

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 961 499**

51 Int. Cl.:

C07D 221/20 (2006.01)
C07D 205/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)
A61K 31/397 (2006.01)
A61K 31/438 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.10.2017** **PCT/US2017/058405**
87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2018** **WO18081343**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.10.2017** **E 17797805 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2023** **EP 3532459**

54 Título: **Inhibidores de LSD1 y usos médicos de los mismos**

30 Prioridad:

26.10.2016 US 201662413166 P
26.10.2016 US 201662413162 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.03.2024

73 Titular/es:

CONSTELLATION PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
470 Atlantic Avenue, Suite 1401
Boston, MA 02210, US

72 Inventor/es:

BRUCELLE, FRANCOIS;
GEHLING, VICTOR, S. y
KHANNA, AVINASH

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 961 499 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de LSD1 y usos médicos de los mismos

5 **Solicitudes relacionadas**

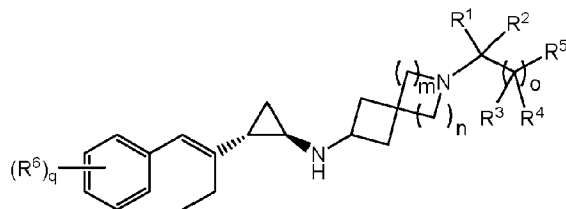
La presente solicitud reivindica prioridad a la solicitud provisional de Estados Unidos N° 62/413.162, presentada el 26 de octubre de 2016 y a la solicitud provisional de Estados Unidos N° 62/413.166, presentada el 26 de octubre de 2016.

10 **Antecedentes**

La desmetilasa específica de lisina (LSD1), también conocida como desmetilasa 1A específica de lisina (K) (LSD1), es una proteína presente en seres humanos que está codificada por el gen KDM1A y que desmetila específicamente la histona monometilada o dimetilada H3 lisina4 (H3K4) y H3 lisina 9 (H3K9) mediante un proceso redox. Biochimica et Biophysica Acta 1829 (2013) 981-986. Se ha descubierto que la LSD1 posee propiedades oncogénicas en diversos tipos de cáncer, entre los que se incluyen cáncer de próstata (Cancer Res., 66 (2006) páginas 11341-11347), cáncer de vejiga (Mol. Carcinog., 50 (2011), páginas 931-944), neuroblastomas (Cancer Res., 69 (2009), páginas 2065-2071), cánceres de pulmón, (PLoS One, 7 (2012), página e35065), sarcomas y hepatocarcinomas (Tumor Biol., 34 (2013), páginas 173-180). Se ha demostrado que los inhibidores farmacológicos del LSD1, por ejemplo, tratan leucemias (Nat. Med., 18 (2012), páginas 605-611) y también tumores sólidos (Tumor Biol., 34 (2013), páginas 173-180). El documento WO 2013/057320A1 se refiere a compuestos de (hetero)aril-ciclopropilamina y a su uso en terapia, incluyendo, por ejemplo, en el tratamiento o la prevención de cáncer, una enfermedad o afección neurológica o una infección vírica. El documento WO 2016/123387 se refiere a inhibidores de LSD1 y a su uso en el tratamiento de diversos trastornos mediados por LSD1. Stazi, G. et al., Expert Opinion on Therapeutic Patents, vol. 26, N° 5 (28 de marzo de 2016), páginas 565-580, es una revisión de patente que se refiere a inhibidores de LSD1 que abarca los años 2010 a 2015. Przespolewski, A. et al., Expert Opinion on Investigational Drugs, vol. 25, N° 7 (21 de abril de 2016), página 771-780 se refiere a inhibidores de LSD1 como terapia potencial para la leucemia mieloide aguda. Lynch, J.T. et al., Expert Opinion on Therapeutic Tar., vol. 16, N° 12 (2012), páginas 1239-1249 se refiere a la estructura y la actividad enzimática del LSD1, a su papel en complejos reguladores de la cromatina, a sus papeles funcionales en tejido normal y maligno, a inhibidores farmacológicos de su actividad y a sus supuestos papeles terapéuticos.

Sumario

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula:



en los que la configuración estereoquímica alrededor del anillo de ciclopropilo es 1R,2S,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que

n es 1 o 2;

m es 1 o 2;

o es 0 o 1;

q es 0, 1, 2 o 3;

R¹ es hidrógeno o alquilo (C₁-C₆);

R² es hidrógeno o alquilo (C₁-C₆) opcionalmente sustituido con OH o alcoxi (C₁-C₆);

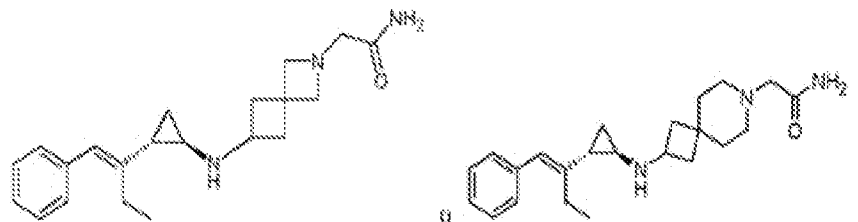
R³ y R⁴, si están presentes, se seleccionan cada uno independientemente de entre hidrógeno, halo, OH, alquilo (C₁-C₆);

R⁵ se selecciona de entre NH₂, -NH(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -NH(SO₂)alquil (C₁-C₆)Oalquilo (C₁-C₆), -NHC(O)alquilo (C₁-C₆), -NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), OH, -Oalquilo (C₁-C₆), -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NHalquilo (C₁-C₆), -C(O)N[alquilo (C₁-C₆)]₂, -C(O)NH(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -C(O)NHalquil (C₁-

C₆)(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -C(O)NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), -C(O)NHalquilo (C₁-C₆)OH, -C(O)NHalquilo (C₁-C₆)Oalquilo (C₁-C₆) y alquilo (C₁-C₄) sustituido con OH; y

R⁶, si está presente, se selecciona de entre alquilo (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), haloalcoxi (C₁-C₆), halo y ciano;

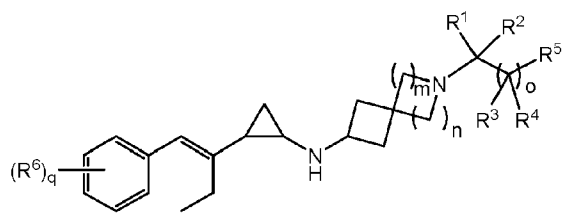
siempre que el compuesto no sea de fórmula:



o una sal del mismo.

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, así como a dichos compuestos o composiciones para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de entre CML (leucemia mielógena crónica), T-ALL (leucemia linfoblástica aguda T), neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, reactivación del virus del herpes simple e infección por VIH.

Se ha descubierto ahora que los compuestos de fórmula estructural:



en los que la configuración estereoquímica alrededor del anillo de ciclopropilo es 1R,2S,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y composiciones que comprenden compuestos de esta fórmula, en la que cada uno de R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, m, n, o y q se definen y se describen en el presente documento, son inhibidores eficaces de LSD1. Véase la tabla 6 en la sección de Ejemplificación más adelante. En el presente documento se describen afecciones tratadas con los compuestos divulgados.

Breve descripción de las figuras

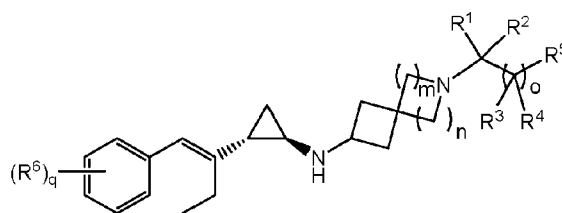
La figura 1 representa la estructura cristalina de rayos X del intermedio (S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina.

La figura 2 representa la estructura cristalina de rayos X de la sal monocitrato del compuesto 2.

Descripción detallada de determinadas formas de realización

1. Descripción general de compuestos

La presente divulgación se refiere a compuestos de la fórmula:



en los que la configuración estereoquímica alrededor del anillo de ciclopropilo es 1R,2S,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que

n es 1 o 2;

m es 1 o 2;

o es 0 o 1;

q es 0, 1, 2 o 3;

R¹ es hidrógeno o alquilo (C₁-C₆);

R² es hidrógeno o alquilo (C₁-C₆) opcionalmente sustituido con OH o alcoxi (C₁-C₆);

R³ y R⁴, si están presentes, se seleccionan cada uno independientemente de entre hidrógeno, halo, OH, alquilo (C₁-C₆);

R⁵ se selecciona de entre NH₂, -NH(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -NH(SO₂)alquil (C₁-C₆)Oalquilo (C₁-C₆), -NHC(O)alquilo (C₁-C₆), -NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), OH, -Oalquilo (C₁-C₆), -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NHalquilo (C₁-C₆), -C(O)N[alquilo (C₁-C₆)]₂, -C(O)NH(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -C(O)NHalquil (C₁-C₆)(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -C(O)NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), -C(O)NHalquil (C₁-C₆)OH, -C(O)NHalquil (C₁-C₆)Oalquilo (C₁-C₆) y alquilo (C₁-C₄) sustituido con OH; y

R⁶, si está presente, se selecciona de entre alquilo (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), haloalcoxi (C₁-C₆), halo y ciano;

2. Compuestos y definiciones

Los términos "halo" y "halógeno", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a un átomo seleccionado de entre flúor (fluoro, F), cloro (cloro-, Cl), bromo (-bromo, Br) y yodo (yodo-, I).

El término "alquilo" usado solo o como parte de un resto mayor, tal como "alcoxi", "haloalquilo" y similares, significa un radical hidrocarburo monovalente saturado de cadena lineal o ramificado. A menos que se especifique lo contrario, un grupo alquilo normalmente tiene 1-6 átomos de carbono es decir, alquilo (C₁-C₆). Tal como se utiliza en el presente documento, un grupo "alquilo (C₁-C₆)" significa un radical que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en una disposición lineal o ramificada.

El término "haloalquilo" incluye grupos monohaloalquilo, polihaloalquilo y perhaloalquilo en los que los halógenos se seleccionan independientemente de entre flúor, cloro, bromo y yodo.

"Alcoxi" significa un radical alquilo unido a través de un átomo de enlace de oxígeno, representado por -O-alquilo. Por ejemplo, "alcoxi (C₁-C₄)" incluye metoxi, etoxi, propoxi y butoxi.

Cuando se usa en conexión para describir un grupo químico que puede tener múltiples puntos de unión, un guión (-) designa el punto de unión de ese grupo a la variable a la que se define. Por ejemplo, -NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆) significa que el punto de unión de este grupo se encuentra en el átomo de nitrógeno.

Los compuestos divulgados existen en diversas formas estereoisoméricas. Los estereoisómeros son compuestos que difieren solo en la disposición espacial de sus átomos. Diferentes disposiciones espaciales en un compuesto pueden ser el resultado de, por ejemplo, la orientación de cuatro sustituyentes diferentes alrededor de un átomo de carbono quiral (es decir, un centro quiral), la orientación de dos o más sustituyentes alrededor de un doble enlace o la orientación de dos o más sustituyentes en un anillo de cicloalquilo.

Los enantiómeros son un tipo de estereoisómero que puede producirse a partir de un centro quiral o de centros quirales. Los enantiómeros son pares de estereoisómeros cuyas imágenes especulares no son superponibles, más comúnmente porque contienen un átomo de carbono o átomos de carbono sustituidos asimétricamente que actúan como centro quiral o centros quirales. "R" y "S" representan la configuración absoluta de sustituyentes alrededor de uno o más átomos de carbono quirales, en los que a cada centro quiral se le asigna el prefijo "R" o "S" dependiendo de si la configuración del centro quiral es hacia la derecha (rotación en el sentido de las agujas del reloj) o hacia la izquierda (rotación en sentido contrario a las agujas del reloj). Si el giro es en el sentido de las agujas del reloj o hacia la derecha alrededor de un carbono quiral, la designación es "R" de *rectus*. Si el giro es en sentido contrario a las agujas del reloj o hacia la izquierda alrededor de un carbono quiral, la designación es "S" de *sinister*.

La pureza enantiomérica refleja el grado en el que un enantiómero de un compuesto está presente de forma predominante sobre el otro enantiómero de ese compuesto. Se determina restando de la composición porcentual del enantiómero principal la composición porcentual del enantiómero secundario que está presente. Por ejemplo, una

mezcla racémica tiene una pureza enantiomérica del 0%, mientras que un único enantiómero completamente puro tiene una pureza enantiomérica del 100%. Una composición con el 70% de un enantiómero y el 30% del otro tiene una pureza enantiomérica del 40% (70% - 30%).

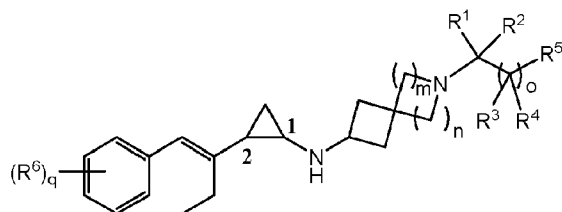
5 Los diastereómeros son estereoisómeros que no están relacionados como objeto e imagen especular y no son enantiómeros. A diferencia de los enantiómeros que son imágenes especulares entre sí y no superponibles, los diastereómeros no son imágenes especulares entre sí y no son superponibles. Los diastereómeros tienen dos o más centros quirales.

10 Los isómeros geométricos se producen cuando dos o más sustituyentes presentes en un doble enlace o anillo pueden tener diferentes orientaciones espaciales entre sí debido a la presencia del doble enlace o la estructura del anillo. Cuando la orientación de los sustituyentes de un isómero geométrico se encuentra en lados opuestos del doble enlace, se dice que esos sustituyentes son "trans" entre sí o se denotan con la letra "E". Cuando la orientación de los sustituyentes de un isómero geométrico se encuentra en el mismo lado del doble enlace, se dice que esos sustituyentes son "cis" entre sí o se denotan con la letra "Z".

15 Cuando la configuración de dos o más sustituyentes alrededor de un doble enlace está indicada por estructura; por designaciones "E" o "Z"; por "cis" o "trans"; o mediante una combinación de lo anterior, se debe entender que la pureza estereoquímica representada con respecto a ese doble enlace es al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% en peso. Pureza estereoquímica en peso con respecto a un doble enlace significa el porcentaje en peso del compuesto en una composición que tiene la estereoquímica indicada alrededor del doble enlace.

20 Cuando un compuesto se representa por estructura sin indicar la estereoquímica en un centro quiral, se debe entender que la estructura incluye cualquier configuración en el centro quiral o, alternativamente, cualquier mezcla de configuraciones en ese centro quiral.

Las posiciones 1 y 2 del anillo de ciclopropilo representan lo siguiente:

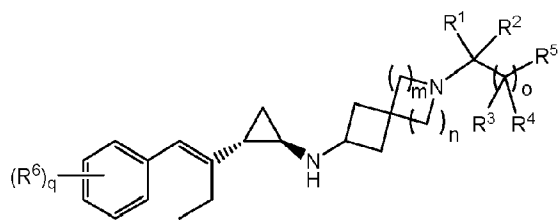


Los compuestos descritos en el presente documento pueden estar presentes en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Para su uso en medicamentos, las sales de los compuestos de la invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Las formas de sal farmacéuticamente aceptables incluyen sales ácidas/aniónicas o básicas/catiónicas farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, sales de ácidos inorgánicos (tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico y sulfúrico) y de ácidos orgánicos (tales como ácido acético, ácido bencenosulfónico, benzoico, metanosulfónico y p-toluenosulfónico). Los compuestos de las presentes enseñanzas con grupos ácidos tales como ácidos carboxílicos pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con base(s) farmacéuticamente aceptable(s). Las sales básicas farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, por ejemplo, sales de amonio, sales de metales alcalinos (tales como sales de sodio y potasio) y sales de metales alcalinotérreos (tales como sales de magnesio y calcio). Los compuestos con un grupo amonio cuaternario también contienen un contraanión tal como cloruro, bromuro, yoduro, acetato, perclorato y similares. Otros ejemplos de dichas sales incluyen clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, benzoatos y sales con aminoácidos tales como ácido glutámico.

Los términos "sujeto" y "paciente" pueden usarse indistintamente y significan un mamífero que necesita tratamiento, por ejemplo, animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, ovejas, cabras y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas y similares). Normalmente, el sujeto es un ser humano que necesita tratamiento.

