



(12) Oversettelse av
europeisk patentskrift

(11) NO/EP 2483255 B1

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 265/30 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.03.10
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.10.16
(86)	Europeisk søknadsnr	11806295.9
(86)	Europeisk innleveringsdag	2011.07.13
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.08.08
(30)	Prioritet	2010.07.13, US, 201061363702 P 2011.01.12, US, 201161432058 P 2011.01.21, US, 201161435088 P 2010.07.23, WO, PCT/EP10/060718
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA
(73)	Innehaver	Novartis AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, CH-Sveits
(72)	Oppfinner	BADIGER, Sangamesh, Aurigene Discovery Technologies LimitedKIADB Industrial AreaElectronic City Phase II39-40 Hosur Road, Bangalore 560100, IN-India CHEBROLU, Murali, Aurigene Discovery Technologies LimitedKIADB Industrial AreaElectronic City Phase II39-40 Hosur Road, Bangalore 560100, IN-India FREDERIKSEN, Mathias, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits HOLZER, Philipp, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits HURTH, Konstanze, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits LI, Lei, Suzhou Novartis Pharma Technology Co. Ltd.18 Tonglian RoadRiverside Industrial ParkChangshu Economic Development Zone, ChangshuJiangsu 215537, CN-Kina LIU, Hui, Suzhou Novartis Pharma Technology Co. Ltd.18 Tonglian RoadRiverside Industrial ParkChangshu Economic Development Zone, ChangshuJiangsu 215537, CN-Kina LUEOEND, Rainer Martin, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits MACHAUER, Rainer, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits MOEBITZ, Henrik, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits

NEUMANN, Ulf, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
RAMOS, Rita, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
RUEEGER, Heinrich, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
SCHAEFER, Michael, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
TINTELNOT-BLOMLEY, Marina, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
VEENSTRA, Siem Jacob, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
VOEGTLE, Markus, Novartis Pharma AGWerk KlybeckPostfach, CH-4002 Basel, CH-Sveits
XIONG, Xin, Suzhou Novartis Pharma Technology Co. Ltd.18 Tonglian RoadRiverside Industrial ParkChangshu Economic Development Zone, ChangshuJiangsu 215537, CN-Kina

(74) Fullmektig

Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Oksazinderivater og ders anvendelse i behandlingen av nevrologiske lidelser
(56)	Anførte publikasjoner	EP-A1- 1 942 105 US-A- 5 691 336 WO-A1-2007/049532 WO-A1-2008/133273 WO-A1-2011/009943 WO-A1-2011/020806 WO-A2-2006/034093

OKSAZINDERIVATER OG DERES ANVENDELSE I BEHANDLINGEN AV NEVROLOGISKE LIDELSER

Alzheimers sykdom er en ødeleggende nevrodegenerativ lidelse. Dens sporadiske former påvirker en eldre populasjon (kraftig økning i forekomst ved > 75 år), i tillegg er det ulike familiære former med et utbrudd av sykdommen i det fjerde eller femte tiår av livet. Patologisk er den karakterisert ved tilstedeværelsen av ekstracellulære senile plakk og intracellulære nevrofibrillære floker i pasientenes hjerner. Kjernebestanddelen i de senile plakkene er små, 4 kDa amyloidpeptider. De genereres av den proteolytiske prosesseringen av et stort transmembrant protein, amyloidforløperprotein (APP). Spalting av APP ved betasekretase (BACE-1) frigjør oppløselig APP-betafragment, mens den 99 aminosyrer lange C-terminalen forblir bundet til membranen. Dette C-terminale fragmentet blir deretter proteolytisk prosessert ved gammasekretase (et membranmultienzymkompleks) for å generere amyloidpeptider av forskjellig lengde, hovedsakelig 40 til 42 aminosyrer lange (Hardy J, Selkoe DJ (2002) Science; 297 (5580):353–356).

Hvis dannelsen av disse peptider skjer med økt hastighet under patologiske betingelser, eller hvis deres fjerning fra hjernen blir forstyrret, fører økte amyloidpeptidkonsentrasjoner i hjernen til dannelsen av oligomerer, fibriller og til slutt plakk (Farris W, et al (2007) Am.J. Pathol.; 171 (1):241–251). Det er blitt vist at avsetninger av amyloidpeptider og plakk i hjernen er den første målbare hendelsen i patogenesen for Alzheimers sykdom, og at det er en utløser for tap av synapser, synaptiske kontakter og neuroner (Grimmer T, et al (2009) Neurobiology of Aging; 30 (12):1902–1909). Hjerneatrofi forårsaket av massive tap av nevroner etterfølges av svekkelser i kognisjon, hukommelse, orientering og evne til å utføre oppgaver i dagliglivet, dvs. klinisk manifest demens (Okello A, et al (2009) Neurology; 73 (10):754–760).

BACE-1, også kjent som Asp2 eller Memapsin 2, er en transmembran asparaginprotease som er høyt uttrykt i nevroner. Det er ko-lokalisert med sitt substrat APP i Golgi og endocytiske vesikler (Willem M, Lammich S, Haass C (2009) Semin.Cell Dev.Biol; 20 (2):175–182). Knock-out-studier på mus har vist fravær av amyloidpeptidformasjon, mens dyrene er friske og fertile (Ohno M, et al (2007) Neurobiol.Dis.; 26 (1):134–145). Genetisk ablasjon av BACE-1 hos

mus med APP-overekspresjon har vist fravær av plakkdannelse og reversering av kognitiv svikt (Ohno M, et al (2004) Neuron; 41 (1):27–33). BACE-1-nivåene er forhøyet i hjernen til pasienter med sporadisk Alzheimers sykdom (Hampel H, Shen Y (2009) Scand. J. Clin. Lab. Invest.; 69 (1):8–12).

5

Samlet tyder disse funnene på at inhibering av BACE-1 kan være en gunstig terapeutisk strategi for Alzheimers sykdom.

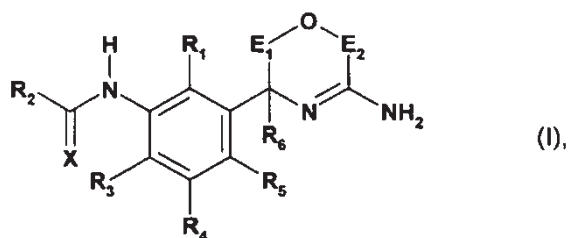
WO 2008/133273 og WO 2007/049532 beskriver BACE-inhibitorer.

10

Den foreliggende oppfinnelsen vedrører nye oksazinderivater som har BACE-inhiberende aktivitet, deres fremstilling, deres medisinske anvendelse og medikamenter omfattende dem.

15

Oppfinnelsen vedrører en forbindelse med formelen



i hvilken X, E₁, E₂, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ og R₆ er definert for å tilveiebringe en forbindelse valgt fra:

20

5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid;

5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid;

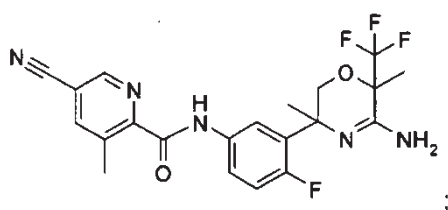
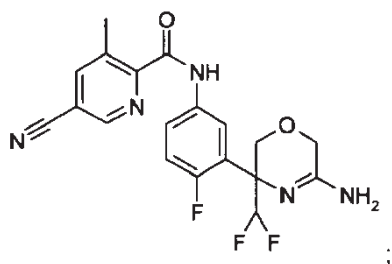
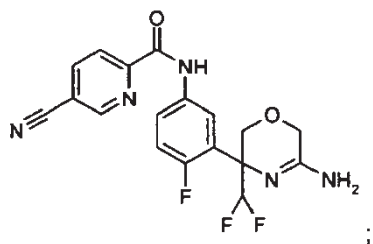
5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid; og

25

farmasøytisk akseptable salter derav.

I et første aspekt er det derfor tilveiebrakt en forbindelse valgt fra gruppen bestående av:

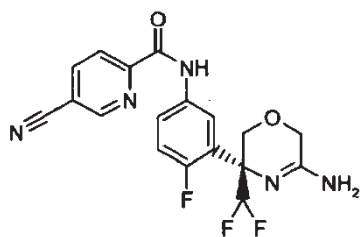
3



5

og farmasøytisk akseptable salter derav.

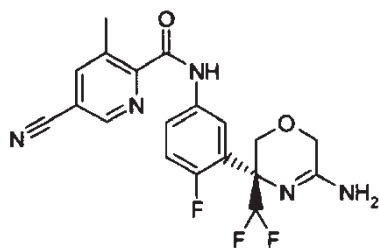
I én utførelsesform er det tilveiebrakt en forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som har den følgende formelen



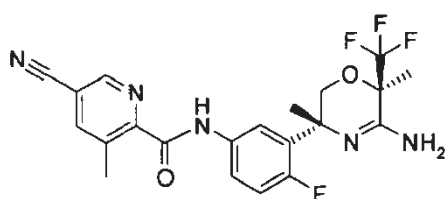
10

I en annen utførelsesform er det tilveiebrakt en forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som har den følgende formelen

4



I en annen utførelsesform er det tilveiebrakt en forbindelse, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som har den følgende formelen



5

I et annet aspekt er det tilveiebrakt en farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse som definert over, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som aktiv ingrediens og et farmasøytisk bærerstoff eller fortynningsmiddel.

10

På grunn av ett eller flere enn ett asymmetrisk karbonatom, hvilket kan være til stede i en forbindelse med formelen I, kan en tilsvarende forbindelse med formelen I eksistere i rent optisk aktiv form eller i form av en blanding av optiske isomerer, f.eks. i form av en racemisk blanding. Alle slike rene optiske isomerer og alle deres blandinger, inklusiv de racemiske blandinger, er del av den foreliggende oppfinnelsen.

15

Som anvendt heri viser betegnelsen "isomerer" til ulike forbindelser som har den samme molekylære formelen, men atskiller seg i anordning og konfigurasjon av atomene. Også som anvendt heri viser betegnelsen "en optisk isomer" eller "en stereoisomer" til en hvilken som helst av de ulike stereoisomeriske konfigurasjoner som kan eksistere for en gitt forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen og inkluderer geometriske isomerer. Det er underforstått at en substituent kan bindes ved et kiralt senter i et karbonatom. Oppfinnelsen omfatter derfor enantiomerer, diastereomerer eller racemater av forbindelsen. "Enantiomerer" er et par stereoisomerer som er ulike speilbilder av hverandre.

20

25

En 1:1-blanding av et par enantiomerer er en "racemisk" blanding. Betegnelsen anvendes eventuelt om en racemisk blanding. "Diastereoisomerer" er stereoisomerer som har minst to asymmetriske atomer, men som ikke er speilbilder av hverandre. Den absolutte stereokjemien er spesifisert ifølge Cahn-Ingold-Prelog R-S-systemet. Når en forbindelse er en ren enantiomer, kan stereokjemien ved hvert kiralt karbon spesifiseres ved enten R eller S. Oppløste forbindelser hvis absolutte konfigurasjon er ukjent, kan angis med (+) eller (-) avhengig av den retning (dekstro- eller levorotatorisk) som de roterer planpolarisert lys i ved natrium D-linjens bølgelengde. Noen av forbindelsene beskrevet heri inneholder en eller flere asymmetrisk sentre eller akser og kan således gi opphav til enantiomerer, diastereomerer og andre stereoisomere former som kan være definert på bakgrunn av absolutt stereokjemi, som (R)- eller (S)-. Den foreliggende oppfinnelsen skal omfatte alle slike mulige isomerer, herunder racemiske blandinger, eventuelt rene former og mellomblandinger. Optisk aktive (R)- og (S)-isomerer kan fremstilles ved hjelp av kirale syntoner eller kirale reagenser, eller oppløses ved hjelp av klassiske teknikker. Hvis forbindelsen inneholder en dobbeltbinding, kan substituenten være E- eller Z-konfigurasjon. Hvis forbindelsen inneholder et disubstituert sykloalkyl, kan sykloalkylsubstituenten ha en cis- eller trans-konfigurasjon.

En forbindelse med formelen I kan eksistere i tautomer form. Alle slike tautomerer er del av den foreliggende oppfinnelsen.

I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i fri form. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i farmasøytisk akseptabelt saltform. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i hydrokloridsaltform.

I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i fri form. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-

3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i farmasøytisk akseptabelt saltform. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-pyridin-2-karboksylsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i hydrokloridsaltform.

5

I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksylsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i fri form. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksylsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i farmasøytisk akseptabelt saltform. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksylsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i hydrokloridsaltform. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksylsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydrokloridhydrat.

10

15

20

25

Som anvendt heri viser betegnelsene "salt" eller "salter" til et syreaddisjons- eller baseaddisjonssalt av en forbindelse ifølge oppfinnelsen. "Salter" inkluderer især "farmasøytisk akseptable salter". Som anvendt heri viser "farmasøytisk akseptable salter" til salter som beholder den biologiske effekten og de biologiske egenskapene til forbindelsene ifølge denne oppfinnelse, og som typisk ikke er biologisk eller på annen måte uønsket. I mange tilfeller er forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen i stand til å danne syre- og/eller basesalter under nærvær av amino- og/eller karboksylgrupper eller lignende grupper.

30

35

Farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter kan dannes med uorganiske syrer og organiske syrer, f.eks. acetat-, aspartat-, benzoat-, besylat-, bromid-/hydrobromid-, bikarbonat / karbonat-, bisulfat / sulfat-, kamfesulfomat-, kloridd-/hydroklorid-, klorteoofyllonat-, citrat-, etandisulfonat-, fumarat-, gluceptat-, glukonat-, glukuronat-, hippurat-, hydrojodid-/jodid-, isetionat-, laktat-, laktobionat-, laurylsulfat-, malat-, maleat-, malonat-, mandelat-, mesylat-, metylsulfat-, naftoat-, napsylat-, nikotinat-, nitrat-, oktadekanoat-, oleat-, oksalat-, palmitat-, pamoat-, fosfat-/hydrogenfosfat-/ dihydrogenfosfat-, polygalakturonat, propionat, stearat, suksinat, sulfosalicylat, tartrat, tosylat- og tosylattrifluoracetatsalter. Uorganiske syrer som salter kan avledes fra,

inkluderer for eksempel saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre, salpetersyre og fosforsyre. Organiske syrer som salter kan avledes fra, inkluderer for eksempel eddiksyre, propionsyre, glykolsyre, oksalsyre, maleinsyre, malonsyre, ravsyre, fumarsyre, vinsyre, sitronsyre, benzosyre, mandelsyre, metansulfonsyre, etansulfonsyre, toluensulfonsyre og sulfosalicylsyre. Farmasøytisk akseptable baseaddisjonssalter kan dannes med uorganiske og organiske baser. Uorganiske baser som salter kan avledes fra, inkluderer for eksempel ammoniumsalter og metaller fra kolonne I til XII i den periodiske tabellen. I visse utførelsesformer er saltene avledet fra natrium, kalium, ammonium, kalsium, magnesium, jern, sølv, sink og kopper; særlig passende salter inkluderer ammonium-, kalium-, natrium-, kalsium- og magnesiumsalter.

Organiske baser som salter kan avledes fra, inkluderer for eksempel primære, sekundære og tertiære aminer, substituerte aminer inklusiv naturlig forekommende substituerte aminer, sykliske aminer og basiske ionebytteharpikser. Visse organiske aminer inkluderer isopropylamin, benzatin, kolinat, dietanolamin, dietylamin, lysin, meglumin, piperazin og trometamin.

De farmasøytisk akseptable saltene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan syntetiseres fra en moderforbindelse, en basisk eller sur enhet, ved konvensjonelle kjemiske fremgangsmåter. Generelt kan slike salter fremstilles ved å reagere frie syreformer av disse forbindelsene med en støkiometrisk mengde av den passende basen (slik som Na, Ca, Mg eller K hydroksid, karbonat, bikarbonat eller lignende) eller ved å reagere frie baseformer av disse forbindelsene med en støkiometrisk mengde av den passende syren. Slike reaksjoner gjennomføres typisk i vann eller i et organisk løsemiddel, eller i en blanding av de to. Generelt er anvendelse av ikke-vandige medier som eter, etylacetat, etanol, isopropanol eller acetonitril ønskelig der dette er praktisk. Lister over ytterligere passende salter kan f.eks. finnes i "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); og i "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" av Stahl og Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Tyskland, 2002).

Når både en basisk gruppe og en syregruppe er til stede i det samme molekylet, kan forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen også danne interne salter, f.eks. zwitterioniske molekyler.

Prolegemidler av forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen omdannes *in vivo* til forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen. Et prolegemiddel er en aktiv eller inaktiv forbindelse som modifiseres kjemisk gjennom *in vivo*-fysiologisk handling, slik som hydrolyse, metabolisme og lignende, til en forbindelse ifølge denne oppfinnelsen etter administrasjon av prolegemiddelet til et individ. Egnetheten og teknikker involvert i fremstilling og anvendelse av prolegemidler er velkjente for fagmannen. Prolegemidler kan begrepsmessig deles i to ikke-ekskluderende kategorier, bioforløper-prolegemidler og bærer-prolegemidler. Se The Practice of Medicinal Chemistry, Ch. 31–32 (Ed. Wermuth, Academic Press, San Diego, Calif., 2001). Generelt er bioforløper-prolegemidler forbindelser som er inaktive eller har lav aktivitet sammenlignet med den tilsvarende aktive legemiddelforbindelsen, som inneholder en eller flere beskyttelsesgrupper og omdannes til en aktiv form ved metabolisme eller solvolyse. Både den aktive legemiddelformen og eventuelle frisatte metabolske produkter skal ha akseptabelt lav toksisitet.

Bærer-prolegemidler er legemiddelforbindelser som inneholder en transportenhet, *f.eks.*, som forbedrer opptak og/eller lokalisert levering til et virkested. Det er ønskelig for et slikt bærer-prolegemiddel at bindingen mellom legemiddelenheten og transportenheten er en kovalent binding, prolegemiddelet er inaktivt eller mindre aktivt enn legemiddelforbindelsen og en hvilken som helst frisatt transportenhet er akseptabelt ikke-toksisk. For prolegemidler hvor transportenheten er ment å forbedre opptak, skal frisettingen av transportenheten typisk være hurtig. I andre tilfeller er det ønskelig å benytte en gruppe som gir langsom frisetting, for eksempel visse polymerer eller andre enheter, slik som syklodekstriner. Bærer-prolegemidler kan for eksempel anvendes til å forbedre en eller flere av de følgende egenskapene: økt lipofilisitet, økt varighet av farmakologiske effekter, økt stedsspesifisitet, redusert toksisitet og bivirkninger, og/eller forbedring av legemiddelformulering (f.eks. stabilitet, vannløselighet, undertrykkelse av en uønsket organoleptisk eller fysiokjemisk egenskap). For eksempel kan lipofilisitet økes ved esterifisering av (a) hydroksylgrupper med lipofile karboksylsyrer (f.eks. en karboksylsyre som har minst én lipofil enhet) eller (b) karboksylsyregrupper med lipofile alkoholer (f.eks. en alkohol som har minst én lipofil enhet, for eksempel alifatiske alkoholer).

Eksempler på prolegemidler er *f.eks.* estere av frie karboksylsyrer og S-acylderivater av tioler og O-acylderivater av alkoholer eller fenoler, hvori acyl har en betydning som definert heri. Passende prolegemidler er ofte farmasøytisk akseptable esterderivater som kan omdannes ved solvolyse under fysiologiske betingelser til moderkarboksylsyren, *f.eks.* lavere alkylestere, cykloalkylestere, lavere alkenylestere, benzylestere, mono- eller disubstituerte lavere alkylestere, slik som ω -(amino, mono- eller di-lavere alkylamino, karboksy, lavere alkoksykarbonyl)-lavere alkylestere, α -(lavere alkanoyloksy, lavere alkoksykarbonyl eller di-lavere alkylaminokarbonyl)-lavere alkylestere, slik som pivaloyloksymetylesteren og lignende som vanligvis anvendes i teknikken. I tillegg er aminer blitt maskert som arylkarbonyloksymetylsubstituerte derivater, hvilke er spaltede esteraser *in vivo* som frisetter det frie legemiddelet og formaldehyd (Bundgaard, J. Med. Chem. 2503 (1989)). Dessuten har legemidler som inneholder en sur NH-gruppe, slik som imidazol, imid, indol og lignende blitt maskert med N-acyloksymetylgrupper (Bundgaard, Design of Prodrugs, Elsevier (1985)). Hydroksygrupper er blitt maskert som estere og etere. EP 039,051 (Sloan og Little) beskriver Mannich-base hydroksamiske sure prolegemidler, deres fremstilling og anvendelse .

Enn videre kan forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, inklusiv deres salter, også oppnås i form av deres hydrater eller inkludere andre løsemidler anvendt for deres krystallisering. Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan i seg selv eller ved design danne solvater med farmasøytisk akseptable løsemidler (inklusiv vann); derfor er det beregnet at oppfinnelsen omfatter både solverte og usolverte former. Betegnelsen "solvat" viser til et molekylært kompleks av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen (inklusiv farmasøytisk akseptable salter derav) med et eller flere løsemiddelmolekyler. Slik løsemiddelmolekyler er slike som vanlig anvendes i farmasøytisk teknikk, hvilke er kjent for å være ufarlige for mottakeren, *f.eks.* vann, etanol og lignende. Med "hydrat" menes komplekset hvor løsemiddelmolekylet er vann.

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, inklusiv salter, hydrats og solvater derav, kan i seg selv eller ved design danne polymorfer.

Den foreliggende oppfinnelsen inkluderer alle farmasøytisk akseptable isotopmerkede forbindelser med formelen I, hvori ett eller flere enn ett atom er

erstattet av ett eller flere enn ett atom som har det samme atomnummeret som, men en atommasse som er ulik, atomene som vanligvis finnes i naturen. Eksempler på slike isotoper er isotoper av karbon, slik som ^{11}C , ^{13}C eller ^{14}C , klor, slik som ^{36}Cl , fluor, slik som ^{18}F , brom, slik som ^{76}Br , hydrogen, slik som ^2H eller ^3H , jod, slik som ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I eller ^{131}I , nitrogen, slik som ^{13}N eller ^{15}N , oksygen, slik som ^{15}O , ^{17}O eller ^{18}O , fosfor, slik som ^{32}P eller svovel, slik som ^{35}S . En isotopmerket forbindelse med formelen I kan fremstilles ved en prosess som er analog med de som er beskrevet i eksemplene eller ved en klassisk teknikk som er kjent for fagpersonene ved anvendelse av en passende isotopmerket reagens eller et passende isotopmerket utgangsmateriale. Innlemmelsen av en tyngre isotop, slik som ^2H (D), kan tilveiebringe større metabolsk stabilitet til en forbindelse med formelen I, hvilket kan resultere i for eksempel en økt *in vivo*-halveringstid for forbindelsen eller i reduserte doseringskrav. Visse isotopmerkede forbindelser med formelen I, for eksempel de som har innlemmet en radioaktiv isotop, slik som ^3H eller ^{14}C , kan være anvendt i legemiddel. eller substratvevsfordelingsstudier. Forbindelser med formelen I med en positronemitterende isotop, slik som ^{11}C , ^{18}F , ^{13}N eller ^{15}O , kan være nyttig i positronemitteringstomograf (PET)- eller enfotonstomografi (SPECT)-studier, f.eks. for å undersøke substratreseptorutnyttelse.

