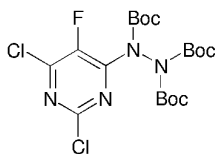
#### **2,4,6-Tricloro-5-fluoropirimidina**

Se añadió en porciones 5-fluoro-6-hidroxi-2,4(1*H*,3*H*)-pirimidinadiona en pulverizado finamente (74 g, 0,507 mol) durante 30 min a  $\text{POCl}_3$  (232 ml, 2,5 mol) con agitación (exotérmico). Después de completar la adición, la mezcla se mantuvo a 60 °C mientras se añadía gota a gota N,N,-dimetilanilina (65 ml) mediante una jeringa. Después de la adición, la mezcla se calentó a 100-110 °C

(interna) hasta que la reacción se consideró completa, normalmente en 4-8 h. La mezcla se enfrió y la mayor parte del  $\text{POCl}_3$  restante se retiró por destilación cuidadosa al vacío a 80-90 °C (puede detectarse algo de producto en el destilado de  $\text{POCl}_3$ ). El residuo restante se vertió en hielo (~1 l) y se agitó durante 30 min, después se extrajo con éter (1 x 400 ml, 2 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua y salmuera, después se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ). La filtración y la destilación atmosférica del éter proporcionaron el producto en bruto, que se destiló a presión reducida para proporcionar el producto (28,8 g, 28%) en forma de un sólido cristalino con un bajo punto de fusión (p.e. 80-85 °C, 12 mm). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: no detectado.

### **Intermedio G**

**Tricarboxilato de tris(1,1-dimetiletil)2-(2,6-dicloro-5-fluoro-4-pirimidinil)-1,1,2-hidrazina**



### **Parte A:**

**2-(2,6-dicloro-5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo**

Se disolvió 2,4,6-tricloro-5-fluoropirimidina (20,92 g, 104,1 mmol) en THF (300 ml) a temperatura ambiente y se agitó. A esta solución en agitación se le añadió carbazato de *t*-butilo (13,74 g, 104,1 mmol), seguido de diisopropiletilamina (19,0 ml, 109,3 mmol). La mezcla de reacción se volvió de color amarillo claro y después de varios minutos se formó un precipitado. La reacción pareció completa después de 1,5 h, según se supervisó por TLC (EtOAc a 10%/Hex). La mezcla de reacción se concentró al vacío para retirar la mayoría del THF y el residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (~400 ml). La solución se lavó con ~400 ml de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ac. sat. Los extractos orgánicos se secaron y se concentraron para dar un sólido de color amarillo pálido (31,37 g). LCMS: (M+H+2Na-Boc)<sup>+</sup>: 241.

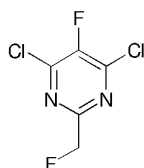
### **Parte B:**

**Tricarboxilato de tris(1,1-dimetiletil)2-(2,6-dicloro-5-fluoro-4-pirimidinil)-1,1,2-hidrazina**

Se suspendió 2-(2,6-dicloro-5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo (31,37 g, asumido 104,1 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (400 ml). Se añadió dicarbonato de di-*t*-butilo (44,75 g, 205,0 mmol) a la solución, seguido de diisopropiletilamina (36,3 ml, 208,2 mmol). Cuando se había disuelto casi todo, se añadió lentamente DMAP (1,27 g, 10,4 mmol). La mezcla de reacción se volvió rojiza y después de ~5 min, se observó un suave burbujeo. Después de 45 min, la reacción pareció completa según LCMS y la mezcla se había vuelto de color naranja claro. La mezcla de reacción se lavó con ~300 ml de NH<sub>4</sub>Cl sat., y los extractos orgánicos se repartieron. Una suspensión se preparó con ~1800 ml de Florsilo en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, que se vertió en un embudo de frita grande. Después, toda la solución orgánica se vertió a través del lecho de Florsilo, lavando con 2 l de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Una banda de color rojo se dejó atrás en el Florsilo, y el análisis por TLC mostró que había terminado de eluirse del lecho. El filtrado se concentró para dar un aceite espumoso incoloro, que se cristalizó durante una noche en el frigorífico (37,87 g, 73% de 2,4,6-tricloro-5-fluoropirimidina). LCMS: (M+3H+2Na-3Boc)<sup>+</sup>: 241.

### **Intermedio H**

#### **20 4,6-Dicloro-5-fluoro-2-(fluorometil)pirimidina**



#### **Parte A:**

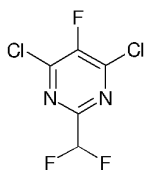
#### **5-Fluoro-2-(fluorometil)-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona**

Se trataron sal hidrocloreto de 2-fluoro-acetamidina (11,2 g, 100 mmol) y fluoromalonato de dimetilo (15 g, 100 mmol) en metanol anhidro (300 ml) con NaOMe sólido (16,2 g, 300 mmol) y se calentó a 50 °C con agitación. Cuando el análisis LCMS mostró la formación del producto deseado, el disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se neutralizó con HCl concentrado (20 ml). El precipitado de color blanco se recogió por filtración para dar 5-fluoro-2-(fluorometil)-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona (rendimiento de 100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 163,1.

#### **Parte B:**

**4,6-Dicloro-5-fluoro-2-(fluorometil)pirimidina**

Se suspendió 5-fluoro-2-(fluorometil)-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona (6 g, 37 mmol) en POCl<sub>3</sub> (20 ml, 222 mmol) y se agitó a 120 °C durante 2 h. Después de la evaporación del exceso de POCl<sub>3</sub>, el residuo se vertió en hielo y la mezcla  
5 resultante se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La solución de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se pasó a través de un lecho de gel de sílice y el filtrado resultante se concentró para proporcionar la 4,6-dicloro-5-fluoro-2-(fluorometil)pirimidina pura (6 g, 81%) en forma de un líquido incoloro. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: no detectado.

**Intermedio I****10 4,6-Dicloro-2-(difluorometil)-5-fluoropirimidina****Parte A****2,2-Difluoroetanimidamida.HCl**

A una suspensión agitada de cloruro de amonio (5,1 g, 95 mmol) en  
15 tolueno (150 ml) a 0 °C se le añadió trimetil aluminio (46 ml, 2M, 92 mmol), agitando hasta que cesó la efervescencia. Se añadió difluoroacetato de metilo (2,38 ml, 27 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante una noche a 80 °C. Después de la refrigeración 0 °C, se añadió lentamente metanol y la solución resultante se agitó durante 90 minutos a temperatura reducida, provocando que  
20 se formara un sólido. Éste se retiró por filtración a través de Celite y el filtrado se evaporó para producir 2,2-difluoroetanimidamida.HCl (1,7 g, 48 5%) en forma de un sólido de color amarillo.

**Parte B****25 2-(Difluorometil)-5-fluoro-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona**

Se disolvió metal de sodio (0,91 g, 40 mmol) en MeOH (100 ml) para formar metóxido sódico. Se añadió 2,2-difluoroetanimidamida·HCl (1,73 g, 13 mmol) seguido de fluoropropanodiolato de dimetilo (2,0 g, 13 mmol). La solución resultante se agitó a 80 °C durante 3 horas, después se enfrió a temperatura  
30 ambiente. Se añadió HCl acuoso (6 ml, 6M, 36 mmol) y la mezcla resultante se concentró al vacío. El sólido restante se lavó con agua fría y se filtró, produciendo 2-(difluorometil)-5-fluoro-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona (1,43 g, 61%)

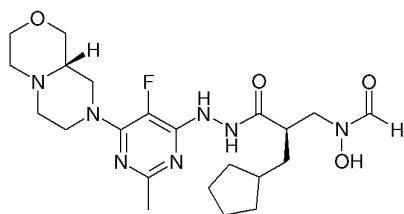


Parte C**4,6-Dicloro-2-(difluorometil)-5-fluoropirimidina**

Una mezcla de 2-(difluorometil)-5-fluoro-6-hidroxi-4(1*H*)-pirimidinona (1,43 g, 8,0 mmol) y POCl<sub>3</sub> (6 ml) se calentó a 110 °C durante 2,5 horas. Después de  
5 enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió sobre hielo y se agitó durante 30 min. El producto se extrajo en DCM y los extractos orgánicos combinados se lavaron una vez con bicarbonato sódico acuoso saturado. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío. Esto produjo 4,6-dicloro-2-(difluorometil)-5-fluoropirimidina  
10 (460 mg, 27%) en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplos de CompuestoEjemplo 1

**[(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-  
c][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-  
15 oxopropil]hidroxiformamida**

Parte A:**N-(Fenilmetil)-D-serina**

20 Como para los procedimientos del documento WO2005058245, una mezcla de hidrocloreto del éster metílico de D-serina (98,84 g, 635,3 mmol) en MeOH (280 ml) se enfrió a 10 °C. A la mezcla se le añadió lentamente trietilamina (88,5 ml, 635,0 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y la solución resultante se enfrió a 10 °C. A la solución se añadió benzaldehído (64 ml, 630,2  
25 mmol) y la solución se agitó durante 30 min. A la solución se le añadió en porciones borohidruro sódico (24,03 g, 635,2 mmol) durante 30 min y la mezcla se agitó durante 30 min más. En un matraz separado, se añadió MeOH (114 ml) a agua (170 ml) y a esta solución se le añadió una solución de NaOH (77,25 g, 1931 mmol) en agua (155 ml). La solución se enfrió a 15 °C y la mezcla de  
30 aminación reductora se añadió lentamente a la solución de NaOH-agua-MeOH durante 15 min. La solución se agitó, se calentó a temperatura ambiente durante

30 min y se añadió agua (170 ml), seguido de HCl acuoso 6 N suficiente para ajustar el pH a 9,5. La solución se lavó con EtOAc (2 x 60 ml) y se añadió HCl acuoso 6 N para ajustar el pH a 6,5. La mezcla se enfrió a 0 °C y se mantuvo durante una noche. El sólido resultante se recogió por filtración al vacío y se lavó con agua (2 x 200 ml) seguido de heptano (2 x 200 ml). El sólido de color blanco se secó a 40 °C a alto vacío durante 3 días para proporcionar *N*-(fenilmetil)-D-serina (79,51 g, 64%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 196,1.

Parte B:

**Ácido (3*R*)-5-oxo-4-(fenilmetil)-3-morfolinacarboxílico**

10 Como para los procedimientos del documento WO2005058245, una solución de *N*-(fenilmetil)-D-serina (79,51 g, 407,3 mmol) en THF (485 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución preenfriada a 0 °C de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (168,87 g, 1222 mmol) en agua (485 ml). A la mezcla bien agitada se le añadió lentamente cloruro de cloroacetilo (45,4 ml, 570,0 mmol) mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 5 °C. La mezcla se agitó vigorosamente a 0 °C durante 30 min, y después se añadió lentamente una porción adicional de cloruro de cloroacetilo (4,54 ml, 57,0 mmol). La mezcla se agitó durante 30 min más a 0 °C. A la mezcla se le añadió una cantidad suficiente de NaOH acuso preenfriado a 0 °C (50% p/p) para ajustar el pH > 13,5 mientras se mantenía la temperatura interna entre 5 °C y 10 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h y después se calentó a 20 °C. La mezcla se lavó con heptano (165 ml), seguido de una segunda porción de heptano recién preparado (240 ml). La fase acuosa se enfrió a 0 °C y se ajustó a pH < 2 con HCl acuoso concentrado mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 10 °C. La mezcla se puso en un congelador a 0 °C durante una noche y el sólido se recogió por filtración al vacío. El sólido se lavó con agua (2 x 300 ml) y se secó al vacío a 42 °C durante una noche. El ácido (3*R*)-5-oxo-4-(fenilmetil)-3-morfolinacarboxílico resultante (72,20 g, 75%) en forma de un sólido de color blanco. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 236,1.

Parte C:

30 **(3*R*)-5-Oxo-*N*,4-bis(fenilmetil)-3-morfolinacarboxamida**

Una mezcla de ácido (3*R*)-5-oxo-4-(fenilmetil)-3-morfolinacarboxílico (69,67 g, 296,2 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (48,01 g, 355,4 mmol) en DCM (990 ml) se enfrió a 0 °C. A la mezcla se le añadió 4-metilmorfolina (163 ml, 1483 mmol), bencilamina (35,6 ml, 325,9 mmol) y EDC (62,46 g, 325,8 mmol). La solución de color amarillo se agitó durante una noche a temperatura ambiente y

después se lavó con agua (500 ml), HCl acuoso 6 N (300 ml) y agua (200 ml). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar (3*R*)-5-oxo-*N*,4-bis(fenilmetil)-3-morfolinacarboxamida en bruto (97,05 g, rendimiento en bruto de >100%) en forma de una espuma de color amarillo.

5 LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 325,2.

Parte D:

**1-Fenil-*N*-{[(3*S*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}metanamina**

A una solución a 0 °C de (3*R*)-5-oxo-*N*,4-bis(fenilmetil)-3-morfolinacarboxamida (asumida 96,07 g, 296,2 mmol) en PhMe (750 ml) se le  
10 añadió Red-Al (65% p/p en PhMe, 645 ml) mediante un embudo de adición. Después de que se hubieran añadido aproximadamente 50 ml de Re-Al, la mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y después el resto del Red-Al se añadió durante 30 min. Después, la mezcla se calentó a 50 °C y se agitó durante una noche. La solución se enfrió a 0 °C y la reacción se interrumpió  
15 mediante adición lenta gota a gota de NaOH acuoso 1 N (50 ml). Después, se añadió una porción adicional de NaOH acuoso 1 N (500 ml), seguido de Et<sub>2</sub>O (200 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con NaOH acuoso 1 N recién preparado (400 ml). La fase acuosa combinada se extrajo con 4:1 de PhMe - Et<sub>2</sub>O (250 ml) recién preparado y la fase orgánica combinada se secó  
20 sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar 1-fenil-*N*-{[(3*S*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}metanamina en forma de un aceite de color amarillo que se usó sin purificación adicional. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 297,1.

Parte E:

25 **Etiloxo((fenilmetil){[(3*S*)-4-(fenilmetil)-3morfolinil]metil}amino)acetato**

Una solución de 1-fenil-*N*-{[(3*S*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}metanamina (asumida 87,79 g, 296,2 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (67,1 ml, 385,2 mmol) en THF (1000 ml) se enfrió a 0 °C. A la  
30 solución se le añadió gota a gota cloro(oxo)acetato de etilo (36,3 ml, 326,2 mmol) mediante un embudo de adición. La mezcla resultante se dejó en agitación y se calentó a temperatura ambiente durante 1 h. Después, el disolvente se retiró al vacío a aproximadamente 20% de volumen y el residuo se repartió entre EtOAc (600 ml), agua (100 ml) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso sat. (500 ml). La fase acuosa se  
35 extrajo con una porción recién preparada de EtOAc (200 ml) y la fase orgánica

combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío. Después, el residuo se destiló azeotrópicamente con EtOH (100 ml) para proporcionar oxo((fenilmetil){[(3S)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}amino)acetato de etilo en forma de un aceite de color amarillo que se usó sin purificación adicional. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 397,2.

Parte F:

**(9aS)-8-(Fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina-6,7-diona**

A una solución de oxo((fenilmetil){[(3S)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}amino)acetato de etilo (asumido 117,43 g, 296,2 mmol) en EtOH (1000 ml) se añadió Pd a 10%/C (23 g). La mezcla resultante se hidrogenó a una presión de globo durante 5 días, y después se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio con lavados de EtOH. Después, la solución se concentró al vacío y se cristalizó en EtOH-EtOAc para dar aproximadamente 15 g de un sólido de color blanco. Después, la torta de filtro de Pd/C se suspendió con MeOH (600 ml) y la mezcla se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio con lavados de MeOH. Después, la solución se concentró al vacío y se cristalizó en EtOH-EtOAc para dar un sólido de color blanco que se combinó el lote inicial del sólido. Después, los licores madre combinados se concentraron al vacío y se cristalizaron en EtOH-EtOAc para dar un sólido de color blanco que se combinó con los dos primeros lotes de sólido para proporcionar (9aS)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina-6,7-diona (39,97 g, rendimiento de 52% en 4 etapas). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 261,1.