3. Descripción de compuestos de ejemplo

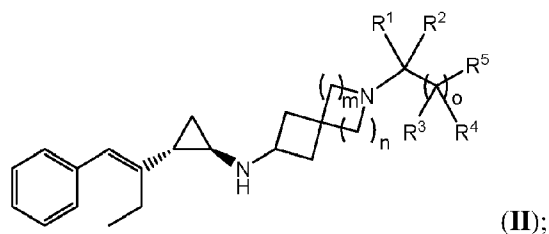
En una primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de Fórmula Ia:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que las variables son tal como se han descrito anteriormente.

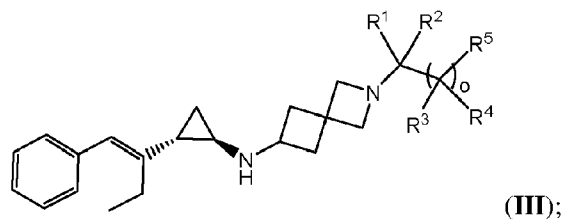
- 5 En una segunda forma de realización, R^6 en la Fórmula la se selecciona de entre metilo, etilo, halometilo, haloetilo, metoxi, halometoxi, halo y ciano, en la que las variables restantes son tal como se han descrito en la primera forma de realización.

- 10 En una tercera forma de realización, el compuesto de Fórmula la es de la Fórmula II:

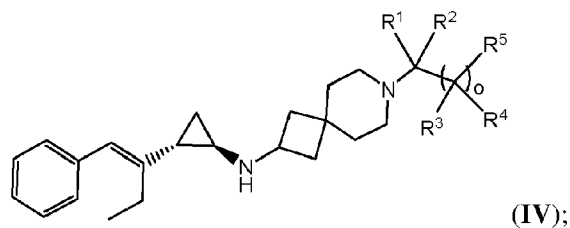


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 En una cuarta forma de realización, el compuesto de Fórmula la o II es de la Fórmula III:

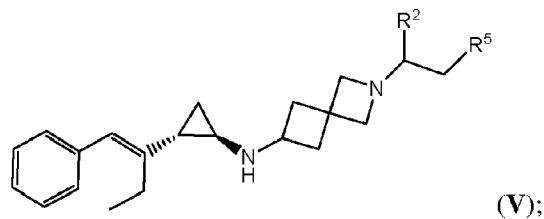


- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una quinta forma de realización, el compuesto de Fórmula la, o II es de la fórmula IV:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

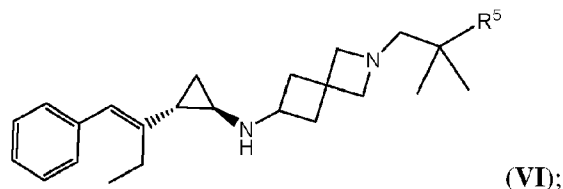
- 25 En una sexta forma de realización, el compuesto de Fórmula la, II o III es de la Fórmula V:



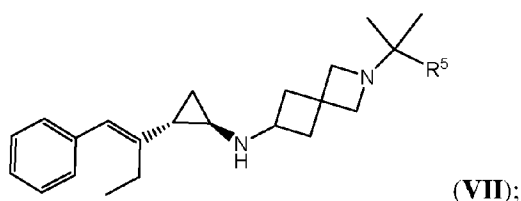
- 30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una séptima forma de realización, R^2 en los compuestos de Fórmula Ia, II, III, IV o V es hidrógeno, metilo o hidroxialquilo (C_1-C_4), en los que las variables restantes son tal como se han descrito en la segunda forma de realización. Alternativamente, R^2 en el compuesto de Fórmula Ia, II, III, IV o V es hidroxialquilo (C_1-C_4), en el que las variables restantes son tal como se han descrito en la segunda forma de realización. En otra alternativa, R^2 en los compuestos de fórmula Ia, II, III, IV o V es hidroxialquilo (C_1-C_2), en el que las variables restantes son tal como se han descrito en la segunda forma de realización.

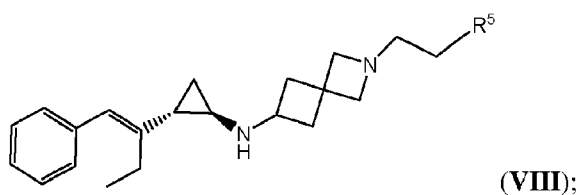
En una octava forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II, o III es de la Fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una novena forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II o III es de la fórmula:

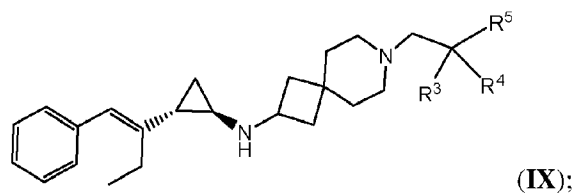


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una décima forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II o III es de la fórmula:



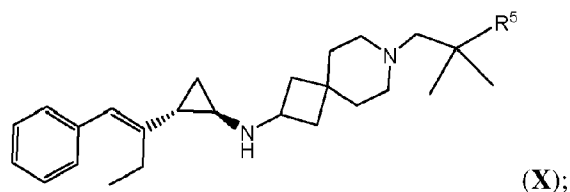
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una decimoprimer forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II o IV es de la Fórmula:



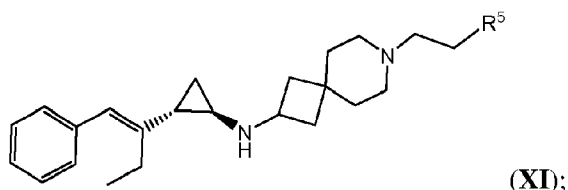
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una decimosegunda forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II, IV, o IX es de la Fórmula:



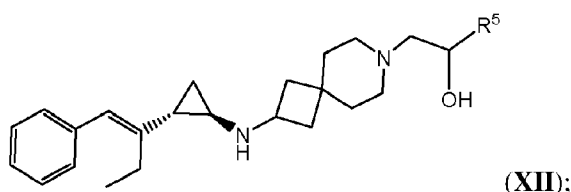
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una decimotercera forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II, IV o IX es de la Fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

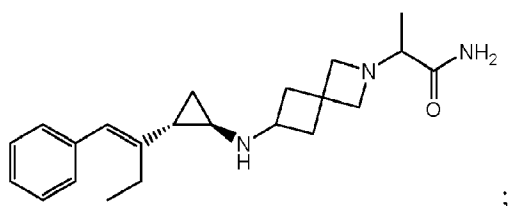
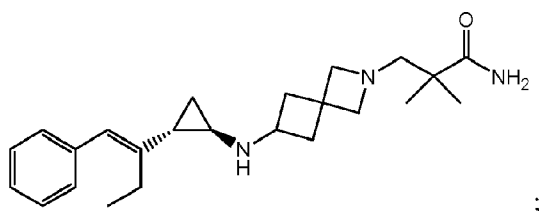
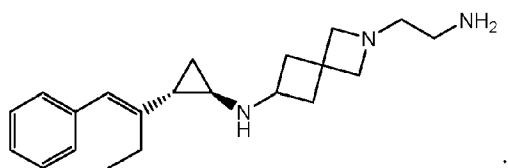
En una decimocuarta forma de realización, el compuesto de Fórmula Ia, II, IV, o IX es de la Fórmula:

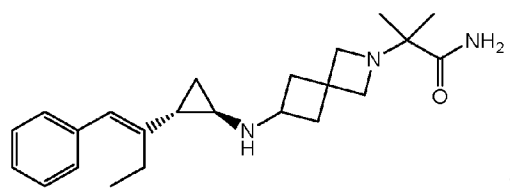


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

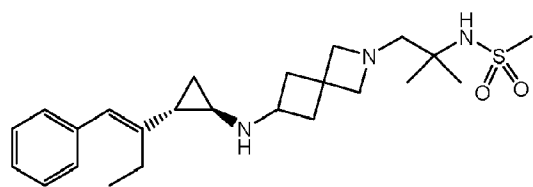
En una decimoquinta forma de realización, R⁵ en uno cualquiera de los compuestos de Fórmula Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI o XII es NH₂, -NH(SO₂)alquilo (C₁-C₄), -NH(SO₂)alquil (C₁-C₄)Oalquilo (C₁-C₄), -NHC(O)alquilo (C₁-C₄), -NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), OH, -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NHalquilo (C₁-C₄), -C(O)NH(SO₂)alquilo (C₁-C₄), -C(O)NHalquil (C₁-C₄)(SO₂)alquilo (C₁-C₄), -C(O)NHalquil (C₁-C₄)OH o alquilo (C₁-C₂) sustituido con OH, en el que las variables restantes son tal como se han descrito en las formas de realización segunda o séptima. Alternativamente, R⁵ en uno cualquiera de los compuestos de Fórmula Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI o XII es NH₂, -NH(SO₂)CH₃, -NH(SO₂)(CH₂)₂OCH₃, -NH(SO₂)CH(CH₃)₂, -NH(SO₂)CH₂CH₃, -NHC(O)CH₃, -NH(SO₂)ciclopropilo, OH, -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NH(SO₂)CH₃, -C(O)NH(CH₃)₂, -C(O)NHCH(CH₃)₂, -C(O)NHCH₂CH₃, -C(O)NH(CH₂)₂(SO₂)CH₃, -C(O)NH(CH₂)₂OH o -CH₂OH, en los que las variables restantes son tal como se han descrito en las formas de realización segunda o séptima. En otra alternativa, R⁵ en uno cualquiera de los compuestos de Fórmula Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI o XII es -C(O)NH₂, OH, -SO₂NH₂ o -NH(SO₂)CH₃, en los que las variables restantes son tal como se han descrito en las formas de realización segunda o séptima. En otra alternativa, R⁵ en uno cualquiera de los compuestos de Fórmula Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI o XII es -OH, en los que las variables restantes son tal como se han descrito en las formas de realización segunda o séptima.

En una decimosexta forma de realización, el compuesto se selecciona de entre

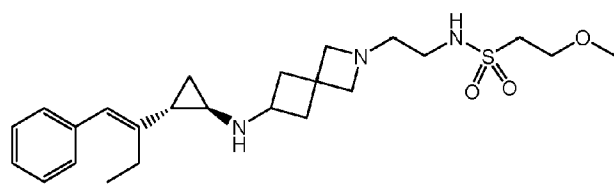




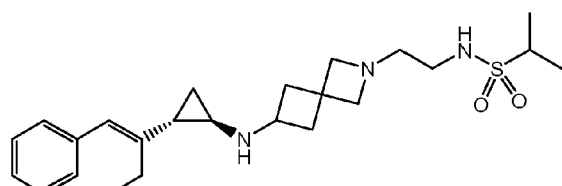
;



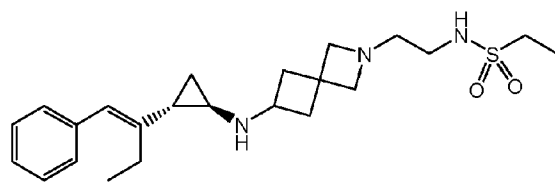
;



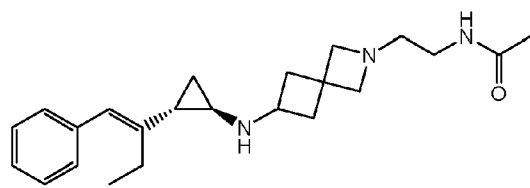
;



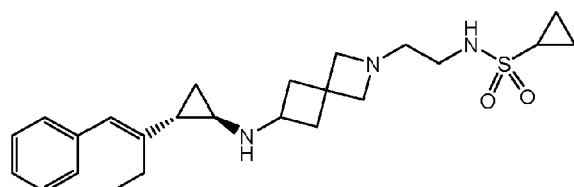
;



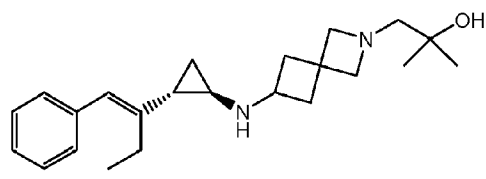
;



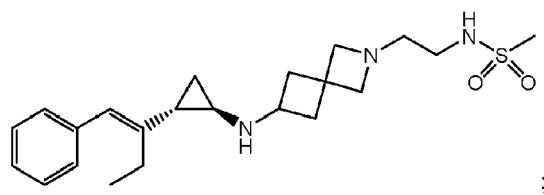
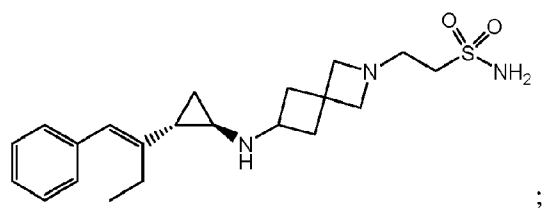
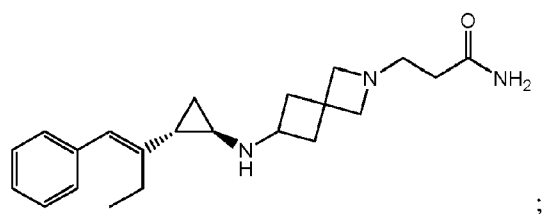
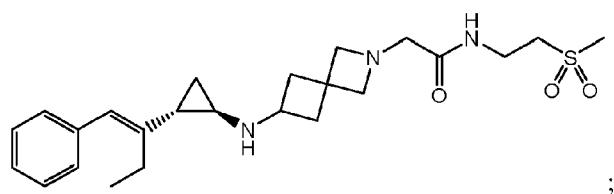
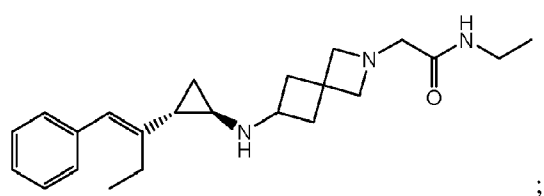
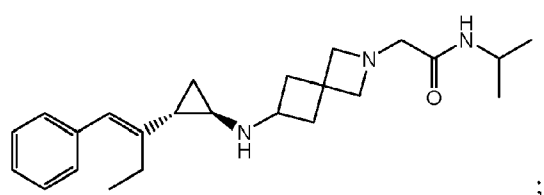
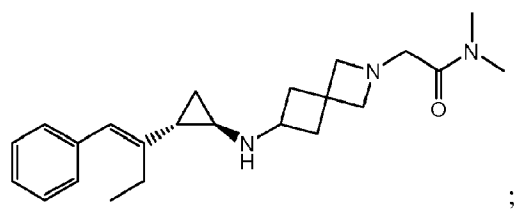
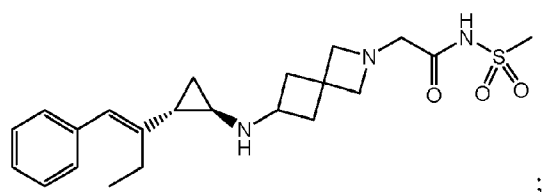
;

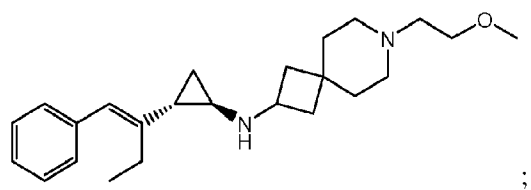
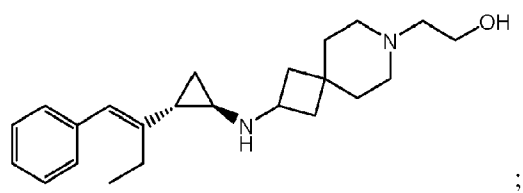
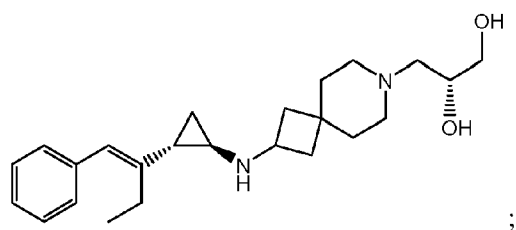
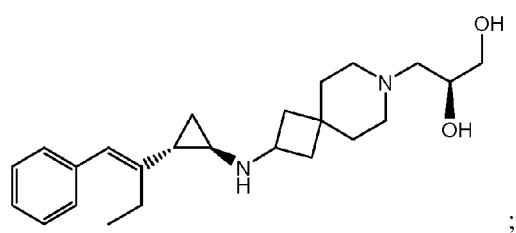
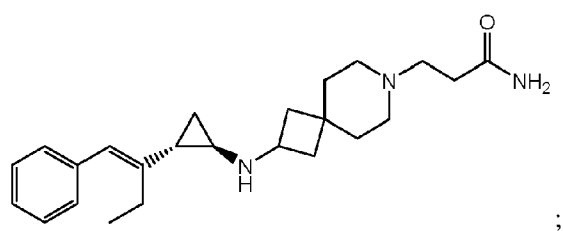
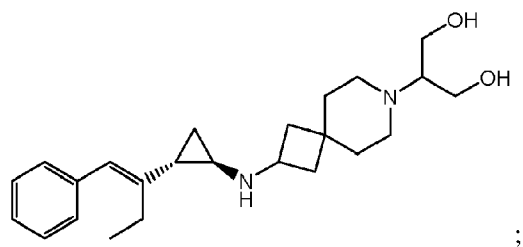
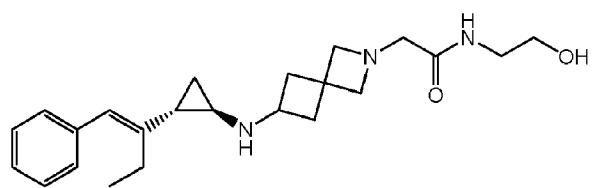