Farmasøytisk akseptable solvater ifølge oppfinnelsen inkluderer dem hvor krystalliseringsløsemiddelet kan være isotopt substituert, f.eks. D₂O, d₆-aceton, d₆-DMSO.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen, dvs. forbindelser med formel (I) som inneholder grupper som er i stand til å fungere som donorer og/eller akseptorer for hydrogenbindinger, kan være i stand til dannelse av kokrystaller med passende kokrystalldannere. Disse kokrystallene kan fremstilles fra forbindelser med formel (I) ved kjente fremgangsmåter for kokrystalldannelse. Slik fremgangsmåter inkluderer sliping, oppvarming, samtidig sublimering, samtidig smelting eller kontakt i løsning av forbindelser med formel (I) med kokrystalldanneren under krystalliseringsbetingelser og isolering av kokrystaller som derved dannes. Passende kokrystalldannere inkluderer de som er beskrevet i WO 2004/078163. Følgelig tilveiebringer oppfinnelsen ytterligere kokrystaller omfattende en forbindelse med formel (I).

I en annen utførelsesform vedrører oppfinnelsen en forbindelse ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvilket er valgt fra:

5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluor-metyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid;

5 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid; og

5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid.

10

I en annen utførelsesform vedrører oppfinnelsen en forbindelse ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, hvilket er valgt fra:

5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid;

15 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid; og

5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid.

20

I én utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. I en annen utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. I enda en annen utførelsesform vedrører oppfinnelsen 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((S)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

30

I et mer fokusert aspekt vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluorfenyl]-amid eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav. I en annen utførelsesform vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av

35 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-

2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid hvilket har et røntgenpulverdiffraksjonsmønster med minst én, to eller tre topper som har refraksjonsvinkel 2 theta (θ)-verdier valgt fra 8,3, 10,8, 16,6, 18,9, 21,5, 22,2, 23,3, 25,4 og 28,5 målt ved anvendelse av CuK_α -stråling, nærmere bestemt hvori nevnte verdier kan være pluss eller minus $0,2^\circ$ 2θ . I en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid, hvilket har et røntgenpulverdiffraksjonsmønster som i alt vesentlig er det samme som røntgenpulverdiffraksjonsmønsteret vist i figur 1 målt ved anvendelse av CuK_α -stråling. For nærmere detaljer, se eksempel 152.

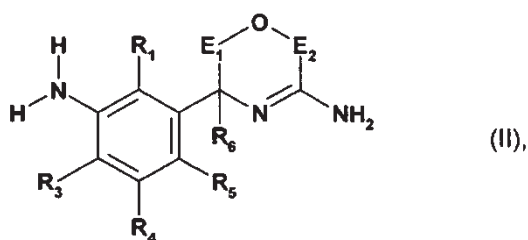
I et mer fokusert aspekt vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid. I en annen utførelsesform vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid hvilket har et røntgenpulverdiffraksjonsmønster med minst en, to eller tre topper som har refraksjonsvinkel 2 theta (θ)-verdier valgt fra 8,3, 9,0, 10,9, 12,9, 13,9, 15,4, 16,2, 17,1, 18,2 og $24,5^\circ$ målt ved anvendelse av CuK_α -stråling, hvori nevnte verdier er pluss eller minus $0,2^\circ$ 2θ . I en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid hvilket har et røntgenpulverdiffraksjonsmønster som i alt vesentlig er det samme som røntgenpulverdiffraksjonsmønsteret vist i figur 2 målt ved anvendelse av CuK_α -stråling. For nærmere detaljer, se eksempel 72b. I enda en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluorfenyl]-amid i forbindelse med minst ett farmasøytisk akseptabel bærerstoff eller fortynningsmiddel.

I et mer fokusert aspekt vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid. I én utførelsesform vedrører oppfinnelsen en krystallinsk form av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid i

forbindelse med minst ett farmasøytisk akseptabel bærestoff eller fortynningsmiddel.

5 En prosess for fremstillingen av en forbindelse med formelen I, i fri form eller i saltform, omfatter

a) reaksjonen av en forbindelse med formelen



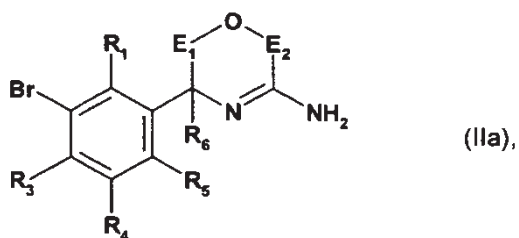
i hvilken R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , E_1 og E_2 er som definert for formelen I, i fri form eller i saltform, med en forbindelse med formelen



10

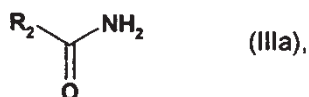
i hvilken R_2 er som definert for formelen I og L er en fraspaltende gruppe, i fri form eller i saltform,

b) reaksjonen av en forbindelse med formelen



15

i hvilken R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , E_1 og E_2 er som definert for formelen I, i fri form eller i saltform, med en forbindelse med formelen



i hvilken R_2 er som definert for formelen I, i fri form eller i saltform,

20

c) den eventuelle reduksjonen, oksidasjonen eller annen funksjonalisering av den resulterende forbindelsen,

d) spaltingen av hvilke(n) som helst beskyttelsesgruppe(r) som eventuelt er til stede og

e) gjenvinningen av den dermed oppnåelige forbindelsen med formelen I i fri form eller i saltform.

5 Reaksjonene kan bevirkes ifølge konvensjonelle fremgangsmåter, for eksempel som beskrevet i eksemplene.

Bearbeidingen av reaksjonsblandingene og rensingen av forbindelsene som derved oppnås kan utføres i samsvar med kjente fremgangsmåter.

10

Salter kan fremstilles fra frie forbindelser på kjent måte og vice versa.

Forbindelser med formelen I kan også fremstilles ved ytterligere klassiske prosesser, f.eks. som beskrevet i eksemplene.

15

Utgangsmaterialene av formlene II og III er kjent, kan fremstilles ifølge klassiske fremgangsmåter startende fra kjente forbindelser, kan fremstilles fra kjente forbindelser som beskrevet i eksemplene eller kan fremstilles ved anvendelse av fremgangsmåter som er analoge med de som er beskrevet i eksemplene.

20

Forbindelser med formelen I, i fri form eller i farmasøytisk akseptabelt saltform, heretter ofte betegnet som "midler ifølge oppfinnelsen", oppviser verdifulle farmakologiske egenskaper ved testing *in vitro* eller *in vivo*, og er derfor nyttige i medikamenter.

25

Midler ifølge oppfinnelsen er for eksempel inhibitorer av asparginproteaser og kan anvendes for behandlingen eller forhindringen av en tilstand, sykdom eller lidelse som involverer behandling av slike enzymer. Særlig inhiberer midler ifølge oppfinnelsen betasekretase og følgelig genereringen av betaamyloid og den påfølgende aggregeringen til oligomerer og fibriller.

30

De inhiberende egenskapene ved et middel ifølge oppfinnelsen mot proteaser kan evalueres i tester som beskrevet nedenfor.

35

Test 1: Inhibering av humant BACE-1

Rekombinant BACE-1 (ekstracellulært domene, uttrykt i baculovirus og rensset ved anvendelse av standardfremgangsmåter) ved 0,1 til 10 nM-konsentrasjoner inkuberes med testforbindelsen ved ulike konsentrasjoner i 1 time ved romtemperatur i 10 til 100 mM acetatbuffer, pH 4,5, inneholdende 0,1 % CHAPS. Syntetisk fluorescens-stanset (eng.: quenched) peptidsubstrat, avledet fra sekvensen av APP og inneholdende et passende fluorofor-stanserpar, tilsettes i en sluttkonsentrasjon på 1 til 5 μ M, og økningen i fluorescens registreres ved en passende eksiterings-/emitteringsbølgelengde i et mikroplate-spektrofluorimeter i 5 til 30 minutter i 1-minuttsintervaller. IC₅₀-verdier beregnes fra prosentandel av inhibering av BACE-1-aktivitet som en funksjon av testforbindelsens konsentrasjon.

Test 2: Inhibering av humant BACE-2

Rekombinant BACE-2 (ekstracellulært domene, uttrykt i baculovirus og rensset ved anvendelse av standardfremgangsmåter) ved 0,1 til 10 nM-konsentrasjoner inkuberes med testforbindelsen ved ulike konsentrasjoner i 1 time ved romtemperatur i 10 til 100 mM acetatbuffer, pH 4,5, inneholdende 0,1 % CHAPS. Syntetisk peptidsubstrat, avledet fra sekvensen av APP og inneholdende et passende fluorofor-stanserpar, tilsettes i en sluttkonsentrasjon på 1 til 5 μ M, og økningen i fluorescens registreres ved en passende eksiterings-/emitteringsbølgelengde i et mikroplate-spektrofluorimeter i 5 til 30 minutter i 1-minuttsintervaller. IC₅₀-verdier beregnes fra prosentandel av inhibering av BACE-2-aktivitet som en funksjon av testforbindelsens konsentrasjon.

Test 3: Inhibering av humant katepsin D

Rekombinant katepsin D (uttrykt som prokatepsin D i baculovirus, rensset ved anvendelse av standardfremgangsmåter og aktivert ved inkubering i natriumformatbuffer pH 3,7) inkuberes med testforbindelsen ved ulike konsentrasjoner i 1 time ved romtemperatur i natriumformat eller natriumacetatbuffer ved en passende pH innenfor området på pH 3,0 til 5,0. Syntetisk peptidsubstrat Mca-Gly-Lys-Pro-Ile-Leu-Phe-Phe-Arg-Leu-Lys(DNP)-D-Arg-NH₂ tilsettes i en sluttkonsentrasjon på 1 til 5 μ M, og økningen i fluorescens registreres ved eksitering ved 325 nm og emitting ved 400 nm et mikroplate-

spektrofluorimeter i 5 til 30 minutter i 1-minuttsintervaller. IC_{50} -verdier beregnes fra prosentandelen av inhibering av katepsin D-aktivitet som en funksjon av testforbindelsens konsentrasjon.

5 **Test 4: Inhibering av cellulær frisetting av amyloidpeptid 1-40**

10 Eggceller av kinesisk hamster transfekteres med genet for amyloidforløperprotein. Cellene belegges i en tetthet på 8000 celler/brønn i 96-brønners mikrotiterplater og dyrkes i 24 timer i DMEM-cellekulturmedium inneholdende 10 % FCS. Testforbindelsen tilsettes cellene ved ulike konsentrasjoner og cellene dyrkes i 24 timer i nærværet av testforbindelsen. Supernatantene samles og konsentrasjonen av amyloidpeptid 1-40 bestemmes ved anvendelse av immunassayteknikker i tråd med teknikkens stand, for eksempel sandwich-ELISA, homogen tidsavhengig fluorescens (HTRF)-
15 immunoassay eller elektrokemiluminescens-immunoassay. Forbindelsens potens beregnes ut fra prosentandelen av inhibering av amyloidpeptidfrisetting som en funksjon av testforbindelsens konsentrasjon.

20 Midler ifølge oppfinnelsen ble testet i minst én av testene beskrevet over. Spesifikke aktiviteter til midler ifølge oppfinnelsen er beskrevet i eksempel 186.

25 Med "farmasøytisk akseptabelt bærestoff" menes som anvendt heri alle løsemidler, dispergeringsmidler, overtrekk, surfaktanter, antioksidanter, konserveringsmidler (f.eks. antibakterielle stoffer, antifungale stoffer), isotoniske stoffer, absorpsjonsforsinkelsesstoffer, salter, konserveringsmidler, legemidler, legemiddelstabilisatorer, bindestoffer, hjelpestoffer, sprengmidler, smøremidler, søtningsmidler, smakstilsetningsstoffer, fargestoffer og lignende samt kombinasjoner derav, som ville være kjent for fagperson (se for eksempel Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, s.
30 1289-1329). Unntatt så lenge ethvert klassisk bærestoff er uforenlig med den aktive ingrediensen, er dets anvendelse i de terapeutiske eller farmasøytiske sammensetningene tiltenkt.

35 Begrepet "en terapeutisk effektiv mengde" av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen viser til en mengde av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelsen som vil fremkalle den biologiske eller medisinske

responsen hos et individ, for eksempel reduksjon eller inhibering av en enzym- eller en proteinaktivitet, eller forbedring av symptomer, lindring av tilstander, langsam eller forsinket sykdomsprogresjon, eller forhindring av en sykdom osv. I en ikke-begrensede utførelsesform viser begrepet "en terapeutisk effektiv mengde" til den mengden av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelsen som når den administreres til et individ er effektiv for å (1) i det minste delvis bedre, inhibere, forebygge og/ eller lindre en tilstand eller en lidelse eller en sykdom (i) mediert av BACE-1 eller (ii) assosiert med BACE-1-aktivitet, eller (iii), karakterisert ved aktivitet (normal eller unormal) av BACE-1, eller (2) reduksjon eller inhibering av aktiviteten av BACE-1. I en annen ikke-begrensede utførelsesform betyr betegnelsen "en terapeutisk effektiv mengde" mengden av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelsen som når den administreres til en celle eller et vev eller et ikke-cellulært biologisk materiale eller et medium, er effektiv til i det minste delvis å redusere eller inhibere aktiviteten av BACE-1. Betydningen av betegnelsen "en terapeutisk effektiv mengde" som illustrert i de ovenstående utførelsesformene for BACE-1, gjelder på samme måte som hvilke som helst andre relevante proteiner/peptider/enzymer, slik som BACE-2 eller katepsin D.

Som anvendt heri viser betegnelsen "individ" til et dyr. Vanligvis er dyret et pattedyr. Et individ viser også til for eksempel primater (*f.eks.* mennesker, mannlig eller kvinnelig), kyr, sauer, geiter, hester, hunder, katter, kaniner, rotter, mus, fisk, fugler og lignende. I visse utførelsesformer er individet en primat. I enda andre utførelsesformer er individet et menneske.

Med "inhibere", "inhibering" eller "inhiberende" menes som anvendt heri reduksjon eller suppresjon av en bestemt tilstand, et bestemt symptom eller en bestemt forstyrrelse eller en bestemt sykdom, eller en vesentlig reduksjon i utgangsaktiviteten av en biologisk aktivitet eller prosess.

Med "behandle" eller "behandling" av en sykdom eller forstyrrelse menes som anvendt heri i en utførelsesform for å lindre sykdommen eller forstyrrelsen (dvs. nedsette eller stoppe eller redusere utviklingen av sykdommen eller minst ett av de kliniske symptomene derav). I en annen utførelsesform menes med "behandle" eller "behandling" forbedring eller lindring av minst én fysisk parameter, inklusiv de som pasienten kanskje ikke merker. I enda en annen utførelsesform menes med "behandle" eller "behandling" modulering av

sykdommen eller forstyrrelsen, enten fysisk (*f.eks.* stabilisering av et merkbart symptom), fysiologisk (*f.eks.* stabilisering av en fysisk parameter) eller begge. I enda en annen utførelsesform menes med "behandle" eller "behandling" forebygging eller forsinkelse av forekomst eller utvikling eller progresjon av sykdommen eller forstyrrelsen.

5

Som anvendt heri har et individ "behov for" en behandling hvis dette individet biologisk, medisinsk eller med henblikk på livskvalitet ville hatt fordel av en slik behandling.

10

Som anvendt heri er betegnelsen et "middel" ifølge oppfinnelsen anvendt om hverandre med betegnelsen en "forbindelse" ifølge oppfinnelsen og har ingen forskjell i betydning derfra.

15

Slik det anvendes her, betyr uttrykket "en", "et", "den" og lignende uttrykk som brukes i sammenheng med den foreliggende oppfinnelsen (spesielt i sammenheng med kravene) utlegges til å dekke både entall og flertall med mindre annet er oppgitt her eller klart motsies av sammenhengen. Anvendelsen av et hvilket som helst eksempel eller eksempeluttrykk (*f.eks.* "slik som") brukt heri er kun beregnet for å belyse oppfinnelsen bedre og utgjør ikke noen begrensning av omfanget av oppfinnelsen ifølge kravene.

20

25

På grunn av deres inhiberende egenskaper overfor proteaser kan midlene ifølge oppfinnelsen være nyttige ved behandlingen eller forebyggelsen av en rekke funksjonshemmende psykiatriske, psykotiske, nevrologiske eller vaskulære tilstander, slik som en tilstand, sykdom eller lidelse i det vaskulære systemet eller nervesystemet, i hvilket betaamyloidproduksjon eller -aggregering spiller en rolle, eller, basert på inhibering av BACE-2-(betasted-APP-spaltningensenzym 2) eller katepsin D, som er nære homologer av aspartylproteaser av pepsintypen og beta-sekretase samt korrelasjonen av BACE-2- eller katepsin D-uttrykk med et mer tumorigent eller metastatisk potensial for tumorceller, som anticancermedikamenter, for eksempel i undertrykkelse av metastaseringsprosessen forbundet med tumorceller. Den nevnte tilstanden, sykdommen eller lidelsen i det vaskulære systemet eller i nervesystemet er eksemplifisert ved, og omfatter, uten begrensning, en angstlidelse slik som panikklidelse, for eksempel med eller uten agorafobi, agorafobi uten historie med panikklidelse, fobi for et dyr eller en annet spesifikk fobi, inkludert en sosial fobi,

30

35

sosial angstlidelse, angst, obsessiv-kompulsiv lidelse, stresslidelse, inkludert posttraumatisk eller akutt stresslidelse eller en generalisert eller substansindusert angstforstyrrelse, en nevrose, kramper, epilepsi, særlig partielle anfall, enkle, komplekse eller delvise anfall som utvikler seg til sekundært generaliserte anfall eller generaliserte anfall [fravær (typisk eller atypiske), myoklone, kloniske, toniske, tonisk-kloniske eller atoniske anfall], kramper, migrene, en affektiv lidelse, inkludert en depressiv eller bipolar lidelse, for eksempel enkeltepisode- eller tilbakevendende depressiv lidelse, alvorlig depresjon, en dystymisk lidelse, dystymi, depressiv forstyrrelse NOS, bipolar I eller bipolar II manisk lidelse eller manisk syklotymisk lidelse, en psykotisk forstyrrelse, inklusiv schizofreni og depresjon, nevrodegenerering, f.eks, nevrodegenerering som skyldes cerebral iskemi, akutt, traumatisk eller kronisk degenerativ prosess i nervesystemet, slik som Parkinsons sykdom, Downs syndrom, demens, f.eks. senil demens, demens med Lewy-legemer eller en fronto-temporal demens, kognitiv lidelse, kognitiv svekkelse, f.eks. mild kognitiv svekkelse, svekket hukommelse, en amyloid nevropati, en perifer nevropati, Alzheimers sykdom, Gerstmann-Sträussler-Scheinker-syndrom, Niemann-Picks sykdom, f.eks. Niemann-Picks sykdom type C, hjernebetennelse, en hjerne-, ryggmargs- eller nerveskade, for eksempel traumatisk hjerneskade (TBI), nervetraume eller hjernetraume, vaskulær amyloidose, cerebral blødning med amyloidose, Huntingtons sykdom, amyotrofisk lateral sklerose, multippel sklerose eller fragilt X-syndrom, skrapesyke, cerebral amyloid angiopati, encefalopati, f.eks spongiform encefalopati, hjerneslag, en oppmerksomhetsforstyrrelse, for eksempel ADHD, Tourettes syndrom, en taleforstyrrelse, inkludert stamming, en forstyrrelse av døgnrytmen, f.eks hos personer som lider av virkningene av jetlag eller skiftarbeid, smerte, nocicepsjon, kløe, oppkast, inkludert akutt, forsinket eller forventet oppkast, slik som oppkast indusert av kjemoterapi eller stråling, reisesyke eller postoperativ kvalme eller oppkast; en spiseforstyrrelse, inkludert anorexia nervosa eller bulimia nervosa, premenstruelt syndrom, en muskelspasm eller spastisitet, f.eks. hos paraplegiske pasienter, en hørselsforstyrrelse, for eksempel tinnitus eller aldersrelatert hørselsskade, urininkontinens, glaukom, inklusjonsstoffmyositt eller en substansrelatert lidelse, inkludert rusmisbruk eller avhengighet, inkludert en substans- som for eksempel alkoholabstinenslidelser.

Midler ifølge oppfinnelsen kan også være nyttige ved å forbedre kognisjon, for eksempel hos et individ som lider av en demenstilstand, for eksempel Alzheimers sykdom, som premedisinering før anestesi eller mindre medisinske inngrep, for

eksempel endoskopi, inklusive gastrisk endoskopi, eller som ligander, f.eks. radioligander eller positronemisjonstomografi (PET)-ligander.

5 For de ovennevnte indikasjonene vil den passende dosen variere avhengig av for eksempel forbindelsen som anvendes som aktiv farmasøytisk ingrediens, verten, administrasjonsmåten, tilstandens, sykdommens eller lidelsens natur og alvorlighetsgrad, eller den ønskede virkningen. Generelt kan imidlertid tilfredsstillende resultater oppnås hos dyr ved en daglig dosering fra ca. 0,1 til ca. 100, fortrinnsvis fra ca. 1 til ca. 50 mg per kilo kroppsvekt på dyret. Hos større pattedyr, for eksempel mennesker, er en indikert daglig dosering i 10 området fra ca. 0,5 til ca. 2000, fortrinnsvis fra ca. 10 til ca. 370 eller fra ca. 2 til ca. 200 mg av et middel ifølge oppfinnelsen passende administrert, for eksempel, i delte doser opptil fire ganger daglig eller i vedvarende frisettingsform. For forbindelsen 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-
15 ((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid, er en predikert daglig dosering i området 10 til 370 mg (total dose per dag for en 70 kg person).

20 Et middel ifølge oppfinnelsen kan administreres via en hvilken som helst konvensjonell vei, især enteralt, fortrinnsvis oralt, f.eks. i form av en tablett eller kapsel eller parenteralt, f.eks. i form av en injiserbar løsning eller suspensjon.

25 I et ytterligere aspekt vedrører oppfinnelsen en farmasøytisk sammensetning omfattende et middel ifølge oppfinnelsen som aktiv farmasøytisk ingrediens i forbindelse med minst ett farmasøytisk akseptabelt bærestoff eller fortynningsmiddel og eventuelt i forbindelse med andre hjelpesubstanser, slik som inhibitorer av cytokrom P450-enzymen, midler som hindrer nedbrytningen av aktive farmasøytiske ingredienser ved cytokrom P450, midler som forbedrer eller høyner farmakokinetikken ved aktive farmasøytiske ingredienser, midler 30 som forbedrer eller høyner biotilgjengeligheten ved aktive farmasøytiske ingredienser og så videre, f.eks. grapefruitjuice, ketokonazol eller, fortrinnsvis, ritonavir. En slik sammensetning kan fremstilles på konvensjonell måte, f.eks. ved blanding av dens komponenter. Enhetsdoseringsformer inneholder f.eks. fra ca. 0,1 til ca. 1000, fortrinnsvis fra ca. 1 til ca. 500 mg av et middel ifølge 35 oppfinnelsen.