Parte G:

**(9aS)-8-(Fenilmetil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina**

A una mezcla a 0 °C de dos lotes combinados de (9aS)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina-6,7-diona (total combinado 42,29 g, 162,5 mmol) en Et<sub>2</sub>O (406 ml) se le añadió LiAlH<sub>4</sub> 1 M en Et<sub>2</sub>O (406 ml, 406 mmol) mediante un embudo de goteo durante 40 min. Después, la mezcla se calentó a 35 °C y se agitó durante 6 días. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió lentamente EtOAc (100 ml), seguido de agua (20 ml), NaOH acuoso a 15% (20 ml) y agua (60 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 1 h y después se diluyó con EtOAc (500 ml). La mezcla se filtró y la torta de filtro se diluyó con NaOH acuoso 1 N (500 ml) y se extrajo con Et<sub>2</sub>O (2 x 200 ml). La fase orgánica combinada (filtrado y extracciones de Et<sub>2</sub>O) se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró, se concentró al vacío, se destiló azeotrópicamente con MeOH (100 ml) y se secó durante una noche a alto vacío. El aceite incoloro resultante se

combinó con un segundo lote de producto preparado de la misma manera a partir de (9aS)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina-6,7-diona (0,3047 g, 1,1 mmol) para dar (9aS)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina en bruto (total combinado 38,59 g, rendimiento bruto >100%). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 233,1.

5        Parte H:

**Dihidrocloruro de (9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina**

A una solución de (9aS)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (asumido 38,02 g, 163,6 mmol) en MeOH (330 ml) se le añadió HCl acuoso 6 N (55 ml, 330 mmol) y Pd a 10%/C (3,80 g). La mezcla se hidrogenó durante una  
10        noche y después se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio. La torta de filtro se lavó con MeOH y la solución combinada se concentró al vacío y se destiló azeotrópicamente con MeOH (4 x 150 ml) para proporcionar dihidrocloruro de (9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (34,78 g, 99% de rendimiento en 2) en forma de un aceite de color rojo que se solidificó a alto vacío. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>:  
15        142,9.

Parte I:

**(9aS)-8-(6-Cloro-5-fluoro-2-metil-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina**

A una mezcla de dihidrocloruro de (9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (23,28 g, 108,2 mmol) en DCM (360 ml) se le añadió 4,6-dicloro-5-fluoro-2-metilpirimidina (19,59 g, 108,2 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (68 ml, 390,4 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h y la solución resultante se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado (200 ml). La fase acuosa se extrajo con una porción recién preparada de DCM (100 ml) y esta fase orgánica  
20        se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado (50 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar (9aS)-8-(6-cloro-5-fluoro-2-metil-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina en forma de un aceite de color amarillo claro que se usó sin purificación adicional. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 287,1.

30        Parte J:

**(9aS)-8-(5-Fluoro-6-hidrazino-2-metil-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina**

A una solución de (9aS)-8-(6-cloro-5-fluoro-2-metil-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (asumido 31,03 g, 108,2 mmol) en dioxano (430 ml) se  
35

le añadió hidrazina monohidrato (31 ml). La mezcla se calentó y se agitó a 80 °C durante una noche y después a 85 °C durante 7 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM (500 ml) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado (200 ml). La fase acuosa se extrajo con una porción recién preparada de DCM (100 ml) y esta fase orgánica se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado (100 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró, se concentró al vacío y se secó a alto vacío durante una noche para proporcionar (9aS)-8-(5-fluoro-6-hidrazino-2-metil-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (27,98 g, 92% de rendimiento en 2 etapas) en forma de un sólido de color amarillo claro. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 283,3.

Parte K:

**[(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil][(fenilmetil)oxi]formamida**

15

A una solución de ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi] amino} metil)propanoico, sal N,N-diisopropiletilamina, solvato de isopropanol (33,64 g, 68,0 mmol) en DMF (230 ml) se le añadieron (9aS)-8-(5-fluoro-6-hidrazino-2-metil-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (20,16 g, 71,4 mmol), N-metilmorfolina (30 ml, 273 mmol), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (11,10 g, 81,6 mmol) y EDC (15,64 g, 81,6 mmol). La solución se agitó durante una noche y después se diluyó con Et<sub>2</sub>O (500 ml). La mezcla se lavó con agua (2 x 200 ml) y la fase acuosa combinada se extrajo con una porción recién preparada de Et<sub>2</sub>O (100 ml). Después, esta fase de Et<sub>2</sub>O se lavó con agua (50 ml). Este procedimiento de extracción-lavado se repitió 6 veces y después, la fase orgánica combinada total se diluyó con DCM (250 ml). Después, la fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil][(fenilmetil)oxi]formamida en bruto (42,32 g, rendimiento bruto >100%) en forma de una espuma de color amarillo clara. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 570,3.

25

30

Parte L:

**[(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

35

A una solución de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]((fenilmetil)oxi]formamida (asumido 38,74 g, 68,0 mmol) en metanol (225 ml) se le añadió Pd a 10%/C (5,81 g). La mezcla se hidrogenó a una presión de globo durante 4 h y después se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio con lavados de MeOH. La solución resultante se concentró al vacío a aproximadamente 10% de volumen, se diluyó con EtOAc (400 ml) y se concentró al vacío a aproximadamente 30% de volumen. El sólido resultante se recogió por filtración al vacío y se lavó con EtOAc. Las aguas madre y los lavados de EtOAc al vacío a aproximadamente 10% de volumen y el sólido resultante se recogió por filtración al vacío y se lavó con EtOAc. Los dos cultivos de sólido se combinaron y se secaron a 50 °C durante 16 h a alto vacío para proporcionar [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (25,48 g, rendimiento de 78% en 2 etapas) en forma de un sólido de color blanco. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 480,1.

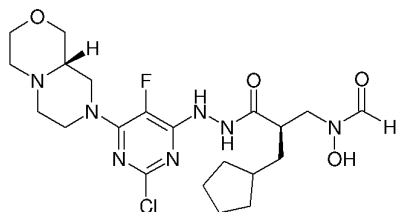
#### **Procedimiento Alternativo**

A una solución de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]((fenilmetil)oxi]formamida en bruto (asumido 39,73 g, 69,74 mmol) en MeOH (350 ml) se le añadió Pd a 10%/C (50% de agua, 7,9 g). La suspensión se hidrogenó a una presión de globo durante 3 h y después se filtró a través de dos filtros de fibra de vidrio con lavados de MeOH. La solución resultante se concentró al vacío hasta un volumen de aproximadamente 70 ml y después se diluyó con EtOAc (500 ml). La solución se concentró al vacío para retirar aproximadamente 100 ml de disolvente. El sólido resultante se recogió por filtración al vacío y se lavó bien con EtOAc, seguido de hexanos. Las aguas madre se concentraron al vacío y después se diluyeron con EtOAc (200 ml). La mezcla se concentró al vacío a aproximadamente 50% de volumen y el sólido resultante se recogió por filtración al vacío y se lavó bien con EtOAc, seguido de hexanos. Los dos lotes de sólido se combinaron y se pusieron a alto vacío durante una noche. Después, a este material se le añadieron aproximadamente 466 mg de material preparados a través de una secuencia similar y el lote

combinado se calentó a 50 °C a alto vacío durante una noche para proporcionar [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (28,27 g, 83% de rendimiento en 2 etapas). LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>: 480,3. El sólido resultante se caracterizó analíticamente y se encontró que era una forma polimórfica. Forma 1.

### **Ejemplo 2**

**[(2*R*)-3-(2-{2-Cloro-5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

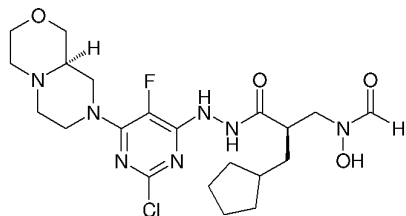


Se preparó [(2*R*)-3-(2-{2-cloro-5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil]hidroxiformamida de acuerdo con Procedimiento General E, utilizando dihidrocloruro de (9*aS*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (que se preparó como se ha descrito en el Ejemplo 24, Partes A-H), en lugar de isopropilamina en la Parte A, utilizando HCl 2 N en éter en la Parte B, realizando un tratamiento extractor (éter/agua) en lugar de purificación HPLC en la Parte C y purificando el producto final en la Parte D, por recristalización en EtOAc/éter, en lugar de HPLC. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 501,0.

### **Ejemplo 3**

**[(2*R*)-3-(2-{2-Cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil]hidroxiformamida**



**Parte A:****Ácido (3S)-5-oxo-4-(fenilmetil)-3-morfolinacarboxílico**

A una solución a 0 °C de N-bencilserina (19,15 g, 105,7 mmol) en NaOH ac. 2 N (100 ml) se le añadió gota a gota cloruro de cloroacetilo (10,2 ml, 126,4 mmol) y la solución se agitó durante 45 min. A la solución se añadió gota a gota NaOH ac. a 30% (40 ml), la reacción se agitó durante 1 h y después se agitó y se calentó a temperatura ambiente durante 72 h. La reacción se ajustó a pH 1 y se extrajo con tres porciones de EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se lavó con EtOAc/hexano para dar ácido (3S)-5-oxo-4-(fenilmetil)-3-morfolinacarboxílico (4,61 g, rendimiento de 19%).

**Parte B:****(3S)-5-Oxo-N,4-bis(fenilmetil)-3-morfolinacarboxamida**

A una solución de ácido (3S)-5-oxo-4-(fenilmetil)-3-morfolinacarboxílico (4,611 g, 19,60 mmol) en DCM (65 ml) se le añadieron bencilamina (2,6 ml, 23,80 mmol), N-metilmorfolina (11 ml, 100,0 mmol), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (3,20 g, 23,51 mmol) y EDC (4,51 g, 23,53 mmol). La solución se agitó durante una noche y después se diluyó con DCM (100 ml). La solución se lavó con HCl ac. 6 N (2 x 100 ml) y la fase orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar (3S)-5-oxo-N,4-bis(fenilmetil)-3-morfolinacarboxamida en bruto (6,454 g, >100% de rendimiento en bruto) en forma de una espuma de color amarillo pálido. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 325,2.

**Parte C:****1-Fenil-N-[[[(3R)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil]metanamina**

A una solución de (3S)-5-oxo-N,4-bis(fenilmetil)-3-morfolinacarboxamida (6,3109 g, 19,45 mmol) en 1,2-dimetoxietano (100 ml) se le añadió LiAlH<sub>4</sub> (2,6 g, 68,51 mmol). La mezcla se calentó a 100 °C, se agitó durante 6 h y después se enfrió a 60 °C y se agitó durante una noche. La mezcla se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante adición lenta de NaOH ac. 1 N (100 ml). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O (2 x 150 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gradiente sobre gel de sílice (MeOH de 1% a 5% en DCM) para dar 1-fenil-*N*-{[(3*R*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}metanamina (3,8342 g, 66%) en forma de un aceite de color amarillo claro. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 297,1.

5 Parte D:

**Oxo((fenilmetil){[(3*R*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}amino)acetato de metilo**

A una solución de 1-fenil-*N*-{[(3*R*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}metanamina (3,3777 g, 11,40 mmol) en THF (114 ml) se le añadió N,N-diisopropiletilamina (3 ml, 17,22 mmol). A la solución se le añadió gota a gota cloro(oxo)acetato de metilo (1,15 ml, 12,50 mmol) mediante una jeringa y la mezcla se agitó durante 3 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en EtOAc (200 ml) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac.sat., seguido de agua. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar oxo((fenilmetil){[(3*R*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}amino)acetato de metilo en bruto (4,6881 g, >100% de rendimiento en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 383,1.

Parte E:

20 **(9a*R*)-8-(Fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina-6,7-diona**

A una solución de oxo((fenilmetil){[(3*R*)-4-(fenilmetil)-3-morfolinil]metil}amino)acetato de metilo en bruto (asumido 4,3583 g, 11,40 mmol) en MeOH (114 ml) se le añadió Pd a 10%/C (50% agua, 870 mg). La mezcla se hidrogenó a una presión de globo durante 16 h y después se filtró a través de una membrana de 0,2 µm. La solución se concentró al vacío y el residuo se trituró con EtOAc a 20%-hexanos. El sólido resultante se recogió por filtración al vacío y se lavó con hexanos para proporcionar (9a*R*)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina-6,7-diona (2,5610 g, 86% en 2 etapas) en forma de un sólido de color amarillo claro. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 261,1.

30 Parte F:

**(9a*R*)-8-(Fenilmetil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina**

A una solución a 0 °C de (9a*R*)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina-6,7-diona (2,5610 g, 9,84 mmol) en THF (100 ml) se le añadió en porciones LiAlH<sub>4</sub> (1,12 g, 29,51 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C y se agitó durante 1 semana. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la

adición de  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$  (2 g), seguido de NaOH ac. 1 N (100 ml). La mezcla se extrajo con  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 x 150 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM (200 ml), se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gradiente sobre gel de sílice (EtOAc de 0% a 100% en hexanos; 1% de  $\text{Et}_3\text{N}$ ) para dar (9a*R*)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (1,8147 g, 79%) en forma de un aceite incoloro. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 233,1.

Parte G:

10 **Dihidrocloreto de (9a*R*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina**

A una solución de (9a*R*)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (1,8055 g, 7,77 mmol) en MeOH (80 ml) se le añadió HCl ac. 1 N (15,5 ml, 15,5 mmol) y Pd a 10%/C (50% de agua, 360 mg). La mezcla se hidrogenó a una presión de globo durante una noche y después se filtró a través de una membrana de PTFE de 0,2  $\mu\text{m}$ . La solución se concentró al vacío y el residuo se destiló azeotrópicamente con MeOH (3 x 50 ml) para proporcionar dihidrocloreto de (9a*R*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina en bruto (1,7185 g, >100% de rendimiento en bruto) en forma de un sólido de color naranja. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 142,9.

20

Parte H:

**2-{2-Cloro-5-fluoro-6-[(9a*R*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}-1,1,2-hidrazinatricarboxilato de tris(1,1-dimetiletilo)**

25 A una solución de dihidrocloreto de (9a*R*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina en bruto (1,7185 g, 7,99 mmol) en DMF (40 ml) se le añadió 2-(2,6-dicloro-5-fluoro-4-pirimidinil)-1,1,2-hidrazinatricarboxilato de tris(1,1-dimetiletilo) (3,97 g, 7,98 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (4,60 ml, 26,41 mmol). La solución se agitó durante una noche y después se diluyó con  $\text{Et}_2\text{O}$  (200 ml). La mezcla se lavó con agua (2 x 100 ml) y la fase acuosa combinada se extrajo con una porción recién preparada de  $\text{Et}_2\text{O}$  (100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con una porción recién preparada de agua (50 ml) y después se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La mezcla se filtró, se concentró al vacío y el residuo se disolvió en DCM (200 ml) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La mezcla se filtró y la solución se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en

35

gradiente sobre gel de sílice (EtOAc de 0% a 100% en hexanos; 1% de Et<sub>3</sub>N) para proporcionar 2-{2-cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}-1,1,2-hidrazinatricarboxilato de tris(1,1-dimetiletilo) (4,34 g, 90%) en forma de una espuma de color blanco. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 603,3.

5

Parte I:

**(9*aR*)-8-(2-Cloro-5-fluoro-6-hidrazino-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina**

A una solución de 2-{2-cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}-1,1,2-hidrazinatricarboxilato de tris(1,1-dimetiletilo) (4,34 g, 7,20 mmol) en MeOH (18 ml) se le añadió HCl 4 N en dioxano (18 ml, 72 mmol). La solución se agitó durante 3 días y después se concentró al vacío. El residuo se disolvió en agua (50 ml) y la solución se ajustó a pH 10 con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ac. a 20%. La mezcla se extrajo con DCM (2 x 100 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar (9*aR*)-8-(2-cloro-5-fluoro-6-hidrazino-4-pirimidinil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (1,41 g, 65%) en forma de un sólido de color naranja. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 303,1.

15

Parte J:

20

**[(2*R*)-3-(2-{2-Cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil][(fenilmetil)oxi]formamida**

A una solución de (9*aR*)-8-(2-cloro-5-fluoro-6-hidrazino-4-pirimidinil)octahidro pirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (1,41 g, 4,66 mmol) en DMF (45 ml) se le añadieron ácido (2*R*)-3-ciclopentil-2-({formil[(fenilmetil)oxi]amino}metil)propanoico (1,36 g, 4,45 mmol), N-metilmorfolina (2,45 ml, 22,3 mmol), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (0,730 g, 5,364 mmol) y EDC (1,02 g, 5,32 mmol). La solución se agitó durante una noche y después se diluyó con Et<sub>2</sub>O (200 ml). La mezcla se lavó con agua (2 x 100 ml) y la fase acuosa combinada se extrajo con una porción recién preparada de Et<sub>2</sub>O (100 ml). Esta capa de Et<sub>2</sub>O se lavó con una porción recién preparada de agua (50 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM (200 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró al vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente

30

35

con MeOH (50 ml) para dar [(2*R*)-3-(2-{2-cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil][(fenilmetil)oxi]formamida (2,4027 g, 91% de rendimiento en bruto) en forma de un aceite de color rojo/naranja. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 590,2.

