



MD/EP 3341379 T2 2020.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3341379 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07D 495/04 (2006.01.01)
A61K 31/4365 (2006.01.01)
A61P 35/00 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 0644 (22) Data de depozit: 2016.08.22 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16757513.3, 2016.08.22 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3341379, 2019.10.09 (31) Numărul cererii prioritare: 15382433; 15382615 (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.08.27; 2015.12.11 (33) Țara cererii prioritare: EP; EP	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 01/2020, 2020.01.31 (80) Data publicării mențiunii eliberării de către OEB: EPB nr. 41/2019, 2019.10.09 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 08/2018, 2018.08.31
(71) Solicitant: Eli Lilly and Company, US (72) Inventatori: DOMINGUEZ Esteban, US; GUO Deqi, US; MADER Mary Margaret, US; NGUYEN Anh-Quan Hannah, US; DEL PRADO Miriam Filadelfa, US; RICHETT Michael Enrico, US; RODRIGUEZ Michael John, US; YIP Yvonne Yee Mai, US; YU Kuo-Long, US (73) Titular: Eli Lilly and Company, US (74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru	

(54) Inhibitori ai EZH2

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la compuși care inhibă activitatea histon lizin metiltransferazei, amplificator al omologului Zeste (Enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2)), la compoziții farmaceutice care cuprind

2

compuși, și la metode de utilizare a compușilor pentru tratarea cancerului, cum ar fi tumori hematologice și solide.

Revendicări: 24

MD/EP 3341379 T2 2020.01.31

(54) Inhibitors of EZH2**(57) Abstract:**

1
 The present invention relates to
 compounds that inhibit activity of the histone
 lysine methyltransferase, Enhancer of Zeste
 Homolog 2 (EZH2), pharmaceutical

2
 compositions comprising the compounds, and
 methods of using the compounds to treat
 cancer, such as hematologic and solid tumors.
 Claims: 24

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

Prezenta invenție se referă la compuși care inhibă activitatea histon lizin metiltransferazei, amplificator al omologului zeste (Enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2)), la compoziții farmaceutice care cuprind compușii, și la metode de utilizare a compușilor pentru tratarea cancerului, cum ar fi tumori hematologice și solide.

EZH2 este codificată de către gena EZH2, și este componenta catalitică a complexului represiv poliacom 2 (PRC2) care este responsabil pentru metilarea lizinei 27 din histona 3 (H3K27) pe cromatină. Supraexprimarea EZH2 se crede că promovează cancerul ca urmare a creșterilor metilării histonice, care silențiază exprimarea genelor supresoare tumorale. Activitatea catalitică a EZH2 este mediată de un aminoacid 130 Su(var)3-9, potențiator al Zeste și domeniului trithorax (SET), care furnizează buzunarele de legare pentru cofactorul S-adenozilmetionină (SAM) și restul de lizină al substratului. Miezul complexului PRC2 este compus din EZH2 și proteina EED (Embrionic Ectoderm Development), SUZ12 (Suppressor of Zeste 12 homolog) și RbAp46/48 (cunoscută de asemenea ca RBBP7/4), și poate include de asemenea alte proteine cum ar fi JARID2, AEBP2, și Polcomblike (PCL) 1/2/3.

În plus față de supraexprimarea EZH2, metilarea crescută a H3K27 poate apare de asemenea din cauza mutațiilor care cresc eficiența catalitică a EZH2, cum ar fi Y641N, A677G, și A678V. În plus, s-a raportat de asemenea că nivelurile de metilare ale H3K27 pot fi modulate în tumori solide prin diferite căi de semnalizare, cum ar fi cele care implică VEGFR2 și PI3K/AKT.

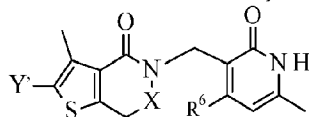
Complecșii SWI/SNF și PRC2 joacă roluri antagoniste în activarea și respectiv reprimarea transcripției. Tumorile în care lipsește, sau au defecte în SWI/SNF proteina SNF5 (cunoscută și sub denumirea de SMARCB1/INI1) pot demonstra metilare și reprimare aberantă de către PRC2 și sunt inhibitate în creștere în urma tratamentului cu inhibitori cu molecule mici ai EZH2. În plus, tumorile în care lipsește, sau au defecte în SWI/SNF proteina ARID1A (cunoscută de asemenea ca BAF250), combinate cu mutații activatoare constitutive în componentele căii PI3K, cum ar fi PIK3CA, sunt, de asemenea, inhibitate în creștere în urma tratamentului cu inhibitori cu molecule mici ai EZH2. În plus, tumorile în care lipsesc, sau sunt defecte atât SMARCA2 (cunoscută și sub denumirea de BRM), cât și SMARCA4 (cunoscută și ca BRG1) sunt inhibitate în creștere în urma tratamentului cu inhibitori cu molecule mici ai EZH2.