For prekliniske dyrestudier kan en forbindelse ifølge oppfinnelsen, slik som 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid for eksempel formuleres som en suspensjon i en 0,5 % metylcelluloseløsning med 0,1 % Tween80.

5

I tillegg kan de farmasøytiske sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen tilvirkes i en fast form (inkludert, uten begrensning, kapsler, tabletter, piller, granuler, pulvere eller stikkpiller) eller i en flytende form (inkludert, uten begrensning, løsninger, suspensjoner eller emulsjoner). De farmasøytiske sammensetningene kan underkastes klassiske farmasøytiske operasjoner slik som sterilisering og/eller kan inneholde klassiske inerte fortynningsmidler, smøremidler, eller bufferstoffer samt hjelpestoffer, slik som konserveringsmidler, stabiliseringsmidler, fuktemidler, emulgatorer og buffere osv.

10

15

De farmasøytiske sammensetningene er vanligvis tabletter eller gelatinkapsler omfattende den aktive ingrediensen sammen med

a) fortynningsmidler, *f.eks.* laktose, dekstrose, sukrose, mannitol, sorbitol, cellulose og/eller glycin,

20

b) smøremidler, *f.eks.* silika, talk, stearinsyre, dets magnesium- eller kalsiumsalt og/eller polyetylen glykol, for tabletter også

c) bindestoffer, *f.eks.* magnesiumaluminiumsilikat, stivningspasta, gelatin, tragakant, metylcellulose, natriumkarboksymetylcellulose og/eller polyvinylpyrrolidon, om ønskelig

25

d) sprengmidler, *f.eks.* stivelser, agar, alginsyre eller dets natriumsalt, eller karbondioksidholdige blandinger, og/eller

e) absorpsjonsstoffer, fargestoffer, smakstilsetningsstoffer og søtningsmidler.

30

Tabletter kan enten overtrekkes med film eller enterisk ifølge fremgangsmåter som er kjent i teknikken.

Passende sammensetninger for oral tilførsel omfatter en virkningsfull mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen i form av tabletter, sugetabletter, vandige eller oljeholdige suspensjoner, dispergerbare pulvere eller granulater, emulsjoner, harde eller myke kapsler, eller siruper eller eliksirer. Sammensetninger for oral

35

anvendelse fremstilles ifølge en hvilken som helst fremgangsmåte som er kjent i teknikken for produksjon av farmasøytiske sammensetninger, og slike sammensetninger kan inneholde ett eller flere stoffer valgt fra gruppen bestående av søtningsstoffer, smakstilsetningsstoffer, fargestoffer og konserveringsstoffer for å stille til rådighet farmasøytisk elegante og velsmakende fremstillinger. Tabletter kan inneholde den aktive ingrediensen i blanding med ikke-toksiske farmasøytisk akseptable hjelpestoffer som er egnet til produksjon av tabletter. Disse hjelpestoffene er for eksempel inerte fortynningsmidler, slik som kalsiumkarbonat, natriumkarbonat, laktose, kalsiumfosfat eller natriumfosfat, granulerings- og sprengmidler, f.eks. maisstivelse, eller alginsyre, bindemidler, f.eks. stivelse, gelatin eller akasie, og smøremidler, f.eks. magnesiumstearat, stearinsyre eller talk. Tablettene er ikke overtrukket eller overtrukket ved kjente teknikker for å forsinke desintegrasjon og absorpsjon i mage-tarm-kanalen og derved sikre en varig virkning over lengre tid. Et tidsforsinkelsesmateriale slik som glycerylmonostearat eller glyceryldistearat kan for eksempel benyttes. Formuleringer for oral anvendelse kan presenteres som harde gelatinkapsler hvor den aktive ingrediensen er blandet med et inert fast fortynningsmiddel, f.eks. kalsiumkarbonat, kalsiumfosfat eller kaolin, eller som myke gelatinkapsler hvor den aktive ingrediensen er blandet med vann eller et oljemedium, f.eks. peanøttolje, flytende parafin eller olivenolje.

Visse injiserbare sammensetninger er vandige isotoniske løsninger eller suspensjoner, og stikkpiller fremstilles med fordel av fettholdige emulsjoner eller suspensjoner. Nevnte sammensetninger kan steriliseres og/eller inneholde hjelpestoffer, slik som konserveringsmidler, stabiliseringsmidler, fuktemidler eller emulgatorer, løsningspromotere, salter for regulering av det osmotiske trykket og/eller buffere. De kan i tillegg også inneholde andre terapeutisk verdifulle stoffer. Disse sammensetningene fremstilles i hvert tilfelle ifølge klassiske blandings-, granulerings- eller overtrekksmetoder og inneholder cirka 0,1–75 %, eller inneholder cirka 1–50 %, av den aktive ingrediensen.

Egnede sammensetninger for transdermal tilførsel omfatter en virkningsfull mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen med et passende bærestoff. Passende bærestoffer inkluderer absorberbare farmakologisk akseptable løsemidler for å bistå i passering gjennom vertens hud. Transdermale anordninger er for eksempel i form av en bandasje omfattende en

støttekomponent, et reservoar inneholdende forbindelsen eventuelt med bærestoffer, eventuelt en hastighetskontrollerende barriere for å tilføre forbindelsen til vertens hud ved en kontrollert og forhåndsbestemt hastighet over en lengre periode, og midler til å feste anordningen til huden.

5

Egnede sammensetninger for topisk tilførsel, *f.eks.* til huden eller øynene, omfatter vandige løsninger, suspensjoner, salver, kremer, geler eller spraybare formuleringer, *f.eks.* for tilførsel ved aerosol eller lignende. Slike topiske tilførselssystemer vil særlig være egnet til dermal tilførsel, *f.eks.* for behandling av hudkreft, *f.eks.* for forebyggende anvendelse i solkremer, lotioner, sprayer og lignende. De er således særlig egnet til anvendelse i topiske, herunder kosmetiske, formuleringer som er velkjent i teknikken. Slike kan inneholde løsemidler, stabilisatorer, tonisitetsforsterkningsmidler, buffere og konserveringsmidler.

10

15

Som anvendt heri kan en topisk påføring også gjelde til inhalering eller en intranasal påføring. De kan hensiktsmessig leveres i form av et tørt pulver (enten alene, som en blanding, for eksempel en tørr blanding med laktose, eller i en blandet komponentpartikkel, for eksempel med fosfolipider) fra en tørrpulverinhalator eller en aerosolspraypresentasjon fra en trykksatt beholder, pumpe, spray, forstøver eller nebulisator, med eller uten anvendelse av et egnet drivmiddel.

20

25

Den foreliggende oppfinnelsen stiller videre til rådighet vannfrie farmasøytiske sammensetninger og doseformer omfattende forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen som aktive ingredienser, siden vann kan lette nedbrytingen av visse forbindelser.

30

35

Vannfrie farmasøytiske sammensetninger og doseformer ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved hjelp av vannfrie ingredienser eller ingredienser med lav fuktighet og forhold med lav fuktighet. En vannfri farmasøytisk sammensetning kan fremstilles og oppbevares slik at dens vannfrie karakter opprettholdes. Vannfrie sammensetninger emballeser følgelig ved hjelp av materialer som er kjent for å forebygge eksponering for vann slik at de kan inkluderes i egnede formuleringsanalysesett. Eksempler på egnet emballering omfatter blant annet hermetisk forseglede folier, plasttyper, enhetsdosebeholdere (*f.eks.* glass), gjennomtrykkspakninger og blisterpakninger.

Oppfinnelsen stiller videre til rådighet farmasøytiske sammensetninger og doseformer som omfatter ett eller flere stoffer som reduserer hastigheten hvorved forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelsen som en aktiv ingrediens vil nedbrytes. Slike stoffer, som er betegnet "stabilisatorer" heri, omfatter blant annet antioksidanter slik som askorbinsyre, pH-buffere eller saltbuffere osv.

I samsvar med det foregående vedrører oppfinnelsen i et ytterligere aspekt et middel ifølge oppfinnelsen for anvendelse som et legemiddel, f.eks. for behandlingen eller forebyggingen av en nevrologisk eller vaskulær tilstand, sykdom eller lidelse, i hvilken betaamyloidgenerering eller -aggregering spiller en rolle, eller for undertrykkelse av metastaseringsprosessen forbundet med tumorceller. I en ytterligere utførelsesform vedrører oppfinnelsen et middel ifølge oppfinnelsen til anvendelse i behandlingen av en sykdom eller lidelse som medieres ved BACE-1-, BACE-2- eller katepsin D-aktivitet. I én utførelsesform vedrører oppfinnelsen et middel ifølge oppfinnelsen til anvendelse i behandlingen av Alzheimers sykdom.

Et middel ifølge oppfinnelsen kan administreres som eneste aktive farmasøytiske ingrediens eller som en kombinasjon med minst én annet aktiv farmasøytisk ingrediens som er effektiv f.eks. i behandlingen eller forebyggingen av en nevrologisk eller vaskulær tilstand, sykdom eller lidelse, i hvilken betaamyloidgenerering eller -aggregering spiller en rolle, eller for undertrykkelse av metastaseringsprosessen forbundet med tumorceller.. En slik farmasøytisk kombinasjon kan være i form av en enhetsdoseform, hvilken enhetsdoseform omfatter en forhåndsbestemt mengde hver av de minst to aktive bestanddelene i forbindelse med minst ett farmasøytisk akseptabelt bærestoff eller fortynningsmiddel. Alternativt kan den farmasøytiske kombinasjonen være i form av en pakke omfattende de minst to aktive bestanddelene separat, f.eks. en pakke eller dispenseranordning tilpasset for den samtidige eller separate administrasjonen av de minst to aktive bestanddelene, i hvilken disse aktive bestanddelene er anordnet separat. I et ytterligere aspekt vedrører oppfinnelsen slike farmasøytiske kombinasjoner.

I kombinasjonsterapiene kan middelet ifølge oppfinnelsen og det andre terapeutiske middelet fremstilles og/eller formuleres av de samme eller

forskjellige produsenter. Dessuten kan forbindelsen ifølge oppfinnelsen og det andre terapeutikumet være brakt sammen til en kombinasjonsterapi: (i) før utgivelse av kombinasjonsproduktet til leger (*f.eks.* i tilfellet med et kit omfattende forbindelsen ifølge oppfinnelsen og det andre terapeutiske middelet);

5 (ii) av legen selv (eller under tilsyn av legen) kort tid før administrasjon; (iii) i pasienten selv, *f.eks.* under sekvensiell administrasjon av forbindelsen ifølge oppfinnelsen og det andre terapeutiske middelet.

De følgende eksemplene illustrerer oppfinnelsen.

10

Eksempler

Forkortelser

	ACN	acetonitril
15	AcOH	eddiksyre
	Boc	tert-butoksykarbonyl
	Boc ₂ O	tert-butyl dikarbonat
	t-Bu	tert-butyl
	nBuLi	n-butyllitium
20	t-BuOH	tert-butanol
	DAST	dietylaminosvoveltrifluorid (Et ₂ N) ₂ SF ₃
	DCM	diklormetan
	DIAD	diisopropylazodikarboksylat
	DIPEA	diisopropyletylamin
25	DMAP	4-dimetylaminopyridin
	DMF	dimetylformamid
	DMSO	dimetylsulfoksid
	DPPF	1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen
	ee	enantiomerisk overskudd
30	EDC	1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidhydroklorid
	eq	ekvivalent(er)
	Et ₃ N	trietylamin
	Et ₂ O	dietyleter
	EtOAc	etylacetat
35	EtOH	etanol
	h	time(r)

	Heks	heksan
	HOAt	1-hydroksy-7-aza-benztriazol
	HOBT	hydroksy-benztriazol
	HPLC	høyttelsesvæskerkromatografi
5	IPAc	isopropylacetat
	LCMS	væskerkromatografi med massespektrometri
	LDA	litiumdiisopropylamid
	MeOH	metanol
	min	minutt(er)
10	MS	massespektrometri
	NMR	kjernemagnetisk resonansspektrometri
	NP	normalfase
	PE	petroleter
	PPh3	trifenylfosfin
15	R _{pH}	retensjonsfaktor (TLC)
	RP	reversfase
	Rt	retensjonstid
	rt	romtemperatur
	SMB	simulert bevegelig seng
20	TBME	tert-butyl-metyl-eter
	TFA	trifluoreddiksyre
	THF	tetrahydrofuran
	TLC	tynnsjiktskromatografi
	UPLC	ultrayttelsesvæskerkromatografi
25		

Generell kromatografiinformasjon

HPLC-fremgangsmåte H1 (R_{tH1}):

30

HPLC-kolonnedimensjoner:	3,0 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Zorbax SB-C18, 1,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % TFA; B) ACN + 0,05 vol.- % TFA

HPLC-gradient:	30 - 100 % B i 3,25 min, strømning = 0,7 ml / min
----------------	---

HPLC-fremgangsmåte H2 (Rt_{H2}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	3,0 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Zorbax SB-C18, 1,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % TFA; B) ACN + 0,05 vol.- % TFA
HPLC-gradient:	0-100 % B i 3,25 min, strømning = 0,7 ml / min

5

LCMS-fremgangsmåte H3 (Rt_{H3}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	3,0 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Zorbax SB-C18, 1,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % TFA, B) ACN + 0,05 vol.- % TFA
HPLC-gradient:	10-100 % B i 3,25 min, strømning = 0,7 ml / min

LCMS-fremgangsmåte H4 Rt_{H4}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	3,0 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Zorbax SB-C8, 1,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % TFA, B) ACN + 0,05 vol.- % TFA
HPLC-gradient:	10-95 % B i 2,00 min, 95 % B 2,00 min,
	strømning = 0,7 ml / min

UPLC-fremgangsmåte H5 (Rt_{H5}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	2,1 x 50 mm
HPLC-kolonnetype:	Acquity UPLC HSS T3 C18, 1,7 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,1 vol.- % TFA, B) ACN + 0,1 vol.- % TFA
HPLC-gradient:	5 - 100 % B i 1,5 min, strømning = 1,0 ml / min

LCMS-fremgangsmåte H6 (Rt_{H6}):

5

HPLC-kolonnedimensjoner:	3,0 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Zorbax SB-C18, 1,81 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % TFA; B) ACN + 0,05 vol.- % TFA
HPLC-gradient:	40-100 % B i 3,25 min, strømning = 0,7 ml / min

LCMS-fremgangsmåte H7 (Rt_{H7}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	3,0 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Zorbax SB-C18, 1,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % TFA; B) ACN + 0,05 vol.- % TFA
HPLC-gradient:	50-100 % B i 3,25 min, strømning = 0,7 ml / min

10

LCMS-fremgangsmåte H8 (Rt_{H8}):

HPLC-	4,0 x 20 mm
-------	-------------

kolonnedimensjoner:	
HPLC-kolonnetype:	Kvikksølv MS-synergi, 2 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,1 vol.- % maursyre, B) ACN
HPLC-gradient:	0,5 min 30 % B, 30-95 % B i 1 min, 0,9 min 95 % B, strømnings = 2,0 ml / min
HPLC-kolonnetemperatur:	30 °C

LCMS-fremgangsmåte H9 (Rt_{H9}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	4,0 x 20 mm
HPLC-kolonnetype:	Kvikksølv MS-synergi, 2 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,1 vol.- % maursyre, B) ACN
HPLC-gradient:	0,5 min 70 % B, 70-100 % B i 1 min, 0,6 min 70 % B, strømnings = 2,0 ml / min
HPLC-kolonnetemperatur:	30 °C

5 **UPLC-fremgangsmåte H10 (Rt_{H10}):**

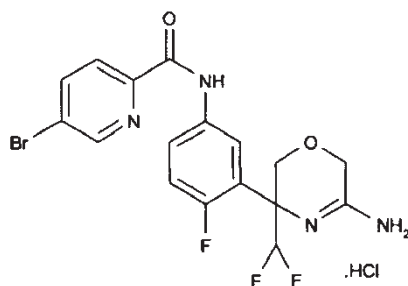
HPLC-kolonnedimensjoner:	2,1 x 50 mm
HPLC-kolonnetype:	Acquity UPLC HSS T3, 1,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % maursyre + 3,75 mM ammoniumacetat B) ACN + 0,04 vol.- % maursyre
HPLC-gradient:	2-98 % B i 1,7 min, 98 % B 0,45 min, strømnings = 1,2 ml / min

LCMS-fremgangsmåte H11 (Rt_{H11}):

HPLC-kolonnedimensjoner:	2,1 x 30 mm
HPLC-kolonnetype:	Ascentis Express C18, 2,8 µm
HPLC-eluent:	A) vann + 0,05 vol.- % maursyre + 3,75 mM ammoniumacetat, B) ACN + 0,04 vol.- % maursyre
HPLC-gradient:	2–98 % B i 1,4 min, 0,75 min 98 % B, strømnings = 1,2 ml / min
HPLC-kolonnetemperatur:	50 °C

Referanseeksempel 42: 5-brom-pyridin-2-karboksylysyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid

5



a) 1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-etanon

10

En løsning av 17,78 ml (126 mmol) diisopropylamin i 375 ml THF ble avkjølt til -78 °C. A 1,6 M løsning av BuLi i heksan (79 ml, 126 mmol) ble tilsatt dråpevis. Etter 15 minutter ble 20 g 4-brom-1-fluorbenzen (114 mmol) dråpevis satt til mens temperaturen ble holdt under -60 °C. Etter omrøring i 2,5 h ved -70 °C 13,22 ml ble etyldifluoracetat tilsatt. Blandingen ble oppvarmet til -40 °C og deretter stanset ved å helle blandingen i 1M HCl. Blandingen ble ekstrahert med ligroin, tørket med MgSO₄·H₂O, konsentrert og rensert ved kolonnekromatografi (silikagel; heksan/5-15 % TBME) for å gi det ønskede produktet som en gul

15

væske. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 8,09 (dd, 1 H), 7,82–7,77 (m, 1H), 7,17 (t, 1 H), 6,45 (t, 1 H, CHF_2)

b) 1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-1-difluormetyl-allyl]-karbamidsyre-tert-butylester

En blanding av 16 g (63,2 mmol) 1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-etanon og 26,3 g (69,6 mmol) N-tert-butyloksykarbonyl-trifenyliminofosforan ble oppvarmet ved 90 °C i toluen i 18 h. Blandingen ble triturert med heksan og filtrert for å fjerne trifenyfosfinoksid. Filtratet ble renset ved kromatografi på silikagel (heksan/1–5 % TBME) for å gi 11,37 g (32,3 mmol) av det ønskede produktet som en lett

uren, gul olje. TLC: R_f (Heksan / EtOAc 6:1) = 0,65. Produktet ble løst i 100 ml THF og avkjølt til -78 °C. Vinylmagnesiumbromid (48 ml i en 1 M løsning i THF) ble tilsatt dråpevis, mens reaksjonstemperaturen ikke ble tillatt å overstige -60 °C. Blandingen ble omrørt ved -70 °C i 1 h før den ble tillatt å varmes til 0 °C. Reaksjonen ble stanset med 10 % vandig ammoniumklorid og ekstrahert med TBME. Det organiske sjiktet ble vasket med saltløsning, behandlet med aktivt kull og $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ og filtrert over kiselgur (eng.: celite). Det filtrerte ble konsentrert og krystallisert fra heksan for å gi det

ønskede produktet som fargeløse krystaller.

HPLC: R_{tH1} = 3,575 min; ESIMS $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 402/404(1\text{Br})$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 7,57 (dd, 1 H), 7,51–7,45 (m, 1H), 7,00 (dd, 1H), 6,49 (t, 1H, CHF_2), 6,21 (dd, 1 H), 5,59 (d, 1 H), 5,40 (dd, 1 H), 5,25 (br, 1H), 1,40 (br s, 9H).

c) [1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-1-hydroksymetyl-etyl]-karbamidsyre-tert-butylester

En suspensjon av 10,99 g (28,9 mmol) 1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-1-difluormetyl-allyl]-karbamidsyre-tert-butylester og 3,84 g (43,4 mmol) natriumhydrogenkarbonat i 200 ml DCM og 80 ml MeOH ble avkjølt til -78 °C. En blanding av O_3 i oksyngengass ble introdusert inntil den blå fargen var vedvarende. Det overskytende ozonet ble fjernet ved bobling gjennom oksyngengass i 10 minutter. NaBH_4 (2,187 g, 57,8 mmol) ble tilsatt som et faststoff i tre porsjoner. Blandingen ble omrørt 10 min ved -78 °C og deretter tillatt å varmes til 0 °C. Etter 30 min ble blandingen helt over iskaldt 1 N HCl og

ekstrahert med TBME. Den organiske fasen ble vasket med 1N HCl, saltløsning, tørket med $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ og inndampet. Det ubearbeidede produktet ble krystallisert fra heksan for å gi det ønskede produktet som fargeløse krystaller.

TLC: R_f (Heksan / EtOAc 4:1) = 0,29.

5 HPLC: R_{tH1} = 3,000 min; ESIMS $[M+Na]^+$ = 406/408(1Br);

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 360 MHz): 7,60–7,49 (m, 2H), 7,42 (br s, 1 H), 7,180 (dd, 1H), 6,49 (t, 1 H, CHF_2), 5,27 (br s, 1 H), 3,90 (br s, 2H), 1,35 (br s, 9H).

d) N-[1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-1-hydroksymetyl-etyl]-2-klor-acetamid

En suspensjon av 10,22 g (26,6 mmol) [1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-1-hydroksymetyl-etyl]-karbamidsyre-tert-butylester i 133 ml 4N HCl i dioksan ble omrørt i to h ved rt. Blandingen ble avdampet for å gi hydrokloridsaltet av 2-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-3,3-difluor-propan-1-ol.

15 HPLC: R_{tH3} = 2,550 min; ESIMS $[M+H]^+$ = 284,286(1Br);

Det ubearbeidede produktet ble tatt opp i 63 ml DCM og 63 ml 10 % vandig soda og omrørt kraftig med iskjøling. En løsning av 3,34 ml (42 mmol) kloracetylklorid i 10 ml DCM ble tilsatt dråpevis. Isbadet ble tatt bort og omrøring ble fortsatt i 1 h. Blandingen ble fortynnet med TBME og vann. Den organiske fasen ble tørket med $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ og rensset via kromatografi på silikagel (heksan/25–33 % EtOAc) for å gi det ønskede produktet som en lett uren harpiks.

