

UN DERIVADO DE TETRAHIDROPIRROLO[3,4-D][1,3]TIAZINA COMO

INHIBIDOR DE BACE

La presente invención se refiere a inhibidores cristalinos de
5 BACE, a composiciones farmacéuticas que comprenden
inhibidores cristalinos de BACE, a métodos de uso de los
inhibidores cristalinos de BACE para tratar trastornos
fisiológicos, y a intermedios y procesos útiles en la
síntesis de estos.

10

La presente invención se encuentra en el campo del
tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras
enfermedades y trastornos que implican el péptido amiloide β
(Abeta), un segmento peptídico neurotóxico y altamente
15 agregatorio de la proteína precursora amiloide (APP, por sus
siglas en inglés). La enfermedad de Alzheimer es un trastorno
neurodegenerativo devastador que afecta a millones de
pacientes en todo el mundo. En virtud de los agentes
aprobados en el mercado actualmente, que proporcionan
20 únicamente beneficios sintomáticos transitorios al paciente,
existe una necesidad considerable no satisfecha para el
tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la generación,

agregación y deposición de Abeta en el cerebro. Se ha demostrado que la inhibición total o parcial de la β -secretasa (enzima de escisión de la proteína precursora amiloide en el sitio β ; BACE) tiene un efecto significativo sobre las patologías relacionadas con las placas y dependientes de las placas en modelos de ratón, lo que sugiere que incluso reducciones pequeñas en los niveles del péptido Abeta pueden resultar en una reducción significativa a largo plazo en la carga de placas y déficit sináptico, lo que proporciona, por lo tanto, beneficios terapéuticos significativos, particularmente en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

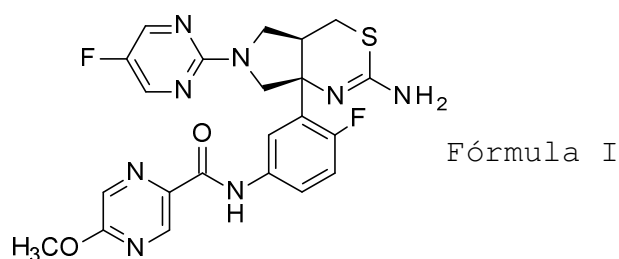
La patente estadounidense n.º 8,158,620 describe derivados de aminodihidrotiazina fusionados que poseen actividad inhibitoria de BACE y se describen además como agentes terapéuticos útiles para una enfermedad neurodegenerativa causada por el péptido $A\beta$, tal como la demencia del tipo Alzheimer. Además, *J. Neuroscience*, 31(46), páginas 16507-16516 (2011) describe (S)-4-(2,4-difluoro-5-pirimidin-5-il-fenil)-4-metil-5,6-dihidro-4*H*-[1,3]tiazin-2-ilamina, un inhibidor de BACE activo en el SNC administrado por vía oral.

Se desea que las formas cristalinas de los inhibidores de

BACE proporcionen facilidad de preparación de formulaciones farmacéuticas y composiciones farmacéuticas con estabilidad mejorada.

- 5 Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula I:

10



que es cristalino.

15

La presente invención también proporciona un método para tratar la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula I que es cristalino. La presente invención proporciona además

20 un método para prevenir la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrarle a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula I que es cristalino. La presente invención también proporciona

un método para inhibir BACE en un paciente, que comprende administrarle a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula I que es cristalino. La presente invención también proporciona un

5 método para inhibir la escisión mediada por BACE de la proteína precursora amiloide, que comprende administrarle a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula I que es cristalino. La invención proporciona además un método para inhibir la

10 producción del péptido Abeta, que comprende administrarle a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula I que es cristalino.

Además, esta invención proporciona un compuesto de la Fórmula

15 I que es cristalino para usar en terapia, en particular para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o para la prevención de la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer. Incluso además, esta invención proporciona el uso del compuesto de la Fórmula I que es

20 cristalino para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o para la prevención de la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer.

La invención proporciona además una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de la Fórmula I, que es cristalino, con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Esta invención
5 también comprende intermedios y procesos novedosos para la síntesis del compuesto de la Fórmula I que es cristalino.

El deterioro cognitivo leve se ha definido como una fase prodrómica potencial de la demencia asociada a la enfermedad
10 de Alzheimer que se basa en la presentación clínica y la evolución de los pacientes que exhiben deterioro cognitivo leve a demencia por Alzheimer en el transcurso del tiempo. (Morris, et ál., *Arch. Neurol.*, **58**, 397-405 (2001); Petersen, et ál., *Arch. Neurol.*, **56**, 303-308 (1999)). El término
15 "prevención de la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer" incluye enlentecer, detener o revertir la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer en un paciente.

20 Tal como se usa en la presente, los términos "que trata" o "tratar" incluyen restringir, enlentecer, detener o revertir la evolución o gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Tal como se usa en la presente, el término "paciente" se

refiere a un ser humano.

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

Tal como se usa en la presente, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este que, tras la administración de dosis simple o múltiple a un paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente diagnosticado o en tratamiento.

Una cantidad eficaz puede ser determinada fácilmente por el médico que realiza el diagnóstico, como un experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y al observar los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Al determinar la cantidad eficaz para un paciente, el médico que realiza el diagnóstico considera una cantidad de factores, que incluyen, de modo no taxativo: la especie del paciente; su tamaño, edad y salud general; la enfermedad o trastorno específico implicado; el grado de implicación o gravedad de la enfermedad o trastorno; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de

administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicación simultánea; y otras circunstancias pertinentes.

5

Los compuestos de la invención son generalmente eficaces durante un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosis por día normalmente se encuentran en el intervalo de alrededor de 0,01 a alrededor de 20 mg/kg en peso corporal.

10 En algunas instancias, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo antemencionado pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos, se pueden emplear dosis incluso mayores con efectos secundarios aceptables y, por lo tanto, el intervalo de dosificación

15 anterior no pretende limitar el alcance de la invención de ningún modo.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente como composiciones farmacéuticas

20 administradas por cualquier vía, lo que hace que el compuesto esté biodisponible, incluso la vía oral, transdérmica y parenteral. Más preferentemente, dichas composiciones son para administración oral o transdérmica, donde se prefiere especialmente la administración oral. Dichas composiciones

farmacéuticas y los procesos para prepararlas se conocen en la técnica. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21 edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)).

5

Los compuestos cristalinos de la Fórmula I son particularmente útiles en los métodos de tratamiento de la invención, pero se prefieren determinadas formas. Los siguientes párrafos describen dichas formas. Se entenderá que estas preferencias son aplicables a los métodos de tratamiento y a los compuestos nuevos de la invención. Se prefieren:

Forma cristalina 1 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrólo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida;

Forma cristalina 2 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrólo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida;

Forma cristalina 2 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-

fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida, que se caracteriza por un pico sustancial en el espectro de difracción de rayos X, en el ángulo de difracción 2-theta de 11,8°, en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,6°, 19,3° y 26,7°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados;

10 Forma cristalina 3 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida; y

15 Forma cristalina 3 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida, que se caracteriza por un pico sustancial en el espectro de difracción de rayos X, en el ángulo de difracción 2-teta de 15,7°, en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,1°, 27,0° y 19,7°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

Se prefiere particularmente la Forma cristalina 2 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida.

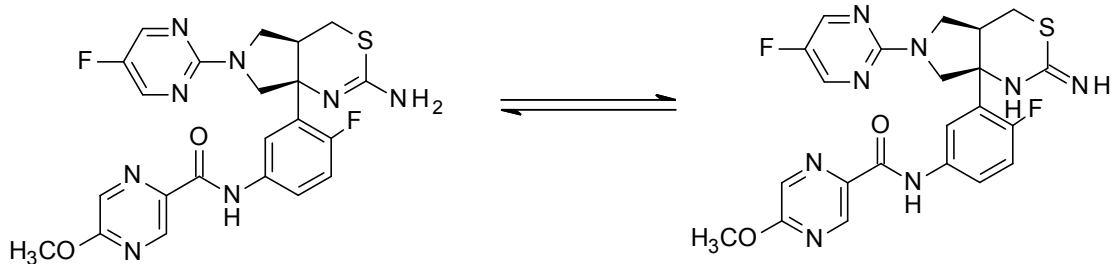
5

Se prefiere especialmente la Forma cristalina 2 de N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida, que se caracteriza por un pico sustancial en el espectro de difracción de rayos X, en el ángulo de difracción 2-teta de 11,8°, en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,6°, 19,3° y 26,7°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

15

Un experto en la técnica entenderá que los compuestos de la invención pueden encontrarse en formas tautoméricas, tal como se representa en el Esquema A. Cuando se proporciona cualquier referencia en esta solicitud a uno de los tautómeros específicos de los compuestos de la invención, se entiende que comprende ambas formas tautoméricas y todas las mezclas de estas.

20



5

10

15

De manera adicional, determinados intermedios que se describen en los siguientes esquemas pueden contener uno o más grupos protectores de nitrógeno. El grupo protector variable puede ser igual o diferente en cada aparición dependiendo de las condiciones particulares de la reacción y las transformaciones particulares que se llevarán a cabo. El experto en la técnica conoce las condiciones de protección y desprotección y estas se describen en la literatura (Véase por ejemplo *"Greene's Protective Groups in Organic Synthesis"*, cuarta edición, por Peter G.M. Wuts y Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

20

Determinados centros estereoquímicos se han dejado sin especificar y se han eliminado determinados sustituyentes en los siguientes esquemas en virtud de la claridad y no se pretende que limiten las indicaciones de los esquemas de ningún modo. Adicionalmente, el experto en la técnica puede separar o resolver isómeros, enantiómeros y diastereómeros individuales en cualquier punto conveniente en la síntesis de

los compuestos de la invención, mediante métodos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (ver, por ejemplo, J. Jacques, et ál., "*Enantiomers, Racemates, and Resolutions*", John Wiley and Sons, Inc., 1981 y E.L. Eliel y S.H. Wilen, "*Stereochemistry of Organic Compounds*", Wiley-Interscience, 1994). Las denominaciones "isómero 1" e "isómero 2" se refieren a los compuestos que eluyen de la cromatografía quiral en primer y segundo lugar, respectivamente, y, si la cromatografía quiral se inicia de manera temprana en la síntesis, la misma denominación se aplica a los ejemplos e intermedios posteriores.

Determinadas abreviaturas se definen de la siguiente manera: "APP" se refiere a la proteína precursora amiloide; "CSF" se refiere al líquido cefalorraquídeo; "DCM" se refiere a diclorometano; "DIPEA" se refiere a diisopropiletilamina o N-etil-N-isopropil-propan-2-amina; "DMEM" se refiere al medio Eagle modificado de Dulbecco; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EDCI" se refiere a clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida; "ee" se refiere a exceso enantiomérico; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "Ex" se refiere a ejemplo; "F12" se refiere al medio F12 de Ham; "FBS" se refiere al suero fetal bovino; "FRET" se refiere a

transferencia de energía por resonancia de fluorescencia; "HEK" se refiere a riñón embrionario humano; "HOAc" se refiere a ácido acético; "HOBt" se refiere a hidrato de 1-hidroxilbenzotriazol; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50 % de la respuesta inhibitoria máxima posible para ese agente; "min" se refiere a minuto o minutos; "MTBE" se refiere a éter de *terc*-butilo de metilo; "PDAPP" se refiere a la proteína precursora amiloide derivada de plaquetas; "Prep" se refiere a preparación; "RFU" se refiere a la unidad de fluorescencia relativa; "SCX" se refiere a cromatografía de intercambio catiónico fuerte; "R_t" se refiere a tiempo de retención; y "THF" se refiere a tetrahidrofurano.