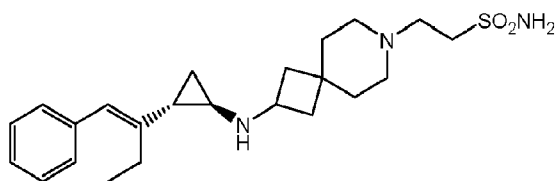
;



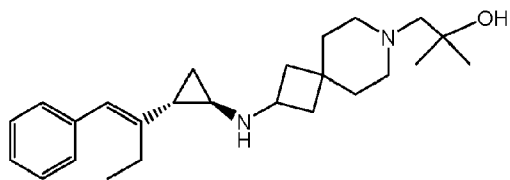
;





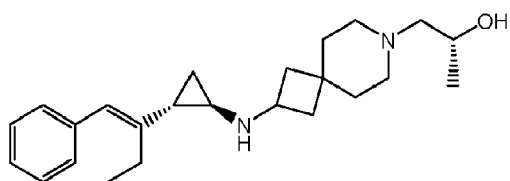


;



;

5 y

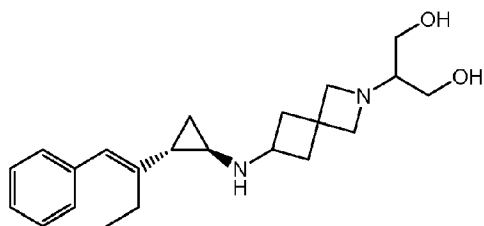


;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

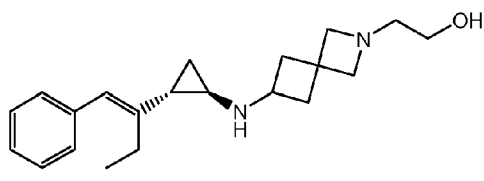
En una decimoséptima forma de realización, el compuesto es:



;

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una decimoctava forma de realización, el compuesto es:



;

20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una decimonovena forma de realización, los compuestos descritos en el presente documento (por ejemplo, Fórmula Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI o XII y aquellos de las formas de realización decimosexta a decimoctava) son enantiómeros individuales que tienen una pureza enantiomérica de al menos el 95% (por ejemplo, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, al menos el 99,5%, o al menos el 99,9%).

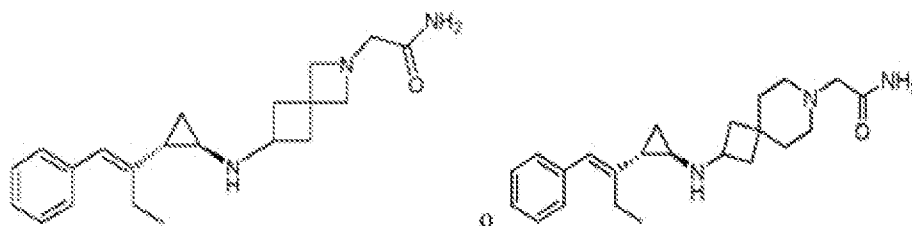
25

En una vigésima forma de realización, la configuración estereoquímica alrededor del anillo de ciclopropilo en los compuestos descritos en el presente documento (por ejemplo, Fórmula Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI o XII y aquellos de las formas de realización decimosexta a decimoctava) es 1R,2S y los compuestos son enantiómeros individuales que tienen una pureza enantiomérica de al menos el 95% (por ejemplo, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, al menos el 99,5%, o al menos el 99,9%).

30

En un aspecto, los compuestos descritos en el presente documento no son

35



; o una sal de los mismos.

- 5 En un aspecto, cuando q es 0, m es 1, n es 1, o es 0 y R¹ y R² son ambos hidrógeno en los compuestos descritos en el presente documento, entonces R⁵ no es -CONH₂. En un aspecto, cuando q es 0, m es 2, n es 2, o es 0 y R¹ y R² son ambos hidrógeno en los compuestos descritos en el presente documento, entonces R⁵ no es -CONH₂.

10 En la sección de Ejemplificación se proporcionan ejemplos específicos de compuestos y se incluyen como parte de una decimotercera forma de realización en el presente documento. También se incluyen sales farmacéuticamente aceptables así como las formas neutras de los compuestos en la Ejemplificación.

4. **Formulación y administración**

- 15 En un aspecto, se proporcionan en el presente documento composiciones que comprenden los compuestos descritos en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

20 En otro aspecto, las composiciones comprenden además un vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable. La cantidad de compuesto en la composición es aquella que sea eficaz para modular de forma mensurable la LSD1, o un mutante de la misma, en una muestra biológica o en un paciente, es decir, la "cantidad eficaz" o la "cantidad terapéuticamente eficaz".

25 En determinados aspectos, una composición descrita en el presente documento se formula para su administración a un paciente que necesita dicha composición. En algunos aspectos, una composición descrita en el presente documento se formula para su administración oral a un paciente.

30 El término "vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable" o "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo, adyuvante o excipiente no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Los vehículos, adyuvantes o excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las composiciones descritas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y grasa de lana.

40 Las composiciones farmacéuticamente aceptables descritas en el presente documento se pueden administrar por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable para administración oral que incluye, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de los comprimidos para uso oral, los vehículos comúnmente utilizados incluyen lactosa y almidón de maíz. Normalmente también se añaden agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsulas, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

50 Las composiciones farmacéuticamente aceptables descritas en el presente documento también se pueden preparar en forma inyectable. Se pueden formular preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles según la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable tal como, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluidos monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables se utilizan ácidos grasos tales como el ácido oleico.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables descritas en el presente documento también se pueden administrar por vía tópica, especialmente cuando el objetivo del tratamiento incluye superficies u órganos fácilmente accesibles

mediante aplicación tópica, incluidas enfermedades de los ojos, la piel o el aparato intestinal inferior. Se preparan fácilmente formulaciones tópicas adecuadas para cada una de estas superficies u órganos. La aplicación tópica para el aparato intestinal inferior se puede realizar en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. También se pueden utilizar parches tópicos transdérmicos.

La cantidad de un compuesto descrito en el presente documento que se puede combinar con los materiales vehículo para producir una composición en una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. En algunas formas de realización, las composiciones proporcionadas deben formularse de modo que se pueda administrar una dosis de entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor, tal como, por ejemplo, 0,1 - 100 mg/kg de peso corporal/día a un paciente al que se administran estas composiciones.

También debe entenderse que una dosis específica y un régimen de tratamiento para cualquier paciente en particular dependerán de una diversidad de factores, incluida la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el momento de la administración, la tasa de excreción, la combinación de medicamentos y el criterio del médico tratante y la gravedad de la enfermedad particular que se está tratando. La cantidad del compuesto descrito en el presente documento en la composición también dependerá del compuesto particular presente en la composición.

5. Usos de compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables

Los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la sobreexpresión de LSD1 y/o la expresión de una forma mutante de LSD1, tales como aquellas formas mutantes que alteran la actividad del sustrato de LSD1.

Los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la proliferación celular. En algunas formas de realización, los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la regulación defectuosa del ciclo celular o la reparación del ADN. En algunas formas de realización, los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento son útiles en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de tipos de cáncer incluyen cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, carcinoma de células renales, cáncer de glioblastoma multiforme, cáncer de vejiga, melanoma, cáncer bronquial, linfoma y cáncer de hígado.

La presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para su uso en la reducción de la actividad de LSD1 en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto descrito en el presente documento, o una composición que comprende cualquiera de los compuestos del presente documento. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para su uso en la reducción de la actividad de LSD1 de tipo ancho en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto descrito en el presente documento, o una composición que comprende cualquiera de los anteriores. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para su uso en un procedimiento para reducir la actividad de una forma mutante de LSD1 en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto descrito en el presente documento, o una composición que comprende cualquiera de los anteriores.

En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con el cáncer que incluye, por ejemplo, tumores tales como carcinomas de piel, de mama, de cerebro, cervicales, testiculares, etc. En un aspecto, los cánceres que pueden tratarse mediante las composiciones y los procedimientos descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, tipos de tumores tales como carcinomas y sarcomas astrocíticos, de mama, cervicales, colorrectales, endometriales, esofágicos, gástricos, de cabeza y cuello, hepatocelulares, laríngeos, pulmonares, orales, de ovario, de próstata y de tiroides.

En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de entre una o más de las siguientes, Cardiacas: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma; Pulmón: carcinoma broncogénico (células escamosas, células pequeñas indiferenciadas, células grandes indiferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; Gastrointestinal: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomiomasarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides), sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosa, hamartoma, leiomioma); Aparato genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm (nefroblastoma), linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células de transición, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículos (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma), coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoideos, lipoma); Hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma; Hueso:

sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células del retículo), mieloma múltiple, cordoma de tumor maligno de células gigantes, osteocronfronoma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; Sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma); Ginecológico: útero (carcinoma no endometrial), cuello uterino (carcinoma cervical, displasia cervical pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario (cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado), tumores de células granulosa-tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rabdomyosarcoma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma); Hematológico: sangre (leucemia mieloide (aguda y crónica), leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (linfoma maligno); Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y Glándulas suprarrenales: neuroblastoma.

En una forma de realización, la presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de entre CML, T-ALL, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, reactivación del virus del herpes simple e infección por VIH que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesite, un compuesto descrito en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una alternativa, la enfermedad o afección se selecciona de entre CML, T-ALL y neuroblastoma.

EJEMPLIFICACIÓN

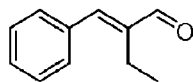
Los ejemplos representativos siguientes se pretende que ayuden a ilustrar la presente divulgación y no pretenden limitar el alcance de lo que se describe ni deben interpretarse en este sentido. Resultarán evidentes para los expertos en la técnica modificaciones y formas de realización adicionales, además de las mostradas y descritas en el presente documento.

Se apreciará además que la presente divulgación (incluida la Ejemplificación) contempla compuestos individuales descritos en el presente documento. Cuando los compuestos individuales ejemplificados se aíslan y/o se caracterizan como una sal, por ejemplo, como una sal de ácido trifluoroacético, la presente divulgación contempla una base libre de la sal, así como otras sales farmacéuticamente aceptables de la base libre.

A menos que se indique lo contrario, todos los disolventes, productos químicos y reactivos se obtuvieron comercialmente y se utilizaron sin purificación. Los espectros de RMN de ^1H se obtuvieron en D_2O , CDCl_3 , d_6 -DMSO, CD_3OD o d_6 -acetona a 25°C a 400 MHz en un OXFORD (Varian) con desplazamiento químico (δ , ppm) notificado con respecto a TMS como patrón interno. Los cromatogramas y espectros de HPLC-MS se obtuvieron con el sistema Shimadzu LC-MS-2020. El análisis quiral y la purificación se obtuvieron con Yilite P270.

(S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina

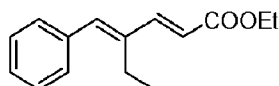
Etapa 1:



(E)-2-benzilidenbutanal

A una solución de benzaldehído (130,0 kg, 1226,4 mol) en MeOH (1100,0 kg) se añadió NaOH (ac.) (10%, 500,0 kg). Después se añadió gota a gota butanal (92,7 kg, 1287,5 mol) a 0°C . La mezcla de reacción se agitó a 10°C durante 10 h. Se eliminó el disolvente y el residuo se acidificó con HCl (ac., 4 N) hasta pH = 5. La mezcla se extrajo con EtOAc (500 kg + 200 kg) y se lavó con salmuera (100 kg * 2). La capa orgánica se concentró al vacío. El producto bruto se destiló al vacío (85-95 $^\circ\text{C}$, 2-10 mmHg) para proporcionar (E)-2-benzilidenbutanal (130,0 kg, CG > 95%) como un aceite amarillento.

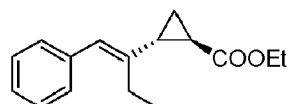
Etapa 2:



(E)-4-((E)-benzyliden)hex-2-enoato de etilo

Se disolvió 2-(dietoxifosforil)acetato de etilo (182,0 kg, 812,5 mol) en THF (2200 kg) y se enfrió a 0 °C. Se añadió terc-butanolato de potasio (105,0 kg, 937,5 mol) en una porción y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente a 0 °C durante 15 min. Se añadió (E)-2-bencilidenbutanal (130,0 kg, 812,5 mol 1,0 eq) a la mezcla de reacción y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con H₂O (320,0 kg) y se extrajo con EtOAc (360,0 kg). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se filtró. El disolvente se evaporó a presión reducida para proporcionar el producto bruto en forma de un aceite. El aceite se disolvió en éter de petróleo (560,0 kg), se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice (30,0 kg) y la torta de filtro se lavó con éter de petróleo. El filtrado combinado se concentró para proporcionar (E)-4-((E)-bencilideno)hex-2-enoato de etilo en forma de un aceite (170,0 kg). Este material se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

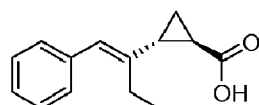
Etapa 3:



(trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropano-1-carboxilato de etilo

Se disolvió terc-butanolato de potasio (103,5 kg, 924,1 mol) en DMSO (1900 kg) en una atmósfera inerte. La mezcla se agitó durante 15 min a 25 °C antes de la adición de yoduro de trimetilsulfoxonio (210,0 kg, 959,0 mol). Esta mezcla se agitó durante 45 min a 25 °C antes de la adición de (E)-4-((E)-benciliden)hex-2-enoato de etilo (170,0 kg, 738,0 mol). La reacción se calentó a 50-55 °C y se agitó durante 16 h. La reacción se inactivó con agua (600 kg). La mezcla se extrajo con éter de petróleo (800 kg). La fase de éter de petróleo se evaporó a presión reducida para proporcionar (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (76,5 kg) como un líquido marrón. Este material se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

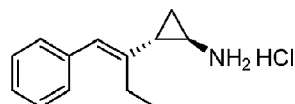
Etapa 4:



Ácido (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropano-1-carboxílico

Se disolvió (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (76,5 kg, 313,1 mol) en agua (320 kg) y metanol (360 kg). A esta solución se añadió hidróxido de sodio (41,0 kg, 1025 mol) y la solución se agitó durante 3 h a 50 °C. La mezcla se concentró hasta aproximadamente 300 l y se acidificó hasta pH = 4 usando HCl (ac., 4 N). Esta solución se extrajo con EtOAc (520 kg) y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para proporcionar ácido (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropano-1-carboxílico (62,5 kg). Este material se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapa 5:

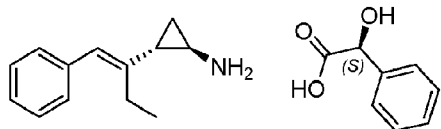


Clorhidrato de (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina

A una solución de ácido (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropano-1-carboxílico (26,0 kg, 120,4 mol) en tolueno (270 kg) se añadieron trietilamina (36,3 kg, 359 mol) y difenilfosforil-azida (38,0 kg, 138,1 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0-10 °C durante 3 h. Se añadió agua (100 kg) y la mezcla se extrajo con EtOAc (80,0 kg) y la capa orgánica se concentró al vacío para proporcionar un aceite bruto. El aceite bruto se disolvió en éter de petróleo (50 kg). La suspensión se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice y la torta de filtro se lavó con éter de petróleo. Los filtrados combinados se concentraron para proporcionar acilazida bruta. La acilazida bruta se recogió en tolueno (100 kg) y la solución se calentó a 85 °C durante 2 h. La capa orgánica se concentró a -60 l. Se añadió trimetilsilanolato de potasio (23,0 kg, 177,9 mol) a la mezcla en tolueno a temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 h. Después se trató la reacción con HCl (2 N, ac., 120 kg) y se agitó. Las capas se separaron. La capa orgánica se extrajo dos veces con HCl (2 N, ac., 20 kg) y los extractos acuosos se combinaron. La capa acuosa se extrajo con MTBE (30 kg) una vez y después se basificó a pH = 10-11 con hidróxido de sodio (47 kg, 30%, acuoso). Después se extrajo la capa acuosa con MTBE (150 kg). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio y se filtraron. A esta solución en MTBE se añadió HCl (23,5 kg, 12% en dietil éter) y precipitó un sólido blanco de la solución.