20 HPLC: R_{tH3} = 3,336 min; ESIMS $[M+H]^+$ = 360/362/364 (1Br, 1Cl);

25 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 360 MHz): 8,78 (s, 1 H), 7,62–7,53 (m, 2H), 7,19 (dd, 1 H), 6,53 (t, 1H, CHF_2), 5,43 (t, 1 H), 4,27–4,02 (m, 4H).

e) 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-morfolin-3-on

30 En løsning av 9,59 g (26,2 mmol) N-[1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-1-hydroksymetyl-etyl]-2-klor-acetamid i 134 ml t-butanol ble behandlet med 3,58 g KOtBu. Blandingen ble oppvarmet ved reflux i 3h. Etter avkjøling ble blandingen fortynnet med EtOAc og 1 N HCl. Den organiske fasen ble vasket med saltløsning, tørket med $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, filtrert og inndampet. Produktet ble oppnådd som fargeløs krystall (TBME/heksan). TLC: R_f (Heksan / EtOAc 2:1) = 0,29.

HPLC: $R_{tH3} = 2,950$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 324/326(1 \text{ Br})$;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 7,61–7,55 (m, 2H), 7,09 (dd, 1 H), 6,80 (br, 1H), 6,35 (t, 1H, CHF_2), 4,37–4,17 (m, 4H).

5 **f) 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-morfolin-3-tion**

En blanding av 7,34 g (22,65 mmol) 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-morfolin-3-on og 5,19 g (12,46 mmol) Lawessons reagens i 73 ml THF ble refluksert i 1 h. Blandingen ble konsentrert og krystallisert fra DCM/heksan og rekrystallisert fra EtOH for å gi det ønskede produktet som fargeløse krystaller.

HPLC: $R_{tH3} = 3,370$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 340/342(1 \text{ Br})$;

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 360 MHz): 11,40 (s, 1 H), 7,77–7,70 (m, 1H), 7,63 (dd, 1 H), 7,37 (dd, 1H), 6,35 (t, 1H, CHF_2), 4,50 (d, 1 H), 4,44 (d, 1H), 4,29 (d, 1H), 4,10 (d, 1 H).

15 **g) 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin**

En løsning av 6,14 g (18,05 mmol) 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-morfolin-3-tione i 77 ml 7M NH_3/MeOH ble omrørt ved rt i 6h. Blandingen ble inndampet og renset kromatografert på silikagel (DCM/1–5 % MeOH fulgt av DCM/MeOH/vandig NH_3 95:4,5:0,5) for å gi det ønskede produktet som gulaktig harpiks.

HPLC: $R_{tH3} = 2,477$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 323/325(1\text{Br})$;

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 360 MHz): 7,99 (dd, 1H), 7,62–7,56 (m, 1 H), 7,22 (dd, 1H), 6,31 (br, 2H), 6,12 (t, 1H, CHF_2), 4,25 (d, 1 H), 4,05 (d, 1H), 3,94 (d, 1 H), 3,75 (d, 1 H).

30 **h) [5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester**

I en iskald løsning av 6,38 g (19,75 mmol) 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin i 100 ml THF ble det tilsatt 5,60 g (25,67 mmol) Boc₂O og 5,17 ml (29,6 mmol) DIPEA. Blandingen ble omrørt i 4 h ved rt. Deretter blandingen ble fortynnet med TBME og vasket med

5 % vandig NaHCO₃. Den organiske fasen ble tørket med MgSO₄.H₂O, filtrert og konsentrert. Rensing ved kromatografi på silikagel (heksan/ 5–20 % EtOAc) ga det ønskede produktet som et fargeløst faststoff.

TLC: R_f (Heksan / EtOAc 9:1) = 0,27.

5 HPLC: R_{tH1} = 3,299 min; ESIMS [M+H]⁺ = 423/425(1Br);

¹H-NMR (CDCl₃, 360 MHz): 7,81 (dd, 1 H), 7,50–7,44 (m, 1 H), 7,00 (dd, 1 H), 6,12 (t, 1H, CHF₂), 4,83 (d, 1 H), 4,60 (d, 1 H), 4,37 (dd, 1 H), 3,94 (d, 1H), 1,52 (s, 9H).

10 **i) [5-(5-azido-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester**

I en løsning av 7,27g (17,18 mmol) [5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester og 2,443 g (17,18 mmol) trans-N,N'-dimetylsykloheksan-1,2-diamin i 237 ml EtOH ble det tilsatt en løsning av 8,93 g (137 mmol) natriumazid og 1,361 g (6,87 mmol) natriumaskorbat i 102 ml vann. Blandingen ble avgasset og brakt under nitrogenatmosfære. Cul (1,309 g, 6,87 mmol) ble tilsatt og blandingen ble oppvarmet ved 70 °C. Suspensjonen som først ble dannet, gikk over til en homogen, blå løsning. Blandingen ble avkjølt til rt, fortynnet med vann og TBME. Den organiske fasen ble vasket med saltløsning og tørket med MgSO₄.H₂O. Det ubearbeidede produktet ble rensset ved kromatografi på silikagel (heksan / 5–8 % TBME) for å gi det ønskede produktet som et fargeløst faststoff.

HPLC: R_{tH1} = 3,173 min; ESIMS [M+H]⁺ = 386;

25 ¹H-NMR (CDCl₃, 360 MHz, signals broadened på grunn av rotamers): 7,39–7,44 (m, 1 H), 7,15–7,06 (m, 1 H), 7,05–6,98 (m, 1 H), 6,14 (t, 1H, CHF₂), 4,80 (d, 1 H), 4,60 (d, 1 H), 4,39 (d, 1 H), 3,97 (d, 1H), 1,52 (s, 9H).

30 **j) [5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester**

35 En løsning av 4,89 g (12,69 mmol) [5-(5-azido-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester i 64 ml EtOH og 17 ml THF ble behandlet med 1,1 g 10 % Pd-C og omrørt under en atmosfære av hydrogen inntil utgangsmaterialet var blitt forbrukt. Blandingen ble fortynnet med DCM og filtrert over kiselgur. Produktet ble rensset ved kromatografi på

silikagel (heksan / 25–50 % EtOAc) for å gi det ønskede produktet som fargeløst skum.

HPLC: $R_{tH3} = 2,778$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 360$;

1H -NMR ($CDCl_3$, 360 MHz, spektrum ufortolkbart på grunn av rotamerer): 7,1–6,1 (m, -4H), 5,0–4,9 (m, -4H), 1,52 (br s, 9H).

k) (5-{5-[(5-brom-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

I en løsning av 325 mg (0,952 mmol) [5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester, 212 mg (1,047 mmol) 5-brom-pyridin-2-karboksytsyre, 168 mg (1,238 mmol) HOAt og 0,34 ml (2,38 mmol) Et_3N i 5 ml DCM ble det tilsatt 237 mg (1,24 mmol) EDC.HCl.

Blandingen ble omrørt natten over. Blandingen ble fortynnet med EtOAc og vasket med vann, 1 N HCl, saltløsning og 5 % vandig $NaHCO_3$. Den organiske fasen ble tørket med $MgSO_4 \cdot H_2O$, filtrert og rensset ved kromatografi på silikagel (heksan / 14–18 % EtOAc) for å gi det ønskede produktet som fargeløst skum.

TLC: R_f (Heksan / EtOAc 3:1) = 0,35.

HPLC: $R_{tH1} = 3,127$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 525/527(1 Br)$;

1H -NMR ($CDCl_3$, 360 MHz): 9,90 (br s, 1 H), 8,72 (d, 1 H), 8,23 (d, 1H), 8,09 (dd, 1H), 7,94–7,86 (m, 2H), 7,47 (t, 1H), 7,38–7,28 (m, 3H), 5,92 (t, 1H, CHF₂), 4,87 (d, 1 H), 4,67 (d, 1 H), 4,6–4,45 (br, 1 H), 4,34 (d, 1 H), 4,00 (d, 1 H), 1,56 (br s, 9H).

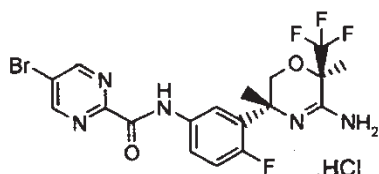
I) 5-brom-pyridin-2-karboksytsyre [3-(5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid

En løsning av 100 mg (0,184 mmol) (5-{5-[(5-brom-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester i 1,4 ml 4N HCl i dioksan ble omrørt ved 50 °C. Etter 15 min 0,3 ml 3N HCl i MeOH ble det tilsatt og den nå homogene løsningen ble omrørt i 3 h. Blandingen ble konsentrert og krystallisert fra EtOH/TBME for å gi tittelforbindelsen.

HPLC: $R_{tH3} = 2,857$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 443/445$;

^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 10,93 (s, 1 H), 9,78 (s, 1H), 8,89 (s, 1 H), 8,77 (s, 1 H), 8,35 (d, 1H), 8,11–8,06 (m, 3H), 7,39 (t, 1H), 6,79 (t, 1H, CHF_2), 4,70 (d, 1 H), 4,64 (d, 1H), 4,34 (d, 1 H), 4,17 (d, 1H).

5 **Referanseeksempel 71: 5-brom-pyrimidin-2-karboksylsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid**



10 **a) 2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol**

I en løsning av diisopropylamin (57,3 ml, 402 mmol) i THF (500 ml) ble det under argon tilsatt en 1,6 M løsning av $n\text{BuLi}$ i heksan (260 ml, 416 mmol) under
 15 -50 °C. Etter omrøring i 30 min ved -75 °C ble 4-brom-1-fluorbenzen (31,1 ml, 277 mmol) tilsatt mens temperaturen holdes under -70 °C. Etter omrøring i 2 h ved -75 °C ble aceton (41,2 ml, 554 mmol) tilsatt under -65 °C og reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 h ved -75 °C, oppvarmet opp til -50 °C og helt i 10 % vandig NH_4Cl -løsning. Blandingen ble ekstrahert med TBME,
 20 organiske faser ble vasket med vandig KHSO_4 -løsning, mettet NaHCO_3 -løsning og saltløsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble krystallisert fra heksan for å tilveiebringe tittelforbindelsen som hvite krystaller: TLC (heksan-EtOAc 3:1): $R_f = 0,45$; HPLC $R_{tH5} = 1,045$ min; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,74 (dd, 1H), 7,36 (m, 1 H), 6,93 (dd, 1 H), 2,04 (d, 1 H), 1,63 (s, 6H).
 25

b) 4-brom-1-fluor-2-isopropenyl-benzen

I en løsning av 2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol (119,7g, 498 mmol) i
 30 CH_2Cl_2 (50 ml) ble det tilsatt hydrokinon (2,74 g, 24,9 mmol) og 250 ml 85 % H_3PO_4 . Den resulterende reaksjonsblandingen ble omrørt i 3,5 h ved 50 °C.

Blandingen ble helt over isvann og ekstrahert med CH_2Cl_2 . De organiske fasene ble vasket med 2N vandig NaOH og vann, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble løst i heksan og filtrert gjennom en plog av silikagel for å oppnå etter konsentrasjon ved 600 mbar tittelforbindelsen som en fargeløs olje: TLC (heksan): $R_f = 0,52$; HPLC $R_{t_{H5}} = 1,416$ min; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,43 (dd, 1 H), 7,37 (m, 1 H), 6,94 (dd, 1 H), 5,27 (d, 2H), 2,13 (s, 3H).

c) (S)-2-(S-brom-2-fluor-fenyl)-propan-1,2-diol

I en suspensjon av $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (186 g, 561 mmol), K_2CO_3 (78 g, 561 mmol), $(\text{DHQ})_2\text{-PHAL}$ (1,311 g, 1,674 mmol) og $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$ (0,378 g, 1 mmol) i $t\text{-BuOH-H}_2\text{O}$ 1:1 (1600 ml) ble det tilsatt 4-brom-1-fluor-2-isopropenyl-benzen (36 g, 167 mmol) ved 0 °C og reaksjonsblandingen ble omrørt i 14 h ved 0 °C. Etter forsiktig tilsetning av $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (100 g) ved 0-5 °C reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 h før ekstrahering med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med 5 % NaS_3O_3 -løsning og saltløsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert for å gi tittelforbindelsen som et hvitt faststoff: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,46$; HPLC $R_{t_{H5}} = 0,767$ min; ESIMS: 266, 268 $[(\text{M}+\text{NH}_4)^+]$; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,71 (dd, 1 H), 7,27 (m, 1 H), 6,83 (dd, 1 H), 3,85 (d, 1 H), 3,62 (d, 1 H), 2,94 (s, 3H), 2,01 (s, 1 H), 1,43 (s, 3H).

d) (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-oksiran

I en løsning av (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-1,2-diol (37,35 g, 150 mmol) i CH_2Cl_2 (400 ml) ble det under argon tilsatt NEt_3 (41,8 ml, 300 mmol) og dråpevis mesylklorid (12,8 ml, 165 mmol) ved 0–5 °C. Etter omrøring i 0,5 h ved 0–5 °C ble reaksjonsblandingen tilsatt kald 1 N HCl og ekstrahert med CH_2Cl_2 . Kombinerte ekstrakter ble vasket med 1 N HCl, H_2O og mettet NaHCO_3 -løsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert. Råmaterialet mesylat ble løst i TBME (500 ml) og 200 ml 2N vandig NaOH og etter omrøring i 2 h ved 25 °C ble blandingen ekstrahert med TBME. Kombinerte ekstrakter ble vasket med NaH_2PO_4 -løsning og saltløsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert for å tilveiebringe (S)-enantiomeren som en fargeløs olje: 78 % ee (ChiralPak SOM-H 1218, heksan-EtOH 97:3, 0,4 ml/min); TLC (heksan-EtOAc 3:1): $R_f = 0,69$; HPLC

$R_{tH5} = 1,186$ min; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,46 (dd, 1 H), 7,30 (m, 1 H), 6,83 (dd, 1H), 2,88 (d, 1 H), 2,72 (d, 1 H), 1,59 (s, 3H).

e) (S)-1-azido-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol

5

I en løsning av (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-oksiran (51,85 g, 224 mmol) i EtOH (800 ml) ble det tilsatt NaN_3 (36,8 g, 531 mmol), NH_4Cl (60,6 g, 1122 mmol) og 18-crown-6 (59,8 g, 224 mmol) og reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved reflux i 6 h. Reaksjonsblandingen ble filtrert og konsentrert til halvparten av sitt volum. Den resterende oljen ble ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med mettet NaHCO_3 -løsning og saltløsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som en lys gul olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,70$; HPLC $R_{tH3} = 1,115$ min; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,72 (dd, 1 H), 7,32 (m, 1 H), 6,85 (dd, 1 H), 3,73 (d, 1 H), 3,51 (d, 1 H), 2,44 (s, 1 H), 1,50 (s, 3H).

10

15

f) (S)-1-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol

I en suspensjon av LiAlH_4 (4,65 g, 122 mmol) i THF (250 ml) ble det under argon ved 0–5 °C tilsatt en løsning av (S)-1-azido-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol (33,4 g, 122 mmol) løst i THF (150 ml) over en periode på 30 min. Etter omrøring i 1 h ved 0–5 °C, reaksjonen ble stanset ved forsiktig tilsetning av vann (4,7 ml), 4 N NaOH (4,7 ml) og vann (14,1 ml) og omrørt på nytt i 3 h ved 25 °C. Den hvite suspensjonen ble tørket med MgSO_4 , filtrert og konsentrert. Det størkende produktet ble rekrystallisert fra TBME-heksan for å tilveiebringe tittelforbindelsen som beige krystaller: 98 % ee (ChiralPak AD-H heksan-EtOH 75-25 + 0,05 % NEt_3); TLC (CH_2Cl_2 -MeOH 10:1) $R_f = 0,10$; HPLC $R_{tH5} = 0,558$ min; ESIMS: 248, 250 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,76 (dd, 1 H), 7,25 (m, 1 H), 6,82 (dd, 1 H), 4,16 (br s, 1 H), 3,19 (d, 1H), 2,72 (d, 1 H), 1,44 (s, 3H), 0,95 (br s, 2H).

20

25

30

g) N-[(S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-hydroksy-propyl]-2-nitro-benzensulfonamid

I en løsning av (S)-1-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol (34,7 g, 140 mmol) i THF (400 ml) ble det tilsatt 2-nitro-benzensulfonylchlorid (34,9 g, 154 mmol) ved 0–5 °C og etterpå 1 N vandig NaOH over en periode på 0,5 h. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 h ved 20 °C. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med TBME og vasket med vann og NaH₂PO₄-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen etter krystallisering fra TBME-heksan som beige krystaller: TLC (toluen-EtOAc 3:1): R_f = 0,51; HPLC Rt_{H5} = 1,118 min; ESIMS: 450, 452 [(M+NH₄)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,98 (m, 1H), 7,81 (m, 1 H), 7,65 (m, 2H), 7,59 (dd, 1 H), 7,24 (m, 1 H), 6,79 (dd, 1 H), 5,60 (t, 1H), 4,16 (br s, 1 H), 3,55 (dd, 1 H), 3,44 (dd, 1 H), 2,51 (s, 1 H), 1,51 (s, 3H).

h) (R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-1-(2-nitro-benzensulfonyl)-aziridin

I en løsning av N-[(S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-hydroksy-propyl]-2-nitro-benzensulfon-amid (20,8 g, 48 mmol) i CH₂Cl₂ (400 ml) ble det tilsatt PPh₃ (19,2 g, 72,4 mmol) ved 0–5 °C og dietylazodikarboksylat (11,6 ml, 72,4 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 24 h ved 25 °C og konsentrert. Tittelforbindelsen ble oppnådd etter kromatografisk rensing over silikagel (heksan-EtOAc 20:1 til 2:1) som gule krystaller: TLC (toluen-EtOAc 3:1): R_f = 0,69; HPLC Rt_{H5} = 1,308 min; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 8,31 (m, 1H), 7,28 (m, 3H), 7,60 (dd, 1 H), 7,42 (m, 1 H), 6,91 (dd, 1 H), 3,24 (s, 1 H), 2,81 (s, 1 H), 2,06 (s, 3H).

i) (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionsyreetyler

I en suspensjon av NaH (2,53 g 60 % i mineralolje, 63 mmol) i DMF (160 ml) ble det tilsatt dråpevis under argon (R)-3,3,3-trifluor-2-hydroksy-2-metyl-propionsyreetyler (11,99 g, 63 mmol) og etter omrøring i 0,5 h ved 20 °C (R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-1-(2-nitro-benzensulfonyl)-aziridin (21,85 g, 52,6 mmol). Reaksjonen ble holdt ved 25 °C i 16 h. Blandingen ble tilsatt kald vandig 2N HCl og produktet ekstrahert med TBME. Kombinerte organiske sjikt ble vasket med mettet NaHCO₃-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert

og konsentrert. Det resterende faststoffet ble rekrystallisert fra TBME-heksan for å tilveiebringe tittelforbindelsen som gule krystaller: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,59$; HPLC $R_{tH5} = 1,444$ min; ESIMS: 618, 620 $[(M+NH_4)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,83 (dd, 1 H), 7,61 (m, 3H), 7,48 (dd, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,60 (dd, 1H), 4,33 (m, 2H), 3,84 (s, 2H), 1,84 (s, 3H), 1,57 (s, 3H), 1,33 (t, 3H).

j) (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-pheyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionamid

En løsning av (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionsyreetyler (26,6 g, 44,2 mmol) i 7N NH_3 i MeOH (75 ml) ble omrørt i 16 h ved 50 °C. Løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk og det resterende faststoffet rekrystallisert fra Et_2O for å gi tittelforbindelsen som gule krystaller: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,35$; HPLC $R_{tH5} = 1,184$ min; ESIMS: 589, 591 $[(M+NH_4)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,85 (d, 1H), 7,64 (m, 3H), 7,44 (d, 1H), 7,41 (dd, 1H), 7,26 (m, 1 H), 6,68 (br s, 1 H), 6,57 (dd, 1H), 6,19 (s, 1H), 5,54 (br s, 1H), 4,24 (d, 1 H), 3,93 (d, 1 H), 1,79 (s, 3H), 1,67 (s, 3H).

k) N-[(R)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-((R)-1-cyano-2,2,2-trifluor-1-metyl-etoksy)-1-metyl-etyl]-2-nitro-benzensulfonamid

I en løsning av (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-pheyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionamid (20,83 g, 35,6 mmol) i CH_2Cl_2 (300 ml) ble det under argon tilsatt NEt_3 (12,5 ml, 89 mmol) og ved 0–5 °C trifluoreddiksyreanhydrid (6,15 ml, 42,7 mmol). Etter omrøring i 4 h ved 25 °C ble reaksjonsblandingen tilsatt en kald $NaHCO_3$ -løsning og produktet ble ekstrahert med CH_2Cl_2 . Kombinerte ekstrakter ble vasket med kald 0,1 N vandig HCl, vann og mettet $NaHCO_3$ -løsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som en gul olje, som ble anvendt som sådan for det neste trinnet: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,73$; HPLC $R_{tH5} = 1,364$ min; ESIMS: 571, 573 $[(M+NH_4)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,89 (d, 1 H), 7,62 (ddd, 1 H), 7,57 (ddd, 1 H), 7,52 (m, 2H), 7,29 (m, 1H), 6,58 (dd, 1H), 6,19 (s, 1H), 4,17 (s, 2H), 1,81 (s, 3H), 1,72 (s, 3H).

I) (2R,5R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

5 I en løsning av N-[(R)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-((R)-1-cyano-2,2,2-trifluor-1-metyl-etoksy)-1-metyl-etyl]-2-nitro-benzensulfonamid (6,54 g, 11,8 mmol) og N-acetylcysteine (2,4 g, 26,0 mmol) i MeOH (80 ml) ble det tilsatt K_2CO_3 (3,62 g, 26,0 mmol) og reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 80 °C i 16 h. Etter fjerning av løsemiddelet ble resten løst i vann og ekstrahert med EtOAc.

10 Kombinerte ekstrakter ble vasket med mettet $NaHCO_3$ -løsning og saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen etter kromatografisk rensing over silikagel (heksan-EtOAc 10:1 til 1:2 inneholdende 0,03 % NEt_3) som en gul olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,58$; HPLC $R_{tH5} = 0,843$ min; ESIMS: 369, 371 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,66 (dd, 1 H), 7,35 (m, 1H), 6,91 (dd, 1H), 3,97 (m, 2H), 1,53 (s, 3H), 1,49 (s, 3H).

15

m) (2R,5R)-5-(2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

20 En løsning av (2R,5R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (1,66 g, 4,5 mmol) og natriumacetat (0,369 g, 4,5 mmol) i MeOH (50 ml) ble hydrogenert over 10 % Pd-C i 6 h ved 50 °C. Katalysatoren ble filtrert av over Celite og filtratet ble konsentrert. Resten ble

25 løst i mettet $NaHCO_3$ -løsning og ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som en fargeløs olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,19$; HPLC $R_{tH5} = 0,777$ min; ESIMS: 291 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,41 (dt, 1 H), 7,26 (m, 1 H), 7,11 (t, 1 H), 7,05 (dd, 1 H), 4,11 (dd, 1 H), 3,94 (dd, 1 H), 1,54 (s, 3H), 1,49 (s, 3H).