15

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, algunos de los cuales se ilustran en las Preparaciones y Ejemplos a continuación. Las etapas sintéticas específicas para cada una de las vías descritas pueden combinarse de distintas formas, o junto con etapas de preparaciones distintas, para preparar los compuestos de la invención. Los productos de cada etapa pueden ser recuperados mediante métodos convencionales conocidos en la técnica,

20

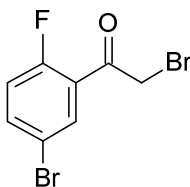
14
incluso extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración o cristalización. Los reactivos y materiales iniciales se encuentran disponibles para el experto en la técnica.

5

Preparación 1

2-Bromo-1-(5-bromo-2-fluorofenil)etan-1-ona

10



15

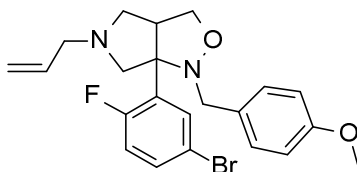
Se agrega N-bromosuccinimida (984 g, 5,53 mol) por partes a una solución de 1-(5-bromo-2-fluorofenil)etan-1-ona (1000 g, 4,6 mol) y ácido sulfónico de *p*-tolueno (1315 g, 7,64 mol) en DCM (7 L) a 35 °C. La mezcla se agita y se calienta hasta 40 °C. La mezcla se enfría hasta 24 °C, y se agrega NaHCO₃ al 7 % (5 L). Las capas se separan y la capa orgánica se lava con Na₂SO₃ al 10 % (5 L) y agua (5 L). La capa orgánica se concentra a 2-3 volúmenes para proporcionar el compuesto del título, el cual se utiliza sin purificación adicional.

20

Preparación 2

5-Alil-6a-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-(4-

metoxibencil)hexahidro-1H-pirrólo[3,4-c]isoxazol



5

10

15

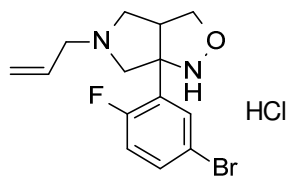
20

A una solución de 2-bromo-1-(5-bromo-2-fluorofenil)etan-1-ona (1363 g, 4,61 mol) en tolueno (10 L) se agrega dialilamina (537 g, 5,53 mol) y dipea (2381 g, 18,42 mol). La mezcla se agita durante 4 horas a 40 °C para proporcionar 1-(5-bromo-2-fluorofenil)-2-(dialilamino)etan-1-ona, la cual no está aislada. Se agrega N-(4-metoxibencil)hidroxilamina (847 g, 5,53 mol) y $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ (1965 g, 6,91 mol) a la mezcla que contiene 1-(5-bromo-2-fluorofenil)-2-(dialilamino)etan-1-ona en bruto. La mezcla se agita a 90 °C durante 2 horas. La mezcla se enfría hasta 20 °C y se agrega monohidrato de ácido cítrico al 50 % (4 L) y Na_2CO_3 saturado (4 L). Las capas se separan y la solución acuosa se extrae con MTBE (5 L). El extracto orgánico se lava con agua (5 L), y se filtra a través de tierra diatomea y se concentra hasta la sequedad. Se agrega al residuo EtOAc (10 L) y ácido oxálico (580 g) y se filtra un sólido y se agrega a NaOH 1 N (13 L). Se agrega MTBE (5 L) y la mezcla se filtra a través de tierra diatomea. Las capas se separan y la capa orgánica se concentra a 2

volúmenes. Se agrega heptano (3 L) y la solución se enfría hasta 10 °C. El sólido resultante se filtra para proporcionar el compuesto del título (1330 g, 64 %). ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 2,51-2,49(m, 3H), 3,09-3,04(m, 3H), 3,78-3,41(m, 6H), 4.01(m, 1H), 5,24-5,01(m, 2H), 5,89-5,85(m, 1H), 6,82-6,80(m, 2H), 7,51-7,13(m, 3H), 7,63-7,62(m, 1H), 7,65-7,64(m, 1H).

Preparación 3

Clorhidrato de 5-Alil-6a-(5-bromo-2-fluorofenil)hexahidro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol



15

Se agrega ácido trifluoroacético (4 L, 52,9 mol) por goteo a una solución de 5-alil-6a-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-(4-metoxibencil)hexahidro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol (1990 g, 4,45 mol) en DCM (12 L) a una velocidad para mantener la temperatura por debajo de los 35 °C. Después de completar la adición, la mezcla se calienta hasta 33-43 °C y se agita durante 6 horas. Se agrega NaOH (20 %, 10 L) a una velocidad para mantener la temperatura por debajo de 35 °C. Las capas se separan y la capa orgánica se lava con agua (6 L). La

20

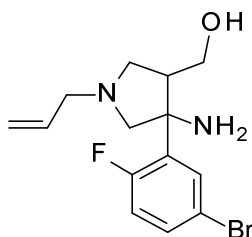
solución se concentra, se agrega etanol (16 L) y la mezcla se filtra a través de tierra diatomea. El filtrado se concentra y se agrega EtOAc (10 L). Se agrega HCl 4 M en EtOAc (8 L) y el sólido resultante se filtra y se seca para proporcionar el

5 compuesto del título (1385 g, 85,6 %). ES m/z 327,1 (M+1)

Preparación 4

(1-Alil-4-amino-4-(5-bromo-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)metanol

10



15

Se agrega una solución acuosa saturada de carbonato de sodio a una solución de clorhidrato de 5-alil-6a-(5-bromo-2-fluorofenil)hexahidro-1H-pirrololo[3,4-c]isoxazol (1400 g, 3,85 mol) en DCM (7 L) para alcanzar un pH>9. Las capas se separan

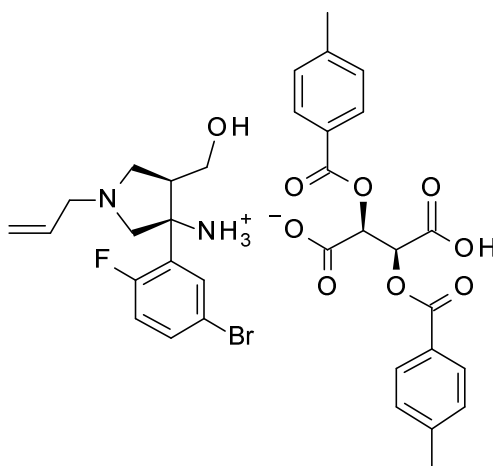
20 y el extracto orgánico se concentra a 1,5 volúmenes. Se agrega ácido acético (1,38 L) y la solución se concentra a 2 L. Se agregan ácido acético (7 L) y polvo de cinc (2,5 kg, 38,5 mol) y la mezcla se calienta hasta 40-50 °C y se agita durante 3 horas. Se agrega EtOAc (9,8 L) y la mezcla se

filtra a través de tierra diatomea. Se lava la torta de
 filtrado con EtOAc (4 L). El filtrado se separa y se agrega
 agua (7 L) a los agentes orgánicos combinados. Se agrega
 hidróxido de amonio para alcanzar un $\text{pH} \geq 9$. Las capas se
 5 separan y la capa orgánica se concentra a 2 L. Se agrega
 etanol (2,8 L) y la solución se concentra a 2 L. Se agrega
 etanol (19 L) y la mezcla se filtra a través de tierra
 diatomea para proporcionar una solución de etanol del
 compuesto del título, el cual se utiliza sin purificación
 10 adicional.

Preparación 5

[(3S,4R)-1-allyl-3-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-
 (hidroximetil)pirrolidin-3-il]amonio; (2S,3S)-4-hidroxi-2,3-
 15 bis[(4-metilbenzoil)oxi]-4-oxo-butanoato

20



Se agrega monohidrato de ácido Di-p-toluoil-L-tartárico (1,04 kg, 2,69 mol) a una solución de (1-alil-4-amino-4-(5-bromo-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)metanol (1264 g, 3,85 mmol) en etanol (21 L). La mezcla se calienta hasta 65-75 °C y se

5 agita durante 3 horas. La mezcla se enfría hasta 5-10 °C, se agrega un cristal germinal de [(3S,4R)-1-alil-3-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)pirrolidin-3-il]amonio;(2S,3S)-4-hidroxi-2,3-bis[(4-metilbenzoil)oxi]-4-oxo-butanoato (1,0 g), y la mezcla se agita durante 3 horas. El sólido se filtra

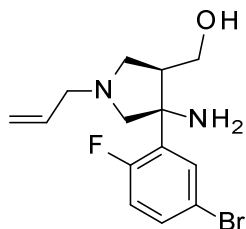
10 y la torta de filtro se lava con etanol frío (1,4 L). La torta de filtro se seca para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. Análisis quiral del segundo isómero de elución: Columna: IC Chiralpak, 4,6 mm * 250 mm * 5 µm; eluyente: hexano al 90 % (dietilamina al 0,3 %): etanol

15 al 10 % (dietilamina al 0,3 %); velocidad de flujo de 1,0 mL/min a UV 270 nm confirma el enantiómero enriquecido de forma enantiomética (99 % ee) con $R_t = 7,4$ minutos, (1050 g, 38 %). ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD) δ 2.40(s, 6H), 3.05-3.04(m, 1H), 3.57-3.31(m, 3H), 3.66-3.58(m, 4H), 3.75-3.74(m, 2H), 5.38-

20 5.36(m, 1H), 5.50-5.46(m, 1H), 5.88(s, 2H), 5.97-5.91(m, 1H), 7.10-7.05(m, 1H), 7.29(d, $J=8.0$ Hz, 4H), 7.53-7.51(m, 1H), 7.80-7.78(m, 1H), 8.01(d, $J=8.0$ Hz, 4H).

((3R,4S)-1-Alil-4-amino-4-(5-bromo-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)metanol

5



10

15

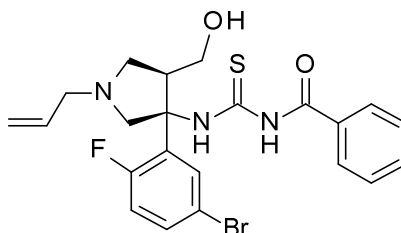
20

HCl 1 N (500 mL, 500 mmol) se agrega a una solución a 0 °C de [(3S,4R)-1-alil-3-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)pirrolidin-3-il]amonio; (2S,3S)-4-hidroxi-2,3-bis[(4-metilbenzoil)oxi]-4-oxo-butanoato (100 g, 139,4 mmol) en EtOAc (500 mL). La mezcla se agita durante 1 hora. Se separa la capa acuosa y el pH se ajusta a 8 con NaOH 1 N. La capa acuosa se extrae con EtOAc (350 mL × 2). La capas orgánicas se combinan, se lavan con agua (500 mL) y se concentran para proporcionar el compuesto del título (40 g, 87 %). Análisis quiral del segundo isómero de elución: Columna: IC Chiralpak, 4,6 mm × 250 mm × 5 µm; eluyente: hexano al 90 % (dietilamina al 0,3 %): etanol al 10 % (dietilamina al 0,3 %); velocidad de flujo de 1,0 mL/min a UV 270 nm confirma el enantiómero enriquecido de forma enantiométrica (ee al 99,7 %) con $R_t = 7,4$ minutos. ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 2,78-2,70(m, 5H), 3,16-3,00(m, 3H), 3,87-3,75(m, 1H), 3,90-3,84(m, 1H), 5,24-5,11(m, 2H), 5,91-5,87(m,

21
1H), 6,95-6,91(m, 1H), 7,35-7,32(m, 1H), 7,67- 7,65 (m, 1H).

Preparación 7

5 N-(((3S,4R)-1-Alil-3-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-(hidroximetil)pirrolidin-3-il)carbamotioil)benzamida



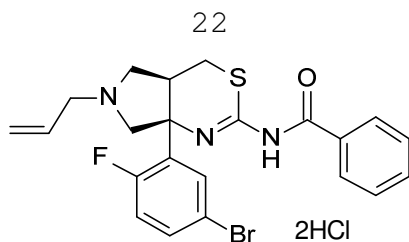
10

Se agrega isotiocianato de benzoilo (15,0 g, 91,9 mmol) a una solución a 0 °C de ((3R,4S)-1-allyl-4-amino-4-(5-bromo-2-fluorofenil)pirrolidin-3-il)metanol (30 g, 91,1 mmol) en THF
15 (400 mL). La solución se calienta hasta 25 °C y se agita durante 1 hora para proporcionar una solución de THF del compuesto del título, la cual se utiliza sin purificación adicional.