Complecșii metiltransferazei H3K4 (cunoscuți și sub numele de MLL sau COMPASS) cooperează cu complexul SWI/SNF în antagonizarea efectelor represive ale PRC2 (analizate în Van der Meulen, J. et al. (2014) Epigenetics 9:658-68, Xu, B. et al. (2015) Exp. Hematol. 43:698-712). Tumorile în care lipsesc, sau au defecte în componentele complexului metiltransferazei H3K4, incluzând dar nu limitat la MLL2 (*datele prezentate aici pentru tratamentul de combinație cu un inhibitor al EZH2 plus chimioterapia de Îngrijire Standard la modelele de xenogrefă derivate de la pacienți cu cancer gastric*), MLL3 (*datele prezentate aici pentru tratamentul de combinație cu un inhibitor al EZH2 plus chimioterapia de Îngrijire Standard la modele de xenogrefă derivate de la pacienți cu cancer pulmonar*), Demetilază 6A specifică lizinei, cunoscută de asemenea ca Repetare tetratricopeptidă transcrisă ubicuitar, Cromozom X (UTX, cunoscut și sub numele de KDM6A [Ezpona, T. et al. (2014) Blood 124:611]), singure sau în combinație cu componente lipsă sau defecte ale complexului SWI/SNF descris mai sus, incluzând dar nu limitat la ARID1A (*datele prezentate aici pentru tratamentul de combinație cu un inhibitor al EZH2 plus chimioterapia de Îngrijire Standard la modele de xenogrefă derivate de la pacienți cu cancer gastric*), sunt inhibitate în creștere în urma tratamentului cu inhibitori cu molecule mici ai EZH2 ca singur agent sau în combinație cu agenți chimioterapici de Îngrijire Standard (SOC). Limfoamele cu origini în centrul germinal din celule B sunt inhibitate în creștere cu perturbări în EZH2 (Beguelin et al. (2013) Cancer Cell 23:677-92; Velichutina, I. et al. (2010) Blood 116:5247-5255) și de asemenea au o frecvență ridicată a mutațiilor în MLL2, CREBBP, EP300, ARID1A și SMARCA4 (Lunning, M.A. și Green, M.R. (2015) Blood Cancer Journal 5, e361; Carbone, A. et al. (2014) Ann. Hematol. 93:1263-1277).

Unii inhibitori ai EZH2 sunt deja cunoscuți în literatură. Vezi de exemplu, WO2012/142504, WO2012/142513, WO2013/120104, WO2013/173441, WO2013/075083, WO2014/177982, WO2014/097041, și WO2016/066697.

Rămâne o nevoie de a furniza inhibitori alternativi ai EZH2 pentru tratarea cancerului. Corespunzător, prezenta invenție furnizează anumiți inhibitori ai EZH2 care pot fi utili pentru tratarea cancerului.

Prezenta invenție furnizează un compus cu formula:



in care:

X este $-\text{CH}_2-$ sau $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

- 5 Y' este $-\text{NR}^4\text{R}^5$, $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-dimetilamino, $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-N-metil-N-metoxietilamino, sau $-\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, N-triazolil, N-pirolidinil, morfolinil, tetrahydrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

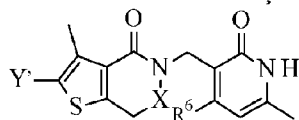
- 10 R^4 este piperidin-4-il sau ciclohex-4-il substituit cu dimetilamino, N-metil-N-metoxietilamino, N-metil-N-ciclopropilamino, sau azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

R^5 este metil sau etil; și

R^6 este metil sau cloro; sau

- 15 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

X este $-\text{CH}_2-$ sau $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

- 20 Y' este $-\text{NR}^4\text{R}^5$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohexil-4-il-N-metil-N-metoxietil, sau $-\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, pirazolil, metilpirazolil, triazolil, pirolidinil, tetrahydrofuraniloxi, sau morfolinil;