30

n) (2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

I en løsning av (2R,5R)-5-(2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (1,035 g, 3,57 mmol) i H₂SO₄ (6 ml) ble det i porsjoner tilsatt KNO₃ (0,379 g, 3,74 mmol) under isvannavkjøling. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 h ved 25 °C, fortynnet med vann og basifisert med K₂CO₃ under avkjøling. Produktet ble ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med mettet NaHCO₃-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert. Rensing via kromatografi på silikagel (heksan-EtOAc 4:1 til 1:1 inneholdende 0,05 % NEt₃) ga tittelforbindelsen som en lys gul olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,50; HPLC R_{tH5} = 0,749 min; ESIMS: 336 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 8,48 (dd, 1 H), 8,14 (m, 1 H), 7,15 (dd, 1 H), 4,20 (br s, 2H), 4,04 (dd, 1 H), 3,91 (dd, 1 H), 1,54 (s, 3H), 1,49 (s, 3H).

o) [(2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

I en løsning av (2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (1,14 g, 3,4 mmol) i ACN (20 ml) ble det tilsatt Boc₂O (0,891 g, 4,08 mmol) og NEt₃ (0,72 ml, 5,1 mmol) og blandingen ble omrørt i 16 h ved 25 °C. Reaksjonsblandingen ble inndampet og den resterende oljen renses ved kromatografi på silikagel (heksan-EtOAc 20:1 til 7:3) for å gi tittelforbindelsen etter krystallisering fra Et₂O-heksan som beige krystaller: TLC (heksan-EtOAc 3:1): R_f = 0,37; HPLC R_{tH5} = 1,355 min; ESIMS: 436 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 11,04 (br s, 1 H), 8,24 (m, 2H), 7,30 (dd, 1 H), 4,41 (dd, 1 H), 4,11 (dd, 1 H), 1,68 (s, 3H), 1,51 (s, 9H), 1,49 (s, 3H).

p) [(2R,5R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

En løsning av [(2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester (0,98 g, 2,25 mmol) i isopropanol-THF 2:1 (24 ml) ble hydrogenert over 5 % Pd-C i 4 h ved 50 °C. Katalysatoren ble filtrert av over Celite og filtratet ble konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen etter krystallisering fra TBME-heksan som beige krystaller: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,42; HPLC R_{tH5} = 0,955 min; ESIMS:

406 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 6,82 (dd, 1 H), 6,52 (m, 2H), 4,30 (dd, 1H), 3,97 (dd, 1 H), 3,06 (br s, 2H), 1,58 (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

5 **q) ((2R,5R)-5-{5-[(5-brom-pyrimidin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester**

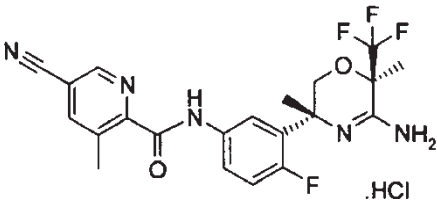
10 I en løsning av [(2R,5R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester (76 mg, 0,187 mmol) i DMF (2 ml) ble det tilsatt 5-brompyridin-2-karboksylysyre (47 mg, 0,225 mmol), EDC.HCl (48 mg, 0,244 mmol), HOAt (29 mg, 0,206 mmol) og DIPEA (0,08 ml, 0,469 mmol) og reaksjonsblandingen ble holdt ved 25 °C i 16 h. Blandingen ble konsentrert, resten løses i EtOAc og vasket med mettet $NaHCO_3$ -
15 løsning og saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og rensset ved kromatografi på silikagel (heksan-EtOAc 20:1 til 1:1) for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et lys gult skum: HPLC $R_{tH5} = 1,297$ min); ESIMS: 590, 592 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 10,98 (br s, 1H), 9,71 (br s, 1H), 8,94 (s, 2H), 7,89 (m, 1 H), 7,49 (dd, 1 H), 7,12 (dd, 1H), 4,38 (d, 1 H), 4,04 (d, 1 H), 1,66 (s, 3H), 1,56 (s, 3H), 1,52 (s, 9H).
20

r) 5-brom-pyrimidin-2-karboksylysyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid

25 En løsning av ((2R,5R)-5-{5-[(5-brom-pyrimidin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (90 mg, 0,153 mmol) i 4N HCl i dioksan (1 ml) ble omrørt ved 40–45 °C i 6 h. Blandingen ble konsentrert og resten krystallisert fra Et_2O for å gi tittelforbindelsen som et beige faststoff: HPLC $R_{tH5} = 0,837$ min); ESIMS: 490 492 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$): 11,61 (br s, 1H), 11,14 (br s, 1 H), 9,61 (br s, 2H), 9,26 (s, 2H), 7,98 (d, 1 H), 7,90 (d, 1 H), 7,32 (dd, 1 H), 4,31 (d, 1 H), 4,10 (d, 1H), 1,72 (s, 3H), 1,62 (s, 3H).
30

Eksempel 72: kan fremstilles ved fremgangsmåter som er analoge med de som er anvendt i referanseeksempel 71.

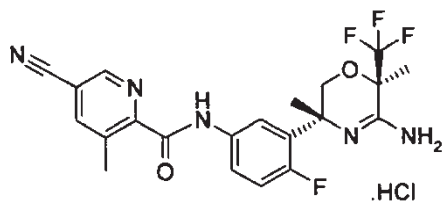
Tabell 9

Eksempel	Forbindelse	¹ H-NMR (δ; DMSO-d ₆)	MS [m/z; (M+1) ⁺]
72		11,0 (s, 1H), 9,60 (d, 2H), 9,04 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,96 (m, 1H), 7,83 (dd, 1H), 7,33 (dd, 1H), 4,37 (d, 1H), 4,11 (d, 1H), 2,56 (s, 3H), 1,73 (s, 3H), 1,70 (s, 3H)	450
	5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluor-metyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid		

5

Mer detaljert beskrivelse av preparat i eksempel 72: 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid

10



a) ((2R,5R)-5-{5-[(5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

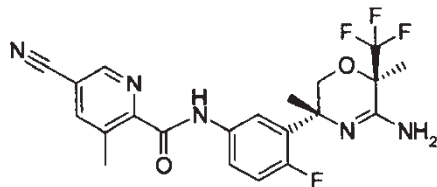
15

I en løsning av [(2R,5R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester (82 mg, 0,20 mmol) i DMF (2 ml) ble det tilsatt 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre [Acid-3] (42 mg, 0,26 mmol), EDC.HCl (51 mg, 0,26 mmol), HOAt (31 mg, 0,22 mmol) og DIPEA (0,09 ml, 0,52 mmol) og reaksjonsblandingen ble holdt ved 25 °C i 16 h. Blandingen ble konsentrert, resten løses i EtOAc og vasket med mettet NaHCO₃-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og renses ved kromatografi på silikagel (heksan-EtOAc 20:1 til 1: 1) for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et lys gult skum: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,81; HPLC R_{tH5} = 1,437 min; ESIMS: 550 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 10,96 (br s, 1 H), 9,95 (br s, 1H), 8,63 (s, 2H), 7,88 (m, 1H), 7,71 (m, 1H), 7,54 (dd, 1H), 7,08 (dd, 1H), 4,34 (d, 1 H), 4,02 (d, 1 H), 2,77 (s, 3H), 1,63 (s, 3H), 1,47 (m, 12H).

b) 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid

I en løsning av ((2R,5R)-5-{5-[(5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester i CH₂Cl₂ (0,3 ml) ble det tilsatt TFA (0,6 ml) og reaksjonsblandingen ble holdt ved 25 °C i 2 h. Reaksjonen ble tilsatt kald 10 % vandig K₂CO₃-løsning og produktet ekstrahert med EtOAc. Kombinerte organiske sjikt ble vasket med saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid som et fargeløst skum. Tittelforbindelsen was omdannet til its hydrokloridsalt ved dissolving den frie basen i CH₂Cl₂, adding 1 ekv. 2N HCl i Et₂O, inndamping til tørrhet, etterfulgt av krystallisering fra CH₂Cl₂-Et₂O for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et hvitt faststoff: HPLC R_{tH5} = 0,957 min; ESIMS: 450 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): 11,0 (s, 1H), 9,60 (d, 2H), 9,04 (s, 1 H), 8,41 (s, 1 H), 7,96 (m, 1 H), 7,83 (dd, 1 H), 7,33 (dd, 1 H), 4,37 (d, 1H), 4,11 (d, 1 H), 2,56 (s, 3H), 1,73 (s, 3H), 1,70 (s, 3H).

Eksempel 72a: Fremstilling av krystallinsk 6-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid



5

a) 2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol

I en løsning av diisopropylamin (57,3 ml, 402 mmol) i THF (500 ml) ble det under argon tilsatt en 1,6 M løsning av nBuLi i heksan (260 ml, 416 mmol) under -50 °C. Etter omrøring i 30 min ved -75 °C ble 4-brom-1-fluorbenzen (31,1 ml, 277 mmol) tilsatt mens temperaturen holdes under -70 °C. Etter omrøring i 2 h ved -75 °C ble aceton (41,2 ml, 554 mmol) tilsatt under -65 °C og reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 h ved -75 °C, oppvarmet opp til -50 °C og helt i 10 % vandig NH₄Cl-løsning. Blandingen ble ekstrahert med TBME, organiske faser ble vasket med vandig KHSO₄-løsning, mettet NaHCO₃-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble krystallisert fra heksan for å tilveiebringe tittelforbindelsen som hvite krystaller: TLC (heksan-EtOAc 3:1): R_f = 0,45; UPLC R_{tH5} = 1,045 min; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,74 (dd, 1H), 7,36 (m, 1 H), 6,93 (dd, 1 H), 2,04 (d, 1 H), 1,63 (s, 6H).

b) 4-brom-1-fluor-2-isopropenyl-benzen

I en løsning av 2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol (119,7g, 498 mmol) i CH₂Cl₂ (50 ml) ble det tilsatt hydrokinon (2,74 g, 24,9 mmol) og 250 ml 85 % H₃PO₄. Den resulterende reaksjonsblandingen ble omrørt i 3,5 h ved 50 °C. Blandingen ble helt over isvann og ekstrahert med CH₂Cl₂. De organiske fasene ble vasket med 2N vandig NaOH og vann, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble løst i heksan og filtrert gjennom en plog av silikagel for å oppnå etter konsentrasjon ved 600 mbar tittelforbindelsen som en fargeløs olje: TLC (heksan): R_f = 0,52; UPLC R_{tH5} = 1,416 min; ¹H NMR

(360 MHz, CDCl_3): δ 7,43 (dd, 1H), 7,37 (m, 1H), 6,94 (dd, 1H), 5,27 (d, 2H), 2,13 (s, 3H).

c) (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-1,2-diol

5

I en suspensjon av $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (186 g, 561 mmol), K_2CO_3 (78 g, 561 mmol), $(\text{DHQ})_2\text{-PHAL}$ (1,311 g, 1,674 mmol) og $\text{K}_2\text{O}_5\text{O}_2(\text{OH})_4$ (0,378 g, 1 mmol) i t-BuOH- H_2O 1:1 (1600 ml) ble det tilsatt 4-brom-1-fluor-2-isopropenyl-benzen (36 g, 167 mmol) ved 0 °C og reaksjonsblandingen ble omrørt i 14 h ved 0 °C. Etter forsiktig tilsetning av $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (100 g) ved 0–5 °C reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 h før ekstrahering med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med 5 % NaS_3O_3 -løsning og saltløsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert for å gi tittelforbindelsen som et hvitt faststoff: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,46; UPLC R_{tH5} = 0,767 min; ESIMS: 266, 268 $[(\text{M}+\text{NH}_4)^+]$; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,71 (dd, 1H), 7,27 (m, 1 H), 6,83 (dd, 1 H), 3,85 (d, 1H), 3,62 (d, 1H), 2,94 (s, 3H), 2,01 (s, 1 H), 1,43 (s, 3H).

d) (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-oksiran

20

I en løsning av (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-1,2-diol (37,35 g, 150 mmol) i CH_2Cl_2 (400 ml) ble det under argon tilsatt NEt_3 (41,8 ml, 300 mmol) og dråpevis mesylklorid (12,8 ml, 165 mmol) ved 0–5 °C. Etter omrøring i 0,5 h ved 0–5 °C reaksjonsblandingen ble tilsatt kald 1 N HCl og ekstrahert med CH_2Cl_2 . Kombinerte ekstrakter ble vasket med 1 N HCl, H_2O og mettet NaHCO_3 -løsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert. Råmaterialet mesylat ble løst i TBME (500 ml) og 200 ml 2N vandig NaOH og etter omrøring i 2 h ved 25 °C blandingen ble ekstrahert med TBME. Kombinerte ekstrakter ble vasket med NaH_2PO_4 -løsning og saltløsning, tørket over MgSO_4 , filtrert og konsentrert for å tilveiebringe (S)-enantiomeren som en fargeløs olje: 78 % ee (ChiralPak SOM-H 1218, heksan-EtOH 97:3, 0,4 ml/min); TLC (heksan-EtOAc 3:1): R_f = 0,69; UPLC R_{tH5} = 1,186 min; ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 7,46 (dd, 1 H), 7,30 (m, 1 H), 6,83 (dd, 1H), 2,88 (d, 1 H), 2,72 (d, 1 H), 1,59 (s, 3H).

e) (S)-1-azido-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol

35

I en løsning av (S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-oksiran (51,85 g, 224 mmol) i EtOH (800 ml) ble det tilsatt NaN₃ (36,8 g, 531 mmol), NH₄Cl (60,6 g, 1122 mmol) og 18-crown-6 (59,8 g, 224 mmol) og reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved reflux i 6 h. Reaksjonsblandingen ble filtrert og konsentrert til halvparten av sitt volum. Den resterende oljen ble ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med mettet NaHCO₃-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som en lys gul olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,70; UPLC R_t_{H3} = 1,115 min; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,72 (dd, 1 H), 7,32 (m, 1 H), 6,85 (dd, 1H), 3,73 (d, 1H), 3,51 (d, 1H), 2,44 (s, 1H), 1,50 (s, 3H).

f) (S)-1-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol

I en suspensjon av LiAlH₄ (4,65 g, 122 mmol) i THF (250 ml) ble det under argon ved 0–5 °C tilsatt en løsning av (S)-1-azido-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol (33,4 g, 122 mmol) løses i THF (150 ml) over en periode på 30 min. Etter omrøring i 1 h ved 0–5 °C ble reaksjonen stanset ved forsiktig tilsetning av vann (4,7 ml), 4 N NaOH (4,7 ml) og vann (14,1 ml). Etter omrøring i 3 h ved 25 °C ble den hvite suspensjon tørket med MgSO₄, filtrert og konsentrert. Det størkende produktet ble rekrystallisert fra TBME-heksan for å tilveiebringe tittelforbindelsen som beige krystaller: 98 % ee (ChiralPak AD-H heksan-EtOH 75-25 + 0,05 % NEt₃); TLC (CH₂Cl₂-MeOH 10:1) R_f = 0,10; UPLC R_t_{H5} = 0,558 min; ESIMS: 248, 250 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,76 (dd, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,82 (dd, 1H), 4,16 (br s, 1 H), 3,19 (d, 1H), 2,72 (d, 1H), 1,44 (s, 3H), 0,95 (br s, 2H).

g) N-[(S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-hydroksy-propyl]-2-nitro-benzensulfonamid

I en løsning av (S)-1-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-propan-2-ol (34,7 g, 140 mmol) i THF (400 ml) ble det tilsatt 2-nitro-benzensulfonylchlorid (34,9 g, 154 mmol) ved 0–5 °C og etterpå 1 N vandig NaOH over en periode på 0,5 h. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 h ved 20 °C. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med TBME og vasket med vann og NaH₂PO₄-løsning og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen etter krystallisering fra TBME-heksan som beige krystaller: TLC (toluen-EtOAc

3:1): $R_f = 0,51$; UPLC $R_{tH5} = 1,118$ min; ESIMS: 450, 452 $[(M+NH_4)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,98 (m, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,65 (m, 2H), 7,59 (dd, 1H), 7,24 (m, 1 H), 6,79 (dd, 1 H), 5,60 (t, 1H), 4,16 (br s, 1 H), 3,55 (dd, 1H), 3,44 (dd, 1 H), 2,51 (s, 1 H), 1,51 (s, 3H).

5

h) (R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-1-(2-nitro-benzensulfonyl)-aziridin

I en løsning av N-[(S)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-hydroksy-propyl]-2-nitro-benzensulfonamid (20,8 g, 48 mmol) i CH_2Cl_2 (400 ml) ble det tilsatt PPh_3 (19,2 g, 72,4 mmol) ved 0–5 °C og dietylazodikarboksylat (11,6 ml, 72,4 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 24 h ved 25 °C og konsentrert. Tittelforbindelsen ble oppnådd etter kromatografisk rensing over silikagel (heksan-EtOAc 20:1 til 2: 1) som gule krystaller: TLC (toluen-EtOAc 3:1): $R_f = 0,69$; UPLC $R_{tH5} = 1,308$ min; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 8,31 (m, 1H), 7,28 (m, 3H), 7,60 (dd, 1H), 7,42 (m, 1H), 6,91 (dd, 1H), 3,24 (s, 1H), 2,81 (s, 1 H), 2,06 (s, 3H).

15

i) (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionsyreetyler

20

I en suspensjon av NaH (2,53 g 60 % i mineralolje, 63 mmol) i DMF (160 ml) ble det tilsatt dråpevis under argon (R)-3,3,3-trifluor-2-hydroksy-2-metyl-propionsyreetyler (11,99 g, 63 mmol) og etter omrøring i 0,5 h ved 20 °C (R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-metyl-1-(2-nitro-benzensulfonyl)-aziridin (21,85 g, 52,6 mmol). Reaksjonen ble holdt ved 25 °C i 16 h. Blandingen ble tilsatt kald vandig 2N HCl og produktet ekstrahert med TBME. Kombinerte organiske sjikt ble vasket med mettet $NaHCO_3$ -løsning og saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert. Det resterende faststoffet ble rekrystallisert fra TBME-heksan for å tilveiebringe tittelforbindelsen som gule krystaller: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,59$; UPLC $R_{tH5} = 1,444$ min; ESIMS: 618, 620 $[(M+NH_4)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,83 (dd, 1H), 7,61 (m, 3H), 7,48 (dd, 1 H), 7,27 (m, 1 H), 6,73 (s, 1 H), 6,60 (dd, 1 H), 4,33 (m, 2H), 3,84 (s, 2H), 1,84 (s, 3H), 1,57 (s, 3H), 1,33 (t, 3H).

25

30

35

j) (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-pheyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionamid

5 En løsning av (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionsyreetyler (26,6 g, 44,2 mmol) i 7N NH₃ i MeOH (75 ml) ble omrørt i 16 h ved 50 °C. Løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk og det resterende faststoffet

10 rekrystallisert fra Et₂O for å gi tittelforbindelsen som gule krystaller: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,35; UPLC Rt_{H5} = 1,184 min; ESIMS: 589, 591 [(M+NH₄)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,85 (d, 1 H), 7,64 (m, 3H), 7,44 (d, 1H), 7,41 (dd, 1 H), 7,26 (m, 1 H), 6,68 (br s, 1 H), 6,57 (dd, 1 H), 6,19 (s, 1 H), 5,54 (br s, 1 H), 4,24 (d, 1 H), 3,93 (d, 1 H), 1,79 (s, 3H), 1,67 (s, 3H).

15 k) N-[(R)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-((R)-1-cyano-2,2,2-trifluor-1-metyl-etoksy)-1-metyl-etyl]-2-nitro-benzensulfonamid

I en løsning av (R)-2-[(R)-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-(2-nitro-benzensulfonylamino)-propoksy]-3,3,3-trifluor-2-metyl-propionamid (20,83 g, 35,6 mmol) i CH₂Cl₂ (300 ml) ble det under argon tilsatt NEt₃ (12,5 ml, 89 mmol), og trifluoreddiksyreanhydrid (6,15 ml, 42,7 mmol) ved 0–5 °C. Etter omrøring i 4 h ved 25 °C ble reaksjonsblandingen tilsatt en kald NaHCO₃-løsning og produktet ble ekstrahert med CH₂Cl₂. Kombinerte ekstrakter ble vasket med

20 kald 0,1 N vandig HCl, vann og mettet NaHCO₃-løsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som en gul olje, som ble anvendt som sådan for det neste trinnet: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,73; UPLC Rt_{H5} = 1,364 min; ESIMS: 571, 573 [(M+NH₄)⁺]; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,89 (d, 1 H), 7,62 (ddd, 1 H), 7,57 (ddd, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,29 (m, 1H), 6,58 (dd, 1H), 6,19 (s, 1H), 4,17 (s, 2H), 1,81 (s, 3H), 1,72 (s, 3H).

30

l) (2R,5R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

I en løsning av N-[(R)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2-((R)-1-cyano-2,2,2-trifluor-1-metyl-etoksy)-1-metyl-etyl]-2-nitro-benzensulfonamid (6,54 g, 11,8 mmol) og

35

N-acetyl-cysteine (2,4 g, 26,0 mmol) i MeOH (80 ml) ble det tilsatt K_2CO_3 (3,62 g, 26,0 mmol) og reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 80 °C i 16 h. Etter fjerning av løsningsmidlet ble resten løst i vann og ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med mettet $NaHCO_3$ -løsning og saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen etter kromatografisk rensing over silikagel (heksan-EtOAc 10:1 til 1:2 inneholdende 0,03 % NEt_3) som en gul olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,58; UPLC R_{tH5} = 0,843 min; ESIMS: 369, 371 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,66 (dd, 1 H), 7,35 (m, 1 H), 6,91 (dd, 1H), 3,97 (m, 2H), 1,53 (s, 3H), 1,49 (s, 3H).

m) (2R,5R)-5-(2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

En løsning av (2R,5R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (1,66 g, 4,5 mmol) og natriumacetat (0,369 g, 4,5 mmol) i MeOH (50 ml) ble hydrogenert over 10 % Pd-C i 6 h ved 50 °C. Katalysatoren ble filtrert av over Celite og filtratet ble konsentrert. Resten ble løst i mettet $NaHCO_3$ -løsning og ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som en fargeløs olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): R_f = 0,19; UPLC R_{tH5} = 0,777 min; ESIMS: 291 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 7,41 (dt, 1 H), 7,26 (m, 1 H), 7,11 (t, 1 H), 7,05 (dd, 1 H), 4,11 (dd, 1 H), 3,94 (dd, 1 H), 1,54 (s, 3H), 1,49 (s, 3H).

n) (2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

I en løsning av (2R,5R)-5-(2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (1,035 g, 3,57 mmol) i H_2SO_4 (6 ml) ble det i porsjoner tilsatt KNO_3 (0,379 g, 3,74 mmol) under isvannavkjøling. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 2 h ved 25 °C, fortynnet med vann og basifisert med K_2CO_3 under avkjøling. Produktet ble ekstrahert med EtOAc. Kombinerte ekstrakter ble vasket med mettet $NaHCO_3$ -løsning og saltløsning, tørket over $MgSO_4$, filtrert og konsentrert. Rensing via kromatografi på silikagel (heksan-EtOAc 4:1 til 1:1 inneholdende 0,05 % NEt_3) ga tittelforbindelsen som

en lys gul olje: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,50$; UPLC $R_{t_{H5}} = 0,749$ min; ESIMS: 336 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 8,48 (dd, 1 H), 8,14 (m, 1 H), 7,15 (dd, 1H), 4,20 (br s, 2H), 4,04 (dd, 1H), 3,91 (dd, 1 H), 1,54 (s, 3H), 1,49 (s, 3H).