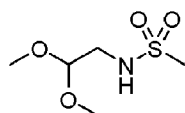
El sólido se recogió para proporcionar clorhidrato de (*trans*)-2-((*E*)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina (16,5 kg, 73,8 mol).

Etapa 6:



(S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina

- Se cargó clorhidrato de (*trans*)-2-((*E*)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina (16,5 kg, 73,8 mol) en un reactor y se añadió K₃PO₃ (46 l, 37% en peso) seguido de EtOAc (150 kg). La mezcla de reacción se agitó a 0-10 °C durante 3 h. La capa orgánica se separó y se concentró a sequedad para proporcionar un aceite. Se añadieron al reactor ácido S-mandélico (8,4 kg, 55,35 mol) y EtOH al 95% (165 kg) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 72 h (hasta ee > 99%). El sólido se recogió mediante filtración para proporcionar (S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((*E*)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina (5,8 kg, 17,1 mol). CL-EM *m/z* 188 [M+H]⁺. La estereoquímica absoluta se determinó mediante cristalografía de rayos X. Véase la figura 1.

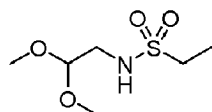


N-(2,2-dimetoxietil)metanosulfonamida

- A una solución de 2,2-dimetoxietanamina (518 µl, 4,75 mmol) en diclorometano (4,75 ml) a 0 °C se añadió trietilamina (1,32 ml, 9,50 mmol) seguida de cloruro de metanosulfonilo (550 µl, 7,12 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos. La reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio y después se concentraron a presión reducida para proporcionar 1,18 g de compuesto bruto como un aceite de color amarillo claro. Después, la mezcla bruta se diluyó en acetona:agua (1:1, 4 ml) y se trató con amberlyst-15 en forma hidrogenada (1,2 g). La mezcla resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para proporcionar N-(2,2-dimetoxietil)metanosulfonamida bruta (900 mg) como un aceite amarillo. El producto se usó sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, dmso) δ 7,13 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,36 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,28 (s, 6H), 3,02 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,90 (s, 3H).

N-(2-oxoetil)etanosulfonamida

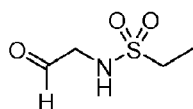
Etapa 1:



N-(2,2-dimetoxietil)etanosulfonamida

- A una solución de 2,2-dimetoxietanamina (247 µl, 2,28 mmol) en DCM (1,9 ml) a 0 °C se añadió trietilamina (634 µl, 4,56 mmol) seguida de cloruro de etanosulfonilo (212 µl, 2,28 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. La reacción se diluyó con DCM y se lavó con NaHCO₃ sat. La capa acuosa se retroextrajo dos veces con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄ y después se concentraron a presión reducida para proporcionar N-(2,2-dimetoxietil)etanosulfonamida bruta como un aceite marrón.

Etapa 2:

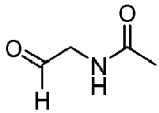
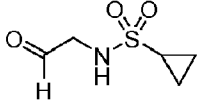
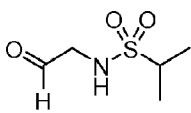
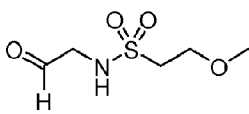


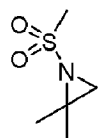
N-(2-oxoetil)etanosulfonamida

A una solución de N-(2,2-dimetoxietil)etanosulfonamida bruta en acetona:agua (1:1, 4 ml) se añadió Amberlyst-15 en forma hidrogenada (1,0 g). La mezcla resultante se agitó durante dos días a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para proporcionar N-(2-oxoetil)etanosulfonamida bruta (614 mg) como un aceite amarillo. Se usó sin purificación adicional. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 9,68 (s, J = 1,1 Hz, 1H), 4,15 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 3,07 (c, J = 7,4 Hz, 2H), 1,40 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

Utilizando el material de partida apropiado y modificaciones se sintetizaron los intermedios de la tabla 1 siguientes utilizando los procedimientos de síntesis descritos para la N-(2-oxoetil)etanosulfonamida.

Tabla 1

Estructura	Nombre
	N-(2-oxoetil)acetamida
	N-(2-oxoetil)ciclopropanosulfonamida
	N-(2-oxoetil)propano-2-sulfonamida
	2-metoxi-N-(2-oxoetil)etano-1-sulfonamida

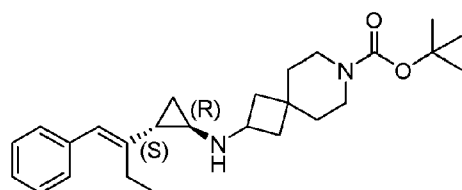


2,2-dimetil-1-(metilsulfonyl)aziridina

A una solución de 2-amino-2-metilpropan-1-ol (1,0 g, 11,2 mmol) en DCM (22,4 ml) a 0 °C se añadió trietilamina (7,79 ml, 56,0 mmol) seguida de cloruro de metanosulfonylo (2,16 ml, 28,0 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min y después se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con DCM y se lavó con NaHCO_3 sat. La capa acuosa se extrajo una vez con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y después se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto 2,2-dimetil-1-(metilsulfonyl)aziridina bruta (1,95 g) como un aceite marrón.

clorhidrato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)acetamida

Etapa 1:

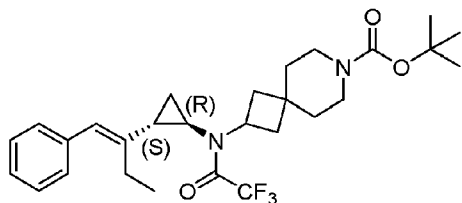


2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo

A una suspensión de (S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropanamina (3,5 g, 10,3 mmol) en 1,2-dicloroetano (75 ml) a 0 °C se añadió 2-oxo-7-azaespiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (2,58 g,

10,8 mmol) seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (4,78 g, 22,6 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 23 °C y se agitó durante 4 horas. Después se añadieron 2-oxo-7-azaespiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo adicional (123 mg, 0,51 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (328 mg, 1,55 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 23 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó después con una solución acuosa saturada de K₂CO₃ (50 ml) y se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante Biotage (gradiente del 0 al 100% de EtOAc en hexanos) para proporcionar 2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3,5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (3,235 g). LCMS (ESI) *m/z* 411,3 [M+H]⁺.

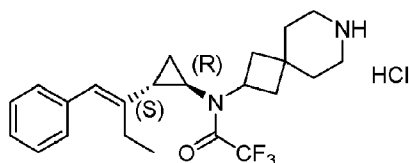
Etapa 2:



2-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo

A una solución de 2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (3,226 g, 7,84 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (2,03 ml, 11,7 mmol) seguida de anhídrido trifluoroacético (1,40 ml, 10,1 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 23 °C y se agitó durante 4 horas. Después se diluyó la mezcla de reacción con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (30 ml) y se separaron las dos capas. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl (2 x 20 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante Biotage (gradiente del 0 al 50% de EtOAc en hexanos) para proporcionar 2-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (3,258 g). LCMS (ESI) *m/z*: 529,2 [M+Na]⁺.

Etapa 3:

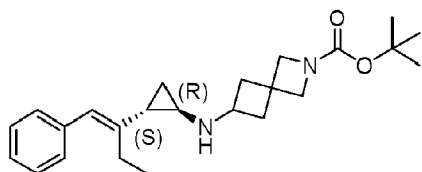


clorhidrato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)acetamida

A una solución de 2-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-7-azaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo (3,254 g, 6,41 mmol) en dioxano (32 ml) a 23 °C se añadió gota a gota una solución 4,0 M de HCl en dioxano (12,8 ml, 51,2 mmol). La mezcla se agitó a 23 °C durante 2 horas. Después se añadió HCl adicional (12,8 ml, 51,2 mmol, solución 4,0 M en dioxano) y la mezcla de reacción se agitó a 23 °C durante 2 horas. Después, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar clorhidrato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(7-azaespiro[3.5]nonan-2-il)acetamida como una espuma amarilla bruta (3,185 g). LCMS (ESI) *m/z*: 407,2 [M+H]⁺.

2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida

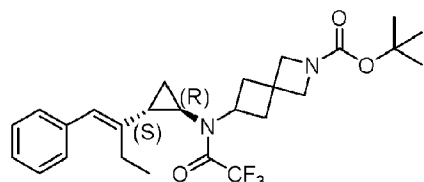
Etapa 1:



6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo

A (S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropanamina (8,65 g, 25,5 mmol) y 6-oxo-2-azaespiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (5,15 g, 24,3 mmol) en 1,2-DCE (100 ml) se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (10,8 g, 51 mmol). Después de 30 minutos, la reacción se inactivó con K₂CO₃ (acuoso) y se extrajo con DCM (2X150 ml). La fase orgánica se concentró y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (columna de 50 g, EtOAc del 5% al 100%:hexanos) para proporcionar 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (4,61 g). CL-EM *m/z*: 383,7 [M+H]⁺.

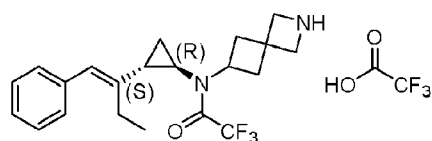
Etapa 2:



6-((2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo

A 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (4,61 g, 12 mmol) disuelto en DCM se añadió diisopropiletilamina (2,81 ml, 16,2 mmol). La solución se enfrió a 0 °C antes de la adición de anhídrido trifluoroacético (2,08 ml, 15 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h, mientras se calentaba hasta temperatura ambiente. Los compuestos volátiles se evaporaron a presión reducida para proporcionar 6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo bruto. CL-EM *m/z* 479 [M+H]⁺.

Etapa 3:

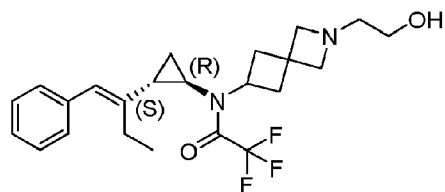


2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida

Se disolvió 6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3,3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (5,74 g, 12 mmol) en DCM (80 ml) y se enfrió a 10 °C antes de la adición de ácido trifluoroacético (20 ml, 240 mmol). La solución se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. La reacción se concentró para proporcionar 2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3,3]heptan-6-il)acetamida. CL-EM *m/z* 379,2 [M+H]⁺.

Compuesto 1: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanol

Etapa 1:

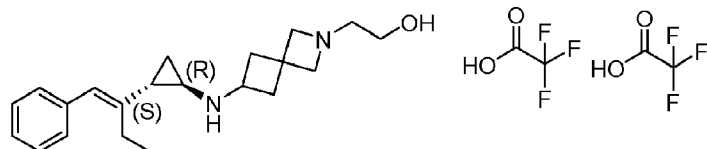


2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxietil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida

Una solución de 2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3,3]heptan-6-il)acetamida (7,57 g, 15,3 mmol) y dímero de glicolaldehído (5,51 g, 45,9 mmol) en metanol se trató con ácido acético (2,0 ml) y cianoborohidruro de sodio (2,88 g, 45,9 mmol). La reacción se calentó a 60 °C y se supervisó mediante CL-EM. Después de 1 hora, la reacción se inactivó con carbonato potásico acuoso al 10% hasta un pH de 8. Después se eliminaron los compuestos volátiles al vacío. La mezcla bruta se extrajo dos veces con 2-metiltetrahidrofurano. Después se secó la capa orgánica con sulfato de sodio, se filtró y se eliminaron los compuestos

volátiles al vacío. El producto deseado 2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxietil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida se usó sin purificación adicional. LCMS (ESI) m/z : 423,1 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

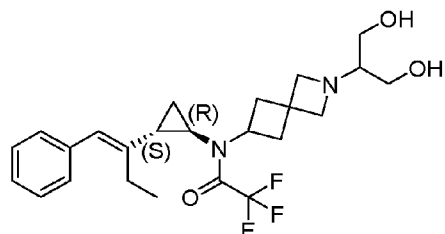


bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanol

En un matraz de fondo redondo, se disolvió 2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxietil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (6,46 g, 15,3 mmol) en metanol (75 ml), se enfrió a 0° C y se trató con 10 ml de hidróxido de sodio acuoso al 10%. La reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 30 minutos y se inactivó con ácido 2,2,2-trifluoroacético hasta un pH de 2,0. Se eliminaron los compuestos volátiles al vacío. El producto deseado se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa usando CH₃CN al 10-30%/ácido 2,2,2-trifluoroacético acuoso al 0,1%. Las fracciones puras se combinaron, se congelaron y se liofilizaron para proporcionar 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanol bis-(ácido 2,2,2-trifluoroacético) (2,90 g). LCMS (ESI) m/z : 327,3 $[M+H]^+$. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,87 (s a, 1H), 9,21 (s a, 2H), 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 5,23 (s a, 1H), 4,25 - 4,11 (m, 2H), 4,11 - 4,06 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,85 - 3,69 (m, 1H), 3,55 (s, 2H), 3,25 - 3,11 (m, 2H), 2,80 - 2,72 (m, 1H), 2,72 - 2,65 (m, 1H), 2,65 - 2,53 (m, 1H), 2,48 - 2,35 (m, 2H), 2,30 - 2,18 (m, 2H), 2,02 - 1,90 (m, 1H), 1,22 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Compuesto 2: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol

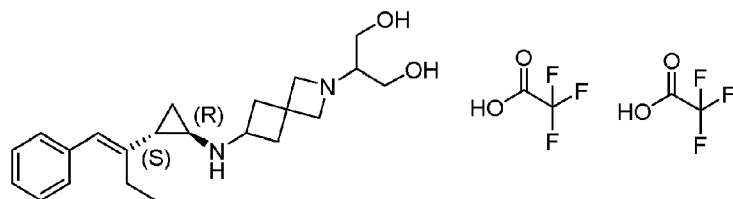
Etapa 1:



N-(2-(1,3-dihidroxipropan-2-il)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida:

En un matraz de fondo redondo, a 2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida (2,75 g, 5,58 mmol) disuelto en metanol (18,6 ml) se añadió 1,3-dihidroxipropan-2-ona (3,0 g, 33,4 mmol) y ácido acético (10 gotas). Después se trató la solución con cianoborohidruro de sodio (2,09 g, 33,4 mmol) y se agitó durante 1 h. Después la reacción se enfrió a pH 8 usando carbonato potásico acuoso al 10% y los compuestos volátiles se eliminaron al vacío. La mezcla bruta se extrajo dos veces con 2-metiltetrahydrofurano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron una vez con salmuera, después se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar N-(2-(1,3-dihidroxipropan-2-il)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida bruta. El producto bruto se usó sin purificación adicional. LCMS (ESI) m/z : 453,4 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

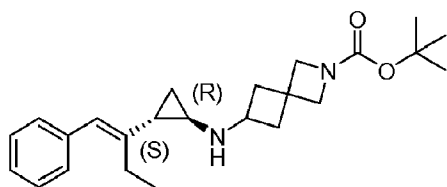


bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol

Se disolvió N-(2-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (2,52 g, 5,58 mmol) en metanol, se enfrió en un baño de hielo y se trató con NaOH acuoso al 10% y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente. Después de 30 minutos, la reacción se enfrió a pH 2 usando TFA y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. La mezcla bruta se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa (60 g) usando de MeCN al 10 - 30%/TFA acuoso al 0,1% como eluyente. Las fracciones se combinaron, se congelaron y se liofilizaron para proporcionar bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol como un sólido amorfo blanco (740 mg). LCMS (ESI) m/z: 357,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,00 (s a, 1H), 9,33 (s a, 2H), 7,42 - 7,31 (m, 2H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,28 (s a, 2H), 4,30 (t, J = 15,6 Hz, 2H), 4,14 (s, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,86 - 3,68 (m, 1H), 3,58 (dd, J = 12,7, 9,6 Hz, 4H), 3,29 (s, 2H), 2,72 (s, 2H), 2,40 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 2,31 - 2,15 (m, 2H), 1,97 (s, 1H), 1,15 (dt, J = 15,1, 5,9 Hz, 5H).