20

Preparación 8

Diclorhidrato de N-((4aR,7aS)-6-alil-7a-(5-bromo-2-fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida



5 Se agrega trifenilfosfina (36,8 g, 140,3 mmol) a una solución de THF (400 mL) de N-(((3S,4R)-1-allyl-3-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-(hidroximetil)pirrolidin-3-il)carbamotioil) benzamida (91,1 mmol). Se agrega azodicarboxilato de di-*t*-butilo (31,6 g, 137,2 mmol) en THF (100 mL). La mezcla se

10 agita a 20-30 °C durante 2 horas. La mezcla se concentra y se agrega MTBE (400 mL). La solución se filtra a través de tierra diatomea y la torta se lava con MTBE (130 mL). Los filtrados se combinan y se agrega HCl 1 N en EtOAc (200 L). Se agita la mezcla durante 2 horas y luego se concentra a 500

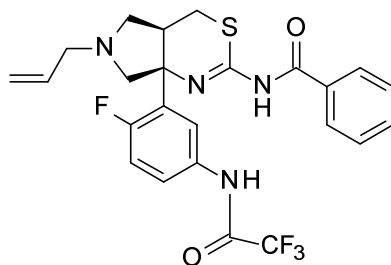
15 mL. Se agrega MTBE (320 mL) y la solución se filtra y se lava con heptanos (130 mL). El sólido se suspende en EtOAc (650 mL) y se agita a 50-60 °C durante 2 horas. La suspensión caliente se filtra y el sólido se lava con EtOAc (130 mL) y heptano (130 mL). El sólido se suspende nuevamente en EtOAc

20 (650 mL) y se agita durante 2 horas a 50-60 °C. La suspensión caliente se filtra y se lava con EtOAc (130 mL) y heptano (130 mL). El sólido se seca para proporcionar el compuesto del título como la sal de di-HCl (40 g, 80 %, ee al 99,5 %). Análisis quiral del primer isómero de elución: Columna: IC

Chiralpak, 4,6 mm * 250 mm * 5 μ m; eluyente: hexano al 85 %
 (dietilamina al 0,1 %): alcohol isopropílico al 15 %
 (dietilamina al 0,1 %); velocidad de flujo de 1,0 mL/min a UV
 282 nm confirma el enantiómero enriquecido de forma
 5 enantiomética (ee al 99,5 %) con R_t = 12,5 minutos.

Preparación 9

N-((4aR,7aS)-6-Alil-7a-(2-fluoro-5-(2,2,2-
 trifluoroacetamido)fenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrólo[3,4-
 10 d][1,3]tiazin-2-il)benzamida



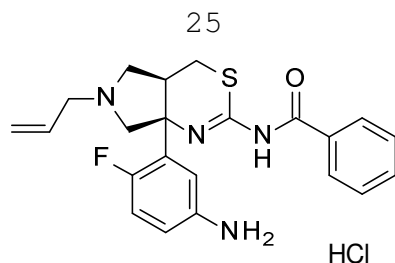
15

Se agrega carbonato de sodio al 15 % (440 mL) a una solución
 de diclorhidrato de N-((4aR,7aS)-6-alil-7a-(5-bromo-2-
 fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrólo[3,4-
 20 d][1,3]thiazin-2-il)benzamida (495 g, 717,88 mmol) en EtOAc
 (3 L) y agua (784 mL). La mezcla se agita durante 1-2 horas.
 Las capas se separan y la capa orgánica se filtra a través de
 gel de sílice (40 g) y se lava con EtOAc (600 mL). El
 filtrado se concentra hasta la sequedad para proporcionar N-
 ((4aR,7aS)-6-alil-7a-(5-bromo-2-fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-

hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida. Se agregan trifluoroacetamida (136,7 g, 1,21 mol), NaI (182,5 g, 1,22 mol), tamices moleculares 4 A (342 g) y K₂CO₃ (170,9 g, 1,24 mol) a una solución de N-((4aR,7aS)-6-alil-7a-(5-bromo-2-fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida (341 g, 494,54 mmol) en DMSO (525 mL) y 1,4-dioxano (1,025 L). Se agrega trans-N,N'-dimetilciclohexano (81,6 g, 573,66 mmol) y yoduro de cobre (27,3 g, 143,34 mmol) en DMSO (500 mL) a la mezcla de reacción. La mezcla se agita durante 5 minutos. La mezcla se calienta hasta 100 °C, se agita durante 8 horas y se enfría hasta 24 °C. Se agrega agua (5,9 L) y DCM (5,9 L), la mezcla se filtra y se separan las capas. La capa orgánica se lava con agua (5,9 L) para obtener el compuesto del título en una solución de DCM, la cual se utiliza sin purificación adicional.

Preparación 10

Clorhidrato de N-((4aR,7aS)-6-alil-7a-(5-amino-2-fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida



5

Se agrega hidróxido de sodio (28,7 g) y agua (2,7 L) a una solución de DCM de N-((4aR,7aS)-6-allyl-7a-(2-fluoro-5-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-

10

d][1,3]tiazin-2-il)benzamida (250 g, 494,4 mmol) y la mezcla se agita a 24 °C durante 68 horas. Se agrega HCl 1 N (3,5 L) para obtener un pH de 1-3. Las capas se separan y la capa acuosa se lava con DCM (680 mL). Se agrega DCM (4 L) a la acuosa, seguido por hidróxido de amonio al 21 % para obtener un pH de 8-10. Las capas se separan y se combinan los

15

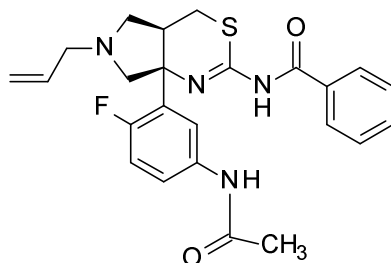
extractos orgánicos, se filtran a través de gel de sílice (170 g) y se lavan con DCM (1,4 L). El solvente se concentra hasta la sequedad y se diluye con EtOAc (4 L). Se agrega HCl 1 N en EtOAc (700 mL) a una temperatura por debajo de 25 °C y la mezcla se agita durante 1 hora. La mezcla se concentra a

20

alrededor de 7-8 volúmenes y se agrega EtOAc (2,8 L). El precipitado resultante se filtra y se lava con EtOAc (400 mL). El sólido se seca para proporcionar el compuesto del título. (246 g, 52 %).

N-((4aR,7aS)-7a-(5-Acetamido-2-fluorofenil)-6-alil-
4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-
il)benzamida

5



10

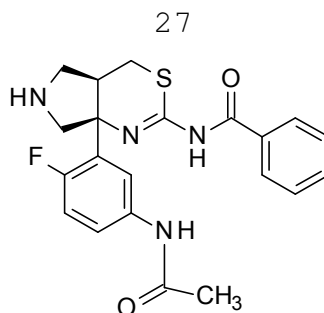
Se agrega anhídrido acético (23,5g, 0,23 mol) a una solución
de clorhidrato de N-((4aR,7aS)-6-alil-7a-(5-amino-2-
fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-
d][1,3]tiazin-2-il)benzamida (100 g, 0,153 mol) y
triethylamina (54,3 g, 0,535 mol) en DCM (800 mL). Luego de
agitar durante 1 hora a 20-25 °C, se agrega NaHCO₃ saturado
(700 mL) y agua (600 mL). Las capas se separan para
proporcionar el compuesto del título, el cual se utiliza sin
purificación adicional como una solución en DCM.

15

Preparación 12

20

N-((4aR,7aS)-7a-(5-Acetamido-2-fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-
hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida



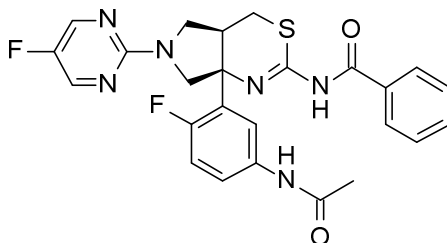
5

Se agrega trifenilfosfina (4,0g, 0,015 mol) y ácido 1,3-dimetilbarbitúrico (15,2 g, 0,097 mol) a una solución de DCM de N-((4aR,7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluorofenil)-6-alil-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrololo[3,4-d][1,3]tiazin-2-
 10 il)benzamida (0,153 mol). Se agrega acetato de paladio (1,7 g, 7,7 mmol) y la mezcla se agita de 20 a 30 °C durante 1 hora. Se agrega hidróxido de amonio al 25 % y se separan las capas. La capa orgánica se lava con HOAc (3,0 equiv en 500 mL de agua) y el pH se ajusta a 8-9 con hidróxido de amonio al
 15 25 %. La capa acuosa se extrae con DCM (2 × 500 mL). Los extractos orgánicos se combinan y concentran a 3-4 volúmenes. Se agrega MTBE (1 L) y la mezcla se filtra. La mezcla se concentra y se agrega heptano (1 L). El sólido resultante se filtra, recolecta y seca para proporcionar el compuesto del
 20 título (48 g, 76 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2,15 (s, 3H), 2,87-2,83(m, 1H), 3,43-3,23(m, 5H), 3,70-3,67(m, 1H), 7,12-7,07 (m, 1H), 7,28-7,27 (m, 1H), 7,52-7,41(m, 4H), 7,79(m, 1H), 8,18-8,16(m, 2H). ES m/z 413,1 (M+1).

Preparación 13

N-((4aR,7aS)-7a-(5-Acetamido-2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida

5



10

Se agrega 2-cloro-5-fluoropirimidina (28,9 g, 218 mmol) y carbonato de potasio (33,46 g, 242,1 mmol) a una solución de N-((4aR,7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluorofenil)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida (50 g,

15

121,22 mmol) en DMF (100 mL). La mezcla se calienta hasta 80-85 °C durante 8 horas. La mezcla se enfría hasta 24 °C, se filtra y se lava con DMF (100 mL). Los sólidos se suspenden en agua (2 L) y se filtran para obtener el compuesto del título (68,5g, 98 %). LC-MS: m/z=509,2 (M+1)+, ¹H NMR (400

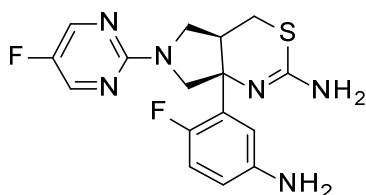
20

MHz, d₆-DMSO) ppm 1,22 (t, J = 7,28 Hz, 2 H) 1,92 - 2,07 (m, 6 H) 2,89 - 3,20 (m, 2 H) 3,36 - 3,44 (m, 1 H) 3,67 (t, J=9,54 Hz, 1 H) 3,84 (br. s., 1 H) 4,16 (br. s., 2 H) 7,23 (br. s., 2 H) 7,35 - 7,61 (m, 8 H) 7,77 (br. s., 2 H) 7,85 - 8,18 (m, 4 H) 8,48 (s, 4 H) 10,15 (br. s., 1 H) 10,46 - 10,59

(m, 1 H).

Preparación 14

(4aR,7aS)-7a-(5-Amino-2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina



10

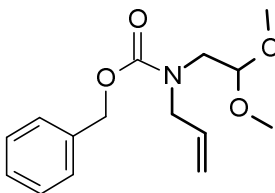
Se agrega hidróxido de litio (8,6 g, 204,9 mmol) a una solución de N-((4aR,7aS)-7a-(5-acetamido-2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,6,7,7a-hexahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il)benzamida (80 g, 157,3 mmol) en metanol (400 mL). La mezcla se calienta hasta 60-70 °C durante 4 horas. Se agrega HCl concentrado (132 g) y la mezcla se agita a 55 °C durante 18 horas. La mezcla se enfría hasta 30 °C y se concentra para quitar el metanol. Se agrega agua y la capa acuosa se extrae con DCM (3 x) para obtener el compuesto del título como una solución acuosa de 920 g, de los cuales 5,6 % de la masa total es el compuesto del título que se utiliza sin purificación adicional.