5

o) [(2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

I en løsning av (2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (1,14 g, 3,4 mmol) i ACN (20 ml) ble det tilsatt Boc_2O (0,891 g, 4,08 mmol) og NEt_3 (0,72 ml, 5,1 mmol) og blandingen ble omrørt i 16 h ved 25 °C. Reaksjonsblandingen ble inndampet og den resterende oljen renses ved kromatografi på silikagel (heksan-EtOAc 20:1 til 7:3) for å gi tittelforbindelsen etter krystallisering fra Et_2O -heksan som beige krystaller: TLC (heksan-EtOAc 3:1): $R_f = 0,37$; UPLC $R_{t_{H5}} = 1,355$ min; ESIMS: 436 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 11,04 (br s, 1H), 8,24 (m, 2H), 7,30 (dd, 1H), 4,41 (dd, 1H), 4,11 (dd, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,51 (s, 9H), 1,49 (s, 3H).

p) [(2R,5R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

En løsning av [(2R,5R)-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester (0,98 g, 2,25 mmol) i isopropanol-THF 2:1 (24 ml) ble hydrogenert over 5 % Pd-C i 4 h ved 50 °C. Katalysatoren ble filtrert av over Celite og filtratet ble konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen etter krystallisering fra TBME-heksan som beige krystaller: TLC (heksan-EtOAc 1:1): $R_f = 0,42$; UPLC $R_{t_{H5}} = 0,955$ min; ESIMS: 406 $[(M+H)^+]$; 1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 6,82 (dd, 1H), 6,52 (m, 2H), 4,30 (dd, 1H), 3,97 (dd, 1H), 3,06 (br s, 2H), 1,58 (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

q) ((2R,5R)-5-{5-[(5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

35

I en løsning av [(2R,5R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester (2,2 g, 5,43 mmol) i DMF (20 ml) ble det ved 0–5 °C tilsatt 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre (0,968 g, 5,97 mmol), EDC (1,095 g, 7,05 mmol), HOAt (1,182 g, 8,68 mmol) og reaksjonsblandingen ble omrørt ved 25 °C i 16 h. Reaksjonsblandingen ble tilsatt kald mettet NaHCO₃-løsning og produktet ble ekstrahert med TBME. Kombinerte TBME-sjikt ble vasket med H₂O og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert for å oppnå tittelforbindelsen som fargeløse krystaller etter krystallisering fra diisopropyleter: UPLC Rt_{H5}=1,472 min); ESIMS: 550; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11,11 (s, 1H), 10,11 (s, 1 H), 8,79 (br s, 1 H), 8,01 (s, 1H), 7,84 (m, 1H), 7,68 (dd, 1 H), 7,21 (dd, 1H), 4,49 (d, 1 H), 4,16 (d, 1 H), 1,76 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,62 (s, 9H).

r) 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid

I en løsning av ((2R,5R)-5-{5-[(5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-2,5-dimetyl-2-trifluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (2,27 g, 4,13 mmol) i CH₂Cl₂ (25 ml) ble det tilsatt TFA (41,3 mmol, 3,18 ml), og reaksjonsblandingen ble omrørt ved 25 °C i 2,5 h. Reaksjonsblandingen ble tilsatt 10 % vandig NaHCO₃-løsning (pH >8), og den frie basen ble ekstrahert med EtOAc. Kombinerte organiske sjikt ble vasket med vann og saltløsning, tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rekrySTALLISERT to ganger ved oppløsning av materialet i EtOH (15 ml) ved 50–60 °C og etter metning med H₂O (6–8 ml) ble den klare løsningen tillatt å avkjøles til omgivelsestemperatur natten over for å tilveiebringe, etter filtrering og tørking, tittelforbindelsen i >99 % renhet som hvite krystaller: UPLC Rt_{H5}= 0,905 min; ESIMS: 450 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆): 10,72 (s, 1 H), 8,97 (s, 1 H), 8,39 (s, 1 H), 7,78 (d, 1 H), 7,71 (m, 1H), 7,15 (t, 1H), 6,08 (br s, 2H), 3,91 (d, 1H), 3,78 (d, 1 H), 2,52 (s, 3H), 1,46 (s, 3H), 1,41 (s, 3H).

Eksempel 72b: XRPD- og DSC-analyse av krystallinsk 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid

5 Krystallinsk 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid ble analysert ved XRPD og de ti mest karakteristiske toppene er vist i tabell 9,5 (se også figur 2).

Tabell 9,5

Grader 2- θ	d-mellomrom (Å)	Intensitet (antall)	Relativ intensitet %
8,335	10,59904	22,60	7,1 Lav
9,032	9,78356	2013	6,3 Lav
10,851	8,14682	6590	20,7 Middels
12,919	6,84703	7660	24,1 Middels
13,859	6,38459	31816	100 Høy
15,403	5,74799	15281	48,0 Middels
16,211	5,46313	6577	20,7 Middels
17,129	5,17238	8543	26,9 Middels
18,158	4,88155	5135	16,1 Middels
24,514	3,62838	10501	33 Middels

10 Røntgenpulverdiffraksjon (XRPD)-analyse ble utført ved anvendelse av et Brucker D8 Advance røntgendiffraktometer. Målinger ble tatt ved ca. 30 kV og 40 mA under de følgende betingelsene:

Skannerate (kontinuerlig skanning):	0,3 s/trinn (tilsvarer 107,1 s trinntid)
Trinnstørrelse:	0,017° (2 theta)
Sollerspalte	2,5°
Spalter (fra venstre mot høyre):	V12 (variabel), 6 mm antispredningsspalte

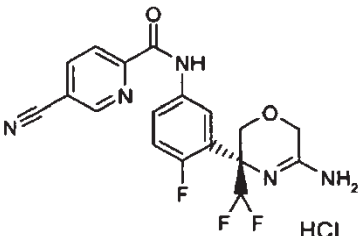
15 Røntgendiffraksjonsmønsteret ble registrert mellom 2° og 40° (2 theta) med CuK α -stråling for identifisering av hele mønsteret.

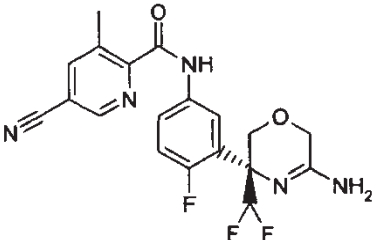
Krystallinsk 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid ble også analysert ved differensialskannekalorimetri (DSC) ved anvendelse av en Q1000 DSC fra TA instruments og funnet å ha et smeltestartpunkt på ca. 94 °C (93,6 °C).

Eksempler 112 og 144: Forbindelsene oppført i tabell 17 ble fremstilt ved fremgangsmåter som er analoge med de som er anvendt i eksempler 42 eller 112.

For enantiomerisk rene forbindelser ble den racemiske forløperen [5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester (eksempel 42j)) separert via prep-HPLC på ChiralPak AD-H 250 x 4,6 mm-kolonne ved anvendelse av superkritisk CO₂ / EtOH 9 : 1 som en eluent. Den ønskede forbindelsen var den langsommere eluerende (R)-enantiomeren. Enantiomerisk overskudd = 99,7 %; $[\alpha]_D = -109,7^\circ$ (c=1, CHCl₃).

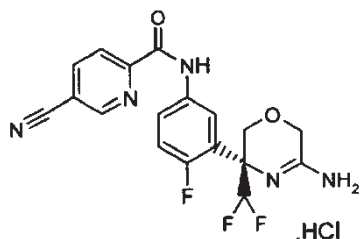
Tabell 17

Eksempel	Forbindelse	¹ H-NMR (δ; DMSO-d ₆)	MS [m/z; (M+1) ⁺]
112		11,09 (s, 1H), 11,01 (s, 1H) 9,76 (s, 1H), 9,22 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,61 (d, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,12 - 8,06 (m, 2H), 7,41 (dd, 1H), 6,79 (t, J = 54 Hz, 1H), 4,71 (d, 1H), 4,65 (d, 1H), 4,34 (d, 1H), 4,18 (d, 1H)	390
	5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid		

Eksempel	Forbindelse	$^1\text{H-NMR}$ (δ ; DMSO- d_6)	MS [m/z; (M+1) $^+$]
144	 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylysyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid	10,72 (s, 1H), 8,97 (s, 1H) 8,39 (s, 1H), 8,02 - 7,97 (m, 1H), 7,83 - 7,78 (m, 1H), 7,18 (dd, 1H), 6,14 (s, 2H), 6,14 (t, J = 54 Hz, 1H), 4,10 (d, 1H), 4,01 (d, 1H), 3,91 (d, 1H), 3,84 (d, 1H), 2,54 (s, 3H)	404

Mer detaljert beskrivelse av preparat i eksempel 112: 5-cyano-pyridin-2-karboksylysyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydroklorid

5



a) 5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-morfolin-3-on

- 10 5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-morfolin-3-on (190 g, 586 mmol) [eksempel 42 trinn e)] og natriumacetat (57,7 g, 703 mmol) ble suspendert i 1850 ml metanol. 10 % Pd på kull (18,7 g) ble deretter tilsatt og reaksjonsblandingen ble ristet i et Parr-apparat i en atmosfære av hydrogen ved rt. Etter 60 minutter ble reaksjonsblandingen filtrert over kiselgur og inndampet.
- 15 Resten ble løst i 2 l TBME og vasket med vandig NaHCO_3 og saltløsning. Det

organiske sjiktet ble tørket over $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ og inndampet for å gi 143,2 g av tittelforbindelsen som et hvitt faststoff.

HPLC: $\text{Rt}_{\text{H1}} = 0,792$ min; ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 246$;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 7,50–7,43 (m, 2H), 7,32–7,27 (m, 1 H), 7,19 (dd, 1H), 6,62 (br, 1 H), 6,37 (t, $J = 54$ Hz, 1H), 4,34 (d, 1 H), 4,31 (d, 1H), 4,22 (d, 1H), 4,20 (d, 1H).

b) 5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-morfolin-3-tion

En blanding av 5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-morfolin-3-on (141 g, 575 mmol) og Lawessons reagens (132 g, 316 mmol) i 1400 ml THF ble oppvarmet ved 68°C i 1 h, avkjølt og deretter inndampet. Resten ble løst i 1 l DCM og filtrert over 2 kg silikagel med 10 L DCM for å gi 161 g av tittelforbindelsen i form av en grønnaktig harpiks som ble langsomt krystallisert. Forbindelsen ble anvendt uten ytterligere rensing.

HPLC: $\text{Rt}_{\text{H1}} = 1,799$ min; ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 262$; $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, CDCl_3): 7,42–7,35 (m, 1H), 7,28 (t, 1 H), 7,19 (t, 1 H), 7,11 (dd, 1 H), 6,29 (t, $J = 54$ Hz, 1 H), 4,57 (d, 1 H), 4,47 (d, 1H), 4,21 (d, 1 H), 4,18 (d, 1H).

c) 5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-morfolin-3-tione (160 g, 570 mmol) ble løst i 2,4 l av en NH_3 -løsning 7 mol/l i metanol for 6,5 h og fikk etterpå bli stående natten over. Reaksjonsblandingen ble inndampet og tatt opp i 2 L 1 N vandig HCl og 2 L TBME. Den vandige fasen ble vasket med TBME og gjort basisk ved tilsetningen av 300 ml 30 % vandig NaOH og litt is. Blandingen ble ekstrahert med DCM tre ganger og de kombinerte organiske sjiktene ble tørket med Na_2SO_4 og konsentrert in vacuo. Tittelforbindelsen ble oppnådd ved krystallisering fra DCM/heptaner (128,45 g).

HPLC: $\text{Rt}_{\text{H3}} = 2,059$ min; ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 245$;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 7,77 (t, 1 H), 7,38–7,30 (m, 1 H), 7,21 (t, 1 H), 7,09 (dd, 1 H), 6,19 (t, $J = 54$ Hz, 1H), 4,51 (br, 2H), 4,32, (d, 1H), 4,18 (d, 1 H), 4,05 (d, 1 H), 3,96 (d, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,24 (s, 3H).

d) 5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

Kaliumnitrat (60,3 g, 596 mmol) ble tilsatt i porsjoner i 600 ml svovelsyre (temperatur < 20 °C). Denne løsningen ble tilsatt dråpevis en løsning av 5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (112 g, 459 mmol) i 600 ml svovelsyre, mens reaksjonstemperaturen ble holdt < 22 °C med et isbad. Etter omrøring i 1 h ble blandingen helt over 10 kg is. TBME (6 l) ble tilsatt og pH ble justert til 12–14 ved tilsetningen av ca. 5 L 30 % vandig NaOH. Fasene ble separert og den vandige fasen ble ekstrahert to ganger med TBME. De kombinerte organiske sjiktene ble tørket med natriumsulfat og inndampet for å gi 130 g av et gult faststoff som ble anvendt uten ytterligere rensing.

HPLC: $R_{tH_3} = 2,063$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 290$;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 8,71 (dd, 1 H), 8,13 (dt, 1 H), 7,13 (dd, 1 H), 5,99 (t, $J = 54$ Hz, 1H), 4,55 (br, 2H), 4,33 (dd, 1 H), 4,10 (d, 1 H), 3,97 (d, 1 H), 3,82 (dt, 1 H).

e) [5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

En løsning av 5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (144,5 g, 500 mmol), Boc-anhydrid (142 g, 650 mmol) og DIPEA (131 ml, 749 mmol) i 2500 ml THF ble omrørt i 3 dager ved rt, etter hvilke det fremdeles var gjenværende utgangsmateriale. Boc-anhydrid (56 g, 325 mmol) ble tilsatt, blandingen oppvarmet til 60 °C og omrørt i 10 h inntil reaksjonen ble fullført. Blandingens ble avdampet, løst i TBME, vasket med iskaldt 1 N vandig HCl, vann, 10 % vandig NaHCO_3 og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket med natriumsulfat, filtrert og inndampet. Produktet ble rensset ved krystallisering fra DCM/ heptaner. Utbytte 182,8 g hvite krystaller.

HPLC: $R_{tH_1} = 3,259$ min; ESIMS $[M+Na]^+ = 412$;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 360 MHz): 8,70 (dd, 1 H), 8,27 (dt, 1 H), 7,34 (br, 1 H), 7,25 (dd, 1 H), 6,09 (t, $J = 54$ Hz, 1H), 4,85 (d, 1 H), 4,58 (d, 1 H), 4,49 (dd, 1 H), 3,94 (dt, 1 H).

f) [5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

[5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-
 karbamidsyre-tert-butylester (180 g, 462 mmol) og 17,61 g Pd-C 10 % ble
 suspendert i 1760 ml THF. Blandingen ble ristet i et Parr-apparat i en atmosfære
 av hydrogen ved rt. Etter 6 h ble reaksjonsblandingen filtrert over kiselgur og
 inndampet. Resten ble krystallisert fra DCM/heptaner for å tilveiebringe 157,6 g
 av tittelforbindelsen som beige krystaller.

HPLC: $R_{tH_3} = 2,748$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 360$;

1H -NMR ($CDCl_3$, 360 MHz): Spektrum ufortolkbart på grunn av nærværet av en
 kompleks blanding av rotamerer.

g) [(R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

Det racemiske produktet ((rac)[5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-
 dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester) ble separert via
 prep-HPLC på ChiralPak AD-H 20um (8 x 100 x 48mm HPLC-kolonner), på et
 Bayer SMB CC50-instrument ved anvendelse av SMB-teknologi med
 heptan/EtOH/MeOH 70 : 20 : 10 som eluent. Den ønskede forbindelsen var den
 langsommere eluerende (R)-enantiomeren. For å gi 72,29 g av tittelforbindelsen
 som et fargeløst skum. ee = 99,3 %; Opt. rotasjon: $[\alpha]_D -97,5^\circ$ (c=1, $CHCl_3$)

HPLC: $R_{tH_3} = 2,748$ min; ESIMS $[M+H]^+ = 360$;

1H -NMR ($CDCl_3$, 360 MHz): Spektrum ufortolkbart på grunn av nærværet av en
 kompleks blanding av rotamerer.

h) ((R)-5-{5-[(5-cyano-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

[(R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-
 yl]-karbamidsyre-tert-butylester (35 g, 97,4 mmol), 5-cyano-pyridin-2-
 karboksylsyre (15,87 g, 107,14 mmol) og HOBt-hydrat (22,35 g, 146,1 mmol)
 ble løst i 185 ml DMF og omrørt med isavkjøling. Da temperaturen hadde nådd
 0–5 °C ble EDC (22,33 ml, 126,62 mmol) tilsatt dråpevis. Blandingen ble omrørt
 i 2 h. Isbadet ble tatt bort og omrøring fortsatte i 2 h. Blandingen ble tatt opp i
 EtOAc og vann. Fasene ble separert og den organiske fasen ble vasket med 5 %

vandig NaHCO_3 og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket med $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ og inndampet for å tilveiebringe et beige faststoff. Krystallisering fra EtOAc/heksan ga tittelforbindelsen som fargeløse krystaller. Utbytte 44,47 g.

HPLC: $\text{Rt}_{\text{H1}} = 2,888$ min; ESIMS $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 512$;

5 ^1H -NMR (CDCl_3 , 360 MHz, signaler utvidet på grunn av rotamerer): 8,95 (s, 1 H), 8,48 (d, 1H), 8,25 (d, 1H), 8,08-8,03 (m, 1H), 7,84-7,80 (m, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,17 (t, 1 H), 6,18 (t, $J = 54$ Hz, 1 H), 4,83 (d, 1 H), 4,60 (d, 1 H), 4,42 (d, 1 H), 4,4-4,3 (br, 1 H), 3,97 (d, 1H), 1,53 (s, 9H).

10 **i) 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid**

15 ((R)-5-{5-[(5-cyano-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (44,47 g, 91,0 mmol) ble løst i 450 ml DCM og såvidt avkjølt med et rt-vannbad. TFA (150 ml) ble tilsatt. Reaksjonen var noe eksotermisk. Blandingen ble omrørt i 1,5 h ved rt. De flyktige stoffene ble fjernet med vakuum ved rt. Resten ble tatt opp i DCM og fremgangsmåten gjentatt to ganger. Resten ble tatt opp i 3 L EtOAc og vasket med 10 % vandig Na_2CO_3 og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket med natriumsulfat og delvis inndampet. iPrOH ble tilsatt og blandingen avkjølt. Tittelforbindelsen ble samlet som snøhvite krystaller. Utbytte 30,56 g.

20 HPLC: $\text{Rt}_{\text{H3}} = 2,605$ min; ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 390$;

25 ^1H -NMR ($\text{dmsO}-d_6$, 600 MHz): 10,85 (s, 1H), 9,22 (s, 1H), 8,58 (d, 1 H), 8,27 (d, 1H), 8,18-8,14 (m, 1 H), 7,85-7,80 (m, 1H), 7,19 (t, 1 H), 6,16 (br s, 2H), 6,14 (t, $J = 54$ Hz, 1 H), 4,12 (d, 1 H), 4,01 (d, 1 H), 3,92 (d, 1H), 3,88 (d, 1 H).

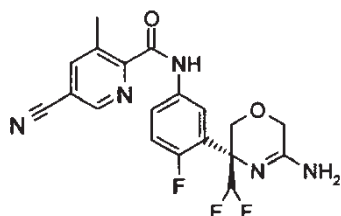
30 **j) 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluor-metyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid, hydroklorid**

35 En løsning av 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluor-metyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid (277 mg, 0,71 mmol) i 5 ml THF ble triturerert med 0,9 ml 1 M HCl i Et_2O . Blandingen ble delvis inndampet, fortynnet med TBME og delvis inndampet (3x), til slutt til tørrhet. Hydrokloridsaltet inneholdt en betydelig mengde THF. Det ble tatt opp i EtOH og

inndampet til tørrhet to ganger. Produktet ble til slutt frysetørket med 15 ml vann. Utbytte 261 mg hvit lyofilisat.

$^1\text{H-NMR}$ (dms o -d $_6$, 600 MHz): 11,05 (s, 1 H), 11,01 (s, 1 H), 9,75 (s, 1 H), 9,25 (s, 1 H), 8,73 (br s, 1 H), 8,61 (d, 1 H), 8,10 (d, 1 H), 8,12–8,07 (m, 2H), 7,41 (dd, 1 H), 6,79 (t, J = 54 Hz, 1 H), 4,70 (d, 1 H), 4,65 (d, 1 H), 4,36 (d, 1 H), 4,18 (d, 1H).