Parte K:

**[(2*R*)-3-(2-{2-Cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

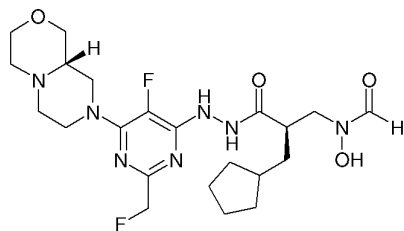
10

A una solución de [(2*R*)-3-(2-{2-cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil][(fenilmetil)oxi]formamida (2,3947 g, 4,058 mmol) en MeOH (40 ml) se le añadió Pd(OH)<sub>2</sub> a 20%/C (50% agua, 240 mg). La mezcla se hidrogenó a una presión de globo durante 2,5 h y después se filtró a través de una membrana de 0,2 µm. La solución se concentró al vacío y el residuo se purificó por RPLC Gilson (MeCN de 10% en agua a MeCN a 65% en agua; gradiente de 8 min). Las fracciones deseadas se combinaron y el MeCN se retiró al vacío. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró al vacío. Después, el residuo se cristalizó en EtOAc-hexanos para proporcionar [(2*R*)-3-(2-{2-cloro-5-fluoro-6-[(9*aR*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-2-(ciclopentilmetil)-3-oxopropil]hidroxiformamida (1,2759 g, 63%) en forma de un sólido de color rosa pálido. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 500,1.

25

**Ejemplo 4**

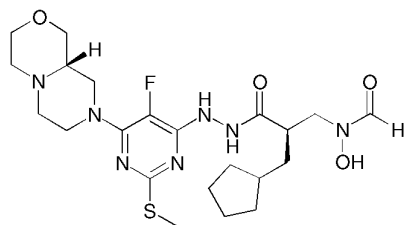
**[(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-2-(fluorometil)-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**



- Se preparó [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-2-(fluorometil)-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida de acuerdo con el Procedimiento General A, utilizando dihidrocloruro de (9*aS*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (Ejemplo 22) en lugar de pirrolidina, usando 4,6-dicloro-5-fluoro-2-(fluorometil)pirimidina en lugar de 4,6-dicloro-5-fluoro-2-metilpirimidina y usando 3 equivalentes de DIPEA en la Parte A. LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 498,3.

### **Ejemplo 5**

- 10 **((2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-{2-[5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-(metiltio)-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**



- 15 Se preparó ((2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-{2-[5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-(metiltio)-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida de acuerdo con el Procedimiento General C, utilizando dihidrocloruro de (9*aS*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (Ejemplo 22) en lugar de hidrocloreuro de azetidina en la Parte A. LCMS: (M+H)<sup>+</sup> 512,2.

### **Ejemplo 6**

**Forma 1 de metanosulfonato de (2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino [2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida.**

- 25 Se disolvió [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida cristalina (500 mg) en tetrahidrofurano (THF, 5 ml). Se añadió acetato de etilo (20 ml) a la solución. Por separado, una solución de ácido metanosulfónico (100 mg) en acetato de etilo (10 ml) se preparó. La solución de
- 30 ácido metanosulfónico se añadió gota a gota durante unos pocos minutos a la solución de base libre en tetrahidrofurano y acetato de etilo. Se formó un

precipitado. La suspensión se agitó con poco calor (40°C a 50°C) durante varias horas. La cristalinidad del precipitado se verificó microscopía de luz polarizada. El precipitado y el sobrenadante se separaron por filtración. Los sólidos se lavaron con acetato de etilo. Después, los sólidos se secaron al vacío. El sólido resultante se caracterizó analíticamente y se encontró que Formaba 1 de la sal metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida por RMN (Figuras 1 y 2, Tablas 1 y 2) y XRPD (Figura 3 y Tabla 3).

**Espectroscopia de Resonancia magnética nuclear de Protón (<sup>1</sup>H) y de Carbono (<sup>13</sup>C) de metanosulfonato de Forma 1 de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

El espectro de <sup>1</sup>H RMN de 400 MHz y el espectro <sup>13</sup>C RMN a 101 MHz de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-*d*<sub>6</sub> (33,3 mg/ml a 25 °C) se presentan en la Figura 1 y Figura 2, respectivamente. Las interpretaciones de los espectros se dan en la Tabla 1 y Tabla 2, respectivamente con la secuencia de numerado que se muestra en la estructura a continuación. Los espectros de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C RMN son coherentes con la estructura propuesta

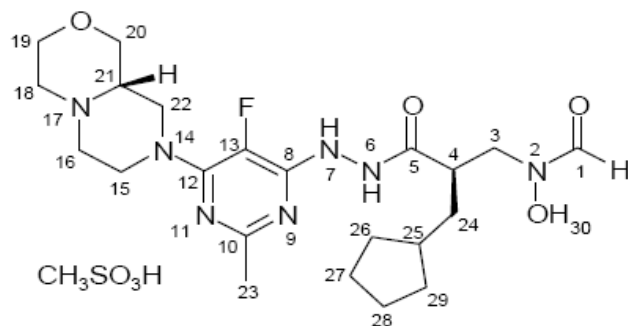


**Tabla 1: Interpretación del espectro de <sup>1</sup>H RMN de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-**

**hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-d<sub>6</sub>**

| Desplazamiento químico (δ)* | Multiplicidad | Nº de átomos de H | Asignación                            |
|-----------------------------|---------------|-------------------|---------------------------------------|
| 1,02-1,10                   | m (cada uno)  | 2                 | 25a, <23a, 25'a/29a                   |
| 1,19-1,25                   | m (cada uno)  | 1                 | 24a y 24'a                            |
| 1,47-'71                    | solapado      | 6                 | 2 7a/28a, 27b/28b, 24b, 24'b, 26b/29b |
| 1,91 - 2,00                 | solapado      | 2                 | 25,25', 26'b/29'b                     |
| 2,23                        | 3             | 1,5 (rotámero)    | 23'                                   |
| 2,2t                        | 3             | 1,5 (rotámero)    | 23                                    |
| 2,33                        | 3             | 3 (contraión)     | Mesilato                              |
| 2,63-2,32                   | m (cada uno)  | 1                 | 4 y 4'                                |
| 3,00                        | t             | 1                 | 22a                                   |
| 3,24-3,57                   | solapado      | 5,5 (rotámero)    | 15a, 3'a, 3, 16, 15, 21, 20a          |
| 3,72-3,30                   | m (cada uno)  | 1,5 (rotámero)    | 3'b, 19a                              |
| 4,00-4,08                   | m (cada uno)  | 2                 | 19b, 20b                              |
| 4,30                        | d             | 1                 | 22b                                   |
| 4,33                        | d             | 1                 | 15b                                   |
| 7,87                        | s             | 0,5 (rotámero)    | 1                                     |
| 5,31                        | s             | 0,5 (rotámero)    | 1'                                    |
| 0,02                        | s             | 0,5 (rotámero)    | 7                                     |
| 9,05                        | s             | 0,5 (rotámero)    | 7'                                    |
| 9,92                        | s             | 0,5 (rotámero)    | 6                                     |
| 9,96                        | s             | 0,5 (rotámero)    | 6'                                    |
| 10,32                       | a             | 2                 | Intercambiable **                     |

**Tabla 2: Interpretación del Espectro de <sup>13</sup>C RMN de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-**

5



**hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-  
3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-d<sub>6</sub>**

| Desplazamiento<br>químico (δ)* | Constante de<br>acoplamiento<br>J <sub>13C-19F</sub> (Hz) | Asignación | Desplazamiento<br>químico (δ)* | Constante de<br>acoplamiento<br>J <sub>13C-19F</sub> (Hz) | Asignación |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------|
| 24,7                           | -                                                         | 27/28      | 51,7                           | -                                                         | 18         |
| 24,3                           | -                                                         | 23         | 52,0                           | -                                                         | 3          |
| 31,6                           | -                                                         | 26/29'     | 60,1                           | -                                                         | 21         |
| 32,3                           | -                                                         | 26/29      | 63,7                           | -                                                         | 19         |
| 35,5                           | -                                                         | 24'        | 65,2                           | -                                                         | 20         |
| 35,5                           | -                                                         | 24         | 130,3                          | 243 (d)                                                   | 13'        |
| 36,3                           | -                                                         | 25         | 130,4                          | 243 (d)                                                   | 13         |
| 37,0                           | -                                                         | 25'        | 143,2                          | -                                                         | 12         |
| 39,5                           | -                                                         | Mesilato   | 152,5                          | 10 (d)                                                    | 8          |
| 41,2                           | -                                                         | 4          | 157,4                          | -                                                         | 1          |
| 43,4                           | a                                                         | 15         | 160,1                          | m                                                         | 10 y 10'   |
| 43,5                           | a                                                         | 22         | 162,0                          | -                                                         | 1'         |
| 48,3                           | -                                                         | 3'         |                                |                                                           |            |
| 51,4                           | -                                                         | 16         |                                |                                                           |            |

**Difracción de Polvo de Rayos X de Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

5 El patrón XRPD para la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se presenta en la Figura 3.

10 La lista de picos (Tabla 3) se produjo tomando en primer lugar los primeros cuatro picos de difracción, seguido de los seis picos de mayor intensidad de la lista de picos restante, que fueron picos definidos claramente y bordes de pico. Los datos de difracción de rayos X se recogieron con radiación K alfa de cobre que se compuso de K alfa 1 y K alfa 2. Cada pico de difracción se ajustó a un perfil y se indicaron los resultados el componente K alfa 1. La  
15 incertidumbre estimada en la posición de pico es +/- 0,3 grad. 2theta.

La lista de picos de 10 puede variar un poco con respecto a las mediciones, debido a la orientación preferida que causa la variación en la orientación relativa e los picos.

20 **Tabla 3: Posiciones de Pico de XRPD para la Forma 1 Polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida basadas en radicación K-alfa 1 de cobre**

25

| Posición de Pico $2\theta \pm 0,3$<br>( $2\theta$ ) |
|-----------------------------------------------------|
| 5,3                                                 |
| 9,7                                                 |
| 10,8                                                |
| 11,4                                                |
| 13,5                                                |
| 14,9                                                |
| 17,8                                                |
| 18,9                                                |

|      |
|------|
| 21,2 |
| 22,1 |

### **Espectro infrarrojo**

El espectro infrarrojo de reflectancia total atenuada (ATR) de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se presenta en la Figura 4. La interpretación del espectro infrarrojo se da en la Tabla 4. La características de absorción son concordantes con la estructura propuesta.

10 **Tabla 4: Interpretación del Espectro Infrarrojo ATR de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

| Número de onda pico (cm <sup>-1</sup> ) | Asignación                                                     |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 3204                                    | Elasticidad N-H (hidrazida) y Elasticidad de O-H (hidroxamida) |
| 2947, 2865                              | Elasticidad de C-H (alifático)                                 |
| 2453                                    | Elasticidad de N-H (amina cuaternaria)                         |
| 1657, 1670                              | Elasticidad de C=O                                             |
| 1606                                    | Elasticidad C=C (pirimidina)                                   |
| 1583                                    | Amida II (hidrazida) y Elasticidad C=C (pirimidina)            |
| 1225                                    | Elasticidad C-F                                                |
| 1174, 1151, 1130, 1112                  | Elasticidad C-N                                                |

15

### **Análisis Térmico**

En base a la calorimetría de exploración diferencial (DSC), véase en la Figura 5, y análisis termogravimétrico (TGA), véase en la Figura 6, la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-

[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato se descompone a aprox. 180 °C en una atmósfera de nitrógeno.

#### **Velocidad de Disolución y Solubilidad**

5           Se           trituró           [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida con un mortero y una maja. El polvo resultante (20 g, 1,0 equiv., base) se cargó en un recipiente con camisa térmica de 250 ml. El recipiente se equipado con un agitador en su parte superior que se ajustó a 60  
10 RPM. El fluido de la camisa se controló a 23 °C. Se preparó una solución de agua purificada (125 ml) y ácido metanosulfónico (4,0 g, 2,7 ml, 1,0 equiv.). La solución acuosa de ácido metanosulfónico se añadió al recipiente que contenía [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida. La suspensión  
15 resultante se agitó de manera continua y se supervisó por turbiedad e inspección visual. Después de 1 día, la turbidez y las lecturas de pH se estabilizaron. La suspensión se observó durante 7,1 días y no se observó disolución completa.

Se trituró metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida con un mortero y una maja. El polvo resultante (24  
20 g, 1,0 equiv.) se cargó en un recipiente con camisa térmica de 250 ml similar. El recipiente se equipó con un agitador en su parte superior que ajustó a 60 RPM. El fluido de la camisa se controló a 23 °C. Se añadió agua purificada (125 ml) al recipiente que contenía metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-  
25 fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida. La suspensión resultante se agitó de manera continua y se supervisó por turbiedad e inspección visual. Se observó visualmente una solución transparente y se confirmó por medio de un turbidímetro a los 3 minutos.

30           El metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida muestra una disolución más rápida y solubilidad mejorada cuando se compara a la base libre, cuando se someta a un equivalente de ácido metanosulfónico y agua a una concentración de 160 mg/ml.

35           La curva de pH solubilidad puede verse a continuación en la Tabla 5.

**Tabla 5:** Curva de pH Solubilidad.

| Disolvente                    | pH   | Solubilidad (mg/ml) | Entrada    |
|-------------------------------|------|---------------------|------------|
| Ácido Metanosulfónico 1 M     | 3,42 | 347*                | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,5 M   | 3,39 | 193*                | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,3M    | 3,34 | 116*                | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,1 M   | 3,57 | 41,7                | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,05 M  | 3,76 | 22                  | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,03 M  | 3,98 | 13,9                | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,01 M  | 4,33 | 4,98                | Base Libre |
| Ácido Metanosulfónico 0,003 M | 4,86 | 1,93                | Base Libre |
| Agua Purificada               | 3,2  | >452**              | Mesilato   |

5 \*El comportamiento de la solubilidad por encima de aprox. pH 3,5 es típico de una base débil. Por debajo de aprox. pH 3,5, pare que el metanosulfonato de (2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida se auto asocia y la solubilidad de la Forma 1 de metanosulfonato de (2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida aumenta sin disminución en

10 pH según se añade más ácido

\*\*Equilibrio no alcanzado

### Nuevo Uso

Debido a la solubilidad y/o velocidad de disolución aumentadas, la Forma

15 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida puede formularse para mejorar los siguientes atributos cuando se compara con un producto liofilizado de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida:

20

1) carga de fármaco por vial de 400 mg a 1200 mg (equivalente de base libre), 2) tasa de degradación en el procesado, almacenamiento (tasa de degradación de 1,7%/mes para base libre frente a 0,2%/mes para mesilato en condiciones forzadas: 50 °C, humedad ambiental) y

25 reconstitución (véase Tabla 6), 3) pH a una concentración de dosificación

establecida en la presentación al paciente desde un intervalo de 3,0 a 3,2 para la base libre a un intervalo de 3,8 a 4,0 para el mesilato, 4) una opción de carga directa de polvo para el producto final.

5 Tabla 6: **Velocidad de Degradación hidrolítica del Liófilo Reconstituido a 5 mg/ml**

| Entrada de API | Temperatura de almacenamiento | Tasa de Degradación |
|----------------|-------------------------------|---------------------|
|                |                               | %hidrolizado/día    |
| Base Libre     | 5 °C                          | 0,06                |
| Base Libre     | 25 °C                         | 0,53                |
| Mesilato       | 5 °C                          | 0,01                |
| Mesilato       | 25 °C                         | 0,11                |

### **Ejemplo 7**

10 **Forma 1 Polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.**

Se añadió 1-propanol (600 ml) a [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-  
 15 [(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida cristalina (100 g). La suspensión resultante se calentó a 60 °C a una velocidad de 1,5 °C por minuto. Se añadió ácido metanosulfónico (13,54 ml) a la suspensión. Se observó disolución completa. La solución se filtró a través de un papel de filtro. El recipiente de disolución y el  
 20 papel de filtro se aclararon con 1-propanol (100 ml). La temperatura de la solución se ajustó a 50 °C y se añadió metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida sembrado (1,0 g) para inducir la cristalización. La suspensión resultante se maduró durante 1 hora a 50 °C,  
 25 después se enfrió a 20 °C a 0,1 °C por minuto, después se maduró durante 2 horas y se enfrió a 0 °C a 0,1 °C/min. La suspensión se maduró durante aproximadamente 3 horas a 0 °C. Los sólidos resultantes y el sobrenadante se separaron por filtración a 0 °C. Los sólidos se enjuagaron con 1-propanol (100

ml). Los sólidos se soplaron con nitrógeno durante 45 minutos. Después, los sólidos se secaron al vacío a 50 °C durante aproximadamente 40 minutos. El sólido resultante se caracterizó analíticamente y se encontró que era la Forma 1.