15

20

Preparación 15

N-alil-N-(2,2-dimetoxietil)carbamato de bencilo



5

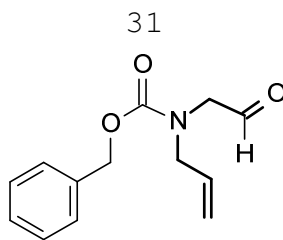
Una solución de N-(2,2-dimetoxietil)carbamato de bencilo (50 g, 208,9 mmol) en tolueno (180 mL) se trata con hidróxido de potasio sólido (51,6 g, 919,69 mmol) en nitrógeno. Luego de 10 minutos, se agrega cloruro de benciltriethylamonio (0,8 g, 3,1 mmol). Luego de otros 10 minutos, se agrega una solución de bromuro de alilo (33 g, 272,8 mmol) en tolueno (50 mL) por goteo en 10 minutos. La mezcla resultante se agita a 50 °C durante 48 horas. La mezcla se enfría hasta temperatura ambiente y inactiva con agua. La capa orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca en sulfato de magnesio y se concentra hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título (44 g, 75 %). ES/MS (m/e): 280 (M+H)

15

Preparación 16

20

N-alil-N-(2-oxoetil)carbamato de bencilo



5

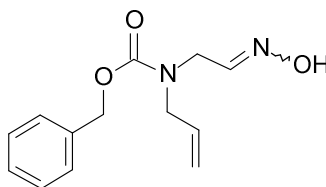
Se agita una solución de N-alil-N-(2,2-dimetoxietil)carbamato de bencilo (30 g, 107 mmol) en ácido fórmico (36,8 mL, 860 mmol) y agua (4,84 mL) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentra y se diluye con hexanos/EtOAc (1:2) y agua. Se separa la capa orgánica, se lava con

10 solución de salmuera hasta que pH=6, y se seca en sulfato de sodio. El solvente se evapora para proporcionar el compuesto del título (25 g, 99 %). ES/MS (m/e): 234 (M+H)

Preparación 17

15

N-alil-N-[2-hidroxiiminoetil]carbamato de bencilo



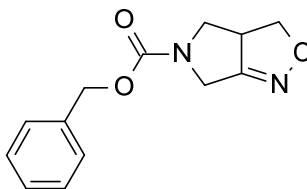
20

Una solución de N-alil-N-(2-oxoetil)carbamato de bencilo (25 g, 107 mmol) en acetonitrilo (150 mL) se trata con clorhidrato de hidroxilamina (9,68 g, 139 mmol) y una solución de trihidrato de acetato de sodio (16 g, 117,9 mmol)

en agua (75 mL). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. El acetonitrilo se evapora y la solución acuosa se extrae con EtOAc. La capa orgánica se separa, se seca en sulfato de magnesio y se concentra al vacío para proporcionar el compuesto del título (24 g, 90 %). ES/MS (m/e): 249 (M+H)

Preparación 18

3,3a,4,6-tetrahidropirrolo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de bencilo



15

Una solución de N-alil-N-[2-hidroxiiminoetil]carbamato de bencilo (24 g, 96,6 mmol) en DCM (338 mL) se trata por goteo en 10 minutos con una solución acuosa 5 % p/p de hipoclorito de sodio (106,08 mmol, 143,06 mL). La mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactiva con una solución acuosa al 40 % de bisulfito sódico (7 g). La capa orgánica se separa, se seca en sulfato de magnesio y se concentra al vacío. El producto bruto se purifica en gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 5 % en

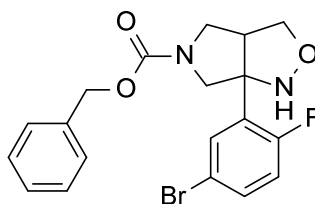
20

hexanos para proporcionar el compuesto del título (18 g, 75 %). ES/MS (m/e): 247 (M+H)

Preparación 19

5 6a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de bencilo

10



15

Se agrega por goteo una solución 1,6 M de hexanos de litio de n-butilo (25,4 mL, 40,6 mmol) a una solución a -78 °C de 4-bromo-1-fluoro-2-yodobenceno (12,22 g, 40,6 mmol) en THF (60 mL) para proporcionar una solución amarilla que se agita a -78 °C durante 15 minutos.

20

Se agrega eterato de trifluoruro de boro (5,14 mL, 40,6 mmol) a una solución separada a -78 °C de 3,3a,4,6-tetrahidropirrolo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de bencilo (5 g, 20,3 mmol) en THF (60 mL) y la mezcla se agita a -78 °C durante 5 minutos. Esta solución se agrega a la mezcla de organolitio a -78 °C preparada anteriormente mediante una cánula. La mezcla combinada se agita durante 30 minutos a -78

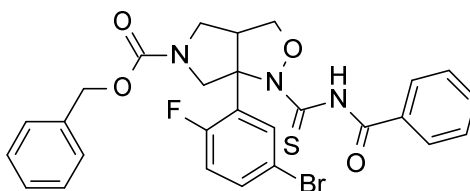
°C. La mezcla se inactiva con cloruro de amonio acuoso saturado y se calienta hasta temperatura ambiente. La mezcla se extrae con EtOAc (3 x) y los extractos orgánicos se combinan, se secan en sulfato de sodio, se filtran y el
 5 solvente se quita al vacío. El producto bruto se purifica en gel de sílice, con un gradiente de 35 minutos de EtOAc de 5 % a 100 % en hexanos para proporcionar el compuesto del título (2,27 g, 27 %). ES/MS (m/e): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 421/423 (M+H).

10

Preparación 20

1-(benzoilcarbamoil)-6a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrolo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de bencilo

15



20

Se agrega isotiocianato de benzoilo (2,87 mL, 21,28 mmol) mediante goteo a una solución de 6a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrolo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de bencilo (5,977 g, 14,2 mmol) en THF (95 mL) y se agita durante la noche en nitrógeno. El solvente se quita al vacío. El producto bruto se purifica en gel de sílice, con un gradiente de 30 minutos de EtOAc de 5 % a 100 % en hexanos

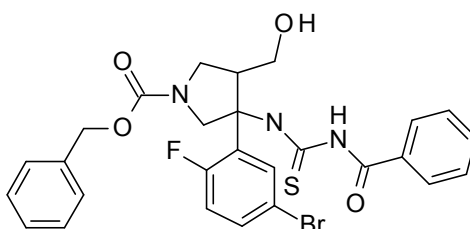
para proporcionar el compuesto del título (6,05 g, 73 %).

ES/MS (m/e): ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 584/586 (M+H).

Preparación 21

- 5** 3-(benzoilcarbamotioilamino)-3-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de bencilo

10



- 15** Se agita una mezcla de 1-(benzoilcarbamotioil)-6a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3,3a,4,6-tetrahidropirrololo[3,4-c]isoxazol-5-carboxilato de bencilo (6,05 g, 10,4 mmol) y cinc (polvo, <10 micrones) (6,77 g, 103,5 mmol) en ácido acético (52 mL) a temperatura ambiente durante la noche bajo nitrógeno. La reacción se diluye con EtOAc y se filtra a través de tierra diatomea. El solvente se quita al vacío y el residuo se
- 20** diluye con EtOAc, agua y bicarbonato de sodio acuoso saturado. La mezcla se extrae con EtOAc (3 ×), las capas orgánicas combinadas se combinan y se secan en sulfato de sodio, se filtran y el solvente se quita al vacío. El producto bruto se purifica en gel de sílice, con un gradiente

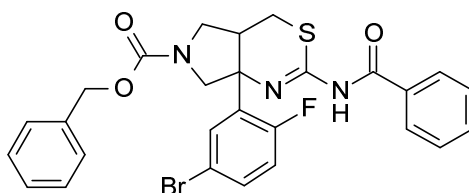
de 30 minutos de EtOAc de 5 % a 100 % en hexanos para proporcionar el compuesto del título (5,222 g, 86 %). ES/MS (m/e): ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 586/588 (M+H).

5

Preparación 22

2-benzamido-7a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrololo[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de bencilo

10



15

20

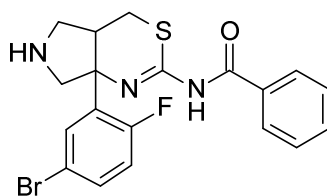
Se agrega 1,1'-carbonildiimidazol (2,87 g, 17,7 mmol) a una solución de 3-(benzoilcarbamoilamino)-3-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de bencilo (5,198 g, 8,86 mmol) en THF (52 mL). La mezcla se agita durante 1,5 horas a temperatura ambiente y luego la reacción se calienta a reflujo durante la noche en nitrógeno. La reacción se enfría, se diluye con agua y se extrae con EtOAc (3 x). Se combinan las capas orgánicas, se secan en sulfato de sodio, se filtran y el solvente se quita al vacío. El producto bruto se purifica en gel de sílice, con un gradiente de 30 minutos de EtOAc de 5 % a 100 % en hexanos para proporcionar el compuesto del título (2,93 g, 58 %). ES/MS

37

(m/e): ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$). 568/570 (M+H)

Preparación 23

5 N-[7a-(5-Bromo-2-fluoro-fenil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-
pirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida



10

Se agrega yodotrimetilsilano (2,21 mL, 15,46 mmol) por goteo a una solución a temperatura ambiente de 2-benzamido-7a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de bencilo (2,93 g, 5,15 mmol) en acetonitrilo (44 mL). La reacción se agita a temperatura ambiente durante dos horas y el solvente se quita al vacío. El producto bruto se purifica con una columna SCX mediante el uso de 3:1 DMC:metanol y luego 2:1 DCM:amoníaco 7 N en metanol para proporcionar el compuesto del título (2,098 g, 94 %). ES/MS (m/e): ($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 434/436 (M+H).

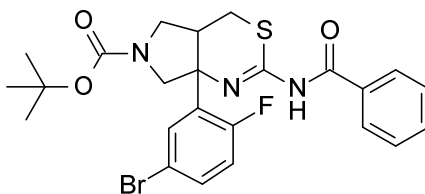
15

20

Preparación 24

2-benzamido-7a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *terc*-

5



10

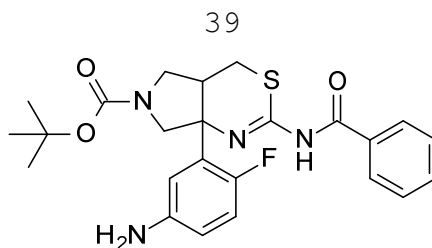
15

Se agrega di-*t*-butildicarbonato (1,16 g, 5,31 mmol) y trietilamina (1,01 mL, 7,25 mmol) a una solución de N-[7a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrololo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (2,098 g, 4,83 mmol) en DCM (48 mL). La reacción se agita durante 1 hora a temperatura ambiente en nitrógeno. El solvente se quita al vacío y el producto bruto se purifica en gel de sílice, con un gradiente de 30 minutos de EtOAc de 5 % a 100 % en hexanos para proporcionar el compuesto del título (2,556 g, 99 %). ES/MS (m/e): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 534/536 (M+H).