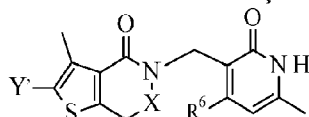
- 25 R^4 este ciclohex-4-il substituit cu N-metil-N-metoxietilamino, N-metil-N-ciclopropilamino, sau azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau pirazolil;

R^5 este metil sau etil; și

R^6 este metil sau cloro; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

- 30 Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

X este $-\text{CH}_2-$;

- 35 Y' este $-\text{NR}^4\text{R}^5$, $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-dimetilamino, $\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-N-metil-N-metoxietilamino, sau $-\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, N-triazolil, N-pirolidinil, morfolinil, tetrahydrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

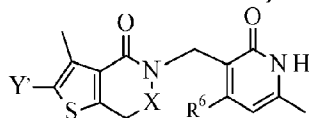
- 40 R^4 este ciclohex-4-il substituit cu dimetilamino, N-metil-N-metoxietilamino, N-metil-N-ciclopropilamino, sau azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

R^5 este metil sau etil; și

R^6 este metil sau cloro; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

- 45 Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

X este $-\text{CH}_2-$;

Y' este -NR⁴R⁵, CH(CH₃)-ciclohex-4-il-N-metil-N-metoxietilamino, sau -CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, N-triazolil, N-pirolidinil, morfolinil, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

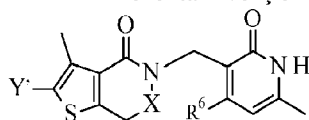
- 5 R⁴ este ciclohex-4-il substituit cu N-metil-N-metoxietilamino, N-metil-N-ciclopropilamino, sau azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

R⁵ este metil sau etil; și

R⁶ este metil sau cloro; sau

- 10 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

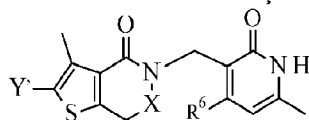
X este -CH₂- sau -CH₂-CH₂-;

- 15 Y' este -CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; și

R⁶ este metil; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

- 20 Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

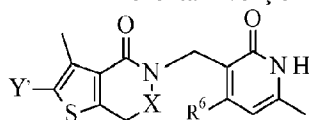
X este -CH₂-;

- 25 Y' este -CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; și

R⁶ este metil; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



- 30

in care:

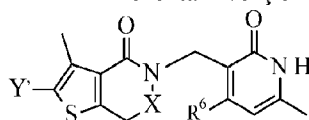
X este -CH₂-CH₂-;

- 35 Y' este -CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il in care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; și

R⁶ este metil; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



- 40

in care:

X este -CH₂- sau -CH₂-CH₂-;

Y' este -NR⁴R⁵;

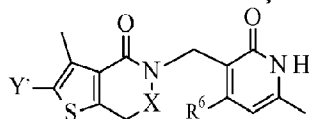
- 45 R⁴ este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, in care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; și

R⁵ este metil sau etil; și

R⁶ este metil sau cloro; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

X este $-\text{CH}_2-$;

5 Y' este $-\text{NR}^4\text{R}^5$;

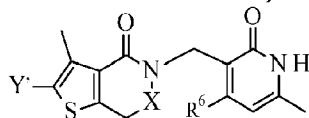
R^4 este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

R^5 este metil sau etil; și

R^6 este metil sau cloro; sau

10 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

X este $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

15 Y' este $-\text{NR}^4\text{R}^5$;

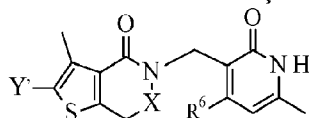
R^4 este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

R^5 este metil sau etil; și

R^6 este metil; sau

20 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

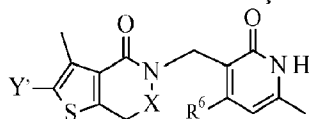
X este $-\text{CH}_2-$ sau $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

25 Y' este $-\text{CH}(\text{CH}_3)$ -ciclohex-4-il-azetidin-1-il în care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahydrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; și

R^6 este metil sau cloro; sau

30 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia; în care carbonul atașat la poziția 2 din 6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă este în configurația (R).