5 **Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

10 La Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida cristalino anhidrato se identificó y caracterizó por el patrón de picos sustancialmente como se muestra

15 en la Figura 12. El espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 100,56 MHz para observación de  $^{13}\text{C}$  usando una secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda rotatoria de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia del rotor de 8 kHz

20 El espectro de SSRMN  $^{13}\text{C}$  de la Figura 12 se identifica por desplazamientos de picos químicos característicos a aproximadamente 176,47±0,2, 162,53±0,2, 160,63±0,2, 152,70±0,2, 147,69±0,2, 131,27±0,2\* (es decir, \*131,27 y 128,75 ppm provenientes de una sola división del sitio de carbono por el acoplamiento de  $^1\text{J}_{\text{C-F}}$ ), 128,75±0,2\*, 64,86±0,2, 56,15±0,2,

25 54,77±0,2, 52,22±0,2, 45,94±0,2, 42,51±0,2, 42,03±0,2, 37,96±0,2, 36,66±0,2, 33,27±0,2, 31,67±0,2, 25,50±0,2, y 22,32±0,2 ppm.

30 **Espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido  $^{19}\text{F}$  (SSRMN) de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida cristalino anhidrato**

El espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido  $^{19}\text{F}$  (SSRMN) de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-

35

pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxil formamida anhidrato cristalino se identifica y caracteriza por el patrón de picos sustancialmente como se muestra en la Figura 13. El espectro de SSRMN  $^{19}\text{F}$  se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 376,21 MHz para observación de  $^{19}\text{F}$ , usando una secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda rotatoria de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia del rotor de 12,5 kHz. La SSRMN  $^{19}\text{F}$  comprende un desplazamiento químico isotrópico en  $-166,32 \pm 0,2$  ppm.

### **Ejemplo 8**

10 **Dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida.**

La [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida cristalina (100 mg) se disolvió en acetato de etilo (10 ml). Se preparó ácido metanosulfónico (40,1 mg) en acetato de etilo (aprox. 10 ml). La solución de ácido metanosulfónico se añadió gota a gota a la solución de base libre en acetato de etilo. Se formó un precipitado. La suspensión se agitó y se maduró durante una noche. La cristalinidad del precipitado se verificó por microscopía de luz polarizada. El precipitado y el sobrenadante se separaron por filtración. Después, los sólidos se secaron al vacío. El sólido resultante se caracterizó analíticamente y se encontró que era la Forma 1 de la sal dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida por XRPD (véase Figura 7).

### **Difracción de Polvo de Rayos X de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida**

El patrón de XRPD para la Forma 1 polimórfica de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida se presenta en la Figura 7. El difractograma de polvo de rayos X se recogió con un sistema de difracción utilizando radiación  $\text{K}\alpha$  de cobre, rendijas divergentes automatizadas,



filtro de K $\beta$  de níquel y un detector de bandas múltiple. La presentación de la muestra consistió en una capa de polvo fino montada sobre una oblea de silicio de fondo cero.

### **Análisis Térmico**

5 En base a calorimetría de exploración diferencial (DSC) observada en la Figura 8 y a el análisis termogravimétrico (TGA) observado en la Figura 9, la Forma 1 polimórfica de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se descompone a aprox. de 180 a 185 °C en una  
10 atmósfera de nitrógeno.

### **Ejemplo 9**

**Canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida**  
15

Se añadió [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino [2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida cristalina (324,3 mg) a acetonitrilo (MeCN, 3,2 ml). A la  
20 suspensión se le añadió ácido (7,7-dimetil-2-oxobiciclo[2,2,1]heptan-1-il)metanosulfónico (ácido canforsulfónico, 171,8 mg). Los sólidos se disolvieron. La solución se calentó a 40 °C y se maduró durante 2 horas, después se enfrió a temperatura ambiente (aprox. 23 °C) y se maduró durante una noche. Se observaron sólidos y se aislaron por filtración para producir canforsulfonato de  
25 [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (421,1 mg). El sólido resultante se caracterizó analíticamente y se encontró que era la Forma 1 de la sal canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida por RMN (véase, Figura 19) y XRPD (véase, Figura 10).  
30

**Datos de Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H (<sup>1</sup>H RMN) para canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino [2,1-c] [1,4] oxazin- 8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida**  
35

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, en referencia a TMS = 0,00 ppm, T = 25C, rotámetros presentes debidos a rotación impedida, rotámetros principales enumerados con redondeo de integración a 1/2 unidades más cercanas) δ ppm 10,6-9,0 (4H, varios s anchos), 8,30 (1/2 H, s), 7,87 (1/2 H, s), 4,40-4,28 (2H, varios multipletes), 4,08-4,00 (2H, varios m), 3,82-3,72 (3/2 H, varios m), 3,56-3,23 (17/2 H, varios m), 3,05-2,99 (1H, m), 2,92 (1H, d, J = 15 Hz), 2,82-2,61 (2H, varios m), 2,44 (1H, d, J = 15 Hz), 2,28-2,21 (4H, varios s y m), 2,00-1,79 (5H, varios m), 1,72-1,47 (6H, varios m), 1,36-1,20 (3H, varios m), 1,10-1,00 (2H, varios m), 1,04 (3H, s), 0,75 (3H, s) (véase Figura 19).

### **Difracción de Polvo de Rayos X**

El patrón XRPD para la Forma Polimórfica de canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se presenta en la Figura 10. El difractograma de polvo de Rayos X se recogió con un sistema de difracción, utilizando radiación Kα de cobre, rendijas divergentes automatizadas, filtro de Kβ de níquel y un detector de bandas múltiple. La presentación de la muestra consistió en una capa de polvo fino montada sobre una oblea de silicio de fondo cero.

### **Análisis Térmico**

En case a calorimetría de exploración diferencial (DSC) observada en la Figura 11, la Forma 1 polimórfica de canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida tiene un principio de fusión aparente de aprox. 140 °C y se descompone a aprox. 180 °C en una atmósfera de nitrógeno.

### **Ejemplo 10**

**Formulaciones Farmacéuticas de la Forma 1 y la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

**Ejemplo 10 A**

**Formulación Farmacéutica de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

La formulación farmacéutica se preparó disolviendo a una concentración diana de 120 mg/ml de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida y 50 mg/ml de manitol anhidro en un recipiente que contenía agua purificada. Los contenidos del recipiente se agitaron para obtener una solución, se llevaron a volumen final con agua purificada y se agitaron de nuevo para asegurar el mezclado completo. La solución se pasó a través de un filtro esterilizante de 0,2 µm. Después, una cantidad conocida de la solución se cargó en viales de vidrio y los viales se taparon parcialmente con tapones de liofilización de goma. Después, los viales se pusieron en un liofilizador de tipo bandeja y se liofilizaron. El liofilizador se relleno con nitrógeno seco a justo por debajo de la presión atmosférica (aproximadamente 650 Torr) y los viales se taparon por completo. Los viales se descargaron del liofilizador y se cerraron herméticamente.

**Ejemplo 10 B**

**Formulación Farmacéutica de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

La formulación farmacéutica se preparó disolviendo una concentración diana de 120 mg/ml de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida y 50 mg/ml de manitol anhidro en un recipiente que contenía agua purificada. Los contenidos del recipiente se agitaron para obtener una solución, se llevaron a volumen final con agua purificada y se agitaron de nuevo para asegurar el mezclado completo. La solución se pasó a través de un filtro esterilizante de 0,2 µm. Después, una cantidad conocida de la solución se cargó en viales de vidrio y los viales se

taparon parcialmente con tapones de liofilización de goma. Después, los viales se pusieron en un liofilizador de tipo bandeja y se liofilizaron. El liofilizador se relleno con nitrógeno seco a justo por debajo de la presión atmosférica (aproximadamente 650 Torr) y los viales se taparon por completo. Los viales se  
5   descargaron del liofilizador y se cerraron herméticamente.

### **Ejemplo 11**

#### **Forma 2 Polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida**

10

Se añadió [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida cristalina (15 g) a 1-Propanol (nPrOH, 240 ml) e Isooctano (60 ml). a la suspensión, se le añadió ácido metanosulfónico (2,992 g) diluido en  
15   nPrOH (15 ml) a 10 °C. Los sólidos se disolvieron.

La solución se calentó a 35 °C y se sembró con la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida. El lote se enfrió a 10 °C, resultando en una nucleación  
20   simultánea de la Forma 2. La mezcla de las formas se calentó a 35 °C y se enfrió a 10 °C, y los sólidos se aislaron por filtración para producir metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida (14,32 g).

El sólido resultante se caracterizó analíticamente y se encontró que era la  
25   Forma 2 de la sal metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida por IR, RMN y XRPD (Véanse, Figuras 14 a 18).

### **Espectro Infrarrojo**

El espectro infrarrojo de reflectancia total atenuada (ATR) de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida metanosulfonato se presenta en la Figura 14 y la interpretación del espectro infrarrojo se da en la Tabla 7. La características de  
35   absorción son coherentes y se corresponden con la estructura propuesta.

**Tabla 7: Interpretación del Espectro Infrarrojo de ATR de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

| Número de onda Pico<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Asignación                                             |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 3565, 3468, 2943                           | Elasticidad de N-H (hidrazida)                         |
| 3201                                       | Elasticidad de O-H (alcohol)                           |
| 2863                                       | Elasticidad de C-H (alifática)                         |
| 2626                                       | Elasticidad de N-H (amina cuaternaria)                 |
| 1699, 1653                                 | Elasticidad de C=O                                     |
| 1611                                       | Elasticidad de C=C (pirimidina)                        |
| 1577                                       | Amida II (hidrazida) y Elasticidad de C=C (pirimidina) |
| 1347, 1329                                 | Elasticidad de N-O                                     |
| 1154, 1034                                 | Elasticidad de C-F                                     |
| 766                                        | Elasticidad de C-H (pirimidina)                        |

**Difracción de Polvo de Rayos X de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

El patrón de XRPD para la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida se presenta en la Figura 15.

La lista de picos (Tabla 8) para la Forma 2 se produjo por posiciones de grados de asignación dos theta (2θ) para los 10 picos más fuertes en la región de 2 a 20 grados dos theta (2θ) de un difractograma de rayos X de polvo capilar. Los datos de difracción de rayos X se recogieron con radiación K alfa de cobre está compuesta de K alfa 1 y K alfa 2. Cada pico de difracción se ajustó a un perfil y

se indican los resultados del componente K alfa 1. La incertidumbre estimada en la posición de pico es +/- 0,3 grad. 2theta.

5 Como se entiende de forma convencional por un experto en la materia, las intensidades relativas de dichos picos pueden variar de muestra a muestra y de preparación a preparación debido a variación en la orientación preferida de las partículas de la muestra en el portamuestras y en la calibración de la instrumentación.

10 **Tabla 8: Posiciones de Pico de XRPD para Polimorfo de la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida basados en radiación K-alfa 1 de cobre**

| Posición de Pico $2\theta \pm 0,3$<br>( $2\theta$ ) |
|-----------------------------------------------------|
| 5,5                                                 |
| 9,3                                                 |
| 9,7                                                 |
| 10,8                                                |
| 13,6                                                |
| 14,5                                                |
| 15,0                                                |
| 16,2                                                |
| 17,8                                                |
| 19,6                                                |

15 **Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  ( $^1\text{H}$  RMN) de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

20  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz, DMSO- $d_6$ , referido a TMS = 0,00 ppm, T = 25 °C, rotámeros presentes debido a rotación impedida, rotámeros principales enumerados con redondeo de integración a 1/2 unidades más próximas)  $\delta$  ppm 10,6-9,7 (3H, varios s anchos), 9,06 (1/2 H, s), 9,03 (1/2 H, s), 8,30 (1/2 H, s), 7,87 (1/2 H, s), 4,38 (1H, d, J = 13 Hz), 4,30 (1H, d, J = 13 Hz), 4,08-4,00 (2H, varios m),

3,81-3,72 (3/2 H, varios m), 3,56-3,24 (17/2 H, varios m), 3,04-3,00 (1H, m), 2,82-2,70 (1H, varios m), 2,41 (3H, s), 2,26-2,23 (3H, varios s), 1,99-1,90 (2H, varios m), 1,71 (1H, m ancho), 1,66-1,47 (5H, varios m), 1,27-1,20 (1H, m), 1,08-1,02 (2H, varios m). (véase Figura 16)

5

**Resonancia Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  y  $^{19}\text{F}$  en Estado Sólido (SSRMN) de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

10

Se adquirieron datos de RMN de estado sólido de  $^{13}\text{C}$  y  $^{19}\text{F}$ , respectivamente, como se describen a continuación, respectivamente, usando un espectrómetro de resonancia triple Bruker Avance 400 funcionando a una frecuencia de  $^1\text{H}$  de 399,87 MHz.

15

Los espectros de  $^{13}\text{C}$  SSRMN mostrados se obtuvieron usando una secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda rotatoria de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia de rotor de 8 kHz. Se usó una rampa de polvo lineal de 75 a 90 kHz en el canal de  $^1\text{H}$  para mejorar la eficacia de polarización cruzada. Las bandas laterales de giro se eliminaron mediante una secuencia de pulsos de supresión de banda lateral total de cinco pulsos. Se obtuvo desacoplamiento de  $^1\text{H}$  usando la secuencia Spinal-64.

20

Los espectros de  $^{19}\text{F}$  SSRMN mostrados se obtuvieron usando una secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia de rotor de 12,5 kHz. Se indican posiciones de pico características de RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^{19}\text{F}$  en relación a tetrametilsilano a 0 ppm (partes por millón) y se mencionan a una precisión de +/- 0,2 ppm, debido a la variabilidad del instrumental y la calibración.

25

**Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

30

Se identificó o caracterizó la Forma 2 anhidrato cristalino polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-

35

hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida por espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) como se representa por el patrón de picos sustancialmente como se muestra en la Figura 17, obtenido en un espectrómetro

5 que funcionaba a una frecuencia de 100,56 MHz por observación  $^{13}\text{C}$ , usando una secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda rotatoria de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia de rotor de 8 kHz.

La Figura 17 muestra un SSRMN $^{13}\text{C}$ , que muestra desplazamientos de

10 pico químicos característicos a 174,30±0,2, 161,44±0,2, 161,16±0,2, 160,86±0,2, 160,39±0,2, 154,28±0,2, 153,01±0,2, 149,82±0,2, 132,12±0,2\*, 131,77±0,2\*, 129,70±0,2\*, 129,31±0,2\*, 68,30±0,2, 64,57±0,2, 63,83±0,2, 61,34±0,2, 59,89±0,2, 54,19±0,2, 53,81±0,2, 52,92±0,2, 52,43±0,2, 51,31±0,2, 50,16±0,2, 45,90±0,2, 42,86±0,2, 41,87±0,2, 40,22±0,2, 38,73±0,2, 37,75±0,2, 36,48±0,2, 35,59±0,2,

15 33,97±0,2, 32,82±0,2, 26,89±0,2, 26,23±0,2, 25,86±0,2, y 25,23±0,2 ppm. (es decir, donde \*132,12, 131,77, 129,70 y 128,75 ppm provienen de dos sitios de carbono, cada uno dividido por el acoplamiento  $^1\text{J}_{\text{C-F}}$ ).

**Espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido  $^{19}\text{F}$  (SSRMN) de la Forma 2 Polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

20

Se caracteriza y se identifica el espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido  $^{19}\text{F}$  (SSRMN) de la Forma 2 anhidrato cristalina polimórfica de

25 metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida por el patrón de picos sustancialmente como se muestra en la Figura 18, en el que el espectro de SSRMN se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 376,21 MHz para observación de  $^{19}\text{F}$ , usando una

30 secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda rotatoria de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia de rotor de 12,5 kHz.

La Figura 18 muestra un SSRMN  $^{19}\text{F}$  con unos desplazamientos químicos de pico isotrópicos característicos a -166,56±0,2 y -171,26±0,2 ppm.