Aumento de escala y formación de sal monocitrato de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol

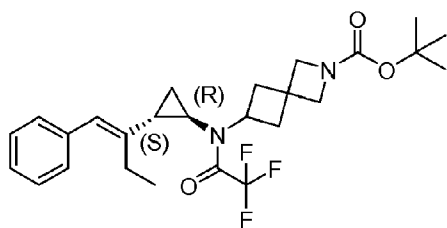
Etapas 1:



6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo

Se cargó (S)-2-hidroxi-2-fenilacetato de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina (160 g, 1,0 eq.) en un matraz de 3 l y se disolvió en DCM (1000 ml). A este matraz se añadió una solución de K₂CO₃ al 10% (500 ml) y agua (500 ml). La solución se agitó durante 10 min. Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con DCM (2X, 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ (100 g), se filtraron y se concentraron para proporcionar (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amina como un aceite amarillo claro. Este material se disolvió en 2-MeTHF (500 ml) y se concentró. Después este material se disolvió en 2-MeTHF (1000 ml) y se transfirió a un matraz de 10 litros. Al matraz de 10 litros se añadió 2-MeTHF (1000 ml) para disolver completamente la base libre y a esta solución se añadió 6-oxo-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (100 g). La reacción se agitó durante 10 minutos antes de la adición de NaBH(OAc)₃ (200 g, 2,0 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se añadió NaBH(OAc)₃ (8 g, 0,08 eq) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Esta solución se basificó a pH = 8 mediante la adición de solución de K₂CO₃ al 10% (950 ml) y la reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (1X, 500 ml). La capa orgánica combinada se concentró (temperatura del baño < 45 °C) para proporcionar 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo bruto (220 g).

Etapas 2:

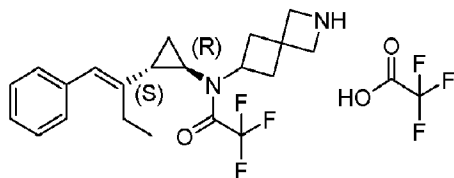


6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo

A un matraz cargado con 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (200 g) se añadió DCM (2000 ml) y base de Hunig (100 ml). La reacción se enfrió a 0 °C antes de la adición de anhídrido trifluoroacético (120 g) gota a gota a lo largo de un periodo de 30 min. La reacción se agitó a 0 °C antes de calentarla a 10-20 °C y agitarla durante 16 h. Se añadió agua (2000 ml) a esta reacción y se separaron las capas. La capa orgánica se concentró para proporcionar el producto bruto (264 g). El aceite bruto se disolvió en heptano (500 ml) y se agitó durante 30 minutos para producir una suspensión. Después, este material se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (1,5 kg, gel de sílice de malla 100-200; gradiente: acetato de etilo:heptano 1:20; acetato de etilo:heptano 1:10; acetato de etilo:heptano 1:5) para obtener 6-(2,2,2-trifluoro-N-

((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (Fracción A: 114 g, 96% de pureza; Fracción B: 72 g, 86% de pureza).

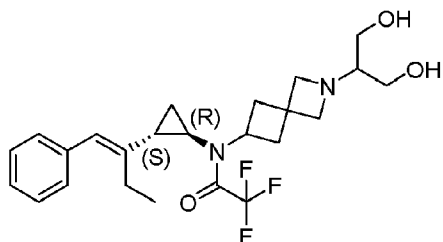
Etapa 3:



2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida

A un matraz cargado con 6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptano-2-carboxilato de terc-butilo (104 g) se añadió DCM (1050 ml) y la solución se enfrió a 0 °C. A esta solución se añadió TFA (240 g, 10 eq.) y la solución se calentó hasta temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 2 h antes de añadir TFA adicional (40 g, 2,0 eq.). La reacción se agitó durante 1 h antes de concentrarla para proporcionar un aceite marrón. El aceite marrón se disolvió en MeOH (500 ml) y se concentró. Esta etapa se repitió (3X) para proporcionar 2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida bruto (365,7 g).

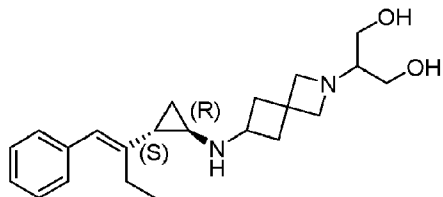
Etapa 4:



N-(2-(1,3-dihidroxipropán-2-il)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida

A un matraz cargado con 2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida (365,7 g, 1,0 eq.) se añadió MeOH (1500 ml). A esta solución se añadió 1,3-dihidroxipropán-2-ona (120 g, 1,33 eq.) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos antes de la adición de AcOH (20 ml, 1,41 eq.). La reacción se agitó durante 10 minutos antes de la adición de NaBH₃CN (84 g, 6,01 eq.). La reacción se dispuso en un baño frío para mantener la temperatura por debajo de 40 °C. La reacción se agitó durante 1 h y durante el transcurso de la reacción la mezcla se volvió de color amarillo claro. Esta solución se basificó a pH = 8 mediante la adición de solución de K₂CO₃ al 10% (400 ml). La mezcla se concentró para eliminar el MeOH (temperatura del baño < 45 °C). La solución resultante se disolvió en DCM (500 ml) y se añadió agua (200 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (2X). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar N-(2-(1,3-dihidroxipropán-2-il)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (110,6 g).

Etapa 5:

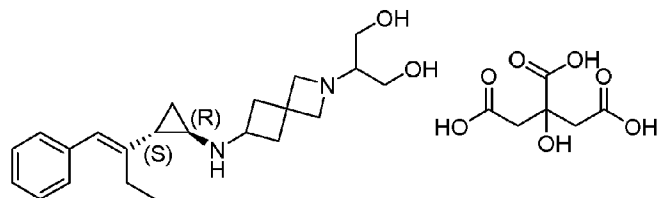


2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol

A un matraz cargado con N-(2-(1,3-dihidroxipropán-2-il)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (110,6 g) se añadió 2-MeTHF (1100 ml). A esta mezcla se le añadió lentamente una solución de NaOH (20 g de NaOH disueltos en 500 ml de agua). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con 2-MeTHF (2X). Las capas orgánicas

combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite amarillo (190 g). El aceite amarillo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con salmuera. La capa orgánica se concentró (temperatura del baño < 45 °C) para proporcionar 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol (76,4 g) como un sólido amarillo claro.

Etapas 6:



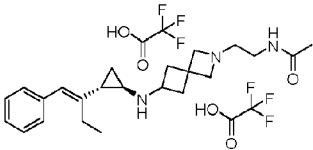
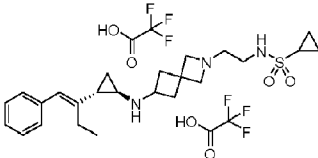
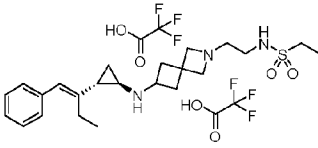
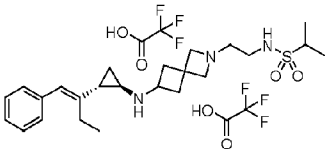
2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxilato de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol

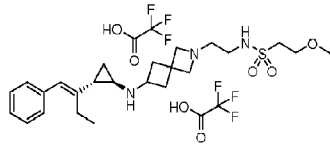
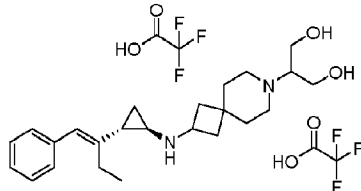
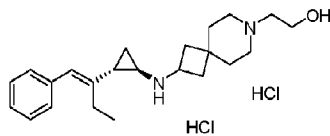
A un matraz cargado con 2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol (50 g, 1,0 eq.) se añadió una mezcla de DCM:MeOH (500 ml:40 ml). Esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de la adición gota a gota de ácido cítrico (40 g, 1,43 eq) disuelto en MeOH (90 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h antes de recoger el precipitado mediante filtración. El sólido se lavó con una mezcla de MeOH:DCM (3:20, 200 ml). La torta de filtro se secó al vacío a 40 °C durante 16 h para proporcionar 2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxilato de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propano-1,3-diol (77,4 g) como un producto cristalino. ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ = 7,46 - 7,33 (m, 2 H), 7,31 - 7,25 (m, 3 H), 6,23 (s, 1 H), 4,40 (s, 2 H), 4,32 (s a, 2 H), 3,93 (quin, J = 8,1 Hz, 1 H), 3,84 - 3,71 (m, 4 H), 3,40 (quin, J = 4,6 Hz, 1 H), 2,90 - 2,52 (m, 9 H), 2,36 - 2,19 (m, 2 H), 2,09 - 2,00 (m, 1 H), 1,30 - 1,19 (m, 2 H), 1,11 (t, J = 7,8 Hz, 3 H). La estructura se confirmó mediante cristalografía de rayos X. Véase la figura 2.

Utilizando el material de partida apropiado y modificaciones se sintetizaron los compuestos de la tabla 2 siguientes utilizando los procedimientos de síntesis descritos para el Compuesto 1.

Tabla 2

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
3	bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(2-aminoetil)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-amina	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,43 (s, 3H), 9,25 (s, 13H), 7,98 (s, 17H), 7,33 (t, J = 7,5 Hz, 15H), 7,28 - 7,11 (m, 22H), 6,18 (s, 7H), 4,08 (s, 20H), 3,77 (s, 9H), 2,93 (s, 19H), 2,71 (s, 13H), 2,58 (s, 14H), 2,44 - 2,35 (m, 12H), 2,30 - 2,16 (m, 17H), 1,95 (s, 8H), 1,25 - 1,06 (m, 38H).	326,4 [M+H] ⁺
4	bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etil)metanosulfonamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,91 (s a, 1H), 9,22 (s a, 2H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,30 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 7,26 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,06 (m, 3H), 3,88 - 3,70 (m, 1H), 3,28 - 3,20 (m, 2H), 3,20 - 3,11 (m, 2H), 2,96 (s, 3H), 2,82 - 2,64 (m, 2H), 2,63 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,29 - 2,17 (m, 2H), 2,02 - 1,89 (m, 1H), 1,17 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	404,1 [M+H] ⁺

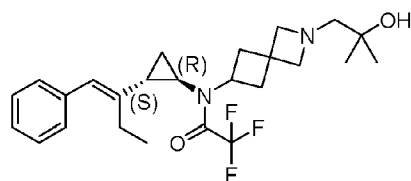
Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ^1H	CL-EM m/z
5	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etil)acetamida	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,81 (s a, 1H), 9,21 (s a, 2H), 8,05 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,27 - 4,18 (m, 1H), 4,15 - 4,05 (m, 3H), 3,85 - 3,74 (m, 1H), 3,26 - 3,10 (m, 4H), 2,80 - 2,70 (m, 1H), 2,70 - 2,63 (m, 1H), 2,63 - 2,54 (m, 1H), 2,47 - 2,36 (m, 1H), 2,30 - 2,18 (m, 2H), 2,00 - 1,91 (m, 1H), 1,83 (s, 3H), 1,21-1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	368,4 [M+H] ⁺
6	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etil)ciclopropanosulfonamida	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,91 (s a, 1H), 9,20 (s a, 2H), 7,42 - 7,31 (m, 3H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,27 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,15 (m, 1H), 4,15 - 4,06 (m, 2H), 3,87 - 3,72 (m, 1H), 3,27 - 3,14 (m, 4H), 2,81 - 2,66 (m, 2H), 2,66 - 2,60 (m, 1H), 2,60 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,30 - 2,17 (m, 2H), 2,01 - 1,91 (m, 1H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,04 - 0,95 (m, 2H), 0,95 - 0,87 (m, 2H).	430,4 [M+H] ⁺
7	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etil)etanosulfonamida	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,92 (s a, 1H), 9,22 (s a, 2H), 7,40 - 7,29 (m, 3H), 7,29 - 7,15 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,03 (m, 3H), 3,79 (s a, 1H), 3,26 - 3,17 (m, 2H), 3,16 - 3,10 (m, 2H), 3,07 (c, J = 7,4 Hz, 2H), 2,80 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,31 - 2,17 (m, 2H), 2,03 - 1,90 (m, 1H), 1,19 (t, J = 7,4 Hz, 3H), 1,17 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	418,1 [M+H] ⁺
8	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etil)propano-2-sulfonamida	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,93 (s a, 1H), 9,25 (s a, 2H), 7,40 - 7,28 (m, 3H), 7,27 - 7,15 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,20 (m, 1H), 4,20 - 4,06 (m, 3H), 3,86 - 3,73 (m, 1H), 3,26 (dd, J = 13,4, 6,6 Hz, 1H), 3,23 - 3,09 (m, 4H), 2,80 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,48 - 2,36 (m, 1H), 2,32 - 2,17 (m, 2H), 2,03 - 1,92 (m, 1H), 1,22 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 1,20 - 1,15 (m, J = 12,4, 5,3 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	432,2 [M+H] ⁺

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
9	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-metoxi-N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etil)etanosulfonamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,83 (s a, 1H), 9,15 (s a, 2H), 7,39 - 7,33 (m, 2H), 7,31 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,29 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,06 (m, 3H), 3,87 - 3,72 (m, 1H), 3,65 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,51 - 3,42 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,21 (s, 2H), 3,18 - 3,08 (m, 2H), 2,81 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,46 - 2,35 (m, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	448,3 [M+H] ⁺
10	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)propano-1,3-diol	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,01 - 9,78 (m, 2H), 9,59 (s a, 1H), 7,37 - 7,31 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,39 (s a, 2H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,77 (d, J = 4,5 Hz, 4H), 3,44 - 3,39 (m, 2H), 3,23 - 3,15 (m, 2H), 3,13 - 3,05 (m, 1H), 2,69 - 2,61 (m, 1H), 2,38 - 2,31 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 3H), 2,19 - 2,09 (m, 3H), 1,99 - 1,86 (m, 4H), 1,36 - 1,27 (m, 1H), 1,17 - 1,09 (m, 4H).	385,5 [M+H] ⁺
11	 diclorhidrato de 2-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)etanol	(500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,89 (s a, 1H), 9,84 (s a, 1H), 9,79 (s a, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,19 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,31 (s a, 1H), 3,89 - 3,82 (m, 1H), 3,78 - 3,72 (m, 2H), 3,43 - 3,37 (m, 2H), 3,14 - 3,06 (m, 2H), 3,02 - 2,82 (m, 2H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,38 - 2,30 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 3H), 2,17 - 2,09 (m, 3H), 1,97 - 1,81 (m, 4H), 1,34 - 1,28 (m, 1H), 1,17 - 1,09 (m, 4H)	355,3 [M+H] ⁺

Compuesto 12: bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propan-2-ol

5

Etapas 1:



2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida

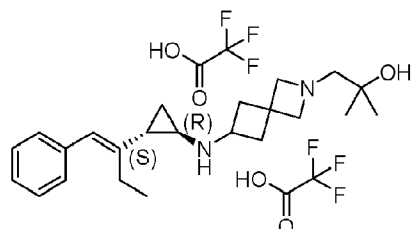
10

A un tubo sellado se añadió 2,2,2-trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)acetamida (200 mg, 406 μ mol), 2,2-dimetiloxirano (54,0 μ l, 609 μ mol), diisopropiletilamina (210 μ l, 1,21 mmol) y EtOH (4,1 ml). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 18 h. La

15

mezcla se concentró a presión reducida, se diluyó con acetato de etilo y después se inactivó con HCl 1 N. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó una vez con salmuera, se secó con sulfato de sodio y se evaporó a presión reducida para proporcionar un aceite amarillo de 2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (296 mg). CL-EM m/z 451,3 $[M+H]^+$.