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

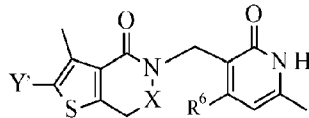
X este $-\text{CH}_2-$ sau $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

35 Y' este $-\text{CH}[\text{CH}_3]$ -ciclohex-4-il-azetidin-1-il în care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahydrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; și

R^6 este metil sau cloro; sau

40 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia; în care carbonul atașat la poziția 2 din 6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă este în configurația (R) și inelul de ciclohexan este în configurația trans.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



in care:

45 X este $-\text{CH}_2-$ sau $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

Y' este $-\text{NR}^4\text{R}^5$;

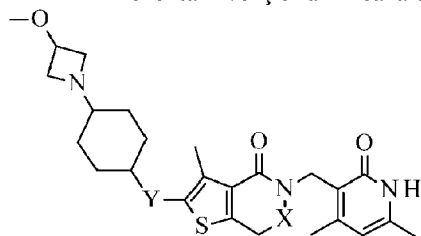
R⁴ este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil;

R⁵ este metil sau etil; și

R⁶ este metil sau cloro; sau

- 5 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia; în care inelul de ciclohexan este în configurația trans.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



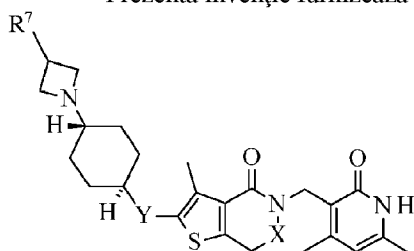
în care:

X este -CH₂- sau -CH₂-CH₂-; și

- 10 Y este CHCH₃, N(CH₃), sau N(CH₂CH₃); sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



în care:

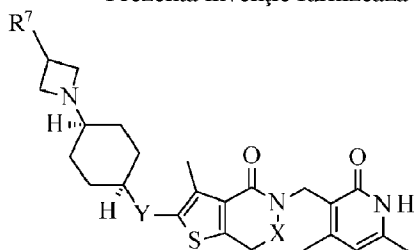
- 15 X este -CH₂- sau -CH₂-CH₂-; și

Y este CHCH₃, N(CH₃), sau N(CH₂CH₃); și

R⁷ este hidrogen, metoxi, etoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; sau

- 20 o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:



în care:

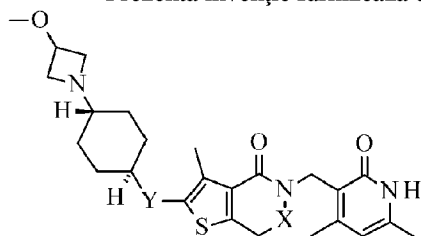
X este -CH₂- sau -CH₂-CH₂-;

- 25 Y este CHCH₃, N(CH₃), sau N(CH₂CH₃); și

R⁷ este hidrogen, metoxi, etoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, N-pirolidinil, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil; sau

o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

- 30 Prezenta invenție furnizează de asemenea un compus cu formula:

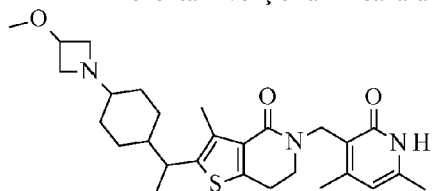


în care:

X este -CH₂- sau -CH₂-CH₂-; și

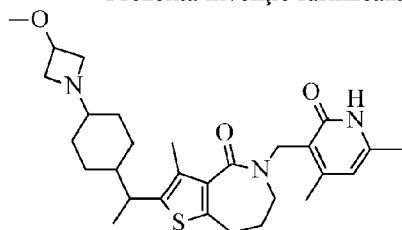
Y este CHCH_3 , $\text{N}(\text{CH}_3)$, sau $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$; sau
o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



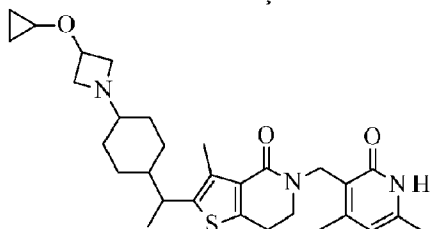
5 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



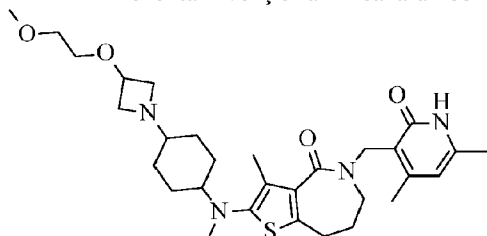
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