### **Ejemplo 12**



**Forma 2 Polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidro pirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida.**

5           Se           añadió           [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida (33,8 g) un reactor de laboratorio con camisa térmica de 1 l ("JLR"). Se añadió N-propanol (473 ml) al JLR de 1 l. Los contenidos se calentaron a 70 °C para disolución. Se confirmó la disolución completa. El reactor  
10 se aclaró con n-propanol (68 ml). Los contenidos se enfriaron a 25 °C a 0,25 °C/min. Se cargó una solución de ácido metanosulfónico (11,4 ml de 20% p/p de ácido metanosulfónico en n-propanol) en el JLR. Se añadió la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-  
15 oxopropil]hidroxiformamida (0,34 g) se añadió a la suspensión. La suspensión se maduró durante más de 30 minutos.

Se cargó ácido metanosulfónico (45,5 ml de 20% p/p de ácido metanosulfónico en n-propanol) en el JLR a una velocidad controlada lineal durante 6 horas. La suspensión resultante se maduró durante 2 horas. A la suspensión se  
20 le añadió isooctano (144 ml) a una velocidad controlada durante 6 horas. Después, la suspensión se enfrió a 15 °C a 0,1 °C/min y se maduró durante 1 hora. Los sólidos resultantes se aislaron por filtración.

Los sólidos se lavaron con una mezcla de n-propanol (100 ml) e isooctano (25 ml). Después, los sólidos se lavaron con isooctano (100 ml). La torta se sopló  
25 con nitrógeno durante 2 horas y se secó al vacío a 50 °C durante 48 horas, produciendo 34,6 g (rendimiento molar de 85,1%) de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida por XRPD (véase, Figura 20).

30           Debe apreciarse que la invención no se limita a las realizaciones ilustradas anteriormente en la presente memoria y se reserva el derecho a las realizaciones ilustradas y todas las modificaciones que entran dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

Las diversas referencias a revistas, patentes y otras publicaciones que se citan en la presente memoria comprenden el estado de la técnica y se incorporan en la presente memoria por referencia según se exponen en su totalidad.

**REIVINDICACIONES**

1. Un compuesto que es metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.  
5
2. Un compuesto que es la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.  
10
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 que tiene un espectro de <sup>1</sup>H RMN como se muestra en la Figura 1.
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 que tiene un Espectro de <sup>13</sup>C RMN como se muestra en la Figura 2.  
15
5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 que tiene un patrón de difracción de rayos X que comprende picos característicos en grados dos-theta como se muestra en la Figura 3.  
20
6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que tiene picos característicos de 0° grados 2-theta (2θ) a 55° grados 2-theta (2θ) a aproximadamente 5,3 ± 0,3 (2θ), 9,7 ± 0,3 (2θ), 10,8 ± 0,3 (2θ), 11,4 ± 0,3 (2θ), 13,5 ± 0,3 (2θ), 14,9 ± 0,3 (2θ), 17,8 ± 0,3 (2θ), 18,9 ± 0,3 (2θ), 21,2 ± 0,3 (2θ) y 22,1 ± 0,3 (2θ).  
25
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene un Espectro Infrarrojo de Reflectancia Total Atenuada que comprende bandas de absorción de pico características en números de onda como se muestra en la Figura 4.  
30
8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 que tiene picos de Espectro Infrarrojo característicos de número de onda de 500 cm<sup>-1</sup> a 4000 cm<sup>-1</sup> a aproximadamente 1174 cm<sup>-1</sup>, 1151 cm<sup>-1</sup>, 1130 cm<sup>-1</sup>, 1112 cm<sup>-1</sup>, 1225 cm<sup>-1</sup>, 1583 cm<sup>-1</sup>, 1606 cm<sup>-1</sup>, 1657 cm<sup>-1</sup>, 1670 cm<sup>-1</sup>, 2453 cm<sup>-1</sup>, 2947 cm<sup>-1</sup>, 2865 cm<sup>-1</sup> y 3204 cm<sup>-1</sup>.  
35

9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación **2** que tiene un Espectro de Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) como se muestra en la Figura 5.
- 5 10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación **2** que tiene un Espectro de Análisis Termogravimétrico (TGA) como se muestra en la Figura 6.
11. Un compuesto que es dimetanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.
- 10 12. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 que tiene un patrón de difracción de rayos X que comprende picos característicos en grados dos-theta como se muestra en la Figura 7.
- 15 13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 que tiene un Espectro de Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) como se muestra en la Figura 8.
14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 que tiene un Espectro de
- 20 Análisis Termogravimétrico (TGA) como se muestra en la Figura 9.
15. Un compuesto que es carforsulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.
- 25 16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 15 que tiene un patrón de difracción de rayos X que comprende picos característicos en grados dos-theta como se muestra en la Figura 10.
- 30 17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 15 que tiene un Espectro de Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) como se muestra en la Figura 11.
18. Una composición farmacéutica que comprende metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-

il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

19. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 18, en la que  
5 metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida están en la Forma 1 o la Forma 2.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 18 formulada  
10 para administración por vía intravenosa (iv).

21. Una composición farmacéutica que comprende dimetanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida y al menos un  
15 excipiente farmacéuticamente aceptable.

22. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación **21** formulada para administración por vía intravenosa (iv).

20 23. Una composición farmacéutica que comprende canforsulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25 24. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación **23** formulada para administración por vía intravenosa (iv).

25. Un método para tratar una infección bacteriana que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de metanosulfonato de  
30 [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida a un ser humano que lo necesita.

26. El método para el tratamiento de una infección bacteriana de acuerdo con la  
35 reivindicación 25, en el que se selecciona metanosulfonato de [(2*R*)-2-

- (ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida se selecciona entre la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida metanosulfonato o la Forma 2 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.
- 10 27. El método de acuerdo con la reivindicación 25 en el que la infección bacteriana está ocasionada por *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, *Legionella*, *Chlamydia*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium* o *Peptostreptococcus*.
- 15 28. El método de acuerdo con la reivindicación 25 en el que la infección bacteriana es una otitis, sinusitis, infección del tracto respiratorio superior, infección del tracto respiratorio inferior, infección genital, infección en la piel y en tejidos blandos, o endocarditis bacteriana.
- 20 29. Un método para el tratamiento de una infección bacteriana que comprende administrar, a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida dimetanosulfonato.
- 25 30. El método de acuerdo con la reivindicación 29 en el que la infección bacteriana está ocasionada por *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, *Legionella*, *Chlamydia*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium* o *Peptostreptococcus*.
- 30 31. El método de acuerdo con la reivindicación 29 en el que la infección bacteriana es una otitis, sinusitis, infección del tracto respiratorio superior, infección del tracto respiratorio inferior, infección genital, infección en la piel y en tejidos blandos, o endocarditis bacteriana.
- 35

32. Un método para el tratamiento de una infección bacteriana que comprende administrar, a un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida canforsulfonato.
33. El método de acuerdo con la reivindicación 32 en el que la infección bacteriana está ocasionada por *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Mycoplasma*, *Legionella*, *Chlamydia*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium* o *Peptostreptococcus*.
34. El método de acuerdo con la reivindicación 32 en el que la infección bacteriana es una otitis, sinusitis, infección del tracto respiratorio superior, infección del tracto respiratorio inferior, infección genital, infección en la piel y en tejidos blandos, o endocarditis bacteriana.
35. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la Forma de metanosulfonato de (Ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida del compuesto es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina, un hidrato o una mezcla de los mismos.
36. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 35, en el que la Forma 1 de metanosulfonato de (ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida del compuesto es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina.
37. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 36, que tiene un Espectro de RMN de estado sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) como se muestra en la Figura 12,.
38. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 36, que tiene un espectro de RMN de Estado Sólido  $^{19}\text{F}$  ( $^{19}\text{F}$  SSRMN) mostrado en la Figura 13.
39. Una composición farmacéutica que comprende la Forma 1 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*a*S)-

hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida que es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina.

5 40. Un compuesto que es la Forma 2 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.

10 41. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40, en el que la Forma 2 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida del compuesto es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina, un hidrato o una mezcla de los mismos.

15 42. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 41, en el que la Forma 2 de metanosulfonato de [(2*R*)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9*aS*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il]-2-metil-4-pirimidinil]hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida del compuesto es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina.

20 43. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40 que tiene un espectro de <sup>1</sup>H RMN como se muestra en la Figura 16.

44. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40 que tiene un Espectro de RMN de Estado Sólido de <sup>13</sup>C como se muestra en la Figura 17.

25

45. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40 que tiene un patrón de difracción de rayos X que comprende picos característicos en grados dos-theta como se muestra en la Figura 15.

30 46. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 45 que tiene picos característicos de 0° grados 2-theta (2θ) 55° grados 2-theta (2θ) a aproximadamente 5,5 ± 0,3 (2θ), 9,3 ± 0,3 (2θ), 9,7 ± 0,3 (2θ), 10,8 ± 0,3 (2θ), 13,6 ± 0,3 (2θ), 14,5 ± 0,3 (2θ), 15,0 ± 0,3 (2θ). 16,2 ± 0,3 (2θ), 17,8 ± 0,3 (2θ) y 19,6 ± 0,3 (2θ).

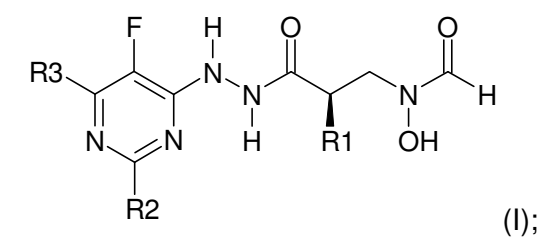
35



47. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40, que tiene un Espectro Infrarrojo de Reflectancia Total Atenuada que comprende bandas de absorción características expresadas en números de onda como se muestra en la Figura 14.
- 5
48. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 47 que tiene picos de Espectro Infrarrojo característicos de números de onda  $500\text{ cm}^{-1}$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$  en aproximadamente  $766\text{ cm}^{-1}$ ,  $1034\text{ cm}^{-1}$ ,  $1154\text{ cm}^{-1}$ ,  $1329\text{ cm}^{-1}$ ,  $1347\text{ cm}^{-1}$ ,  $1577\text{ cm}^{-1}$ ,  $1611\text{ cm}^{-1}$ ,  $1653\text{ cm}^{-1}$ ,  $1699\text{ cm}^{-1}$ ,  $2626\text{ cm}^{-1}$ ,  $2863\text{ cm}^{-1}$ ,  $3201\text{ cm}^{-1}$ ,  $2943\text{ cm}^{-1}$ , 10  $3468\text{ cm}^{-1}$  y  $3565\text{ cm}^{-1}$ .
49. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40 que tiene una RMN de Estado Sólido  $^{13}\text{C}$  como se muestra en la Figura 17.
- 15 50. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 40 que tiene un Espectro de RMN de Estado Sólido  $^{19}\text{F}$  como se muestra en la Figura 18.
51. Una composición farmacéutica que comprende la Forma 2 de metanosulfonato de  $[(2R)\text{-}2\text{-(ciclopentilmetil)-}3\text{-(}2\text{-}\{5\text{-fluoro-}6\text{-}[(9aS)\text{-}20\text{ hexahidropirazino}[2,1\text{-}c][1,4]\text{oxazin-}8(1H)\text{-il)]-}2\text{-metil-}4\text{-pirimidinil}\}\text{hidrazino})\text{-}3\text{-oxopropil}\}\text{hidroxiformamida}$  que es un anhidrato cristalino o una forma anhidra cristalina.

### **RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN**

La presente invención se refiere a compuestos de {2-(alquil)-3-[2-(5-fluoro-4-pirimidinil)hidrazino]-3-oxopropil}hidroxiformamida de Fórmula (I):



o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, composiciones farmacéuticas correspondientes, procesos para la preparación y uso de dichos compuestos en la inhibición de la actividad de desformilasa de péptido bacteriana (PDF) y en métodos de tratamiento para infecciones bacterianas.

Fig. 1

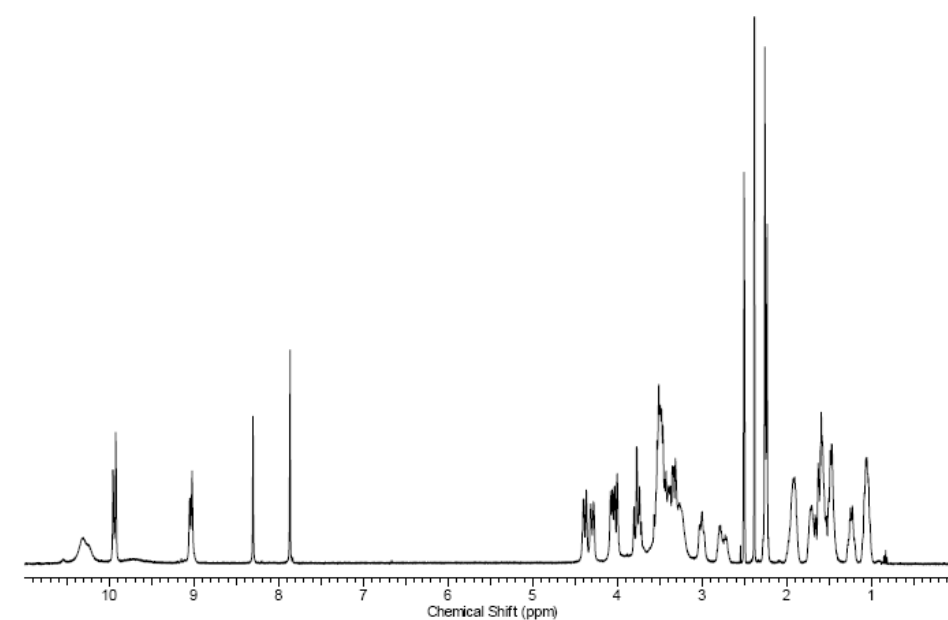


Figura 1: Espectro de <sup>1</sup>H RMN de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en DMSO-d<sub>6</sub>