Etapa 2:



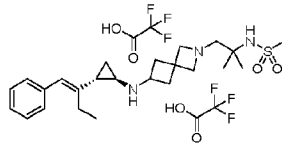
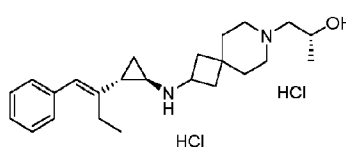
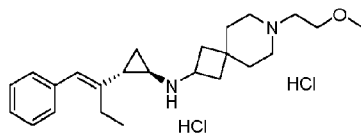
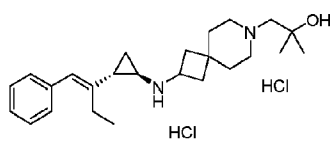
bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propan-2-ol

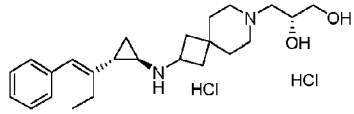
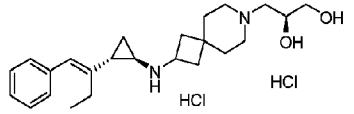
A una solución de 2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (250 mg, 554 μ mol) en MeOH (2,8 ml) a temperatura ambiente se añadió NaOH (1 M, 2,77 ml, 2,77 mmol). La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 60 min. La mezcla se inactivó con TFA y después se concentró a presión reducida. El producto bruto se purificó en una columna C-18 de 30 g usando MeCN/TFA H₂O al 0,1% como eluyente con el siguiente gradiente (2 CV 0%, 20 CV 0-30%, 3 CV 30%) para proporcionar bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propan-2-ol (22,0 mg) después de la liofilización. CL-EM m/z 355,3 $[M+H]^+$. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,59 (s a, 1H), 9,27 (s a, 2H), 7,35 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,29 - 7,14 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,10 (s a, 1H), 4,37 - 4,25 (m, 1H), 4,25 - 4,07 (m, 3H), 3,83 - 3,64 (m, 1H), 3,18 - 3,09 (m, 2H), 2,79 - 2,65 (m, 2H), 2,65 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,33 (m, 1H), 2,30 - 2,13 (m, 2H), 2,03 - 1,89 (m, 1H), 1,23 - 1,15 (m, 2H), 1,13 (s, 6H), 1,11 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Utilizando el material de partida apropiado y modificaciones se sintetizaron los ejemplos de la tabla 3 siguientes utilizando los procedimientos de síntesis descritos para el Compuesto 12.

Tabla 3

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
13	bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,5 (s a, 1H), 9,3 (s a, 2H), 8,46 (s a, 1H), 7,4 - 7,3 (m, 2H), 7,3 - 7,2 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,23 (s, 1H), 4,2 - 4,0 (m, 3H), 3,96 (m, 2H), 3,76 (s, 1H), 3,15 (2H), 2,72 - 2,68 (m, 2H), 2,58 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,96 (m, 1H), 1,12 (m, 5H)	384,2 $[M+H]^+$
14	bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-metil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propanamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,51 (s a, 1H), 9,44 (s a, 2H), 8,79 (s a, 1H), 7,75 (d, J = 59,3 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,28 - 7,14 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 4,20 (d, J = 14,2 Hz, 1H), 4,04 (dd, J = 12,5, 6,9 Hz, 1H), 3,92 (dd, J = 12,1, 6,4 Hz, 1H), 3,76 (s, 1H), 2,72 (s, 1H), 2,58 (ddd, J = 16,3, 12,1, 6,0 Hz, 2H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,30 - 2,16 (m, 2H), 1,98 (s, 1H), 1,42 (s, 6H), 1,29 - 1,05 (m, 5H).	368,7 $[M+H]^+$

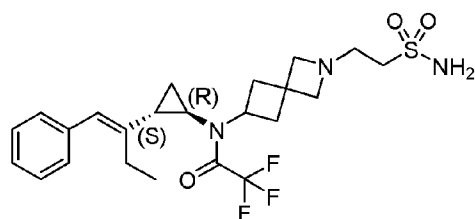
Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
15	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propan-2-il)metanosulfonamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,54 (s, 1H), 9,18 (s a, 2H), 7,39 - 7,32 (m, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 7,15 (s, 1H), 6,21 (s, 1H), 4,41 - 4,30 (m, 1H), 4,30 - 4,17 (m, 3H), 3,87 - 3,70 (m, 1H), 3,20 (s, 2H), 3,03 (s, 3H), 2,81 - 2,65 (m, 3H), 2,64 - 2,52 (m, 1H), 2,48 - 2,35 (m, 2H), 2,31 - 2,16 (m, 2H), 1,97 (s, 1H), 1,29 (s, 3H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	432,2 [M+H] ⁺
16	 diclorhidrato de (R)-1-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)propan-2-ol	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,99 - 9,76 (m, 2H), 9,52 (s a, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,46 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 4,17 - 4,08 (m, 1H), 3,89 - 3,80 (m, 1H), 3,44 - 3,37 (m, 2H), 3,09 - 3,01 (m, 1H), 2,99 - 2,84 (m, 3H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,37 - 2,29 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 3H), 2,18 - 2,09 (m, 3H), 1,96 - 1,83 (m, 4H), 1,35 - 1,27 (m, 1H), 1,16 - 1,07 (m, 7H)	369,3 [M+H] ⁺
17	 diclorhidrato de 7-(2-metoxietil)-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-2-amina	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,02 (s a, 1H), 9,95 - 9,79 (m, 2H), 7,37 - 7,31 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,69 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,37 - 3,31 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,25 - 3,18 (m, 2H), 3,03 - 2,92 (m, 1H), 2,92 - 2,80 (m, 1H), 2,70 - 2,61 (m, 1H), 2,37 - 2,29 (m, 1H), 2,29 - 2,19 (m, 3H), 2,19 - 2,08 (m, 3H), 1,97 - 1,80 (m, 4H), 1,35 - 1,27 (m, 1H), 1,17 - 1,09 (m, 4H)	369,3 [M+H] ⁺
18	 diclorhidrato de 2-metil-1-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)propan-2-ol	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,96 - 9,82 (m, 2H), 9,11 (s a, 1H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,26 (s, 1H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,45 - 3,38 (m, 2H), 3,09 - 3,03 (m, 3H), 3,01 - 2,94 (m, 1H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,35 - 2,21 (m, 4H), 2,18 - 2,10 (m, 3H), 2,05 - 1,94 (m, 2H), 1,92 - 1,82 (m, 2H), 1,35 - 1,27 (m, 1H), 1,25 (s, 6H), 1,17 - 1,10 (m, 4H)	383,3 [M+H] ⁺

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
19	 diclorhidrato de (R)-3-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)propano-1,2-diol	¹ H RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ 9,90 (s a., 2 H), 9,58 (s a., 1 H), 7,43 - 7,14 (m, 5 H), 6,19 (s, 1 H), 5,54 (s a., 1 H), 4,98 (s a., 1 H), 4,03 - 3,77 (m, 2H), 3,16 (d, J = 7,0 Hz, 1 H), 2,95 (dd, J = 9,8, 13,5 Hz, 3 H), 2,64 (s a., 1 H), 2,40 - 2,06 (m, 7 H), 2,01 - 1,71 (m, 4 H), 1,38 - 1,25 (m, 1H), 1,13 (s, 4 H)	385,3 [M+H] ⁺
20	 diclorhidrato de (S)-3-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)propano-1,2-diol	¹ H RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ 10,06 - 9,79 (m, 2 H), 9,60 (s a., 1 H), 7,45 - 7,30 (m, 2 H), 7,26 - 7,15 (m, 3 H), 6,19 (s, 1 H), 5,55 (s a., 1 H), 4,99 (s a., 1H), 3,95 (s a., 1 H), 3,84 (d, J = 5,5 Hz, 2 H), 3,38 - 3,24 (m, 2 H), 3,22 - 3,10 (m, 1 H), 3,05 - 2,77 (m, 2 H), 2,65 (s a., 1 H), 2,33 (s a., 1 H), 2,29 - 2,19 (m, 2H), 2,19 - 2,06 (m, 4 H), 2,01 - 1,76 (m, 4H), 1,38 - 1,24 (m, 1 H), 1,19 - 1,04 (m, 4H)	385,3 [M+H] ⁺

Compuesto 21: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanosulfonamida

5

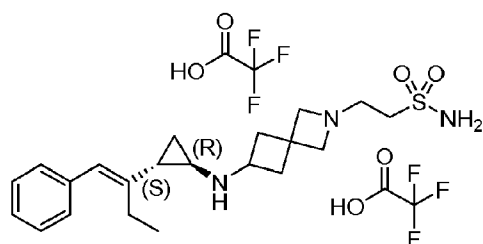
Etapas 1:



10 **2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanosulfonamida**

A un vial sellado cargado con 2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (0,1610 g, 326 pmol), N,N-dimetilformamida y carbonato de sodio (100 mg, 943 pmol) se añadió etenosulfonamida (80,1 mg, 748 pmol) a temperatura ambiente. Después se selló el vial y se calentó a 60 °C en un baño de aceite durante la noche. La mezcla bruta se repartió entre 2-metiltetrahidrofuran y agua. La fase orgánica se lavó dos veces con agua/salmuera (1:1 v/v), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó al vacío para proporcionar 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanosulfonamida. El producto bruto se usó sin purificación adicional. LCMS (ESI) m/z: 485,9 [M+H]⁺.

20 **Etapas 2:**



25

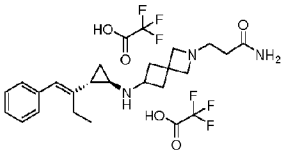
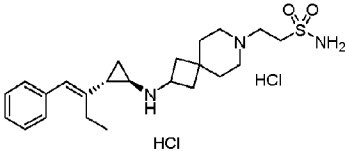
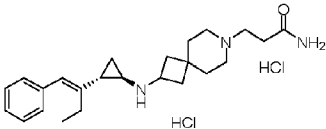
Compuesto 32: bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanosulfonamida

Se disolvió 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il) etanosulfonamida bruta en metanol (2,0 ml) y se trató con NaOH acuoso al 10% (0,5 ml) a 0 °C durante 30 min. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa MeCN al 10 - 30%/TFA acuoso al 0,1% como eluyente.

Las fracciones puras se combinaron, se congelaron y se liofilizaron a lo largo de un periodo de tres días. Se obtuvo el producto deseado bis(2,2,2 trifluoroacetato) de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)etanosulfonamida como un sólido amorfo blanco (49,6 mg). LCMS (ESI) m/z : 390,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (500 MHz, MeOD) δ 7,34 - 7,28 (m, 2H), 7,23 - 7,15 (m, 3H), 6,26 (s, 1H), 4,36 (s, 2H), 4,27 (s, 2H), 3,92 (p, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,67 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 3,41 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,88 - 2,79 (m, 2H), 2,79 - 2,72 (m, 1H), 2,67-2,56 (m, 2H), 2,40 - 2,25 (m, 2H), 2,09 - 2,01 (m, 1H), 1,40 (s, 2H), 1,33 - 1,20 (m, 3H), 1,17 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

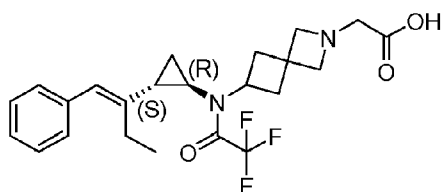
Utilizando el material de partida apropiado y modificaciones se sintetizaron los ejemplos de la tabla 4 siguientes utilizando los procedimientos de síntesis descritos para el Compuesto 21.

Tabla 4

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de 1H	CL-EM m/z
22	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 3-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propanamida	1H RMN (500 MHz, MeOD) δ 7,35 - 7,28 (m, 2H), 7,24 - 7,16 (m, 3H), 6,26 (s, 1H), 4,45 - 4,12 (m, 4H), 3,97 - 3,87 (m, 1H), 3,44 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 2,92 - 2,73 (m, 3H), 2,70 (s, 1H), 2,64 - 2,53 (m, 4H), 2,39 - 2,25 (m, 2H), 2,09 - 1,99 (m, 1H), 1,32 - 1,20 (m, 2H), 1,17 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).	354,4 $[M+H]^+$
23	 diclorhidrato de 2-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)etanosulfonamida	(400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,73 (s a, 1H), 9,91 - 9,73 (m, 2H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,25 (s a, 2H), 7,23 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 3,91 - 3,82 (m, 1H), 3,62 - 3,57 (m, 2H), 3,46 - 3,37 (m, 4H), 3,07 - 2,98 (m, 1H), 2,94 - 2,86 (m, 1H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,39 - 2,30 (m, 1H), 2,29 - 2,21 (m, 3H), 2,17 - 2,08 (m, 3H), 1,99 - 1,79 (m, 4H), 1,34 - 1,26 (m, 1H), 1,14 (app-t, $J = 7,4$ Hz, 4H)	418,2 $[M+H]^+$
24	 diclorhidrato de 3-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaespiro[3.5]nonan-7-il)propanamida	1H RMN (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,33 - 10,17 (m, 1 H), 9,90 (s a., 2 H), 7,61 (s a., 1 H), 7,39 - 7,28 (m, 2 H), 7,28 - 7,14 (m, 3 H), 7,09 (s a., 1H), 6,19 (s, 1 H), 3,84 (s a., 1H), 3,34 - 3,16 (m, 4 H), 2,92 (d, $J = 12,3$ Hz, 2 H), 2,67 - 2,55 (m, 3 H), 2,33 (s a., 1 H), 2,24 (c, $J = 7,5$ Hz, 2 H), 2,19 - 2,06 (m, 2 H), 2,00 - 1,73 (m, 3 H), 1,37 - 1,27 (m, 1 H), 1,13 (dt, $J = 1,3, 7,5$ Hz, 4 H)	382,3 $[M+H]^+$

Compuesto 25: bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-etil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida

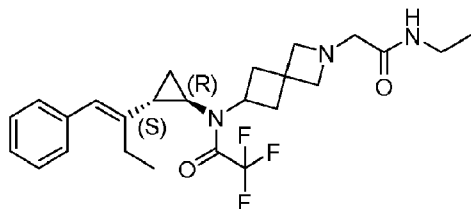
Etapa 1:



ácido 2-(6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acético

Una solución de 2,2,2-trifluoro-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (800 mg, 1,62 mmol), hidrato de ácido 2-oxoacético (298 mg, 3,24 mmol) y 5 gotas de AcOH en MeOH (16,2 ml) se trató con cianoborohidruro de sodio (305 mg, 4,86 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de 1 h, se añadió hidrato de ácido 2-oxoacético adicional (298 mg, 3,24 mmol) y la reacción se agitó a 45 °C durante 1,5 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con DCM y después se inactivó con NaHCO₃ sat. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo una vez con DCM. La capa orgánica combinada se lavó una vez con salmuera, se secó con sulfato de sodio y se evaporó a presión reducida para proporcionar ácido 2-(6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acético (522 mg). CL-EM *m/z* 437,2 [M+H]⁺.

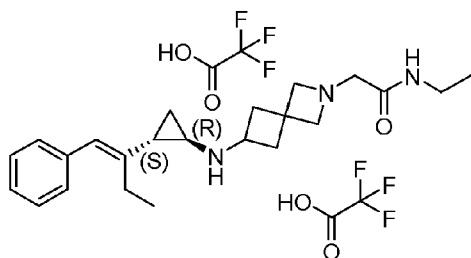
Etapa 2:



N-(2-(2-(etilamino)-2-oxoetil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida

A una solución de ácido 2-(6-(2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acético (175 mg, 400 μmol), cloruro de etilamonio (40,4 mg, 496 μmol) y diisopropiletilamina (215 μl, 1,24 mmol) en DMF (2,8 ml) a 0° C se añadió HATU (236 mg, 621 μmol). La mezcla de reacción se dejó calentar y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (2 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó una vez con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, después se concentró para producir N-(2-(2-(etilamino)-2-oxoetil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida bruta (199 mg, 430 μmol) como un aceite amarillo con DMF residual. CL-EM *m/z* 464,2 [M+H]⁺.