Første alternative fremgangsmåte for fremstillingen i eksempel 144: 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid



a) 1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-etanon

I en løsning av diisopropylamin (343 g, 3,39 mol) i THF (4 l) ble det langsomt tilsatt n -BuLi (1,4 L, 3,5 mol, 2,5 M i heksan) ved $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mens reaksjonstemperaturen ble holdt under $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$. Etter tilsetning ble blandingen omrørt ved $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ i 15 min. På dette punktet ble en løsning av 4-brom-1-fluorbenzen (540 g, 3,08 mol) i THF (1 l) avkjølt til $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ før gradvis tilsetning av reaksjonsblandingens mens reaksjonstemperaturen ble holdt under $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ og den resulterende gule løsningen ble omrørt ved $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ i 150 min. Etyldifluoracetat (421 g, 3,39 mol) ble tilsatt reaksjonsblandingens i løpet av 15 min og deretter ble blandingen omrørt ved $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ i 15 min. 1 M HCl (6,0 l) ble tilsatt reaksjonsblandingens under omrøring. Vandig sjikt ble ekstrahert med TBME (3 x 4 l). De kombinerte organiske fasene ble vasket med vann, tørket (MgSO_4) og inndampet in vacuo. Den resulterende resten ble destillert under vakuum ($90\text{--}95\text{ }^{\circ}\text{C}/0,19\text{ mbar}$) og fraksjon ved $54\text{--}62\text{ }^{\circ}\text{C}$ ble samlet for å oppnå tittelforbindelsen som en fargeløs væske. ESIMS: 253 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,06 (dd, 1 H), 7,75 (ddd, 1 H), 7,13 (dd, 1H), 6,41 (dt, 1 H).

b) 2-metylpropan-2-sulfinsyre [1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-et-(Z)-yliden]-amid

I blandingen av 1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-etanon (6,0 kg, 23,7 mol) og (S)-(-)-tert-butansulfinamid (3,3 kg, 27,2 mol) ble det tilsatt toluen (73 l) under omrøring ved omgivelsestemperatur. Etter 5 min ble titanetoksid (6,5 kg, 28,5 mol) tilsatt, og blandingen ble oppvarmet til 50–55 °C. Blandingen ble omrørt ved 50–55 °C i 3 h og tillatt å avkjøles til omgivelsestemperatur før konsentrasjon *in vacuo*. Det resulterende råproduktet ble anvendt direkte i neste kjemiske transformasjon uten ytterligere rensing. ESIMS: 356 [(M+H)⁺].

c) (S_s)-2-metylpropan-2-sulfinsyre [(S)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-1-difluormetyl-allyl]-amid

I en løsning av vinylmagnesiumbromid (400 ml, 400 mmol, 1 M i THF) ble det tilsatt toluen (400 ml), og den resulterende blandingen ble avkjølt til under -65 °C. I blandingen ble det tilsatt en løsning av ubearbeidet 2-metylpropan-2-sulfinsyre [1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-et-(Z)-yliden]-amid (40,2 g, 113 mmol) i toluen (200 ml) i løpet av 20 min, hvilken var forhåndsavkjølt til under -60 °C, mens reaksjonstemperaturen ble holdt under -65 °C. Etter tilsetning ble den resulterende blandingen omrørt ved -65--72 °C i 40 min før stansing med vandig H₂SO₄-løsning (270 ml, 8,4 vekt-%). Den resulterende blandingen ble omrørt og langsomt oppvarmet til -20 °C, annen porsjon vandig H₂SO₄-løsning (540 ml, 8,4 vekt-%) ble tilsatt blandingen langsomt via sprøyte, den resulterende blandingen ble oppvarmet og omrørt ved 10~20 °C i 1 time. De to sjiktene ble separert og det organiske sjiktet ble vasket med vandig natriumbikarbonatløsning (540 ml, 4 vekt-%), etterfulgt av saltløsning. Det organiske sjiktet ble filtrert gjennom en kiselgur-pute[®], konsentrert *in vacuo* for å oppnå ubearbeidet tittelforbindelse som en 3:1 blanding av diastereoisomerer, som ble anvendt i de følgende trinn uten ytterligere rensing. ESIMS: 384 [(M+H)⁺].

d) 2-metylpropan-2-sulfinsyre [(R)-1-(5-brom-2-fluorfenyl)-2,2-difluor-1-hydroksymetyl]-amid

I løsningen av (S_s)-2-metyl-propan-2-sulfinsyre [(S)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-1-difluormetyl-allyl]-amid (20 g, 52 mmol) i CH₂Cl₂ (640 ml) og MeOH (160 ml) ble det tilsatt kaliumacetat (1 g, 10,4 mmol) ved omgivelsestemperatur. Den omrørte blandingen ble deretter avkjølt til -70 °C. O₂-gass ble boblet gjennom reaksjonsblandingen under omrøring via gassdispenseren under overflaten av reaksjonsblandingen i 15 min ved 1 l/min strømningshastighet. O₂ ble deretter erstattet av ozon og gjennomboblet under omrøring ved -70 °C inntil reaksjonsblandingen ble blå. På dette punktet ble ozon stoppet og erstattet av gjennombobling av O₂ i reaksjonsblandingen inntil den blå fargen avtok. Deretter ble natriumborhydrid (3,9 g, 104 mmol) tilsatt i porsjoner mens reaksjonsblandingen ble holdt ved < -60 °C. Blandingen ble tillatt å varmes til -20 °C i løpet av 1 h under omrøring. Quantofix® Peroksid 25 testpinne (Sigma Aldrich) ble anvendt til å bestemme nivået av gjenværende peroksid i reaksjonsblandingen. Da peroksidtestpinnen viste at det ikke fantes peroksid i reaksjonsblandingen, ble mettet vandig NH₄Cl-løsning tilsatt langsomt i reaksjonsblandingen under omrøring inntil det ikke lenger ble utviklet H₂-gass. Blandingen ble konsentrert *in vacuo* for å fjerne organiske flyktige stoffer. Den vandige resten ble fordelt mellom etylacetat og H₂O. Det separerte organiske sjiktet ble konsentrert *in vacuo* for å gi den ubearbeidede tittelforbindelsen som en 3:1 blanding av diastereoisomerer. Oljeaktig ubearbeidet tittelforbindelse ble løst i TBME og løsningen ble oppvarmet til 50–55 °C før tilsetning av n-heptan at 50–55 °C. Blandingen ble tillatt å avkjøles gradvis i løpet av 20 min til 40–45 °C. På dette punktet ble kim av ren tittelforbindelse tilsatt i kolben og reaksjonsblandingen ble gradvis avkjølt med forsiktig omrøring i løpet av 2 h til 0–5 °C og deretter omrørt ved 0–5 °C i ytterligere 8 h. Den resulterende slurrien ble filtrert og filterkaken ble vasket med kaldt, blandet løsemiddel (TBME:n-heptan = 1:2). Filterkaken ble tørket i vakuumovn ved 40 °C i 12 h for å gi ren tittelforbindelse som et hvitt, krystallinsk faststoff. ESIMS: 388 [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,80 (dd, 1H), 7,62 (m, 1H), 7,21 (dd, 1 H), 6,51 (t, 1 H), 5,72 (s, 1H), 5,23 (dd, 1 H), 3,97 (d, 1 H), 1,18 (s, 9H).

e) (R)-2-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-3,3-difluor-propan-1-ol

I en løsning av 2-metyl-propan-2-sulfinsyre [(R)-1-(5-brom-2-fluor-fenyl)-2,2-difluor-1-hydroksymetyl-etyl]-amid (10g, 25,76 mmol) i DCM (100 ml) ble det under argon tilsatt 30 % HCl i IPA-løsning (10 ml, 91,6 mmol) under 25 °C.

Etter omrøring i 30 min ved 25 °C, avkjølt til -10 °C, filtrert og tørket for å tilveiebringe tittelforbindelsen HCl-salt som hvite krystaller: ESIMS: 284, 286 [(M+H)⁺], ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,42 (b, 3H), 7,84 (m, 1 H), 7,74 (m, 1 H), 7,35 (dd, 1 H), 6,68 (t, 1H), 4,03 (m, 2H).

5

f) (R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-morfolin-3-on

I en suspensjon av (R)-2-amino-2-(5-brom-2-fluor-fenyl)-3,3-difluor-propan-1-ol HCl salt (0,5 g, 1,56 mmol) i IPAc (5 ml) ble det under argon tilsatt en løsning av K₂CO₃ (0,862g, 6,24 mmol) i 5 ml vann under 25 °C. Etter omrøring i 30 min ved 25 °C for å tilveiebringe en difasisk klar løsning, avkjølt til -5 °C ble en løsning av 2-kloracetylklorid(0,41 g, 3,59 mmol) i IPAc (2 ml) langsomt tilsatt med temperaturen under 10 °C. Etter omrøring i 30 min ved 20 °C ble den organiske fasen samlet og anvendt direkte for neste trinn. THF (3 ml) ble tilsatt den ovenstående løsningen, blandingen ble avkjølt til 0 °C. Løsningen ble tilsatt under argon KOtBu (0,35 g, 3,12 mmol) under 10 °C. Etter omrøring ved 20 °C i 3 h ble vann ble tilsatt for å stanse reaksjonen. Den organiske fasen ble vasket ved 1 N HCl-vannløsning (5 ml). Den organiske fasen ble samlet og anvendt direkte for neste trinn. Den ovenstående løsningen ble tilsatt vann (5 ml) og Pd/C(10 %, 50 mg), ble blandingen omrørt under H₂ (1,5 bar) ved 25 °C i 3 h. Katalysatoren ble filtrert ut. Filtratet ble vasket ved 15 % NaCl vann-løsning. Løsningsmidlet ble fjernet under vakuum for å tilveiebringe tittelforbindelsen som gulaktig faststoff. ESIMS: 246 [(M+H)⁺]. ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,08 (s, 1 H), 7,57 (m, 1 H), 7,48 (m, 1H), 7,30 (m, 1 H), 7,81 (m, 1 H), 7,30 (m, 2H), 6,55(t, 1 H), 4,1(m, 4H).

g) (R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin,3-ylaminsulfat

I en løsning av (R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-morfolin-3-on (120 g, 489,4 mmol) i CH₂Cl₂ (1,2 l) ble det tilsatt P₂S₅ (108 g, 489,4 mmol) ved romtemperatur. Den resulterende gule suspensjonen ble oppvarmet til reflux i 3,5 h. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom en pute av silikagel (200 - 300 mesh), vasket med CH₂Cl₂ 3 ganger for å få en brun løsning. Løsningsmidlet ble fjernet for å tilveiebringe det ubearbeidede produktet som et oransje faststoff, hvilket ble dispergert i THF (100 ml), deretter ble 25 % NH₃ vannløsning (750

ml) tilsatt ved romtemperatur. 27 timer senere ble reaksjonsblandingen ekstrahert med IPAC. Den kombinerte organiske fasen ble vasket med vann, konsentrert for å tilveiebringe en gul olje. Det ubearbeidede produktet ble løst i IPAC (1,2 l) og MeOH (60 ml) og noe uoppløst faststoff ble fjernet gjennom filtrering. Deretter ble kons. H₂SO₄ (57,6 g, 587,3 mmol) tilsatt for å få en hvit suspensjon. Suspensjonen ble omrørt ved romtemperatur natten over og filtrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et hvitt faststoff: ESIMS: 245; [(M-H₂SO₄+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,60 (bs, 1 H), 8,82 (br s, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,35 (m, 2H), 6,75 (t, 1H), 4,65 (dd, 2H), 4,36 (d, 1 H), 4,14 (d, 1H).

h) (R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

I en løsning av (R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylaminsulfat (127,2 g, 371,6 mmol) i kons. H₂SO₄ (380 ml) ble det ved 5–15 °C tilsatt HNO₃ (25,8 g, 408,8 mmol). Etter tilsetning ble reaksjonsblandingen langsomt tilsatt 12 % NH₃ vannløsning (2,6 l) ved 10–20 °C. Den resulterende suspensjon (pH=8) ble filtrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et gult faststoff: ESIMS: 290; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,89 (m, 1H), 8,14 (m, 1H), 7,18 (dd, 1H), 6,10 (t, 1 H), 5,65 (br s, 2H), 4,57 (dd, 1H), 4,13 (dd, 2H), 3,88 (m, 1H).

i) [(R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl]-karbamidsyre-tert-butylester

I en suspensjon av (R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin (20 g, 64,659 mmol) i 2-Me-THF (20 ml) ble tilsatt ved romtemperatur DIPEA (9,831 g, 76,066 mmol) og (Boc)₂O (18,111 g, 82,984 mmol). Den resulterende blandingen ble oppvarmet til 60–65 °C og omrørt ved denne temperaturen for 17 h. n-Heptan (200 ml) ble tilsatt reaksjonsblandingen, deretter blandingen ble avkjølt til -20 °C. Suspensjonen ble filtrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et gult faststoff: ESIMS: 390; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,67 (m, 1H), 8,23 (m, 1H), 7,23 (t, 1 H), 6,06 (t, 1H), 4,83 (d, 1 H), 4,55 (d, 1 H), 4,46 (dd, 1H), 3,91 (d, 1 H), 1,50 (s, 9H).

j) [(R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

5 I en suspensjon av [(R)-5-difluormetyl-5-(2-fluor-5-nitro-fenyl)-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre *tert*-butylester (8 g, 19,23 mmol) i MeOH (56 ml) ble det tilsatt Pd(OH)₂/C (20 %, 50 % vann, 0,8 g). Atmosfæren i reaktoren ble erstattet av hydrogen (1 bar), deretter ble reaksjonsblandingen omrørt ved 20 °C i 5 h, filtrert gjennom mikrokrySTALLCELLULOSE og konsentrert. Det
10 ubearbeidede produktet ble rekrySTALLISERT fra MeOH og vann for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et hvitt faststoff: ESIMS: 360,1521; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,99 (s, 1 H), 6,83 (dd, 1 H), 6,74 (m, 1H), 6,50 (m, 1 H), 6,22 (t, 1H), 4,95 (s, 2H), 4,46 (dd, 2H), 4,03 (m, 1 H), 3,84 (m, 1H), 1,42 (s, 9H).

15

k) ((R)-5-{5-[(5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester

20 I en blanding av [(R)-5-(5-amino-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (636 g, 1,77 mol) og 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksylsyre (301 g, 1,86 mol) ble det tilsatt THF (4,2 l) under N₂-atmosfære ved omgivelsestemperatur. Til den omrørte blandingen ble det tilsatt N-metylmorfolin (428 ml, 3,89 mol), og blandingen ble omrørt for å danne
25 en homogen løsning. Reaksjonen løsning ble avkjølt til 0–5 °C før tilsetning av isobutylkloroformat (256 ml, 1,95 mol) via en tilsetningstrakt mens reaksjonstemperaturen ble holdt under 10 °C. Etter tilsetningen ble blandingen omrørt ved 0–10 °C i 1 h før filtrering. Filtratet ble avdampet in vacuo og den resulterende resten ble løst i blandingen av CH₂Cl₂ (3 l) og metanol (1 l).
30 Blandingen ble konsentrert in vacuo ved 400 mbar/35 °C inntil ingen flere flyktige stoffer kom ut, for å gi en slurry. Slurryen ble filtrert og filterkaken ble vasket med metanol inntil det vaskede materialet ble fargeløst. Den våte kaken ble tørket i en vakuumovn ved 45 °C i 24 h for å gi tittelforbindelse som et hvitt faststoff: ESIMS: 504; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,72 (s, 1H),
35 10,00 (s, 1H), 8,98 (s, 1 H), 8,39 (s, 1 H), 7,92 (m, 1H), 7,81 (m, 1 H), 7,24

(m, 1H), 6,30 (t, 1 H), 4,56 (d, 1 H), 4,44 (d, 1H), 4,12 (m, 1 H), 3,90 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 1,41 (s, 9H).

I) 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid

I en løsning av ((R)-5-{5-[(5-cyano-3-metylpyridin-2-karbonyl)-amino]-2-fluor-fenyl}-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-karbamidsyre-tert-butylester (23 g, 45,77 mmol) i DCM (615 ml) ble det under argon tilsatt TFA (23 ml, 302,27 mmol) under 25 °C. Etter omrøring i 18 h ved 25 °C, ble ytterligere TFA (12 ml, 151,13 mmol) tilsatt. Etter omrøring ved 25 °C i ytterligere 6 h, avkjølt til -5° C, stanset ved 12,5 % NH₃ vandig løsning (110 ml). DCM-fasen ble samlet, og vann (100 ml) ble tilsatt. DCM i difaseløsningen ble fjernet for å tilveiebringe en gulaktig suspensjon. filtrert og tørket for å tilveiebringe tittelforbindelsen som gulaktige krystaller. ESIMS: 404 [(M+H)⁺]; 1 H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆): 10,72 (s, 1H), 8,96 (s, 1 H), 8,38 (s, 1 H), 7,99 (dd, 1 H), 7,81 (m, 1 H), 7,18 (d, 1 H), 6,17 (br s, 2H), 6,15 (t, 1 H), 3,98 (m, 4H), 2,53 (s, 3H).

5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyren anvendt i trinn k ble fremstilt som følger:

m) 5-brom-3-metylpyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester

I den omrørte gulbleke løsningen av 5-brom-3-metylpyridin-2-karboksytsyre (20 g, 92,6 mmol), DMAP (0,57 g, 4,6 mmol) i DMF (120 ml) ble det tilsatt Boc-anhydrid (20,2 g, 92,6 mmol) ved omgivelsestemperatur. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 35–40 °C i 2 h før tilsetning av annen porsjon Boc-anhydrid (20,2 g, 92,6 mmol). Reaksjonen ble omrørt ved 35–40 °C i ytterligere 16 h for å oppnå full omdannelse til tittelforbindelsen, hvilken ble anvendt direkte i de følgende trinn uten ytterligere rensing. ESIMS: 272 [(M+H)⁺].

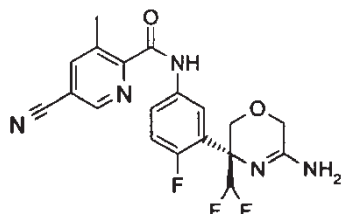
n) 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester

I en løsning av 5-brom-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester (48 g, 176 mmol) i DMF (253 ml) under N₂ atmosfære ble det i rekkefølge tilsatt Zn-pulver (1,15 g, 17,6 mmol), Pd₂(dba)₃ (4,04 g, 4,4 mmol), tri-tert-butylfosfin (214 g, 10,6 mmol, 10 vekt-% i n-heksan). Blandingen ble deretter oppvarmet til 50–60 °C under omrøring, på punkt Zn(CN)₂ (14,5 g, 123,5 mmol) ble tilsatt blandingen i én porsjon. Reaksjonsblandingen ble deretter oppvarmet ved 69 °C under omrøring. Etter 1 h ble reaksjonsblandingen tillatt å avkjøles til under 30 °C og filtrert. Filterkaken ble vasket med DMF. Filtratet ble tilsatt 2-metyltetrahydrofuran under omrøring og blandingen ble avkjølt til < 20 °C, til blandingen ble det langsomt tilsatt 3N vandig ammoniakkløsning under omrøring og blandingen ble deretter omrørt kraftig i 30 min ved 20–30 °C før separering i sjikt. Det organiske sjiktet ble vasket med saltløsning og konsentrert *in vacuo* for å gi tittelforbindelsen som et gulaktig krystallinsk faststoffs: ESIMS: 219; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, aceton-*d*₆): δ 8,79 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 2,49 (s, 3H), 1,60 (s, 9H).

o) 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre

I den omrørte løsningen av 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester (20,7 g, 94,9 mmol) i toluen (200 ml) ble det tilsatt H₂O (3,4 ml) ved omgivelsestemperatur. Blandingen ble deretter avkjølt til 0–5 °C under omrøring, på dette punktet TFA (200 ml) ble tilsatt blandingen langsomt mens reaksjonstemperaturen ble holdt ved 25–35 °C. Reaksjonsblandingen ble deretter oppvarmet ved 33 °C under omrøring. Etter 60 min, til reaksjonsblandingen ble det tilsatt toluen og blandingen ble konsentrert *in vacuo* til tilnærmet 1/4 av det opprinnelige volumet for å fjerne TFA ved azeotropisk destillering med toluen. Til den konsentrerte blandingen ble tilsatt toluen og blandingen ble avdampet *in vacuo* til tilnærmet 1/4 av det opprinnelige volumet. Den samme inndampingsmanipulasjonen ble gjentatt en gang og utfelt produkt ble samlet ved filtrering. Filterkaken ble vasket med toluen og tørket i vakuumovn at 50 °C i 8 h for å gi tittelforbindelsen som et blekgult krystallinsk faststoff: ESIMS: 163; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,90 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 2,46 (s, 3H).

Andre alternative fremgangsmåte for fremstillingen i eksempel 144: 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylysyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid



5

a) (R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin

10 I en løsning av (R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-morfolin-3-on (10 g, 30,86 mmol) i CH₂Cl₂ (100 ml) ble det tilsatt P₂S₅ (6,86 g, 30,86 mmol) ved romtemperatur. Den resulterende gule suspensjonen ble oppvarmet til reflux i 6,5 h. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom en pute av silikagel (200 - 300 mesh), vasket med CH₂Cl₂ 3 ganger for å få en brun løsning. Løsningsmidlet ble fjernet for å tilveiebringe det ubearbeidede produktet som et gult faststoff, 15 hvilket ble dispergert i THF (10 ml), deretter 25 % NH₃ vannløsning (60 ml) ble tilsatt ved romtemperatur. 20 timer senere ble reaksjonsblandingen ekstrahert med IPAC. Den kombinerte organiske fasen ble vasket med saltløsning, tørket over Na₂SO₄, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et gult faststoff.

20

ESIMS: [(M+H)+] 323; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO): δ 7,98 (dd, 1 H), 7,54 (m, 1H), 7,17 (m, 1 H), 6,32 (br s, 2H), 6,10 (t, 1H), 4,24 (dd, 1H), 3,98 (dd, 2H), 3,73 (m, 1H).

25

b) 5-brom-3-metyl-pyridin-2-karboksylysyre-tert-butylester

30

I en omrørt blekgul løsning av 5-brom-3-metylpyridin-2-karboksylysyre (20 g, 92,6 mmol), DMAP (0,57 g, 4,6 mmol) i DMF (120 ml) ble det tilsatt Boc-anhydrid (20,2 g, 92,6 mmol) ved omgivelsestemperatur. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 35–40 °C i 2 h før tilsetning av annen porsjon Boc-anhydrid (20,2 g, 92,6 mmol). Reaksjonen ble omrørt ved 35–40 °C i ytterligere 16 h for å

oppnå full omdannelse til tittelforbindelsen, hvilken ble anvendt direkte i de følgende trinn uten ytterligere rensing.

ESIMS: 272 [(M+H)+].

5 c) 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester

I en løsning av 5-brom-3-metylpyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester (48 g, 176 mmol) i DMF (253 ml) under N₂ atmosfære ble det i rekkefølge tilsatt Zn-pulver (1,15 g, 17,6 mmol), Pd₂(dba)₃ (4,04 g, 4,4 mmol), tri-tert-butylfosfin (214 g, 10,6 mmol, 10 vekt-% i n-heksan). Blandingen ble deretter oppvarmet til 50–60 °C under omrøring, på punkt Zn(CN)₂ (14,5 g, 123,5 mmol) ble tilsatt blandingen i én porsjon. Reaksjonsblandingen ble deretter oppvarmet ved 69 °C under omrøring. Etter 1 h ble reaksjonsblandingen tillatt å avkjøles til under 30 °C og filtrert. Filterkaken ble vasket med DMF. Filtratet ble tilsatt 2-metyltetrahydrofuran under omrøring og blandingen ble avkjølt til < 20 °C, til blandingen ble det langsomt tilsatt 3N vandig ammoniakkløsning under omrøring og blandingen ble deretter omrørt kraftig i 30 min ved 20–30 °C før separering i sjikt. Det organiske sjiktet ble vasket med saltløsning og konsentrert *in vacuo* for å gi tittelforbindelsen som et gulaktig krystallinsk faststoffs: ESIMS: 219; [(M+H)⁺]; ¹H NMR (400 MHz, aceton-d₆): δ 8,79 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 2,49 (s, 3H), 1,60 (s, 9H).

d) 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre

I den omrørte løsningen av 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksytsyre-tert-butylester (20,7 g, 94,9 mmol) i toluen (200 ml) ble det tilsatt H₂O (3,4 ml) ved omgivelsestemperatur. Blandingen ble deretter avkjølt til 0–5 °C under omrøring, på hvilket punkt TFA (200 ml) langsomt ble tilsatt blandingen mens reaksjonstemperaturen ble holdt ved 25–35 °C. Reaksjonsblandingen ble deretter oppvarmet ved 33 °C under omrøring. Etter 60 min ble det til reaksjonsblandingen tilsatt toluen og blandingen ble konsentrert *in vacuo* til ca. 1/4 av det opprinnelige volumet for å fjerne TFA ved azeotropisk destillering med toluen. Til den konsentrerte blandingen ble tilsatt toluen og blandingen ble avdampet *in vacuo* til ca. 1/4 av det opprinnelige volumet. Den samme inndampingsmanipulasjonen ble gjentatt en gang og utfelt produkt ble samlet ved filtrering. Filterkaken ble vasket med toluen og tørket i vakuumovn at 50 °C

i 8 h for å gi tittelforbindelsen som et blekgult krystallinsk faststoff: ESIMS: 163; $[(M+H)^+]$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,90 (s, 1H), 8,35 (s, 1 H), 2,46 (s, 3H).