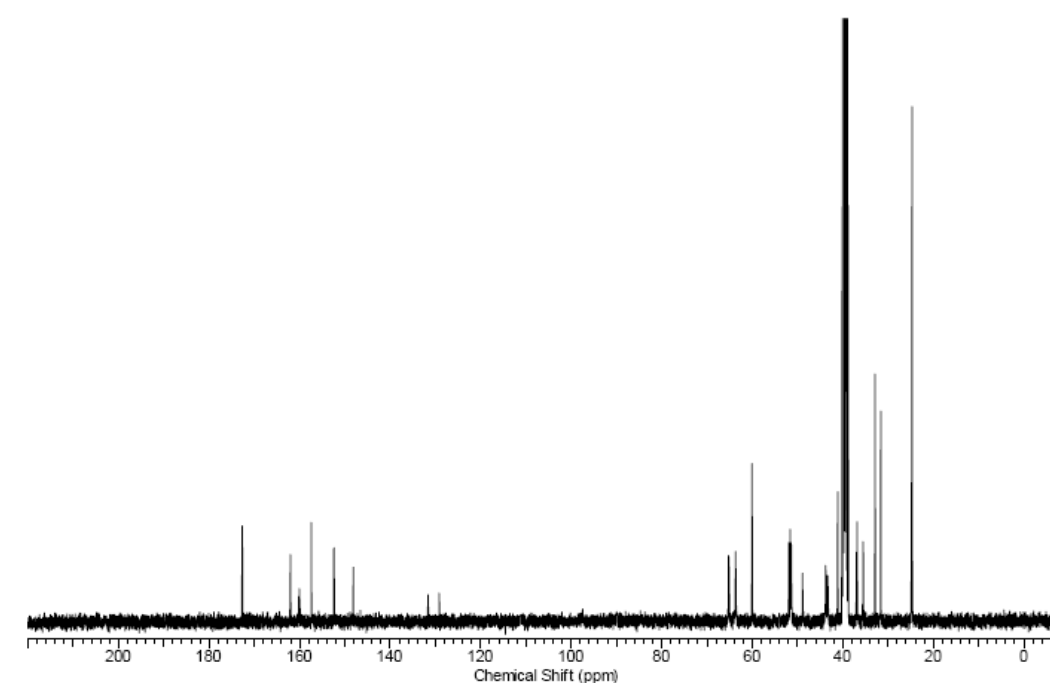
**Fig. 2**

**Figura 2: Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en  $\text{DMSO-d}_6$**

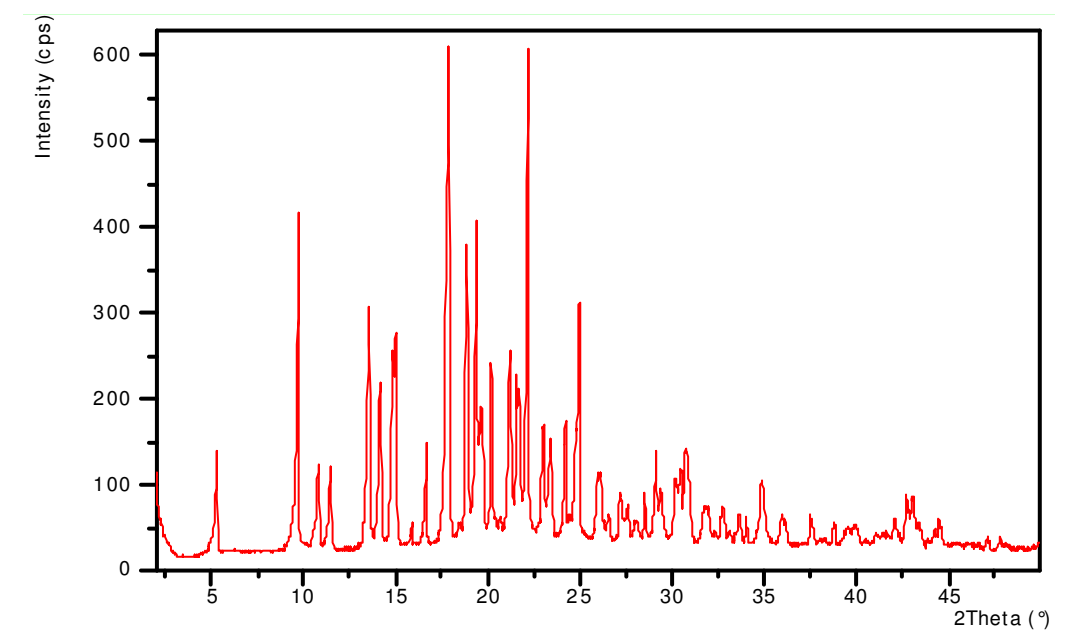
**Fig. 3**

**Figura 3: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

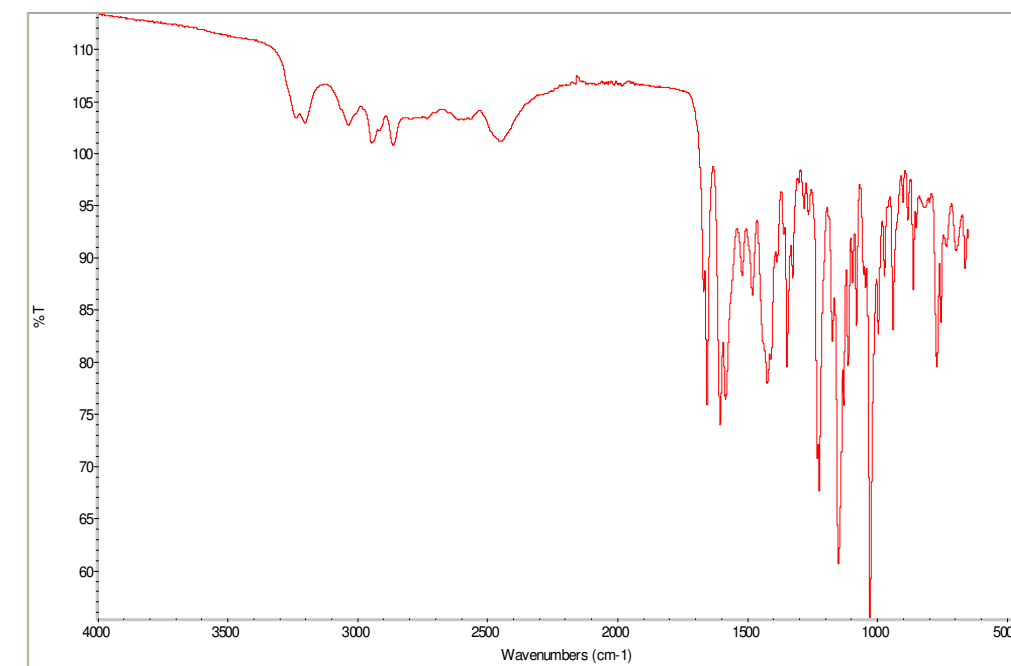
**Fig. 4**

**Figura 4: Espectro de ATR-IR de la Forma 1 de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**



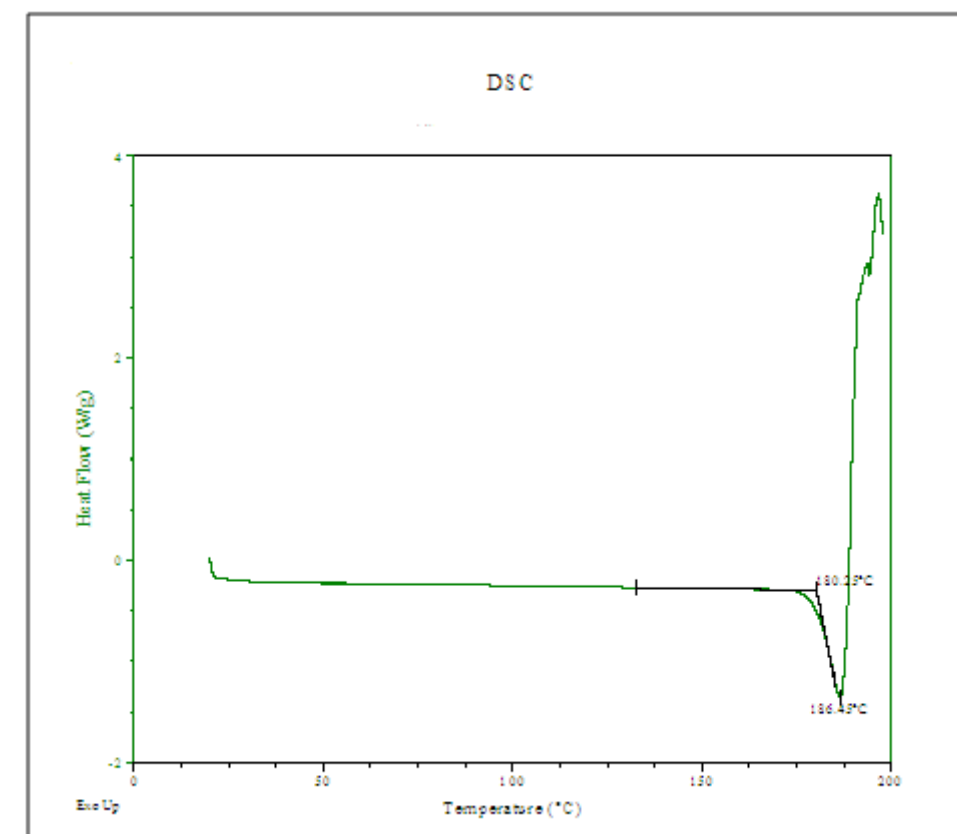
**Fig. 5**

**Figura 5: Calorimetría de Exploración Diferencial de la Forma 1 de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

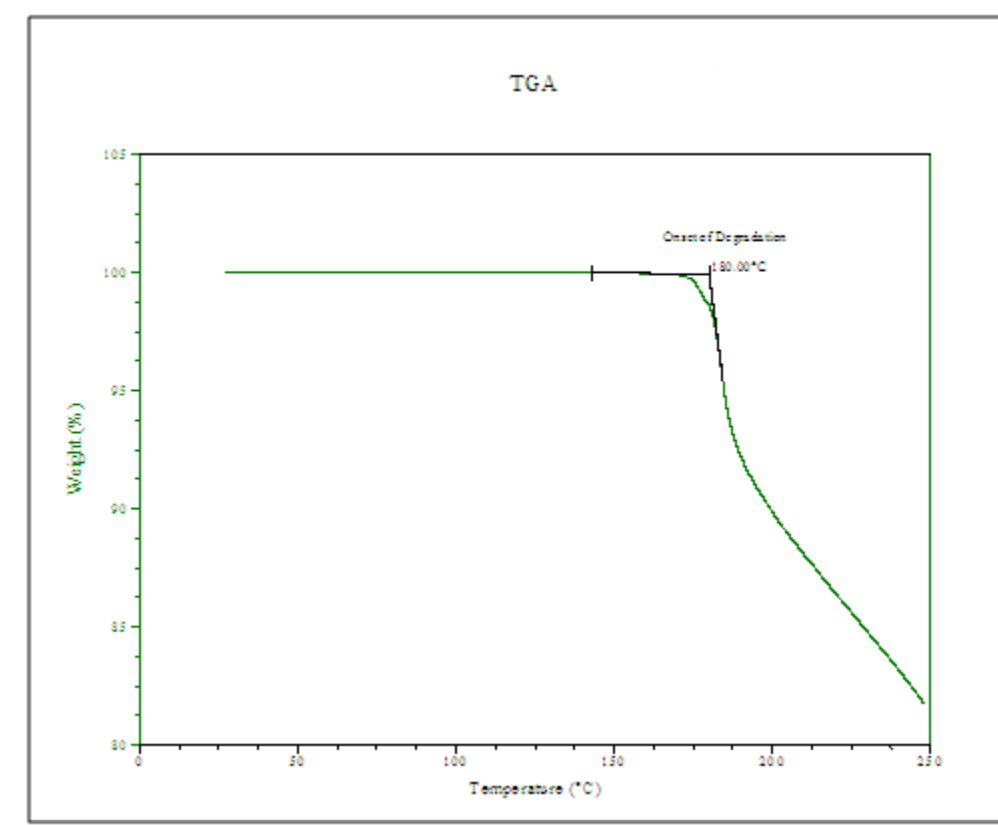
**Fig. 6**

**Figura 6: Análisis Termogravimétrico de la Forma 1 de metanosulfonato [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**



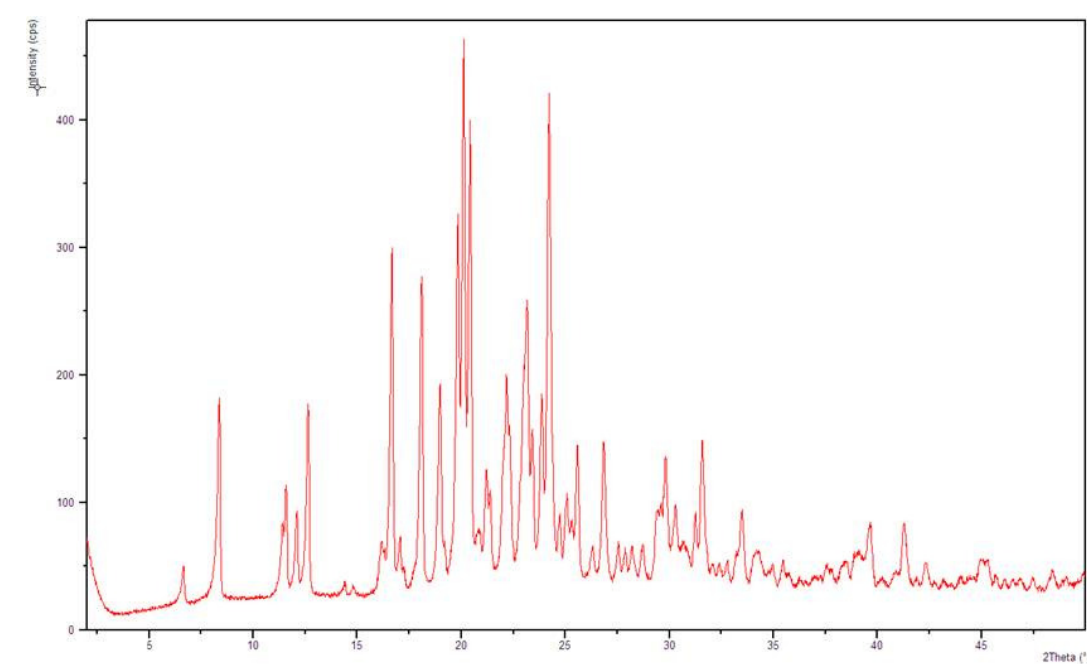
**Fig. 7**

**Figure 7: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 1 de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

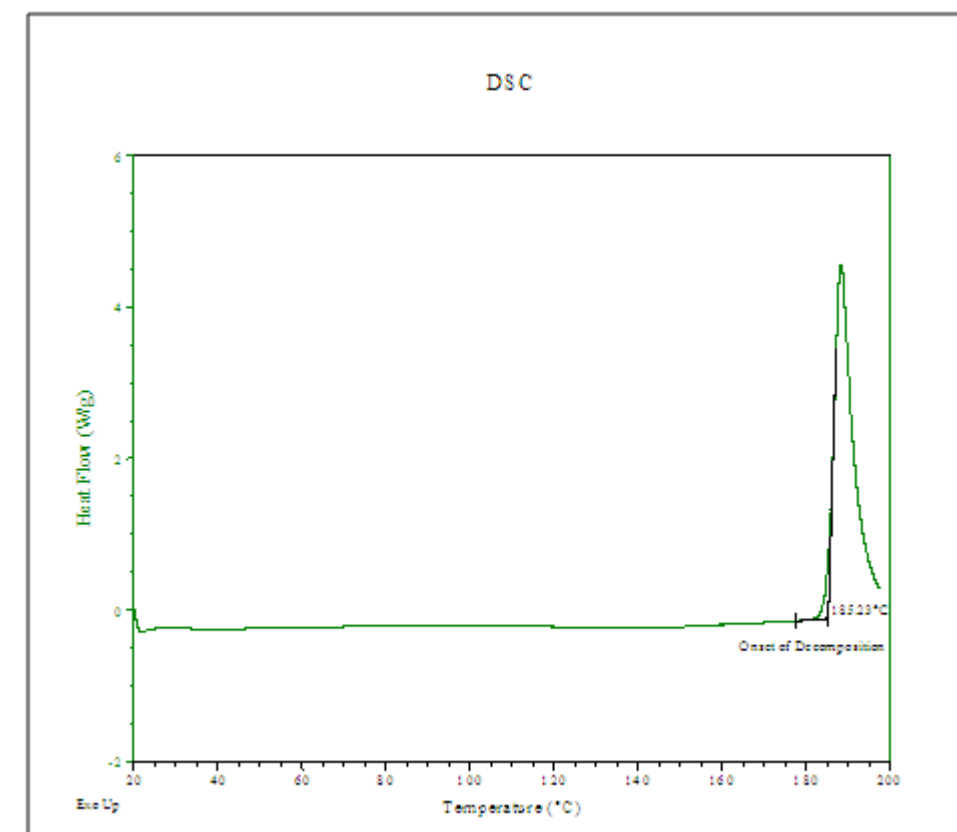
**Fig. 8**

**Figura 8: Calorimetría de Exploración Diferencial de dimetanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

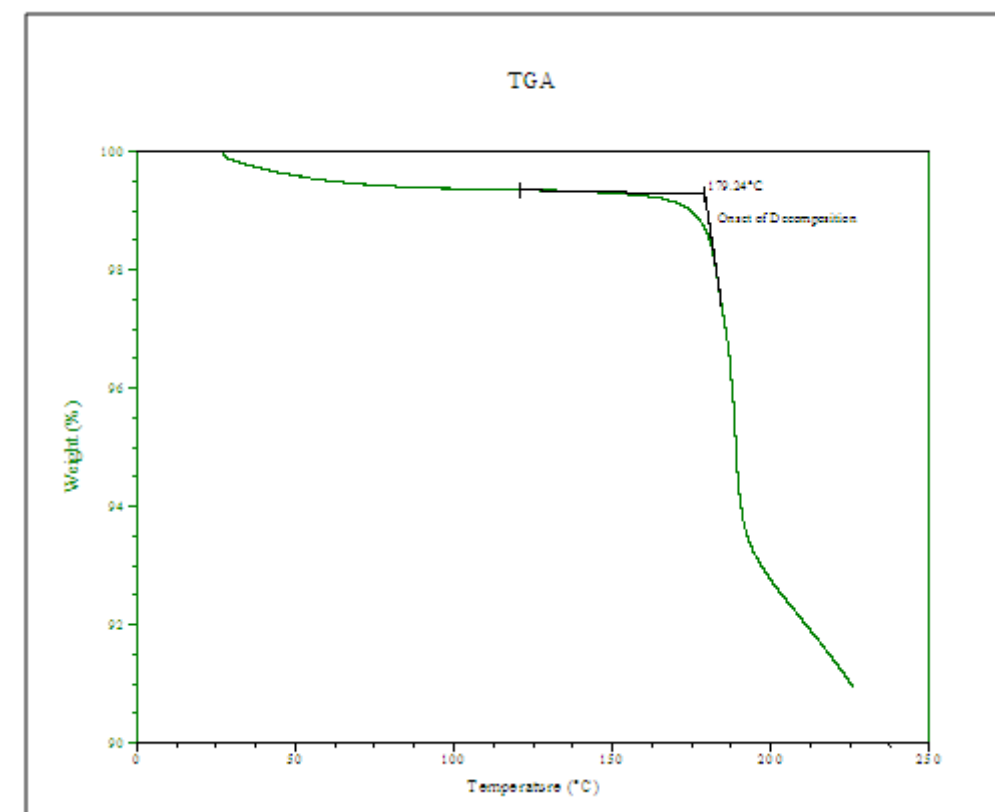
**Fig. 9**

**Figura 9: Análisis Termogravimétrico de dimetanosulfonato [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil} hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida**