Etapa 3:



bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-etil-2-(6-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida

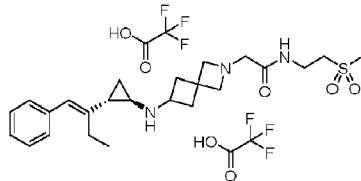
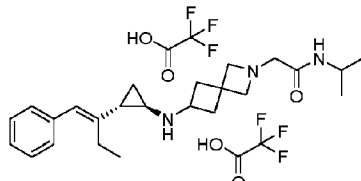
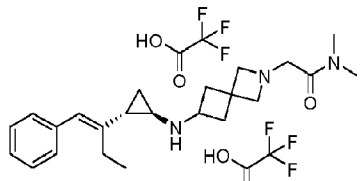
A una solución de N-(2-(2-(etilamino)-2-oxoetil)-2-azaespiro[3.3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluoro-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamida (190 mg, 409 μmol) en MeOH (2,0 ml) a temperatura ambiente se añadió NaOH (1 M, 2,04 ml, 2,04 mmol). La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se concentró a presión reducida y el producto bruto se disolvió en TFA/agua y se purificó en una columna C-18 de 12 g usando MeCN/TFA H₂O al 0,1% como eluyentes con el siguiente gradiente (2 CV 0%, 20 CV 0-30%, 5 CV 30%) para proporcionar bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-etil-2-(6-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida (86,7 mg) como un sólido blanco después de la liofilización. CL-EM *m/z* 368,1

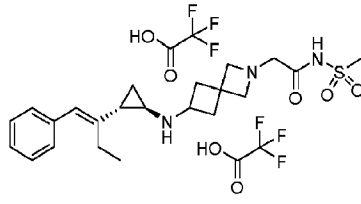
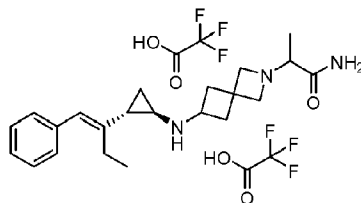
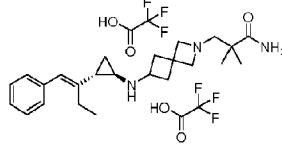
[M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,23 (s a, 1H), 9,23 (s a, 2H), 8,45 - 8,33 (m, 1H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,27 - 7,14 (m, 3H), 6,19 (s, 1H), 4,27 - 4,10 (m, 1H), 4,10 - 3,99 (m, 2H), 3,98 - 3,87 (m, 2H), 3,80 - 3,63 (m, 1H), 3,16 - 3,04 (m, 2H), 2,77 - 2,57 (m, 2H), 2,57 - 2,52 (m, 2H), 2,48 - 2,35 (m, 2H), 2,30 - 2,17 (m, 2H), 2,01 - 1,85 (m, 1H), 1,20 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,03 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

5

Utilizando el material de partida apropiado y modificaciones se sintetizaron los ejemplos de la tabla 5 siguientes utilizando los procedimientos de síntesis descritos para el Compuesto 25.

Tabla 5

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
26	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(2-(metilsulfonyl)etil)-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,26 (s a, 1H), 9,15 (s a, 2H), 8,70 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,31 - 4,19 (m, 1H), 4,17 - 4,12 (m, 1H), 4,12 - 4,05 (m, 2H), 4,04 - 3,96 (m, 1H), 3,52 (c, J = 6,5 Hz, 2H), 3,27 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,75 (s, 1H), 2,71 - 2,64 (m, 1H), 2,63 - 2,52 (m, 1H), 2,46 - 2,34 (m, 2H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,20 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	446,3 [M+H] ⁺
27	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-isopropil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,21 (s a, 1H), 9,25 (s a, 2H), 8,31 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,26 - 7,18 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,29 - 4,19 (m, 1H), 4,15 - 4,11 (m, 1H), 4,11 - 4,04 (m, 2H), 3,96 - 3,90 (m, 2H), 3,84 (sept, J = 6,6 Hz, 1H), 3,80 - 3,70 (m, 1H), 2,79 - 2,65 (m, 2H), 2,62 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,28 - 2,20 (m, 2H), 2,02 - 1,91 (m, 1H), 1,22 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 5,9 Hz, 3H), 1,07 (d, J = 6,6 Hz, 6H).	382,2 [M+H] ⁺
28	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N,N-dimetil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,08 (s a, 1H), 9,16 (s a, 2H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,27 - 7,18 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,32 - 4,27 (m, 2H), 4,27 - 4,23 (m, 1H), 4,18 - 4,10 (m, 2H), 4,10 - 4,03 (m, 1H), 3,77 (s a, 1H), 2,87 (d, J = 8,9 Hz, 6H), 2,79 - 2,71 (m, 1H), 2,71 - 2,64 (m, 1H), 2,65 - 2,54 (m, 1H), 2,48 - 2,35 (m, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,20 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,6 Hz, 3H).	368,1 [M+H] ⁺

Compuesto	Estructura / nombre	RMN de ¹ H	CL-EM m/z
29	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de N-(metilsulfonyl)-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)acetamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,32 (s a, 1H), 9,18 (s a, 2H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,29 - 7,14 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,22 (s, 2H), 4,13 (s, 2H), 4,11 - 4,04 (m, 1H), 3,84 - 3,71 (m, 1H), 3,18 (d, J = 1,0 Hz, 3H), 2,80 - 2,70 (m, 1H), 2,70 - 2,57 (m, 2H), 2,49 - 2,39 (m, 2H), 2,29 - 2,17 (m, 2H), 2,02 - 1,86 (m, 1H), 1,22 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	418,3 [M+H] ⁺
30	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propanamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,33 (s a, 1H), 9,28 (s a, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,29 - 7,16 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,13 (m, 1H), 4,13 - 3,88 (m, J = 16,5, 9,8 Hz, 3H), 3,87 - 3,70 (m, 1H), 2,81 - 2,63 (m, J = 20,1 Hz, 2H), 2,62 - 2,52 (m, 1H), 2,46 - 2,34 (m, J = 8,4 Hz, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,04 - 1,90 (m, 1H), 1,27 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,22 - 1,14 (m, J = 12,7, 5,5 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	354,2 [M+H] ⁺
31	 bis(2,2,2-trifluoroacetato) de 2,2-dimetil-3-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaespiro[3.3]heptan-2-il)propanamida	¹ H RMN (400 MHz, dmso) δ 9,39 (s a, 1H), 9,18 (s a, 2H), 7,47 (s, 1H), 7,39 - 7,32 (m, 2H), 7,30 (s, 1H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 4,36 - 4,27 (m, 1H), 4,24 - 4,08 (m, 3H), 3,82 - 3,69 (m, 1H), 3,29 - 3,18 (m, 2H), 2,82 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,50 - 2,31 (m, 2H), 2,31 - 2,17 (m, 2H), 2,06 - 1,84 (m, 1H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,14 (s, 6H), 1,11 (t, J = 7,6 Hz, 3H).	382,4 [M+H] ⁺

Ensayo LSD1 TR-FRET

- Las reacciones de desmetilasa LSD1 se llevaron a cabo en HEPES 50 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, DTT 1 mM, Tween-20 al 0,01% y 0,1 mg/ml de BSA. Todas las reacciones enzimáticas se realizaron durante 50 minutos a temperatura ambiente en un volumen de 10 µl. Se añadieron cinco microlitros de solución de péptido H3K4me1 biotinilado 8 µM a cada pocillo de una placa de ensayo negra de 384 pocillos y fondo transparente que contenía 80 nl de compuesto (concentración final: DMSO al 0,8% y sustrato 4 µM). Las reacciones se iniciaron mediante la adición de una mezcla que contenía LSD1 20 nM y FAD 80 nM (5 µl). Las concentraciones finales de LSD1 y FAD fueron 10 y 40 nM, respectivamente. La actividad enzimática se detuvo mediante la adición de 90 µl de tampón con alto contenido de sal que consistía en HEPES 50 mM, pH 7,4, NaCl 500 mM, DTT 1 mM, Tween-20 al 0,01% y 0,1 mg/ml de BSA. Se transfirieron diez microlitros de las mezclas de reacción inactivadas a una ProxiPlate negra de 384 pocillos. Se añadieron diez microlitros de mezcla de detección al ProxiPlate, se utilizaron anticuerpos marcados con europio y estreptavidina APC en concentraciones finales de 0,3 nM y 200 nM, respectivamente (volumen total de ensayo de 20 µl). Se dejó que la captura del péptido producto mediante el anticuerpo anti-H3K4me0 y estreptavidina APC se realizara durante 60 minutos a temperatura ambiente antes de medir la señal TR-FRET. Las placas se leyeron en un lector Perkin Elmer EnVision. El porcentaje de inhibición se calculó utilizando los controles Max (sin inhibidor) y Min (inactivado con tampón de detención) y se trazaron curvas de inhibición para determinar los valores de CI₅₀.

Ensayo cuantigénico LSD1 LY96

Se cultivaron células MV4-11 a una densidad de 4×10^4 células por pocillo en placas de 96 pocillos y se trataron con diversas dosis de inhibidor desde $10 \mu\text{M}$ hasta $0,0005 \mu\text{M}$ durante 16 h. La inducción del ARNm de LY-96 se cuantificó utilizando el sistema Quantigene 2.0 (Affymetrix). Las células se lisaron con una mezcla de lisis que contenía proteinasa K. El reactivo de trabajo para capturar el ARN se preparó de acuerdo con las etapas detalladas en "Capturing Target RNA from Cultured Cell or Blood Lysates" en el manual de Quantigene. La posterior hibridación con la sonda LY-96, la amplificación de la señal y las etapas de detección se realizaron tal como se describe en el manual. La quimioluminiscencia se leyó utilizando el lector Envision (PerkinElmer) y se utilizó Abase (programa informático IDBS) para trazar las curvas de respuesta a la dosis y calcular la CI_{50} .

Ensayo Kasumi-1 GI_{50}

Se sembraron células en placas de 5.000 células por pocillo en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos que contenían compuestos herramienta dispuestos en una curva de dosis de 10 puntos, que variaba de 0 a 10 mM con diluciones cuádruples, y se dividieron cada cuatro días en una proporción fija para restablecer una densidad de 5.000 células/pocillo para los controles tratados con DMSO. Los tratamientos celulares se llevaron a cabo durante un total de 12 días. En cada división de 4 días, el número de células viables se determinó utilizando el ensayo de viabilidad de células luminiscentes Cell Titer-Glo (Promega, Madison, WI, Estados Unidos) utilizando un lector de placas multietiqueta EnVision® (Perkin Elmer, Waltham, MA, Estados Unidos). Se utilizó GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, Estados Unidos) para el ajuste de curvas y la determinación de los valores de IC_{50} .

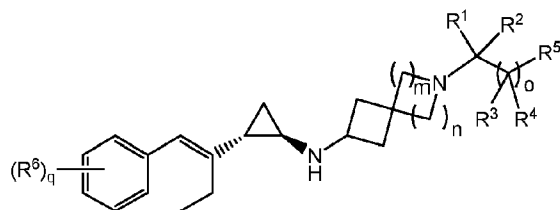
Tabla 6

Compuesto	LSD1 TR-FRET GI_{50}	LSD1 LY96 CE_{50}	Kasumi-1 GI_{50}
1	A	A	A
2	A	A	A
4	A	A	A
5	ND	A	A
6	ND	A	A
7	ND	A	A
8	ND	A	A
9	ND	A	A
10	ND	A	A
11	A	A	A
13	A	A	A
14	ND	A	A
15	ND	A	A
16	ND	A	A
17	A	A	A
18	ND	A	A
19	ND	A	A
20	ND	A	A
22	A	A	A
23	A	A	A
24	ND	A	A
26	ND	A	A
27	ND	A	A
28	ND	A	A
29	ND	A	A
30	ND	A	A
32	A	A	A

Compuesto	LSD1 TR-FRET GI ₅₀	LSD1 LY96 CE ₅₀	Kasumi-1 GI ₅₀
* Los valores de CI₅₀, CE₅₀ y CI₅₀ se notifican de la forma siguiente: "A" indica un valor de CI₅₀ inferior a 100 nM; "B" indica un valor de GI₅₀ de 100 nM a 1 µM; "C" indica un valor de CI₅₀ superior a 1 µM e inferior a 10 µM para cada enzima; "D" indica un valor de CI₅₀ superior a 10 µM para cada enzima; "(X µM)" indica que no se observó inhibición en la concentración más alta (es decir, X µM) del compuesto sometido a ensayo; y "ND" es no determinado.			

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



en el que la configuración estereoquímica alrededor del anillo de ciclopropilo es 1R,2S,
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que

n es 1 o 2;

m es 1 o 2;

o es 0 o 1;

q es 0, 1, 2 o 3;

R¹ es hidrógeno o alquilo (C₁-C₆);

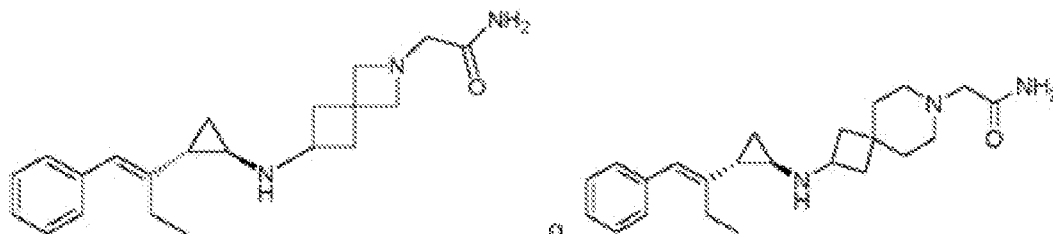
R² es hidrógeno o alquilo (C₁-C₆) opcionalmente sustituido con OH o alcoxi (C₁-C₆);

R³ y R⁴, si están presentes, se seleccionan cada uno independientemente de entre hidrógeno, halo, OH, alquilo (C₁-C₆);

R⁵ se selecciona de entre NH₂, -NH(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -NH(SO₂)alquil (C₁-C₆)Oalquilo (C₁-C₆), -NHC(O)alquilo (C₁-C₆), -NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), OH, -Oalquilo (C₁-C₆), -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NHalquilo (C₁-C₆), -C(O)N[alquilo (C₁-C₆)]₂, -C(O)NH(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -C(O)NHalquil (C₁-C₆)(SO₂)alquilo (C₁-C₆), -C(O)NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), -C(O)NHalquil (C₁-C₆)OH, -C(O)NHalquil (C₁-C₆)Oalquilo (C₁-C₆) y alquilo (C₁-C₄) sustituido con OH; y

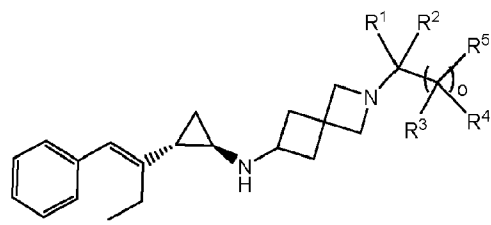
R⁶, si está presente, se selecciona de entre alquilo (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), haloalcoxi (C₁-C₆), halo y ciano;

siempre que el compuesto no sea de fórmula:



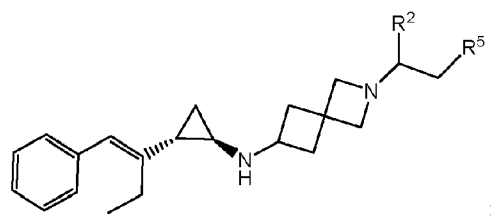
o una sal del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

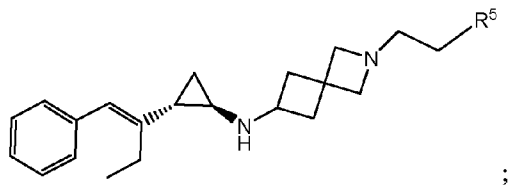
3. El compuesto de una cualquiera de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁵ es hidrógeno, metilo o hidroalquilo (C₁-C₄).