Preparación 25

20

7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-2-benzamido-4,4a,5,7-tetrahidropirrololo[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *terc*-butilo



5

Una solución de 2-benzamido-7a-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *terc*-butilo (2,556 g, 4,8 mmol) y *trans*-N,N'-dimetil-1,2-ciclohexanodiamina (150 mg, 1,1 mmol) en etanol (50 mL) se trata con azida de sodio (933 mg, 14,3 mmol). Se agrega una

10 solución acuosa de sal de sodio de ácido L-ascórbico (0,66 M, 3,2 mL, 2,1 mmol) y agua (1 mL) y se purga la parte superior del matraz con nitrógeno. La mezcla se trata con una solución acuosa de pentahidrato de cobre(II)sulfato (0,33 M, 3,2 mL,

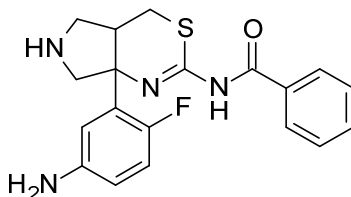
15 1,1 mmol) y la mezcla se calienta inmediatamente en una placa caliente precalentada hasta 80 °C durante 1,5 horas en nitrógeno. Se obtiene una mezcla homogénea tras calentar. La reacción se enfría, se diluye con agua helada y la mezcla se extrae con EtOAc (3 ×). Se combinan los extractos orgánicos y se secan en sulfato de sodio, se filtran y el solvente se

20 quita al vacío para proporcionar el producto bruto de azida. El producto bruto de azida se combina con paladio en carbono al 10 % (1 g) en etanol frío (150 mL) y la mezcla se purga utilizando vacío/nitrógeno y luego vacío/hidrógeno. La mezcla se agita a temperatura ambiente bajo 30 psi de hidrógeno

durante 5 horas. La reacción se ventila, se filtra a través de tierra diatomea y la torta de filtro se enjuaga con DCM. El solvente se remueve del filtrado al vacío y el producto bruto se purifica en gel de sílice, con EtOAc al 50 % en DCM para proporcionar el compuesto del título (2,014 g, 89 %).
 5 ES/MS (m/e): 471 (M+H)

Preparación 26

N-[7a-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-
 10 pirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida



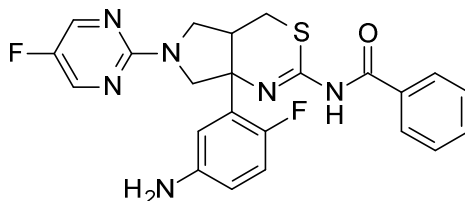
15

Se agrega ácido trifluoroacético (10 mL) a una solución de 7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-2-benzamido-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazina-6-carboxilato de *terc*-butilo (2,013 g, 4,28 mmol) en DCM (30 mL) y la mezcla se
 20 agita a temperatura ambiente en nitrógeno durante 4 horas. El solvente se quita al vacío y el producto bruto se purifica con una columna SCX mediante el uso de 3:1 DMC:metanol y luego 2:1 DCM:amoníaco 7 N en metanol para proporcionar el compuesto del título (1,555 g, 98 %). ES/MS (m/e): 371 (M+H)

Preparación 27

N-[7a-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-
4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida

5



10

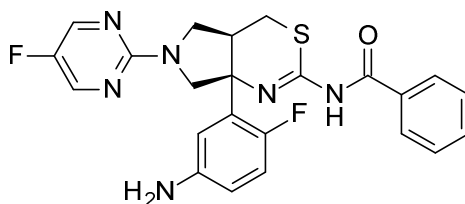
Una solución de N-[7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (705 mg, 1,90 mmol), 5-fluoro-2-cloropirimidina (1,01 g, 7,61 mmol) y DIPEA (1,66 mL, 9,52 mmol) se calienta en 1,4-dioxano (20 mL) a reflujo durante 4 horas en nitrógeno. La reacción se enfría, se diluye con agua y se extrae con EtOAc (3 ×). Las capas orgánicas se combinan, se secan en sulfato de sodio, se filtran y el solvente se quita al vacío para proporcionar el producto bruto. El producto bruto se purifica en gel de sílice, con un gradiente de 25 minutos de EtOAc de 5 % a 100 % en hexanos para proporcionar el compuesto del título (590 mg, 66 %). ES/MS (m/e): 467 (M+H)

20

Preparación 28

N-[(4aR,7aS)-7a-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-6-(5-

fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida, (isómero 1)



5

10

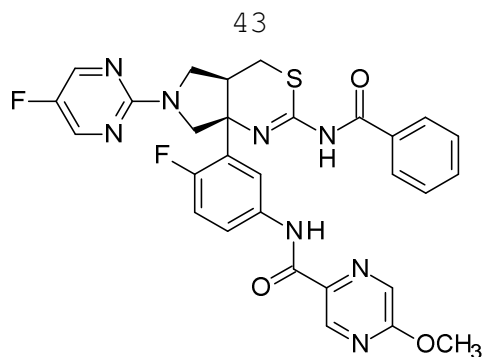
15

Se purifica N-[7a-(5-amino-2-fluoro-fenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida racémica (1,694 g, 3,63 mmol) mediante HPLC quiral (columna: Chiralcel OJ, 8 x 35 cm; eluyente: metanol al 90 % (dimetiletilamina al 0,2 %) y acetonitrilo al 10 %; flujo 400 mL/min a UV 280 nm). Análisis del primer isómero de elución (columna: Chiralcel OJ-H, 0,46 x 15 cm; eluyente: 10:90 acetonitrilo:metanol (con dimetiletilamina al 0,2 %); flujo: 0,6 mL/min a UV 280 nm) confirma el enantiómero enriquecido de forma enantiomética (ee al 99 %) con $R_t = 6,70$ minutos, (723 mg, 43 %). ES/MS (m/e): 467 (M+H)

20

Preparación 29

N-[3-[(4aR,7aS)-2-Benzamido-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-metoxi-pirazina-2-carboxamida, (isómero 1)



5

10

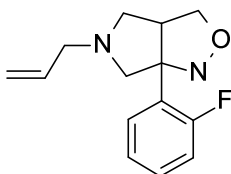
15

20

N-[(4aR,7aS)-7a-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida, isómero 1 (0,361 g, 0,77 mmol) se disuelve en una mezcla de DCM (4 mL) y DMF (0,5 mL). Se agrega ácido 5-metoxipirazina-2-carboxílico (240 mg, 1,55 mmol), HOBT (210 mg, 1,55 mmol) y EDCI (300 mg, 1,55 mmol) a la mezcla, y la mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. La solución de reacción se agrega directamente a una columna de carga de gel de sílice de 12 g y se purifica utilizando una columna de gel de sílice de 40 g y eluyendo con un gradiente de de EtOAc al 0-100 %/hexanos. El producto se disuelve en EtOAc (200 mL), se lava con NaOH 1 N (2 × 50 mL) y con salmuera (1 × 50 mL). La purificación con gel de sílice se repite tal como se describió anteriormente para proporcionar el compuesto del título (350 mg, 74 %). ES/MS (m/e): 603 (M+H)

5-Alil-6a-(2-fluorofenil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrólo[3,4-c]isoxazol

5



10

15

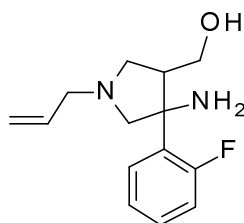
20

Etapa de reacción de química de flujo: Un reactor tubular de acero inoxidable constante de 343 ml (O.D=1/8 pulgada) se coloca dentro de un horno de GC y se llena de tolueno a 20 mL/min durante 20 minutos. Se aplica contrapresión de nitrógeno (720 psig) y se establece la temperatura del GC a 210 °C. Luego de que la temperatura alcanzó los 210 °C, se bombea una solución de oxima de 2-(dialilamino)-1-(2-fluorofenil)etanona (480,51 g, 1,74 mol) en tolueno (5,81 L) a través del reactor a 22,866 mL/min utilizando un par de bombas de jeringa de alta presión que trabajan en modo continuo para proporcionar un tiempo de residencia de 15 minutos. Luego de consumirse toda la solución madre, el reactor se llena de tolueno a 22,866 mL/min durante 30 minutos. La temperatura del horno de GC se establece a 25 °C y la solución completa se recolecta y concentra al vacío. El solvente se evapora y el residuo se disuelve en cloruro de metileno (2,5 L) y agua (5 L). El pH se ajusta a 1 con ácido

clorhídrico y la capa acuosa se separa y neutraliza con hidróxido de sodio para ajustar el pH a 10. La capa acuosa se extrae con MTBE (3 x 2,5 L). Los extractos orgánicos se combinan, se secan en sulfato de sodio, se filtran y se evaporan hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título en bruto (248 g, 47 %), el cual se utiliza sin purificación adicional. ES/MS (m/e): 249 (M+1).

Preparación 31

10 1-Alil-4-amino-4-(2-fluorofenil)pirrolidin-3-il]metanol



15

Se agrega polvo de cinc (590 g, 9 mol) a una solución de 5-alil-6a-(2-fluorofenil)-3,3a,4,6-tetrahidro-1H-pirrololo[3,4-c]isoxazol (3559 g, 1,29 mol) en una mezcla de metanol (2,85 L) y solución acuosa saturada de cloruro de amonio (3,56 L) y la mezcla se calienta durante 16 horas a 70 °C. La reacción se enfría a 60 °C, se diluye con THF (2,85 L) y se filtra en tierra diatomea mientras está caliente. El filtrado se evapora para quitar el solvente orgánico, y la mezcla acuosa se diluye con solución acuosa de ácido cítrico al 10 % p/p (4

20

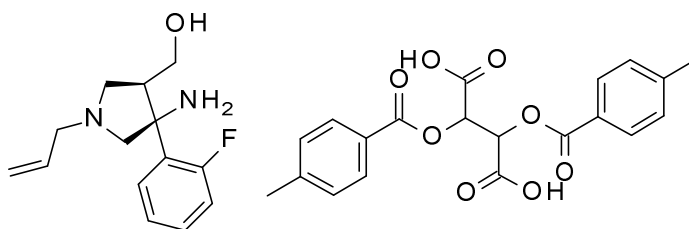
L) y EtOAc (3,5 L). Se separa la capa orgánica y se lava la capa acuosa con EtOAc (2 x 2 L). La capa acuosa se neutraliza con hidróxido de sodio al 50 % p/p para ajustar el pH a 10, y luego se extrae con EtOAc (2 x 1,5 L). Se combinan los extractos orgánicos, se secan en sulfato de sodio, se filtran, y se evaporan hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título en bruto (299 g, 92 %). ES/MS (m/e): 251 (M+1).

10

Preparación 32

[(3R,4S)-1-Alil-4-amino-4-(2-fluorofenil)pirrolidin-3-yl]metanol; ácido 2,3-bis[(4-metilbenzoil)oxi]butanodioico

15



20

Se agrega una solución de ácido di-*p*-toluoil-L-tartárico (348,6 g, 884 mmol) en 1-metoxi-2-propanol (1,13 L) a una solución de [(3R,4S)-1-alil-4-amino-4-(2-fluorofenil)pirrolidin-3-il]metanol (225,9 g, 902 mmol), en 1-metoxi-2-propanol (1,13 L) previamente calentada a 40 °C. La reacción se enfría hasta 22 °C y se agita durante 18 horas. Se recolecta un sólido blanco mediante filtración y se lava con

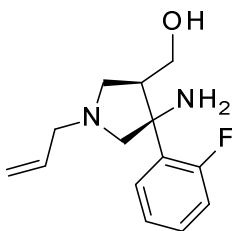
1-metoxi-2-propanol (600 ml). El sólido recolectado se seca para proporcionar el compuesto del título (183,01 g, 31,8 %). ES/MS (m/e): 251 (M+1).