5 **e) 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksyisyremetylester**

I en løsning av 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksyisyre (2 g, 12,4 mmol) i metanol (20 ml) ble tionylklorid tilsatt dråpevis under reflux. Blandingen ble deretter oppvarmet ved reflux under omrøring. Etter 60 min viste HPLC-analyse at reaksjonen var fullført. Reaksjonsblandingen ble tilsatt toluen og blandingen ble konsentrert *in vacuo* for å gi tittelforbindelsen som et blekgult faststoff: ESIMS: 177; $[(M+H)^+]$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,92 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 2,46 (s, 3H).

15 **f) 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksyisyreamid**

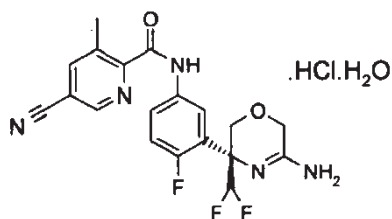
I en løsning av 5-cyano-3-metylpyridin-2-karboksyisyremetylester (1 g, 5,6 mmol) i metanol (5 ml) ble det tilsatt ammoniakk (4 ml, 28 mmol, 7N løsning i metanol). Blandingen ble deretter oppvarmet ved 50 °C under omrøring i et forseglett rør. Etter 60 min viste HPLC-analyse at reaksjonen var fullført. Blandingen ble konsentrert *in vacuo* for å gi tittelforbindelsen som et blekgult faststoff: ESIMS: 162; $[(M+H)^+]$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 8,87 (d, 1 H), 8,30 (d, 1 H), 8,09 (br s, 1 H), 7,74 (br s, 1 H), 2,50 (s, 3H)

25 **g) 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksyisyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid**

50 mg (R)-5-(5-brom-2-fluor-fenyl)-5-difluormetyl-5,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-ylamin, 30 mg 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksyisyreamid, 3,0 mg CuI og 65 mg K_3PO_4 ble fylt i reaktoren under N_2 -atomosfære. 1,0 ml dioksan ble tilsatt. Fulgt av 3,0 mg N1,N2-dimetyletan-1,2-diamin. Den resulterende reaksjonsblandingen ble oppvarmet til reflux og holdt i 23 h. Avkjølt til 23 °C deretter fortynnet med 15 ml IPAc. Den organiske fasen ble vasket med vann (5 ml x 2), konsentrert tørr under redusert trykk, rensing via kolonnekromatografi på silikagel (IPAc-Heptan 2:1 til 3:1) ga 30 mg hvitt faststoff. ESIMS: $[M+H]^+ =$

403,9, ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 10,72 (s, 1 H), 8,96 (s, 1 H), 8,38 (s, 1 H), 7,99 (dd, 1 H), 7,81 (m, 1 H), 7,18 (d, 1 H), 6,17 (br s, 2H), 6,15 (t, 1 H), 3,98 (m, 4H), 2,53 (s, 3H).

5 **Eksempel 144a: fremstilling av 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amidhydrokloridhydrat**



10

2,3 g 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid (5,702 mml) ble lagt i en 4-halset kolbe. I en Erlenmeyer-kolbe ble det tilsatt 92 ml acetonitril og 4,6 ml vann. Blandingen ble ristet i noen få sekunder og 561,6 mg HCl 37 % (5,702 mmol) ble tilsatt. Løsningen ble ristet på nytt i noen få sekunder og ble deretter tilsatt i den 4-halsede kolben i porsjoner. Blandingen ble omrørt med et røreverk og ble oppvarmet i et vannbad opptil 85 °C. Ved 85 °C var alt faststoffet fullstendig oppløst og en litt gulaktig, klar løsning ble oppnådd. Løsningen fikk bli stående ved rt for å avkjøles under omrøring. Utfelling skjedde ved 40 °C. Suspensjonen fikk omrøres natten over og ble filtrert etter 16 timer gjennom et Büchner-filter. Det isolerte materialet ble tørket i en ovn ved rt i 16h og 1854,5 mg av et hvitt pulver ble oppnådd.

15

20

25 **Eksempel 152: Krystallinsk 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid**

5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid ble løst i EtOAc, isopropanol ble tilsatt

og den resulterende løsningen konsentrert ved redusert trykk. Denne fremgangsmåten ble gjentatt inntil det meste av produktet var krystallisert.

Det resulterende krystallinske materialet ble analysert ved XRPD og de ti mest karakteristiske toppene er vist i tabell 18 (se også figur 1).

5 Tabell 18

Grader 2- θ	d-mellomrom (Å)	Intensitet (antall)	Relativ intensitet %
8,29	10,65649	9840	Høy
10,813	8,17512	5198	Middels
14,077	6,28645	1911	Lav
14,525	6,09337	2446	Lav
16,624	5,32842	19854	Høy
18,919	4,68693	3766	Middels
21,453	4,13863	3862	Middels
22,244	3,99323	6947	Middels
23,327	3,81033	4257	Middels
25,436	3,49889	3672	Middels
28,495	3,12985	5558	Middels

Røntgenpulverdiffraksjon (XRPD)-analyse ble utført ved anvendelse av et Brucker D8 Advance røntgendiffraktometer. Målinger ble tatt ved ca. 30 kV og 40 mA under de følgende betingelsene:

10

Skannerate (kontinuerlig skanning):	0,3 s/trinn (tilsvarer 107,1 s trinntid)
Trinnstørrelse:	0,017° (2 theta)
Sollerspalt	2,5°
Spalter (fra venstre mot høyre):	V12 (variabel), 6 mm antispredningsspalte

Røntgendiffraksjonsmønsteret ble registrert mellom 2° og 40° (2 theta) med CuK α -stråling for identifisering av hele mønsteret.

15

Det krystallinske materialet ble også analysert ved differensialskannekalorimetri ved anvendelse av en PerkinElmer DSC7 og ble funnet å ha et startsmeltepunkt på ca. 227 °C (227,46 °C).

5 **Fremstilling av mellomprodukter**

De substituerte syrebygggesteinene var enten kommersielt tilgjengelig eller kan fremstilles som beskrevet i litteraturen eller på en analog måte, f.eks. WO 2005063738, WO 2009091016, WO 2010047372, Bioorg. Med. Chem. 2001, 9, 2061–2071 eller kan fremstilles som beskrevet heretter eller på en analog måte.

Syre-1: 5-cyano-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre

a) 5-brom-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre

En suspensjon av 2,16 g (0,00 mmol) 5-brom-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre i 36 ml D₂O (99,96 % D) ble behandlet med 4 ml en 40 % løsning av NaOD i D₂O. Den homogene løsningen ble oppvarmet i en 100 ml teflonbeholder med et Synthos 3000 mikrobølgeapparat. Blandingen ble oppvarmet ved 160 °C i 5 h og kjølt ned. 1 H-NMR- og MS-analyser av produktet viste at deuteriseringen var fremskredet til en høy grad. Kun mindre mengder av tetradeuteroderivater var til stede. Reaksjonsblandingen ble surgjort til pH3 med 2N HCl og ekstrahert med EtOAc. Den organiske fasen ble tørket med MgSO₄·H₂O og inndampet for å gi tittelforbindelsen som et hvitt faststoff, rent nok for ytterligere transformasjoner.

HPLC: Rt_{H₂} = 2,829 min; ESIMS [M+H]⁺ = 221, 223 (1 Br, 5D);

b) 5-brom-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre-tert-butylester

En løsning av 1,65 g (7,46 mmol) 5-brom-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre og to dråper DMF ble løst i 17 ml DCM. Oksalyklorid (1,3 ml, 14,9 mmol) satt til dråpevis. Utviklingen av gass startet umiddelbart.

Etter omrøring i 2 h ved 25 °C ble blandingen avdampet, tatt opp i toluen og inndampet på nytt. Den resterende brunaktige harpiksen ble løst i 3 ml THF og tilsatt en omrørt løsning av 14 ml (22,39 mmol) BuLi (1,6 M i heksan) i 24 ml t-BuOH. Etter 1 h ble blandingen helt over 10 % vandig NH₄Cl og ekstrahert med TBME. Det organiske sjiktet ble vasket med saltløsning, tørket med MgSO₄·H₂O og inndampet. Kromatografi på silikagel (heksan/EtOAc 9:1) ga tittelforbindelsen som en fargeløs væske.

HPLC: Rt_{H1} = 3,002 min; ESIMS [M+H]⁺ = 277, 279 (1 Br, 5D);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): 1,65 (s, 9H).

c) 5-cyano-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre-tert-butylester

En blanding av 1,41 g (5,09 mmol) 5-brom-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre-tert-butylester, 0,418 g (3,56 mmol) Zn(CN)₂, 0,033 g Zn-pulver (0,509 mmol) og 0,265 g (0,254 mmol) Pd₂(dba)₃·CHCl₃ ble suspendert i 14 ml DMF under nitrogenatmosfære. En 0,25 M løsning av tBu₃P i dioksan (4,0 ml, 1,02 mmol) ble tilsatt og blandingen ble omrørt i 16 h ved 60 °C. Etter å ha blitt avkjølt ble blandingen fortynnet med TBME, filtrert over kiselgur og vasket med saltløsning tre ganger. Det ubearbeidede produktet ble rensed ved kolonnekromatografi på silikagel (heksan/EtOAc 5-15 %) for å gi tittelforbindelsen som et offwhite faststoff.

HPLC: Rt_{H3} = 3,275 min; ESIMS [M+Na]⁺ = 246 (5D);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): 1,68 (s, 9H);

Ft-IR: 2231 cm⁻¹ (CN).

d) 5-cyano-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre

I en løsning av 825 mg (3,69 mmol) 5-cyano-4,6-dideutero-3-trideuterometyl-pyridin-2-karboksylsyre-tert-butylester i 5,1 g (37 mmol) 1,3-dimetoksybenzen ble det tilsatt 8,3 ml TFA og omrørt i 6,5 h. Reaksjonsblanding ble fortynnet med toluen og inndampet. Resten ble tatt opp i toluen og inndampet (2ks). Produktet ble krystallisert fra TBME/heksan for å gi tittelforbindelsen som et hvitt pulver.

HPLC: Rt_{H2} = 2,397 min; ESIMS [M+H]⁺ = 168 (5D);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): ikke-deutererte urenheter.

Syre-3: 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre

5 Tittelforbindelsen ble fremstilt ved en analog fremgangsmåte som for Syre-1 startende med 5-brom-3-metyl-pyridin-2-karboksylsyre i stedet for det deutererte derivatet [Syre-1 trinn a)].

R_f (heksan /EtOAc 6: 1) = 0,28

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): 8,09 (dd, 1 H), 7,79 (ddd, 1 H), 7,17 (t, 1H), 6,44 (t, J = 45 Hz, 1 H).

10

Eksempel 186: Biologisk aktivitet for forbindelser med formelen I

Forbindelsene i eksemplene ovenfor viser de følgende IC₅₀-verdier i test 1 beskrevet ovenfor:

15

Tabell 22

Eksempel	Bace IC ₅₀ [μM]
72	0,010
112	0,042
144	0,017

Visse forbindelser i eksemplene ovenfor viser de følgende IC₅₀-verdier i test 4 beskrevet ovenfor:

20

Tabell 23

Eksempel	Bace IC ₅₀ [μM]
72	0,003
112	0,007
144	0,006

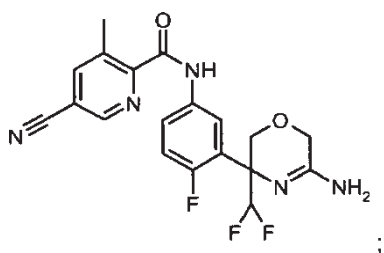
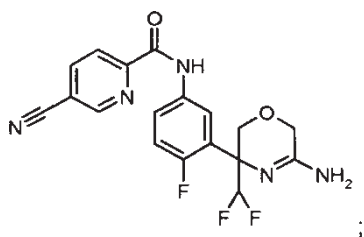
Beskrivelser av figurene

Figur 1 viser røntgenpulverdiffraksjonsmønsteret for en krystallinsk form av 5-cyano-pyridin-2-karboksytsyre [3-((R)-5-amino-3-difluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid målt ved anvendelse av CuK_α -stråling. For nærmere detaljer, se eksempel 152.

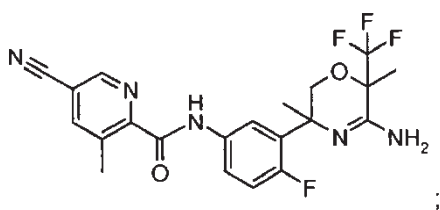
- 5 Figur 2 viser røntgenpulverdiffraksjonsmønsteret for krystallinsk 5-cyano-3-metyl-pyridin-2-karboksytsyre [3-((3R,6R)-5-amino-3,6-dimetyl-6-trifluormetyl-3,6-dihydro-2H-[1,4]oksazin-3-yl)-4-fluor-fenyl]-amid målt ved anvendelse av CuK_α -stråling. For nærmere detaljer, se eksempel 72b.

Patentkrav

1. Forbindelse valgt fra gruppen bestående av:



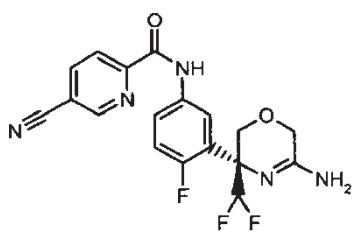
5



og farmasøytisk akseptable salter derav.

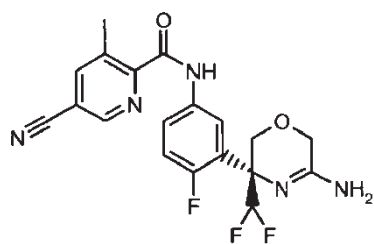
10

2. Forbindelse ifølge krav 1 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som har følgende formel

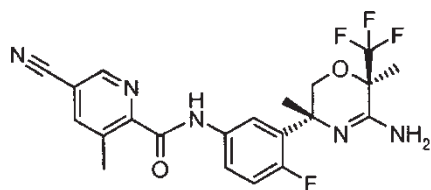


15

3. Forbindelse ifølge krav 1 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som har følgende formel



4. Forbindelse ifølge krav 1 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som har følgende formel



5. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4 i fri form.

6. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4 i farmasøytisk akseptabelt saltform.

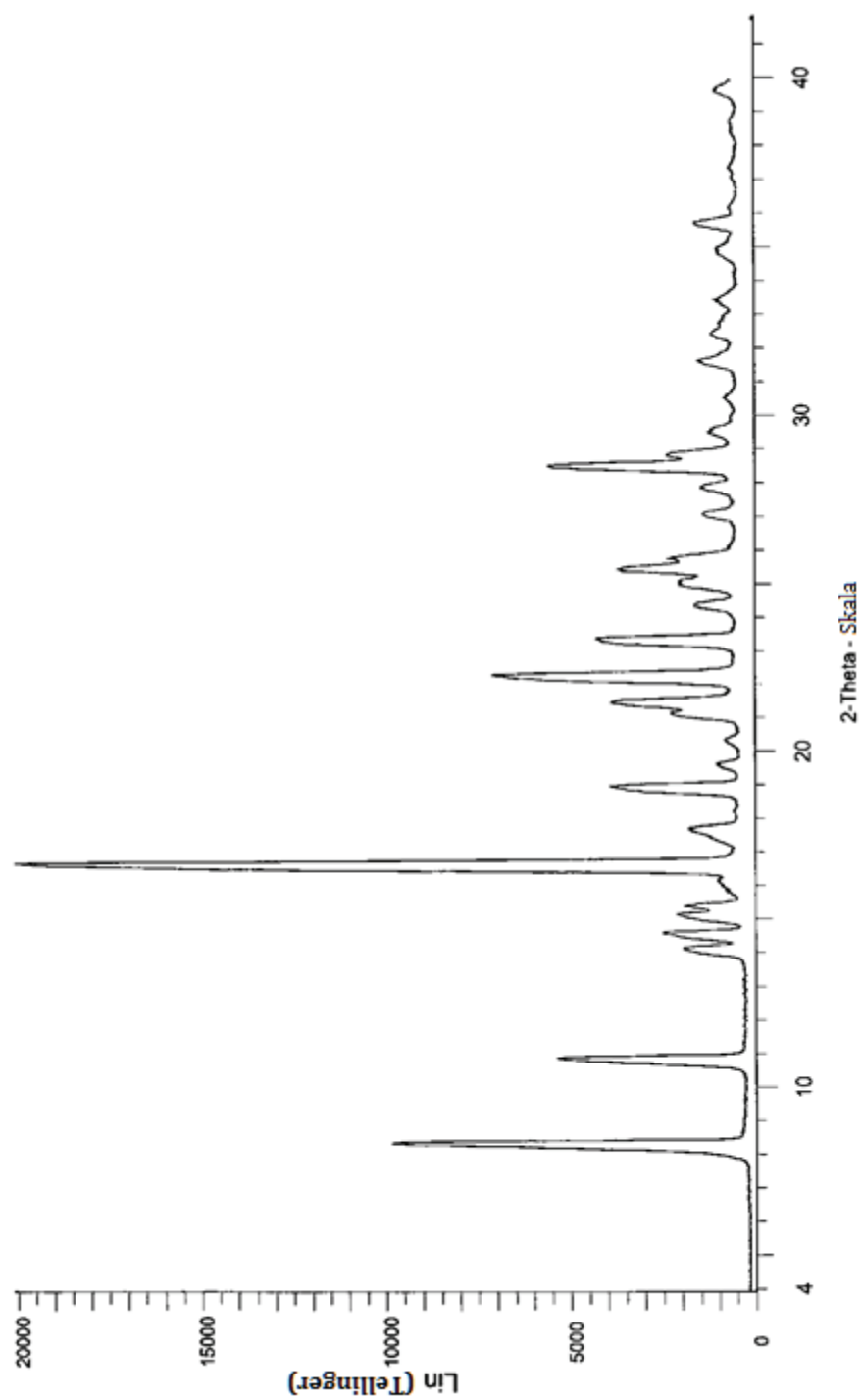
7. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4 i hydrokloridsaltform.

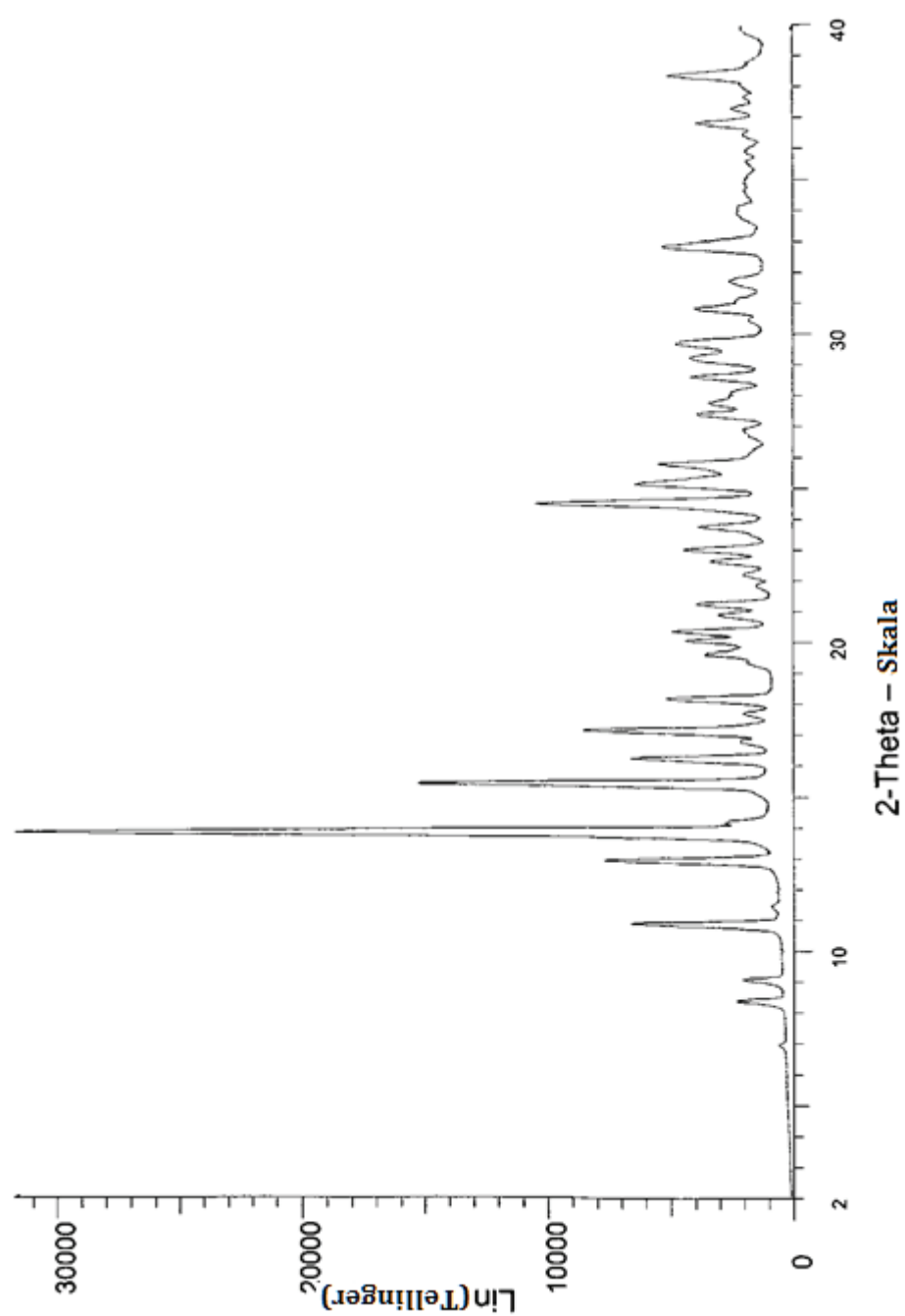
8. Farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som aktiv ingrediens og en farmasøytisk bærer eller fortynningsmiddel.

9. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 4 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, for anvendelse som et legemiddel.

10. Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 2 til 4 eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, til anvendelse i behandlingen av Alzheimers sykdom.

1

**Figur 1**

**Figur 2**