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula:

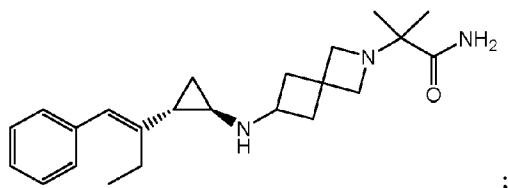
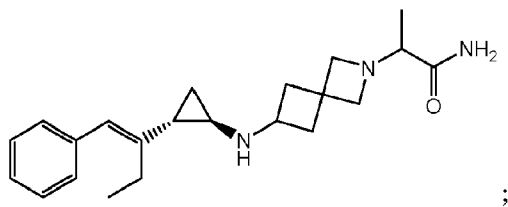
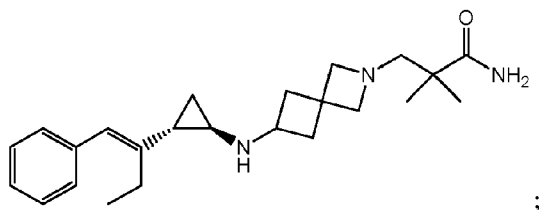
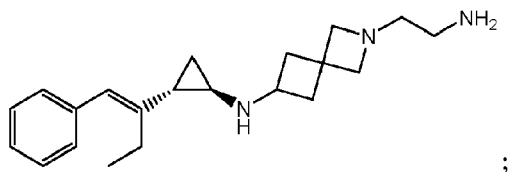


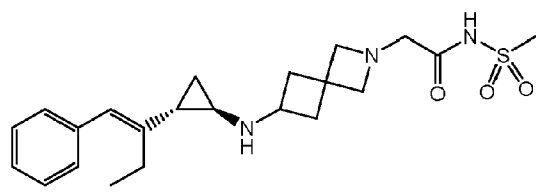
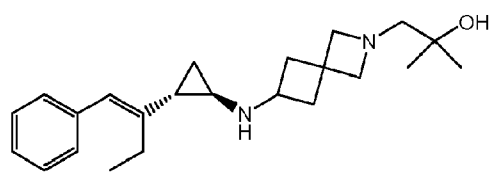
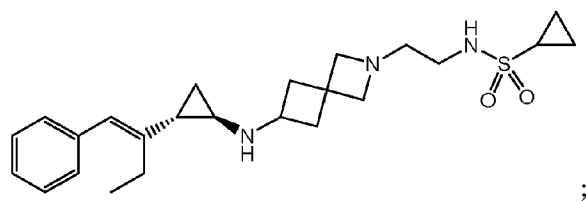
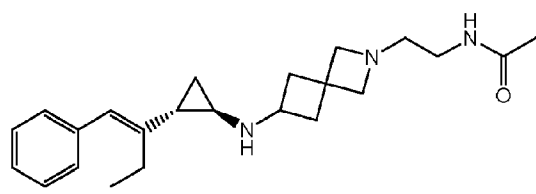
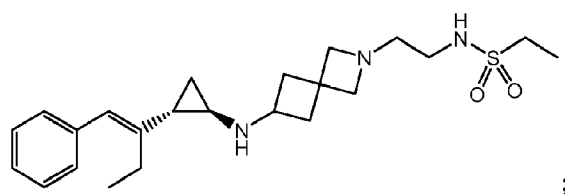
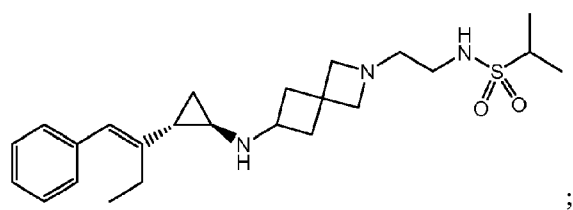
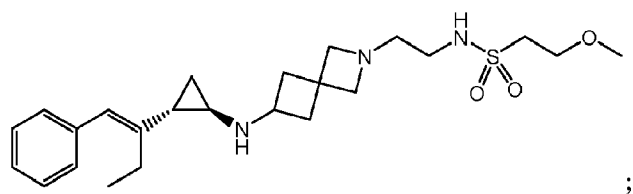
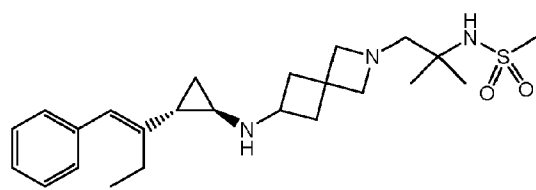
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

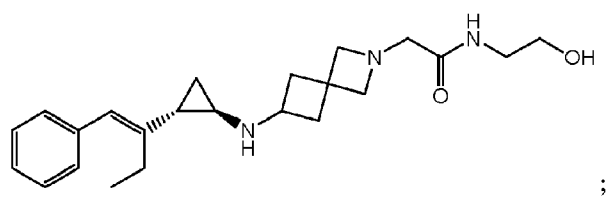
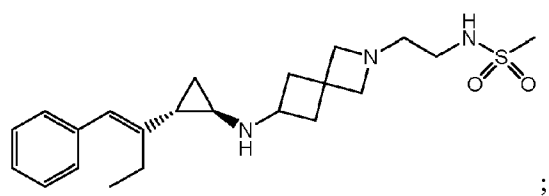
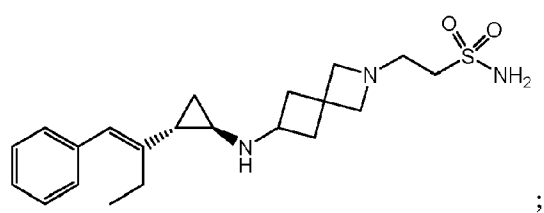
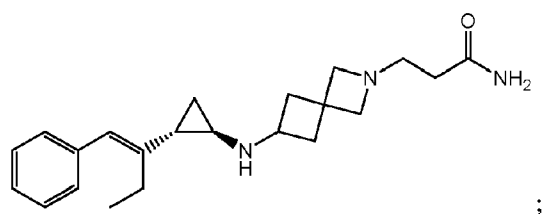
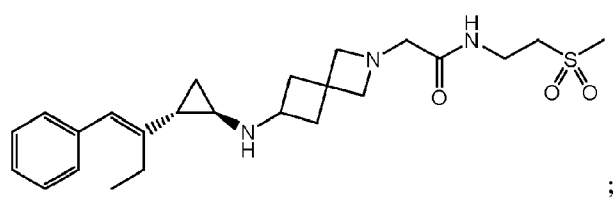
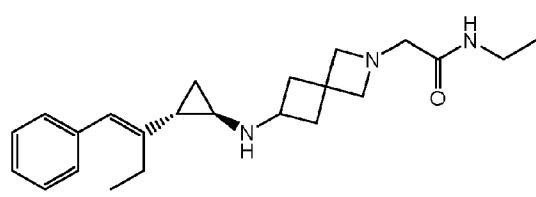
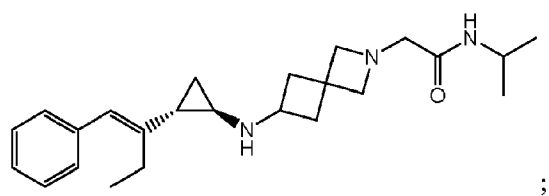
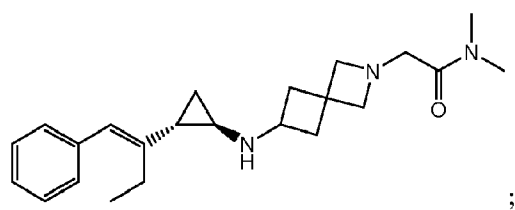
6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁵ es NH₂, -NH(SO₂)alquilo (C₁-C₄), -NH(SO₂)alquil (C₁-C₄)Oalquilo (C₁-C₄), -NHC(O)alquilo (C₁-C₄), -NH(SO₂)cicloalquilo (C₃-C₆), OH, -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NHalquilo (C₁-C₄), -C(O)NH(SO₂)alquilo (C₁-C₄), -C(O)NHalquil (C₁-C₄)(SO₂)alquilo (C₁-C₄), -C(O)NHalquil (C₁-C₄)OH o alquilo (C₁-C₂) sustituido con OH.

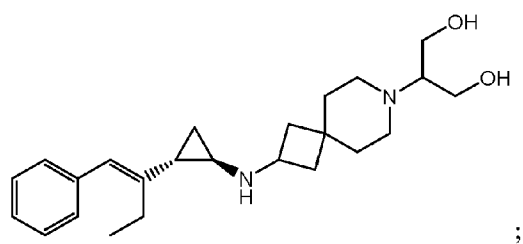
7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁵ es -NH(SO₂)CH₃, -NH(SO₂)(CH₂)₂OCH₃, -NH(SO₂)CH(CH₃)₂, -NH(SO₂)CH₂CH₃, -NHC(O)CH₃, -NH(SO₂)ciclopropilo, -C(O)NH(SO₂)CH₃, -C(O)NH(CH₃)₂, -C(O)NHCH(CH₃)₂, -C(O)NHCH₂CH₃, -C(O)NH(CH₂)₂(SO₂)CH₃, -C(O)NH(CH₂)₂OH o -CH₂OH.

8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene una fórmula seleccionada de entre

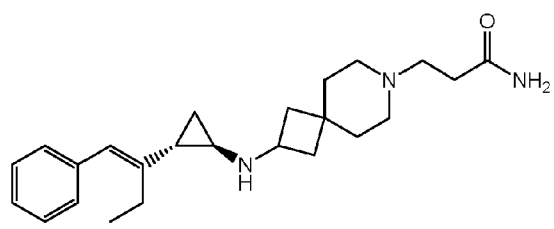




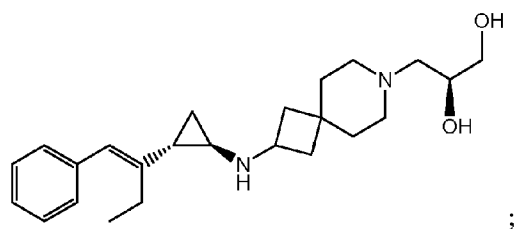




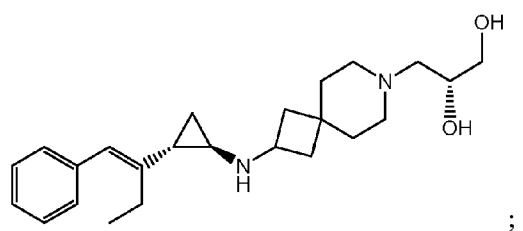
;



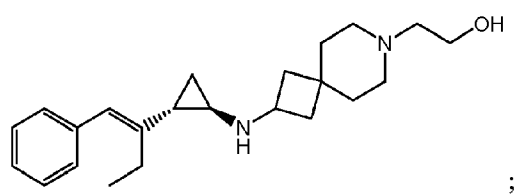
;



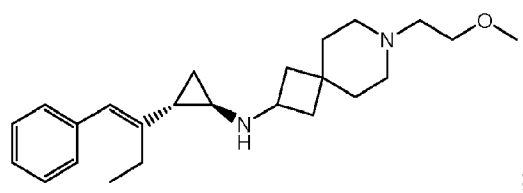
;



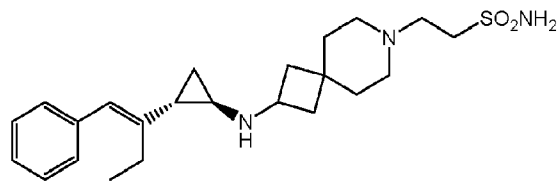
;



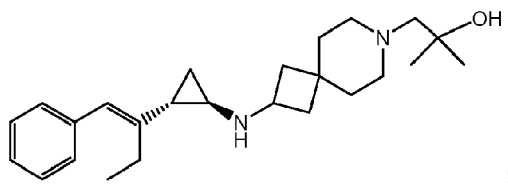
;



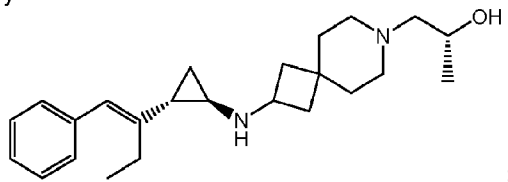
;



;



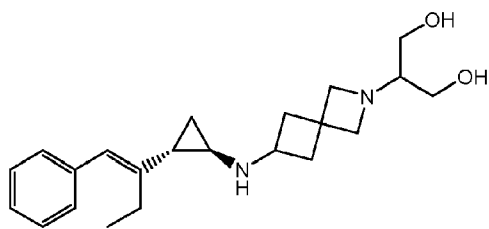
y



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

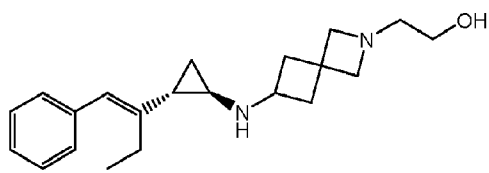
9. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula:



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula:



15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o la composición de la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de entre CML (leucemia mielógena crónica), T-ALL (leucemia linfoblástica aguda T), neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, reactivación del virus del herpes simple e infección por VIH.

FIG. 1

Bloque de datos parat3 - gráfico dependiente

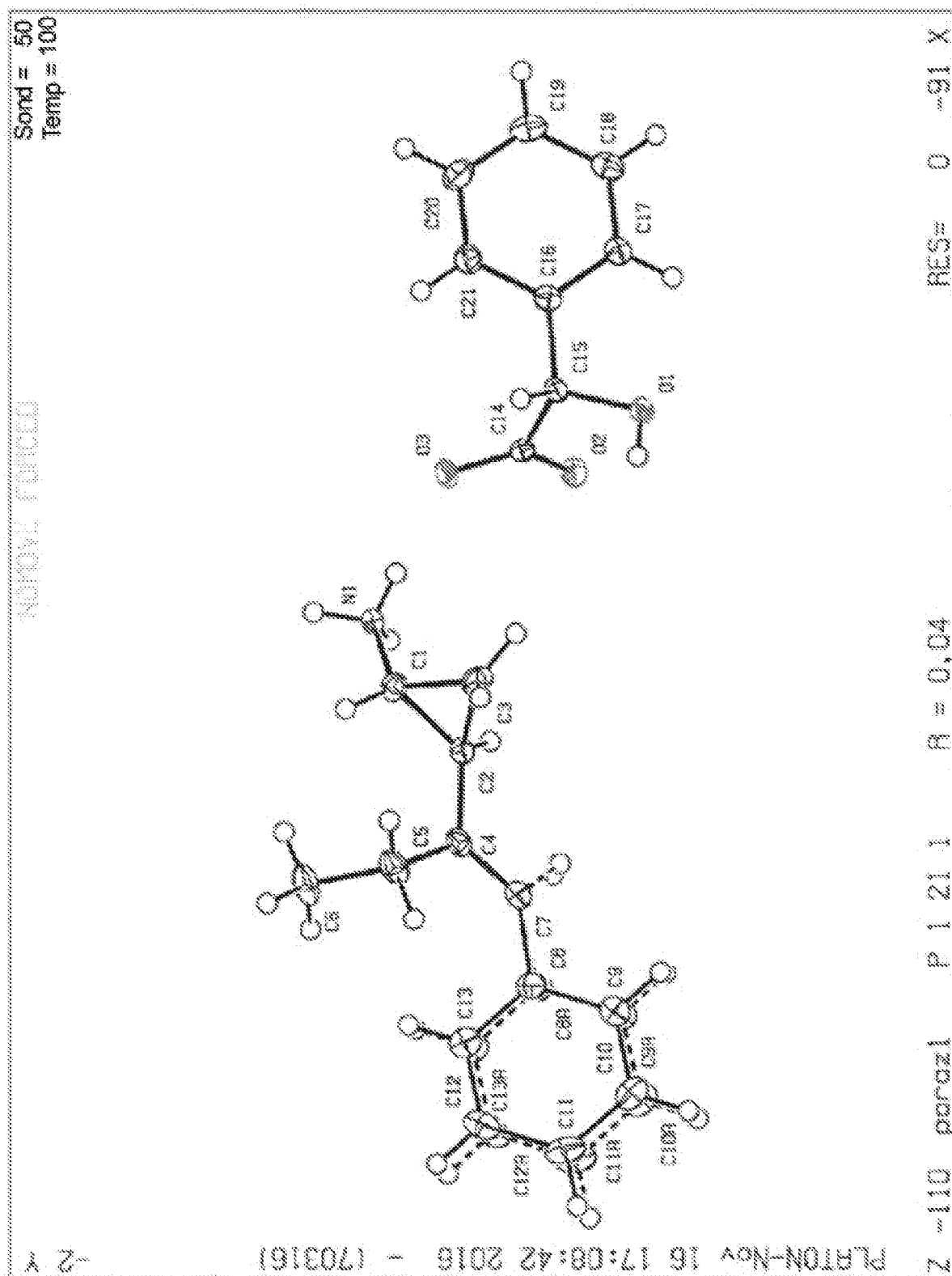


FIG. 2

Block of data para a -gráfico alpendido