5

Preparación 33

[(3R,4S)-1-Alil-4-amino-4-(2-fluorofenil)pirrolidin-3-il]metanol

10



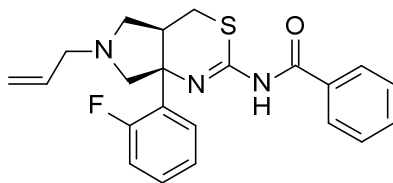
Se disuelve [(3R,4S)-1-Alil-4-amino-4-(2-fluorofenil)pirrolidin-3-il]metanol; ácido 2,3-bis[(4-metilbenzoil)oxi]butanodioico (211 g, 331 mmol) en agua (2,1 L) y EtOAc (2,3 L). Se agrega ácido clorhídrico al 35 % p/p para ajustar el pH a 1. Se separa la capa acuosa y el pH se ajusta a 10 con hidróxido de sodio al 50 % p/p y se extrae con EtOAc (2×). El pH de la capa acuosa se ajusta a 10 con NaOH acuoso y se extrae con MTBE (3×) mientras se mantiene también el pH de la solución acuosa a pH=10. Se combinan los extractos orgánicos, se seca en sulfato de sodio, se filtran, y se concentran hasta la sequedad para proporcionar el

compuesto del título en bruto (73 g, 88 %, ee al 94,8 %). El producto es analizado mediante cromatografía quiral: Columna AS-H, eluyente alcohol isopropílico al 10 %, isopropilamina al 2 %; velocidad de flujo 3 mL/min a UV 220; presión de 100
 5 bar a 35 °C para proporcionar el compuesto del título como el segundo isómero de elución, R_f = 2,26 minutos. ES/MS (m/e): 251 (M+1).

Preparación 34

10 N-[(4aR,7aS)-6-Alil-7a-(2-fluorofenil)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida

15



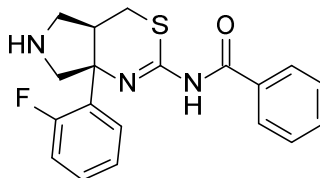
20

Una solución de [(3R,4S)-1-alil-4-amino-4-(2-fluorofenil)pirrolidin-3-il]metanol (129,7 g; 414 mmol) en THF (2,3 L) se enfría a 0 °C en atmósfera de nitrógeno. Se
 agrega isotiocianato de benzoilo (61,5 mL, 456 mmol), manteniendo la temperatura por debajo de 5 °C. La reacción se calienta a temperatura ambiente durante 3 horas y se agrega 1,1'-carbonildiimidazol (87,4 g, 538,9 mmol), y la reacción se agita a 22 °C durante 1 hora seguido por calentamiento a

70 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfría hasta 22 °C y el solvente se evapora. El residuo se particiona en EtOAc (1 L) y agua (1 L). Se separa la capa orgánica y se extrae la capa acuosa con EtOAc (2 × 400 mL). Se combinan los orgánicos, se secan en sulfato de sodio, se filtran, y se evaporan hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título en bruto. El producto bruto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con un gradiente de EtOAc / DCM de DCM al 0-40 % para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo claro (170 g, 99 %) que contiene el solvente residual. ES/MS (m/e): 396 (M+1).

Preparación 35

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



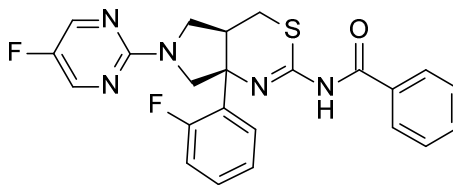
20

Se agrega ácido benzoico, 2-mercapto- (122 g, 793 mmol), bis(dibencilidenacetona)paladio (4,15 g, 7,21 mmol) y 1,4-bis(difenilfosfino)butano (3,14 g, 7,21 mmol) a una solución de N-[(4aR,7aS)-6-alil-7a-(2-fluorofenil)-4,4a,5,7-

tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (178,21 g, 360 mmol) en 2-metiltetrahidrofuran anhidro (1,96 L) en una atmósfera de nitrógeno. La solución se desgasifica mediante ciclos de vacío / nitrógeno tres veces, y luego se burbujea nitrógeno a través de la reacción durante 15 minutos. La mezcla de reacción se calienta hasta 40 °C mientras que se burbujea nitrógeno a través de la reacción. Cuando la reacción alcanza los 40 °C, se quita el burbujeo y la mezcla de reacción se agita a 40 °C durante 3 horas en atmósfera de nitrógeno. La reacción se enfría hasta 22 °C y se diluye con agua (2 L). Se agrega una solución de HCl (5 M) para ajustar el pH a 1. Se separa la capa acuosa y se lava con EtOAc adicional (2 × 800 mL). El pH de la capa acuosa se ajusta a 10 con hidróxido de sodio al 50 % p/p y luego se extrae con EtOAc (10 L). La capa acuosa se lava con EtOAc adicional (2 × 750 mL). Se combinan los extractos orgánicos, se lavan con salmuera, se secan en sulfato de sodio, se filtran, y se evaporan hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título en bruto como un sólido amarillo claro (124,7 g, 97 %). ES/MS (m/e): 356 (M+1).

Preparación 36

N-[(4aR,7aS)-7a-(2-Fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida



5

10

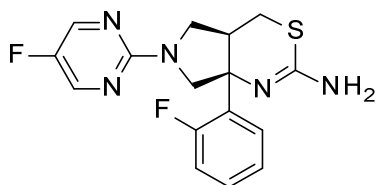
15

20

Una solución de N-[(4aR,7aS)-7a-(2-fluorofenil)-4a,5,6,7-tetrahidro-4H-pirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (124,7 g, 256 mmol), DIPEA (67 mL), 5-fluoro-2-cloropirimidina (29,3 ml, 307 mmol) en N-metilpirrolidona (997 mL) se calienta hasta 100 °C durante 16 horas. La reacción se enfría hasta 22 °C y se vierte en agua enfriada a 10 °C (10 L), lo que mantiene la temperatura por debajo de 15 °C. Se recolecta un sólido de color crema clara mediante filtración y se lava con agua adicional. El sólido húmedo se disuelve en EtOAc (2 L) y se transfiere a un embudo separador. Se agrega una solución acuosa de cloruro de sodio 5 % p/p (1 L) y la capa orgánica se separa, se seca en sulfato de sodio, se filtra y el filtrado se evapora a presión reducida. El producto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de EtOAc al 0-40 % /isohexano para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo claro (116 g, 70 %). ES/MS (m/e): 452 (M+1).

(4aR,7aS)-7a-(2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-
4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina

5



10

15

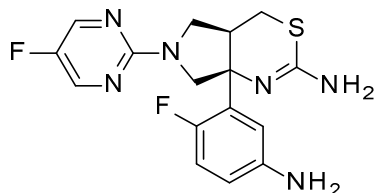
20

Se agrega hidróxido de litio (9,26 g, 386 mmol) a una mezcla de N-[(4aR,7aS)-7a-(2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-il]benzamida (158,6 g, 351,6 mmol) en metanol (1,6 L). La mezcla se calienta a 70 °C durante 4 horas y luego se enfría hasta 22 °C. La mezcla de reacción se evapora al vacío hasta obtener un residuo amarillo. El residuo se particiona en agua (1 L) y EtOAc (750 mL). Se agrega HCl (solución acuosa 5 M) para ajustar el pH a 1. Se separa la capa acuosa y se lava la capa orgánica con EtOAc (2 × 200 mL). El pH de la capa acuosa se ajusta con solución acuosa de hidróxido de sodio al 50 % p/p a pH=10 y se extrae con EtOAc (3 × 1 L). Se combinan los extractos orgánicos, se secan en sulfato de sodio, se filtran y se evaporan a presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo claro (133,3 g, 99 %, que contiene EtOAc residual al 12 %). ES/MS (m/e): 348 (M+1).

Preparación 38

(4aR,7aS)-7a-(5-Amino-2-fluoro-fenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina

5



10

Se agrega ácido sulfúrico (33,4 g, 626,6 mmol) a una solución de (4aR,7aS)-7a-(2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina (45,8 g, 125,3 mmol) en ácido trifluoroacético (626 L). La mezcla se enfría hasta 0 °C y se agita durante 20 minutos. Se agrega

15

ácido nítrico fumante (6,2 mL, 144,1 mmol) y la mezcla de reacción se calienta hasta 22 °C y se agita durante 3 horas.

La mezcla de reacción se evapora y se agrega MTBE (250 mL) y se evapora dos veces. El residuo se seca al vacío hasta un peso constante y luego se disuelve en agua (147 mL) y etanol

20

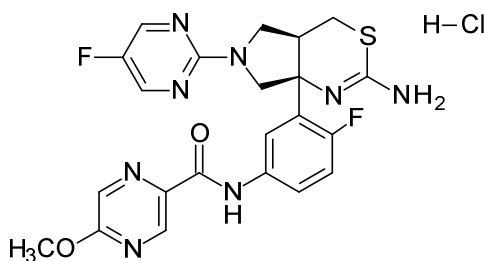
(885 mL) y se desgasifica con nitrógeno burbujeante durante 15 minutos. La solución se transfiere a un reactor de presión y se agrega pasta de Pd/C al 10 % tipo 87L (6,6 g, 6,27 mmol). La mezcla se diluye con etanol adicional (700 mL) y se presuriza con hidrógeno a 80 psi durante 16 horas. La mezcla

de reacción se filtra y luego se agrega una segunda carga de catalizador de pasta de Pd/C al 10 % tipo 87L (6,6 g, 6,27 mmol) y la mezcla se presuriza a 80 psi y se agita durante 3 días en el reactor de presión. La mezcla de reacción se purga con nitrógeno y se filtra mediante tierra diatomea. El filtrado se evapora y el residuo se particiona entre agua (200 ml) y EtOAc (200 ml). La capa acuosa se separa, se enfría a 5 °C y se neutraliza con hidróxido de amonio al 15 % p/p. La capa acuosa se extrae con EtOAc (3 × 150 mL). Los orgánicos se combinan, se secan en sulfato de sodio, se filtran y se evaporan a presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido marrón pálido (47,7 g, 99 % que contiene EtOAc residual). ES/MS (m/e): 363 (M+1).

15 Ejemplo 1

Clorhidrato de N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazina-2-carboxamida.

20



Se disuelve N-[3-[(4aR,7aS)-2-benzamido-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrollo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida, isómero 1
 5 (0,350 g, 0,58 mmol) en THF (2 mL) y luego se agrega metanol (4 mL) y etanol (4 mL). Se agrega clorhidrato de O-metilhidroxilamina (495 mg, 5,81 mmol) y piridina (470 µL, 5,81 mmol) a la mezcla y la reacción se calienta hasta 50 °C y se agita durante la noche. Se agrega gel de sílice (~10 g) a
 10 la reacción y la mezcla se concentra. La muestra, que se seca en gel de sílice, se carga a un cartucho vacío y se purifica eluyendo con un gradiente al 0-10 % de metanol de amoníaco 7 N en DCM. EL producto se purifica una segunda vez en una columna de SCX utilizando DCM:metanol 3:1 y luego
 15 DCM:amoníaco 7 N 2:1 en metanol. El producto se purifica por última vez en gel de sílice con un gradiente al 0 % a 10 % de metanol de amoníaco 7 N en DCM para proporcionar la base libre del compuesto del título. Este material se disuelve en DCM (5 mL) y se agrega cloruro de hidrógeno 1 M e éter
 20 dietílico (0,20 mL, 660 µmol). El solvente se quita al vacío para proporcionar el compuesto del título (71 mg, 23 %).
 ES/MS (m/e): 498 (M+H)

Difracción de Rayos X en polvo (XRD)