Fig. 10

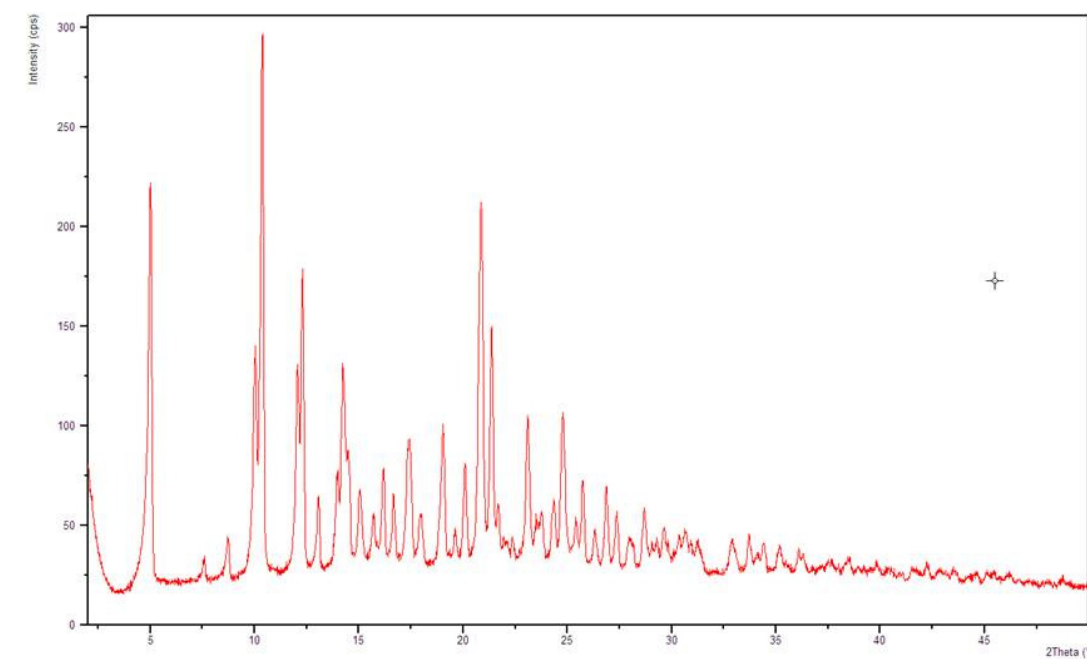


Figura 10: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida

Fig. 11

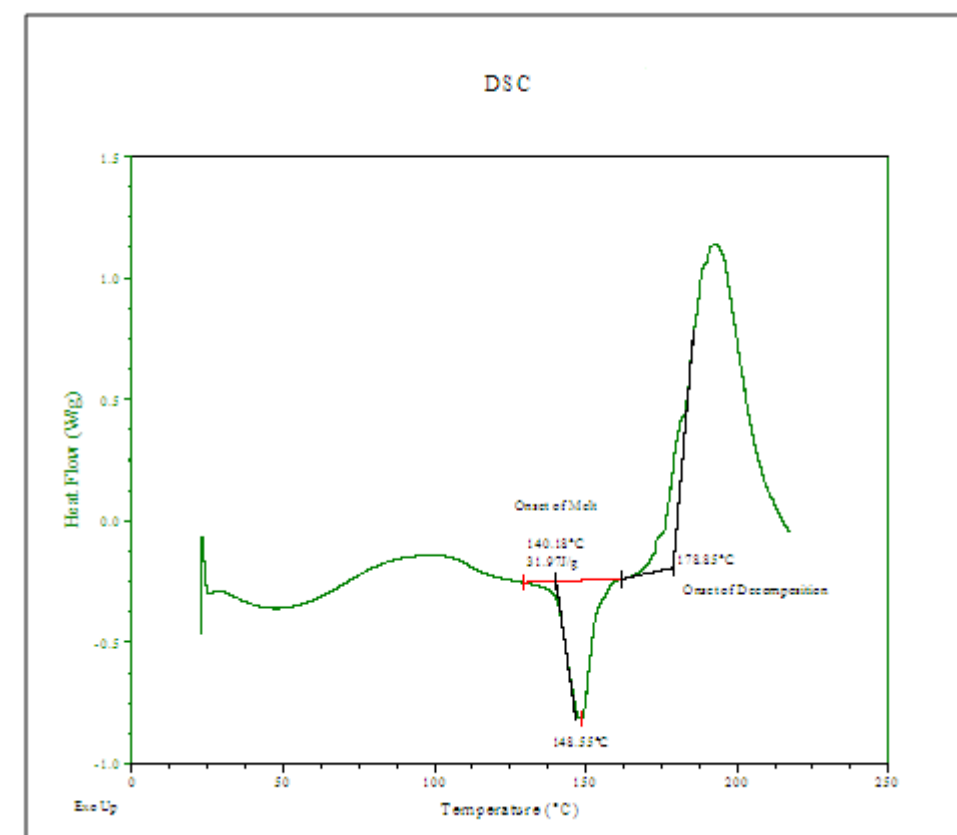
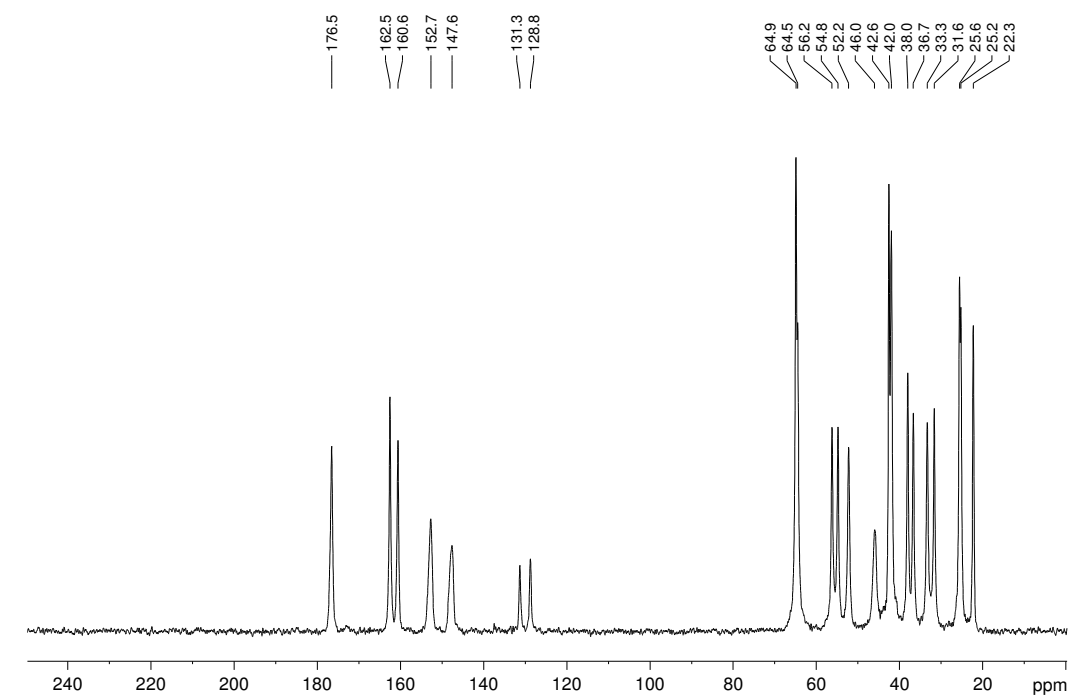


Figure 11: Calorimetría de Exploración Diferencial de canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida

Fig. 12



La Figura 12 representa el Espectro de RMN de estado Sólido de  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) de anhidrato cristalino de la Forma 1 polimérica de metanosulfonato [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida. El espectro de RMN de estado sólido RMN se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 100,56 MHz para observación de  $^{13}\text{C}$  y una velocidad de giro de 8 kHz.



Fig. 13

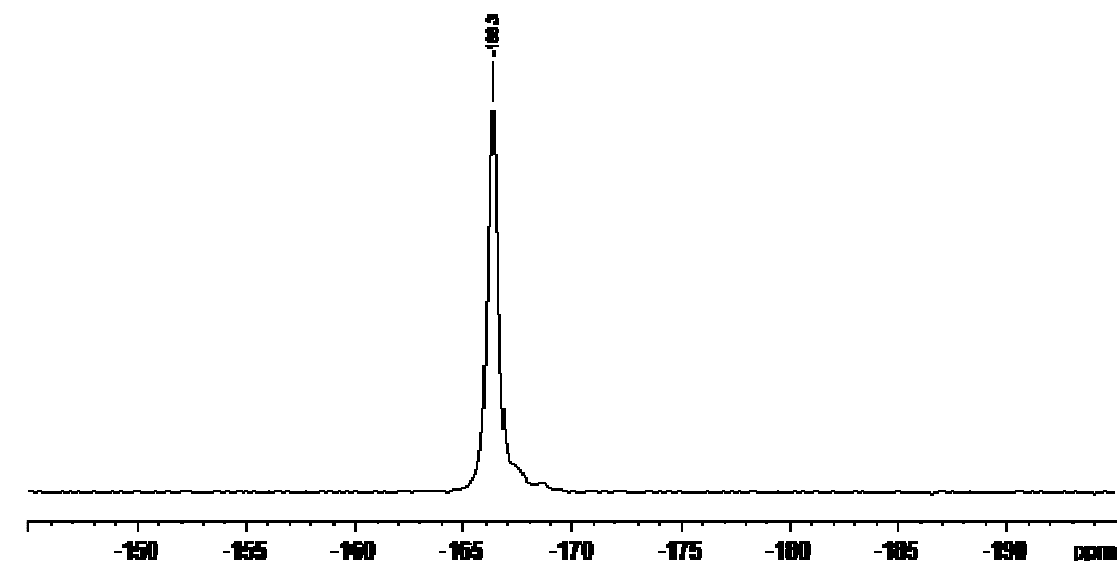


Figura 13: representa el espectro de RMN de Estado Sólido  $^{19}\text{F}$  ( $^{19}\text{F}$  SSRMN) de anhidrato cristalino de la Forma 1 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4] oxazin - 8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida Forma 1. El espectro de RMN de estado sólido se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 376,21 MHz para observación de  $^{19}\text{F}$ , usando una secuencia de pulsos de polarización cruzada con una sonda rotatoria de ángulo mágico de triple resonancia Bruker de 4 mm a una frecuencia del rotor de 12,5 kHz.

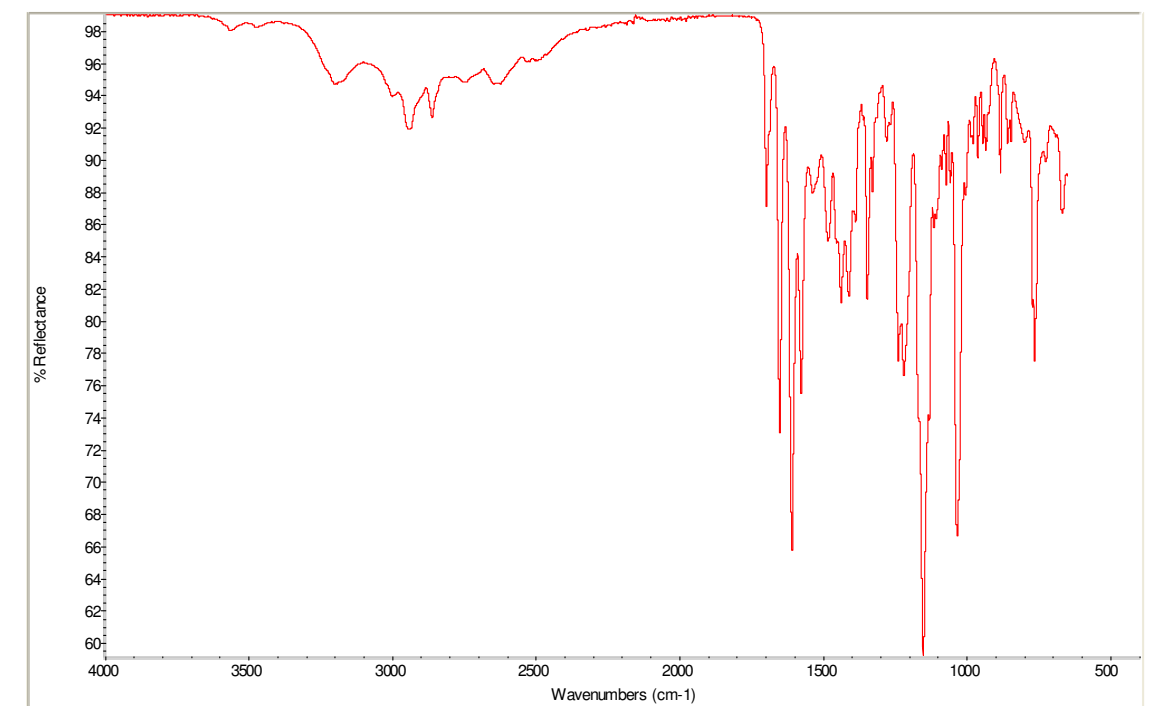
**Fig. 14**

**Figura 14: Espectro ATR-IR de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1h)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida.**