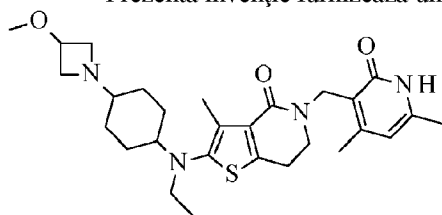
10 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



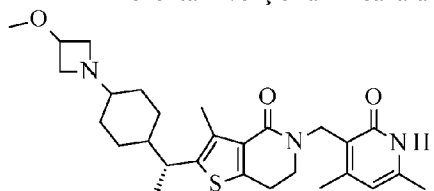
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

15 Prezenta invenție furnizează un compus care este



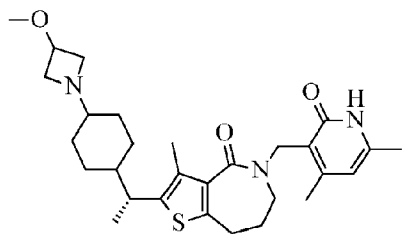
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



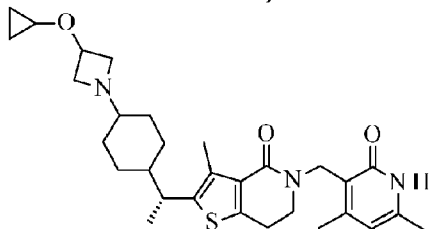
20 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



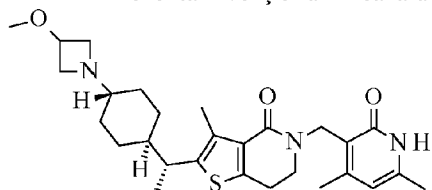
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



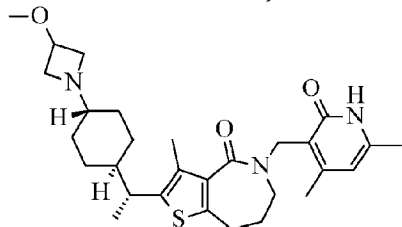
5 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



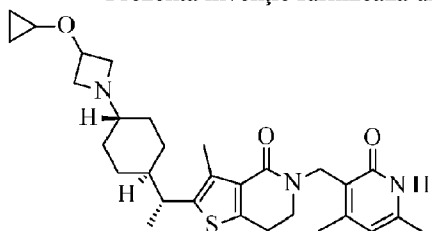
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



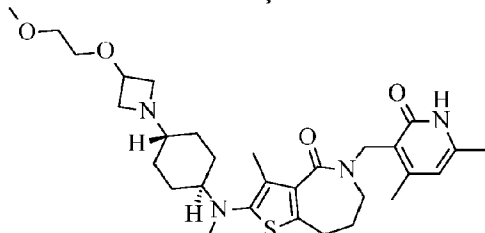
10 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



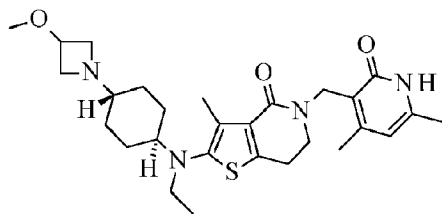
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

15 Prezenta invenție furnizează un compus care este



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează un compus care este



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Prezenta invenție furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând un compus sau sare a acestuia din prezenta invenție și unul sau mai mulți excipienți, purtători, sau diluanți acceptabili farmaceutic.

Această invenție furnizează de asemenea un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție pentru utilizare în terapie. Suplimentar, această invenție furnizează un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție pentru utilizare în tratamentul cancerului, în care cancerul este selectat din grupul constând din limfoame, tumori rabdoide, tumori în care lipsesc, sau au defecte în una sau mai multe componentele complexului SWI/SNF (de exemplu, SNF5), complexelor MLL, și căii PI3K active constitutiv, sarcoame, mielom multiplu, melanom, cancer gastrointestinal, cancer colorectal, cancer pulmonar, cancer la rinichi, cancer la sân, cancer ovarian, și cancer la prostată. Preferabil cancerul este limfom difuz cu celule B mari sau limfom folicular. Preferabil cancerul este limfom difuz cu celule B mari. Preferabil cancerul este cancer gastric. Preferabil cancerul este cancer ovarian. Preferabil cancerul este mielom multiplu. Preferabil cancerul este cancer pulmonar. Preferabil cancerul este cancer colorectal. Preferabil cancerul este o tumoră solidă sau hematologică care poartă EZH2 de tip sălbatic (WT) precum și o tumoră solidă sau hematologică care poartă EZH2 mutant. Preferabil cancerul este o tumoră solidă sau hematologică care poartă EZH2 WT. Preferabil cancerul este o tumoră solidă sau hematologică care poartă EZH2 mutant.