Los patrones de XRD de sólidos cristalinos se obtienen en un difractómetro de rayos X en polvo Bruker D4 Endeavor, equipado con una fuente CuK α ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) y un detector Vantec, que funciona a 35 kV y 50 mA. La muestra se escanea entre 4 y 40° en 2θ , con un tamaño de etapa de 0.009° en 2θ y una velocidad de escaneo de $0,5$ segundos/etapa, y con hendiduras de divergencia de $0,6$ mm, antidispersión fijas de $5,28$ y detectores de $9,5$ mm. El polvo seco se empaqueta en un portamuestras de cuarzo y se obtiene una superficie lisa usando un portaobjetos de vidrio. Los patrones de difracción en forma de cristal se recolectan a temperatura ambiente u humedad relativa. Se sabe en la técnica de la cristalografía que, para cualquier forma de cristal, las intensidades relativas de los picos de difracción pueden variar debido a la orientación preferida que resulta de factores tales como el hábito y la morfología del cristal. Cuando los efectos de la orientación preferida se encuentran presentes, se alteran las intensidades de los picos, pero las posiciones características de los picos del polimorfo no cambian. Véase, por ejemplo, la Farmacopea de Estados Unidos #23, Formulario Nacional #18, páginas 1843-1844, 1995. Además, también se conoce en la técnica de la cristalografía que para una forma de cristal dada, las posiciones angulares de los picos pueden

variar levemente. Por ejemplo, las posiciones de los picos pueden cambiar debido a una variación en la temperatura o humedad a la que la muestra se analiza, desplazamiento de la muestra o la presencia o ausencia de un estándar interno. En

5 el presente caso, una variabilidad de la posición de los picos de $\pm 0,2$ en 2θ tomará en cuenta estas variaciones sin dificultar la identificación inequívoca de la forma de cristal indicada. La confirmación de una forma de cristal se puede pasar en cualquier combinación única de picos

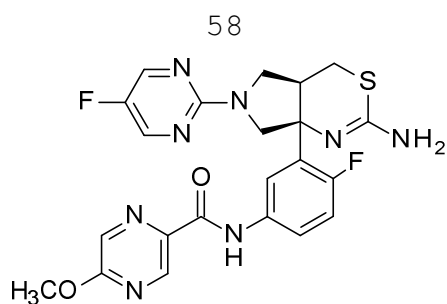
10 distintivos (en unidades de $^{\circ} 2\theta$), típicamente los picos más prominentes. Los patrones de difracción de las formas cristalinas, recolectados a temperatura ambiente y humedad relativa, se ajustan en función de los picos de la norma 675 de NIST a 8,853 y 26.774 grados 2-theta.

15

Ejemplo 1a

Forma cristalina 1 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-

20 d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida



5

10

15

20

Se mezcla N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida (201 mg, 403,20 μ moles) con 4 mL de acetato de butilo y se agita en una placa de agitación de 120°C. El sólido se disuelve después de 5 minutos, proporcionando una solución incolora clara. La muestra se enfría hasta temperatura ambiente y un sólido blanco se precipita de la solución. Luego, se suspende la muestra a temperatura ambiente durante 10 minutos, proporcionando una suspensión espesa de sólido blanco. El sólido blanco se aísla mediante filtración al vacío y se seca en una corriente de aire durante 5 minutos. La torta de sólido blanco resultante se coloca en un vial tarado en el horno de vacío a 60 °C durante el fin de semana para proporcionar el compuesto del título (110 mg). La Forma cristalina 1 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluorofenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida es la forma de cristal estable a temperatura ambiente y humedad relativa

menor que 15 %.

Ejemplo 1b.

5 Forma cristalina 2 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida (hidratado)

10 Se agregó cloruro de oxalilo (888 µL, 10,2 mmol) a una solución de ácido 5-metoxipirazin-2-carboxílico (1,6 g, 10,2 mmol) en acetonitrilo (53 mL) y DMF (848 µL). Después de 15 minutos, la solución recién preparada se agrega a una solución de (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina (2,65 g, 7,3 mmol) en una mezcla de agua (53 mL) y etanol (53 mL) calentada previamente a 50 °C. La mezcla de reacción se agita a 50 °C durante una hora, se enfría hasta 22 °C, y luego se agita durante la noche a esta

20 temperatura. El solvente orgánico se evapora al vacío y la mezcla acuosa es tratada con solución acuosa de hidróxido de sodio 50 % p/p para ajustar el pH= 10. Se aísla un sólido cremoso pálido y se lava con agua adicional. El sólido se diluye con alcohol isopropílico (2x) y se evapora el

solvente. Se purifica el material en bruto mediante cromatografía en gel de sílice utilizando un gradiente de metanol con amoníaco (2 N) / cloruro de metileno. Las fracciones que contienen el producto deseado se combinan y se
 5 evapora el solvente para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanquecino (1,9 g, 52 %). ES/MS (m/e): 499 (M+1).

Preparación alternativa de la Forma Cristalina 2 N-[3-
 10 [(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida (hidratado)

Se agrega acetonitrilo (500 mL) a DMF (19,2 mL, 248,9 mmol).
 15 Se agrega cloruro de oxalilo (39,3 g, 309,63 mmol) seguido de ácido 5-metoxipirazin-2-carboxílico (46,0 g, 298,4 mmol) a la solución de DMF/acetonitrilo. En un matraz separado, se agrega la solución acuosa de (4aR,7aS)-7a-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-2-amina (56,8 g, 156,75
 20 mmol) a acetonitrilo (500 mL) y el pH se ajusta a 9 con hidróxido de amoníaco (95 mL). Esta mezcla luego se calienta hasta 50-55 °C. La solución de cloruro de oxalilo se agrega por goteo y la mezcla se agita durante 3 horas. El pH se

ajusta hasta 8-9 con hidróxido de amonio. El precipitado se filtrara, se lava con agua y se seca para obtener el compuesto del título (123 g). El sólido se suspende en acetona (250 mL) durante 1,5 horas y se filtra. La torta

5 húmeda se lava con acetona para obtener el compuesto del título (110 g con 90,5 % de pureza mediante HPLC). Se agrega THF (1 L) y carbono activado (9 g) al sólido y la mezcla se calienta a reflujo durante la noche. La mezcla se filtra a través de tierra diatomea y se lava con THF (150 mL). La

10 solución orgánica se concentra a 10 volúmenes y se calienta hasta 60 °C. Se agrega agua (430 mL) y la mezcla se agita a 60 °C durante 8 horas. La mezcla enfría hasta temperatura ambiente y se agita durante 10 horas. El sólido resultante se filtra, se lava con THF/agua (7:6) y se seca para

15 proporcionar el compuesto del título (69 g, 88 %) LC-MS: m/z=499 (M+1), pureza: 98,3 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) ppm 2,99 - 3,07 (m, 2 H) 3,07 - 3,14 (m, 1 H) 3,58 - 3,67 (m, 1 H) 3,68 - 3,76 (m, 1 H) 3,76 - 3,84 (m, 1 H) 4,02 (s, 3 H) 4,07 (d, J=10,92 Hz, 1 H) 6,08 (s, 2 H) 7,19 (dd, J=11,98,

20 8,72 Hz, 1 H) 7,78 - 7,89 (m, 2 H) 8,41 (s, 1 H) 8,44 (s, 2 H) 8,88 (s, 1 H) 10,60 (s, 1 H).

Procedimiento general para la preparación de la Forma
Cristalina 2 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-

il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida (hidratado)

La suspensión N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metox-pirazin-2-carboxamida en THF a
 5 alrededor de 23 °C a una concentración de alrededor de 71 mg/mL de solvente. Se calienta la muestra con agitación hasta la disolución que se produce a alrededor de 60 °C a alrededor
 10 de 63 °C. Se agrega agua a la solución caliente para proporcionar una relación de solvente THF:agua de alrededor de 95:5. Se agregan cristales germinales de la Forma 2 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-
 15 metoxi-pirazin-2-carboxamida (carga de alrededor de 3 % en peso). La suspensión fina resultante se mantiene a alrededor de 60 °C a alrededor de 63 °C durante alrededor de 20 minutos, seguido de la adición de alrededor de 5,3 a
 alrededor de 5,5 volúmenes de agua durante alrededor de 2 a
 20 alrededor de 4 horas, lo que da como resultado una relación de solvente THF:agua de alrededor de 69:31. Luego, la suspensión se mantiene a alrededor de 60 °C a alrededor de 63 °C durante alrededor de 30 minutos y luego se enfría hasta alrededor de 23 °C durante alrededor de 1 hora, y luego se

agita durante alrededor de 8-12 horas. Luego, la mezcla se filtra, se enjuaga levemente con THF:agua (35:65), y se seca durante alrededor de 8-12 horas al vacío reducido a alrededor de 40 °C para proporcionar la Forma cristalina 2 deseada N-

5 [3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida que se hidrata.

Una muestra preparada de la Forma cristalina 2 N-[3-

10 [(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamidse caracteriza mediante un patrón de XRD utilizando radiación CuK α por tener picos de difracción (valores de 2-theta) tal como se describe en la

15 Tabla 1 a continuación. Específicamente, el patrón contiene un pico a 11,8° en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,6°, 19,3° y 26,7°; con una tolerancia a la difracción de 0,2 grados.

20 **Tabla 1:** Picos de difracción de rayos X en polvo de la Forma cristalina 2 del Ejemplo 1b.

Pico	Ángulo	Intensidad relativa
	(2-Theta °)	(% de pico más

5

10

	+/- 0,2°	intenso)
1	11,8	100,0
2	18,6	71,4
3	19,3	45,5
4	26,7	41,9
5	20,6	27,3
6	9,0	19,0
7	24,8	18,5
8	22,4	15,5
9	31,9	14,3
10	10,6	11,2

15

La Forma cristalina 2 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida es la forma de cristal estable a temperatura ambiente y humedad relativa mayor que 15 %.

20

Ejemplo 1c

Forma cristalina 3 N-[3-[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida.

Se carga una bandeja de análisis termogravimétrico con N-[3-
[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-
tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-
5 metoxi-pirazin-2-carboxamida y se calienta hasta alrededor de
170 °C y se mantiene a 170 °C durante alrededor de 5 minutos.
Se enfría hasta temperatura ambiente para proporcionar el
compuesto del título.

10 Preparación alternativa de la Forma Cristalina 3 N-[3-
[(4aR,7aS)-2-Amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-
tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-
metoxi-pirazin-2-carboxamida

15 Se combina N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-
il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-
fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida (121 mg) con
acetonitrilo (5 mL) en un vial y se calienta en una placa de
agitación de 90 °C. Después de alrededor de 30 minutos, la
20 mayor parte del sólido se disuelve, proporcionando una
solución turbia. Se agregan los germinales de la Forma 3 y la
muestra se agita durante alrededor de 1 hora a alrededor de
90 °C. Se quita el calentamiento y la mezcla se agita para
proporcionar un sólido blanco brillante. El sólido se aísla

por filtración al vacío, se seca en una corriente de aire durante 10 minutos y luego al vacío reducido a alrededor de 80 °C durante alrededor de 8 a 12 horas para proporcionar el compuesto del título.

5

Una muestra preparada de la Forma cristalina 3 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrol[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamidse caracteriza mediante un patrón

10 de XRD utilizando radiación CuK α por tener picos de difracción (valores de 2-theta) tal como se describe en la Tabla 2 a continuación. Específicamente, el patrón contiene un pico a 15,7° en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,1°, 27,0° y

15 19,7°; con una tolerancia a la difracción de 0,2 grados.

Tabla 2: Picos de difracción de rayos X en polvo de la Forma cristalina 3 del Ejemplo 1c.

20

Pico	Ángulo (2-Theta °) +/- 0,2°	Intensidad relativa (% de pico más intenso)
1	15,7	100,0
2	18,1	98,5

5

3	27,0	80,2
4	19,7	75,4
5	25,3	75,2
6	18,7	50,0
7	17,3	49,7
8	5,2	44,0
9	10,4	41,7
10	11,9	37,7

10 Procedimientos de ensayo *in vitro*:

15

Para los ensayos celulares y enzimáticos *in vitro*, los compuestos de las pruebas se preparan en DMSO para componer una solución madre 10 mM. La solución madre se diluye en serie en DMSO para obtener una curva de dilución de diez puntos con concentraciones del compuesto final que oscilan de 10 mM a 0,05 nM en una placa de 96 pocillos de fondo redondo antes de llevar a cabo el ensayo celular completo y enzimático *in vitro*.