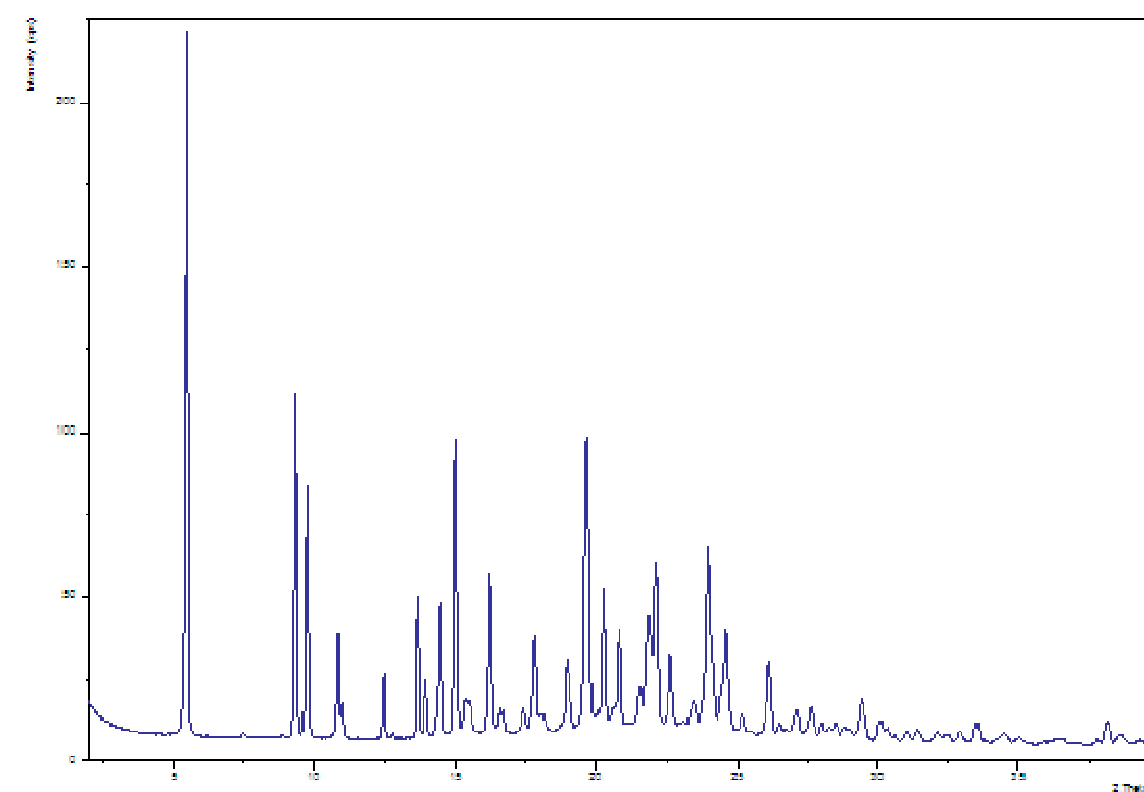
**Fig. 15**

**Figura 15: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.**

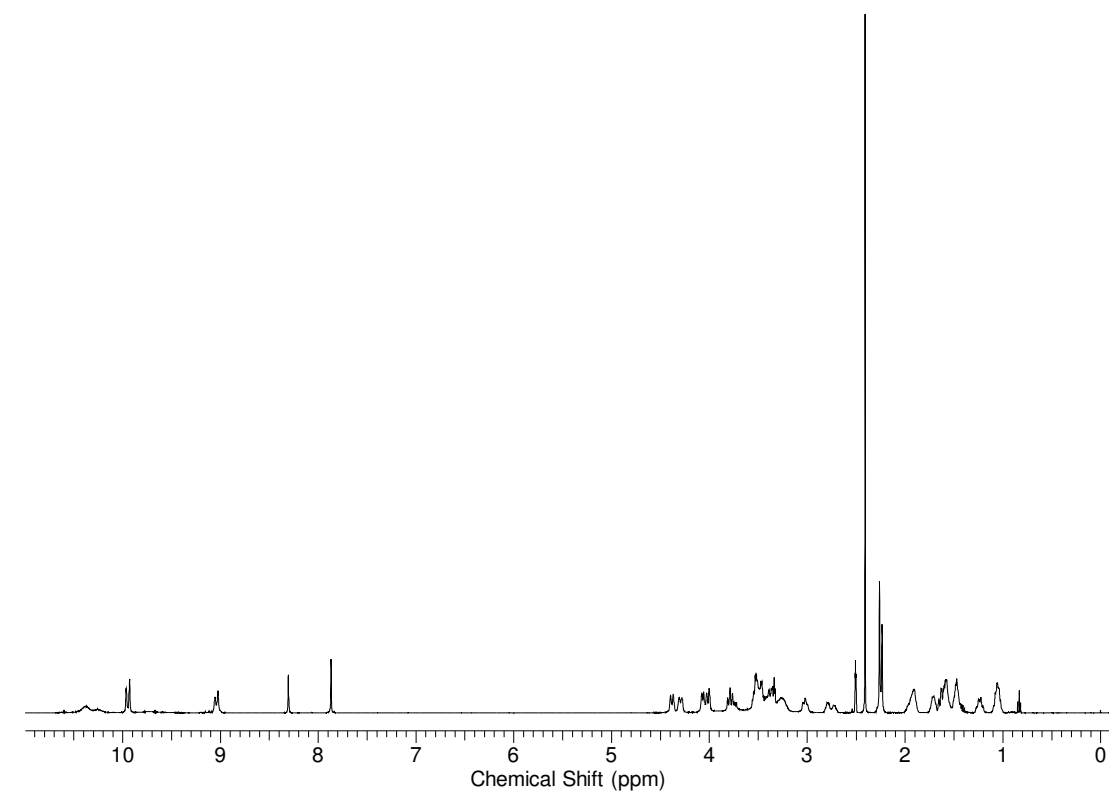
**Fig. 16**

**Fig. 16: Espectro de Estado de Solución de Resonancia Magnética nuclear de ( $^1\text{H}$  RMN) de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida en  $\text{DMSO-d}_6$  a 25 °C.**

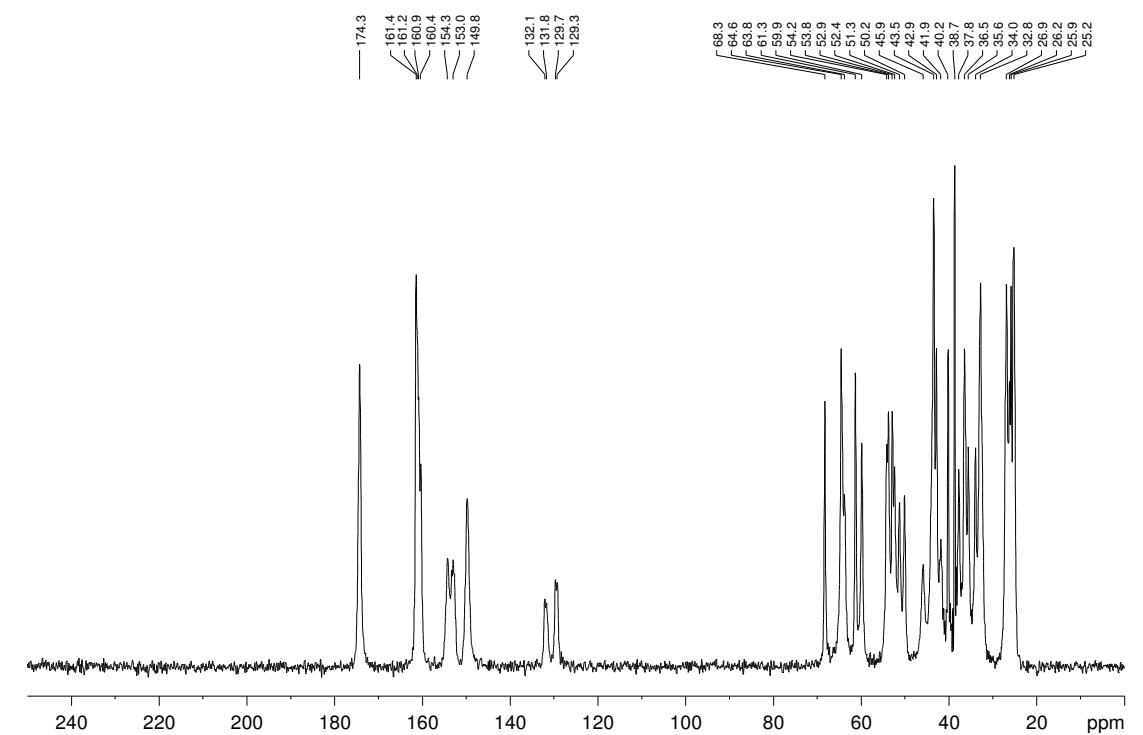
**Fig. 17**

**Figura 17:** representa espectro de RMN de Estado Sólido  $^{13}\text{C}$  (SSRMN) de la Forma 2 anhidrato cristalino polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida. El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de estado sólido se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 100,56 MHz para observación de  $^{13}\text{C}$  y una velocidad de giro de 8 kHz.

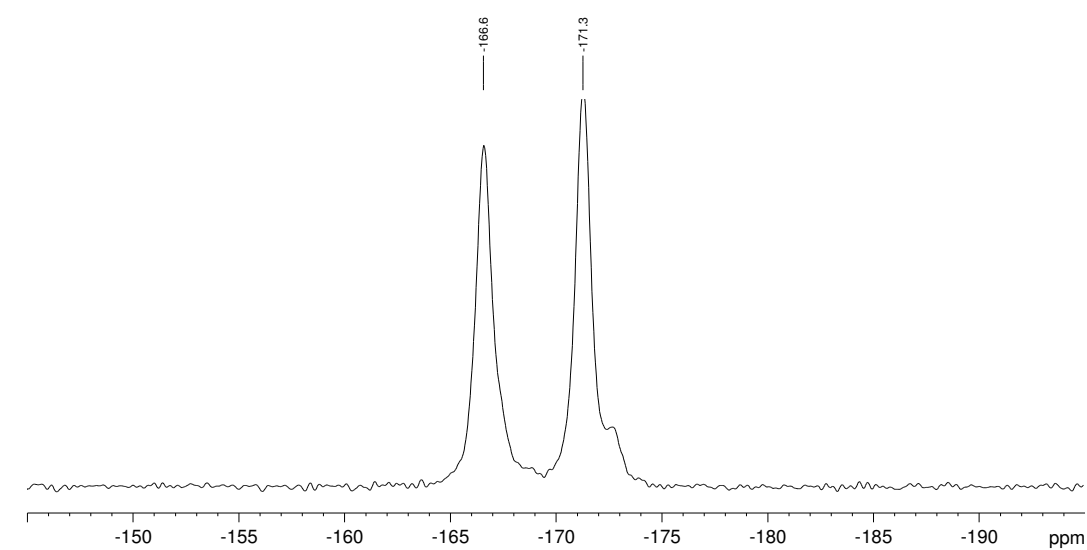
**Fig. 18**

**Figura 18: representa espectro de RMN de Estado Sólido  $^{19}\text{F}$  (SSRMN) de la Forma 2 anhidrato cristalino polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida. El espectro de  $^{19}\text{F}$  RMN de estado sólido se obtuvo en un espectrómetro que funcionaba a una frecuencia de 376,21 MHz para observación de  $^{19}\text{F}$  y una velocidad de giro de 12,5kHz.**

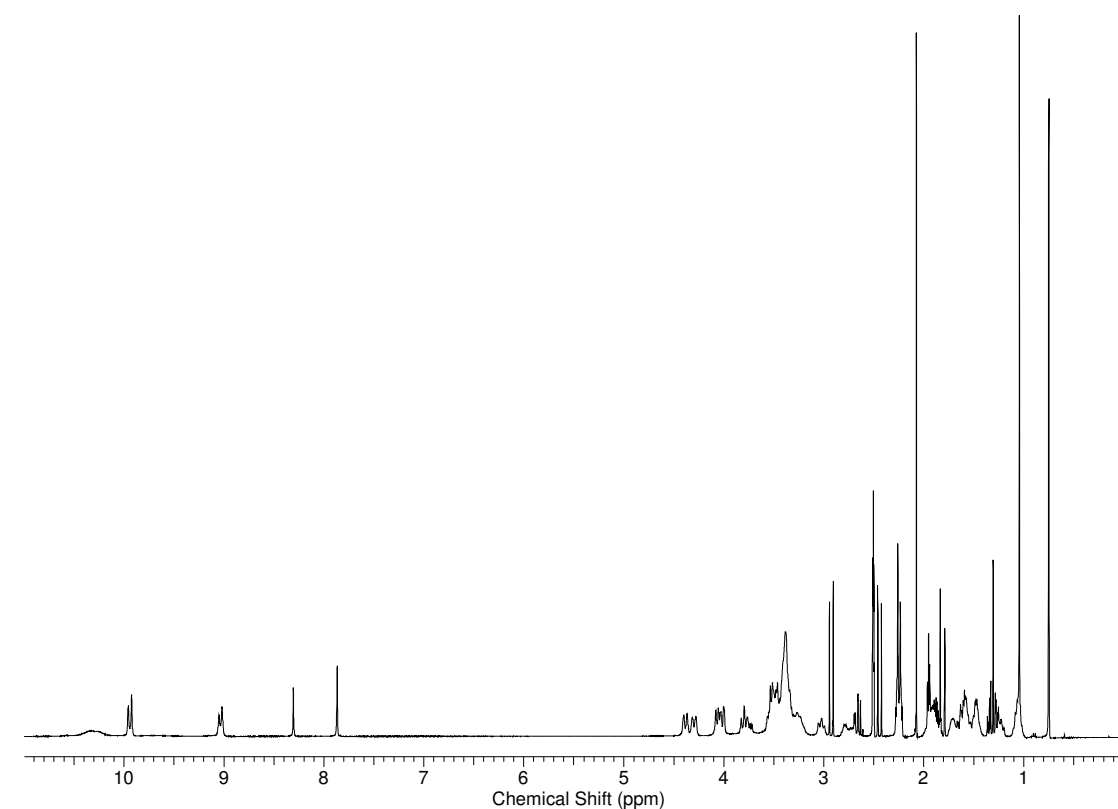
**Fig. 19**

**Figura 19: Espectro de Estado Sólido de Resonancia Magnética Nuclear <sup>1</sup>H (<sup>1</sup>H RMN) para canforsulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxilformamida a 25 °C en DMSO-d<sub>6</sub>**

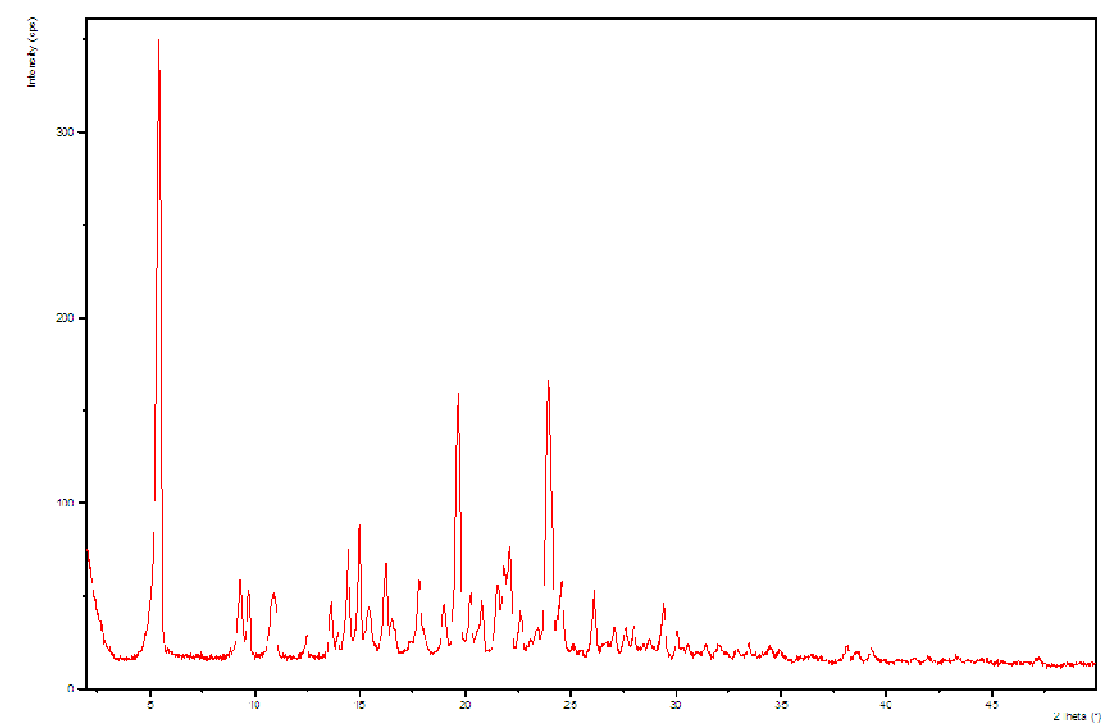
**Fig. 20**

**Figura 20: Patrón de Difracción de Polvo de Rayos-X de la Forma 2 polimórfica de metanosulfonato de [(2R)-2-(ciclopentilmetil)-3-(2-{5-fluoro-6-[(9aS)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-2-metil-4-pirimidinil}hidrazino)-3-oxopropil]hidroxiformamida.**



## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

|                                                    |                                                                                               |                                                                        |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Applicant's or agent's file reference<br>PU65053   | <b>FOR FURTHER ACTION</b><br>see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below. |                                                                        |
| International application No.<br>PCT/US2012/067235 | International filing date ( <i>day/month/year</i> )<br>30 November 2012                       | (Earliest) Priority Date ( <i>day/month/year</i> )<br>02 December 2011 |
| Applicant<br>GLAXOSMITHKLINE LLC                   |                                                                                               |                                                                        |

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 2 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

## 1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed.

☐ a translation of the international application into \_\_\_\_\_ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II).

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III).

4. With regard to the **title**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 1

☐ as suggested by the applicant.

☒ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/067235

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 31/4985 (2013.01)

USPC - 514/230.5

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(8) - A61K31/4985, A61K31/5383; C07D491/052, C07D498/04 (2013.01)

USPC - 514/230.5, 514/250; 544/105, 544/326, 544/329, 544/350

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

CPC - A61K31/4985, A61K31/5383; C07D491/052, C07D498/04 (2013.01)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PatBase, Orbit.com, STN, PubChem, Google Scholar

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                    | Relevant to claim No.         |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| X         | US 2009/0306066 A1 (QIN et al) 10 December 2009 (10.12.2009) entire document                                                                                                          | 1-10, 18-20, 25-28, 40, 43-50 |
| A         | US 2008/0161249 A1 (HUANG) 03 July 2008 (03.07.2008) entire document                                                                                                                  | 1-51                          |
| A         | US 2006/0172990 A1 (EAST et al) 03 August 2006 (03.08.2006) entire document                                                                                                           | 1-51                          |
| A         | US 2004/0087585 A1 (XIANG et al) 06 May 2004 (06.05.2004) entire document                                                                                                             | 1-51                          |
| A         | SMITH et al. "Structural variation and inhibitor binding in polypeptide deformylase from four different bacterial species." Protein Science (2003), 12: Pgs. 349-360. entire document | 1-51                          |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.


## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 February 2013

Date of mailing of the international search report

14 MAR 2013

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Blaine R. Copenheaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774