20

Ensayo de inhibición de proteasa *in vitro*

Expresión de BACE1 humana

Se clona la BACE1 humana (número de acceso: AF190725) a partir del ADNc cerebral total mediante RT-PCR. Las secuencias de nucleótidos correspondientes a las secuencias de aminoácidos #1 a 460 se insertan en el ADNc que codifica el polipéptido (Vasser, et al., *Science*, **286**, 735-741 (1999)) de IgG₁ (Fc) humana . La proteína de fusión de BACE1(1-460)y Fc humana, llamada *huBACE1:Fc*, se construye en el vector pJB02. La BACE1(1-460):Fc humana (*huBACE1:Fc*) se expresa de manera transitoria en las células HEK293. 250 µg de ADNc de cada construcción se mezcla con Eugene 6 y se agrega a 1 litro de células HEK293. Cuatro días después de la transfección, los medios afectados se cultivan para purificación.

15 Purificación de *huBACE1:Fc*.

huBACE1:Fc se purifica mediante cromatografía de proteína A. La enzima se almacena a - 80 °C en alícuotas pequeñas.

20 Ensayo de FRET de BACE1

Las diluciones en serie de los compuestos de prueba se preparan tal como se describió anteriormente. los compuestos se diluyen adicionalmente 20× en amortiguador de KH₂PO₄. Se

agregan diez μL de cada dilución a cada pocillo en la fila A a H de una placa vacía de unión baja a proteínas que contiene la mezcla de reacción (25 μL de KH_2PO_4 50 mM, pH 4,6, TRITON® X-100 1 mM, albúmina de suero bovino 1 mg/mL y 15 μM de sustrato de FRET) (véase Yang, et. ál., *J. Neurochemistry*, **91**(6) 1249-59 (2004)). El contenido se mezcla bien en un agitador de placas durante 10 minutos. Se agregan quince μL de BACE1(1-460):Fc humana doscientos pM (Véase Vasser, et ál., *Science*, **286**, 735-741 (1999)) en el amortiguador de KH_2PO_4 a la placa que contiene el sustrato y los compuestos de muestra para iniciar la reacción. Se registra la RFU de la mezcla en el momento 0 con una longitud de onda de excitación de 355 nm y una longitud de onda de emisión de 460 nm, después de un mezclado breve en un agitador de placas. La placa de reacción se cubre con papel metalizado y se mantiene en un horno humidificado oscuro a temperatura ambiente durante 16 a 24 h. Se registra la RFU al finalizar la incubación con las mismas configuraciones de excitación y emisión utilizadas en el momento 0. La diferencia de la RFU en el momento 0 y al finalizar la incubación representa la actividad de BACE1 en el tratamiento del compuesto. Las diferencias de RFU se grafican con respecto a la concentración del inhibidor y se ajusta una curva con una ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los

valores de EC₅₀ e IC₅₀. (Véase Sinha, et ál., *Nature*, **402**, 537-540 (2000)).

El compuesto del Ejemplo 1 se analiza esencialmente tal como se describió anteriormente y exhibió una IC₅₀ de BACE1 de 0,615 nM ($\pm$ 0,101, n=5) [Media $\pm$ SEM; SEM = error estándar de la media]. Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 inhibe la actividad de la enzima BACE1 recombinante purificada *in vitro*.

10

Ensayo neuronal primario de PDAPP

También se realizó un ensayo celular completo confirmatorio en cultivos neuronales primarios generados a partir de ratones embrionarios transgénicos con PDAAP. Las neuronas corticales primarias se preparan a partir de embriones con PDAPP en el día embrionario 16 y se cultivan en placas de 96 pocillos (15×10^4 células/pocillo en DMEM/F12 (1:1) más FBS al 10 %). Después de dos días *in vitro*, el medio de cultivo se reemplaza con DMEM/F12 (1:1) libre de suero que contiene suplemento B27 y 2 μ M (final) de Ara-C (Sigma, C1768). El día 5 *in vitro*, las neuronas se incuban a 37 °C durante 24 h en presencia/ausencia de inhibidores (diluidas en DMSO) a la concentración deseada. Al finalizar la incubación, los medios

20

afectados se analizan para obtener pruebas de la actividad de beta-secretasa, por ejemplo, mediante el análisis de los péptidos Abeta. Se miden los péptidos Abeta totales (Abeta 1-x) mediante ELISA sándwich, utilizando el monoclonal 266 como un anticuerpo de captura y el biotinilado 3D6 como un anticuerpo indicador. De manera alternativa, se miden los péptidos 1-40 de Abeta y 1-42 de Abeta mediante ELISA sándwich, utilizando el monoclonal 2G3 como un anticuerpo de captura para 1-40 de Abeta, y el monoclonal 21F12 como un anticuerpo de captura para 1-42 de Abeta. Los ELISA de 1-40 de Abeta y 1-42 de Abeta utilizan el biotinilado 3D6 como el anticuerpo indicador. La concentración de Abeta liberada en los medios afectados tras el tratamiento con el compuesto corresponde a la actividad de BACE1 en tales condiciones. La curva de inhibición de 10 puntos se grafica y se ajusta con la ecuación logística de cuatro parámetros para obtener los valores de EC_{50} y IC_{50} para el efecto de reducción de Abeta. El compuestos del Ejemplo 1 se analiza esencialmente tal como se describió anteriormente y exhibió la actividad que figura a continuación para el efecto de reducción de Abeta:

Tabla 3

5

Ejemplo	PDAPP Neuron A-beta (1-40) ELISA IC ₅₀ (nM)	PDAPP Neuron A-beta (1-42) ELISA IC ₅₀ (nM)
1	0,275 ($\pm$ 0,176 n=4)	0,228 ($\pm$ 0,244 n=3)

Media $\pm$ SEM; SEM= error estándar de la media

Los datos demostraron que el compuesto del Ejemplo 1 inhibe la producción de Abeta en células completas.

10

Inhibición in vivo de la beta-secretasa

15

Se pueden utilizar varios modelos animales, incluidos los de ratón, conejillo de indias, perro y mono para analizarse para obtener la inhibición de la actividad de la beta-secretasa *in vivo* tras el tratamiento con el compuesto. Los animales utilizados en la presente invención pueden ser animales de tipo salvaje, transgénicos o con inactivación génica. Por ejemplo, el modelo de ratón con PDAPP, preparado tal como se describe en Games et ál., *Nature* **373**, 523-527 (1995), y otros animales no transgénicos o con inactivación génica son útiles para analizar la inhibición in vivo de Abeta y la producción de sAPPbeta en presencia de los compuestos inhibidores. Generalmente, se administra a ratones con PDAPP de 2 a 12

20

meses, ratones con inactivación génica o animales no transgénicos el compuesto formulado en vehículos, tales como aceite de maíz, ciclodextran, amortiguadores de fosfato, PHARMASOLVE®, u otros vehículos adecuados. De una a
5 veinticuatro horas después de la administración del compuesto, se sacrifican los animales, y se quitan los cerebros así como el líquido cefalorraquídeo y el plasma para analizar los fragmentos Abeta, C99 y sAPP. (Véase May, et al., *Journal of Neuroscience*, 31, 16507-16516 (2011)).

10

Para estudios farmacológicos estándar in vivo, se le administran dosis a los animales con varias concentraciones del compuesto y se comparan con un grupo de control tratado con vehículo al que se le administró una dosis al mismo
15 tiempo. Para algunos estudios del transcurso del tiempo, se obtiene tejido cerebral, plasma o líquido cefalorraquídeo de animales seleccionados, comenzando en el momento 0 para establecer una línea de referencia. Se administra el compuesto o vehículo adecuado a otros grupos y se
20 sacrificaron en diversos momentos después de la dosificación. Se obtiene tejido cerebral, plasma o líquido cefalorraquídeo de animales seleccionados y se analiza para obtener la presencia de productos de escisión de APP, inclusive péptidos Abeta, sAPPbeta, y otros fragmentos de APP, por ejemplo,

mediante ensayos ELISA sándwich específicos. Al final del período de pruebas, los animales se sacrifican y se analiza el tejido cerebral, plasma o líquido cefalorraquídeo para obtener la presencia de péptidos Abeta, C99, y sAPPbeta, según corresponda. También se pueden analizar los tejidos cerebrales de los animales transgénicos con APP para obtener la cantidad de placas beta-amiloide tras el tratamiento con el compuesto. "Péptido Abeta 1-x " tal como se usa en la presente, se refiere al total de las especies de Abeta que comienza con el residuo 1 y termina con un extremo C mayor que 28 residuos. Esto detecta la mayoría de las especies de Abeta y, a menudo se denomina "Abeta total".

Los animales (PDAPP u otro ratones transgénicos con APP o no transgénicos) a los que se les administró un compuesto inhibidor pueden demostrar la reducción de Abeta o sAPPbeta en los tejidos cerebrales, plasma o líquidos cefalorraquídeos y la disminución de las placas de beta amiloide en el tejido cerebral, en comparación con los controles tratados con vehículo o controles del momento cero. Para el Ejemplo 1, tres horas después de la administración de una dosis oral de 0,3, 1 o 3 mg/kg del compuesto, los niveles del péptido Abeta 1-x se reducen aproximadamente 31 %, 39 % y 61 % en el hipocampo cerebral, y aproximadamente 28 %, 42 % y 64 % en la

corteza cerebral, respectivamente en comparación con los ratones tratados con vehículo.

Dada la actividad del Ejemplo 1 con respecto a la enzima BACE
5 in vitro, estos efectos de reducción de Abeta son consistentes con la inhibición de BACE in vivo, y se demuestra adicionalmente la penetración en el CNS de N-[3-
[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5, 7-
tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-
10 metoxi-pirazina-2-carboxamida.

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

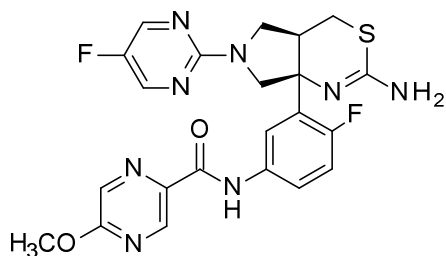
15

20

Se reivindica:

1. Un compuesto de fórmula:

5



que es cristalino.

10

2. El compuesto cristalino de acuerdo con la reivindicación 1 que es la Forma 2 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida.

15

3. El compuesto cristalino de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que se caracteriza por un pico sustancial en el espectro de difracción de rayos X, en el ángulo de difracción 2-theta de 11,8°, en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,6°, 19,3° y 26,7°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

20

4. El compuesto cristalino de acuerdo con la reivindicación

1 que es la Forma 1 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida.

5

5. El compuesto cristalino de acuerdo con la reivindicación 1 que es la Forma 3 N-[3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropirimidin-2-il)-4,4a,5,7-tetrahidropirrolo[3,4-d][1,3]tiazin-7a-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxi-pirazin-2-carboxamida.

10

6. El compuesto cristalino de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 5, que se caracteriza por un pico sustancial en el espectro de difracción de rayos X, en el ángulo de difracción 2-theta de 15,7°, en combinación con uno o más de los picos que se seleccionan del grupo que consiste en 18,1°, 27,0° y 19,7°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

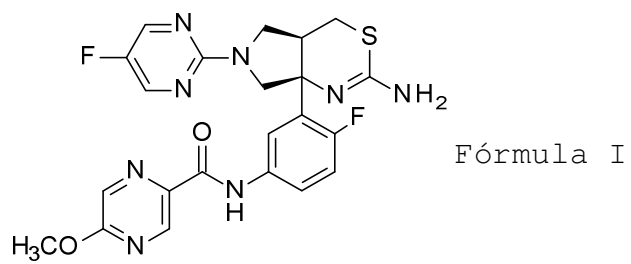
15

20 7. Un método para tratar la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrarle a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

8. Un método para prevenir la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer en un paciente, que comprende administrarle a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
9. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en terapia
10. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en la prevención de la evolución del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer.
12. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I:

5



10

que es cristalino.

15

20