În conformitate cu un alt aspect din prezenta invenție, este prezentat un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție pentru utilizare în tratamentul de combinație simultan, separat sau secvențial, cu carboplatin și paclitaxel în cancer ovarian.

În conformitate cu un alt aspect din prezenta invenție, este prezentat un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție pentru utilizare în tratamentul de combinație simultan, separat sau secvențial, cu oxaliplatin și paclitaxel în cancer gastric.

În conformitate cu un alt aspect din prezenta invenție, este prezentat un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție pentru utilizare în tratamentul de combinație simultan, separat sau secvențial, cu gemcitabină și cisplatin în cancer pulmonar.

În conformitate cu un alt aspect din prezenta invenție, este prezentat un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție pentru utilizare în tratamentul de combinație simultan, separat sau secvențial, cu irinotecan și oxaliplatin în cancer colorectal.

Următoarele paragrafe descriu clasele preferate din prezenta invenție:

a) X este $-\text{CH}_2-$

b) X este $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

c) Y' este $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{ciclohex-4-il-azetidin-1-il}$ în care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, ciclopropiloxi, sau tetrahidrofuran-3-iloxi;

d) Y' este NR^4R^5 ;

e) R^4 este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi sau metoxietoxi;

f) R^5 este etil;

g) R^6 este metil;

h) X este $-\text{CH}_2-$, Y' este $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{ciclohex-4-il-azetidin-1-il}$ în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, și R^6 este metil;

i) X este $-\text{CH}_2-$, Y' este $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{ciclohex-4-il-azetidin-1-il}$ în care azetidin-1-il este substituit cu ciclopropiloxi, și R^6 este metil;

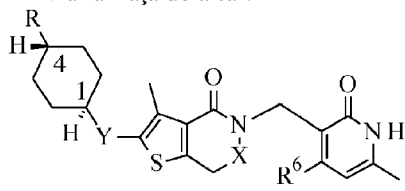
j) X este $-\text{CH}_2-$, Y' este $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{ciclohex-4-il-azetidin-1-il}$ în care azetidin-1-il este substituit cu tetrahidrofuran-3-iloxi, și R^6 este metil;

k) X este $-\text{CH}_2-$, Y' este NR^4R^5 , R^4 este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, R^5 este etil, și R^6 este metil;

l) X este $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, Y' este NR^4R^5 , R^4 este ciclohex-4-il-azetidin-1-il, în care azetidin-1-il este substituit cu metoxietoxi, R^5 este etil, și R^6 este metil; și

m) X este $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, Y' este $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{ciclohex-4-il-azetidin-1-il}$ în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, și R^6 este metil.

Cineva având calificare obișnuită în domeniu va înțelege că termenul „*trans*” este așa cum s-a reprezentat mai jos în care substituenții la pozițiile 1,4 în jurul radicalului ciclohexil sunt *trans* unul față de altul:



5 in care R este selectat dintre dintre dimetilamino, N-metil-N-metoxietilamino, N-ciclopropil-N-metilamino, sau azetidin-1-il, substituit opțional cu metoxi, etoxi, propoxi, metilmetoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, morfolinil, N-triazolil, pirolidin-4-il, tetrahidrofuran-3-iloxi, sau N-pirazolil substituit opțional cu metil și X și Y sunt așa cum s-au definit anterior.

10 Cititorul specializat va înțelege că un compus din prezenta invenție este capabil să formeze săruri. Compusul prezentei invenții este o bază, și reacționează corespunzător cu oricare dintre un număr de acizi anorganici și organici pentru a forma săruri acceptabile farmaceutic. Astfel de săruri de adiție cu acid acceptabile farmaceutic și metodologia comună pentru prepararea lor sunt bine cunoscute în domeniu. Vezi, de ex., P. Stahl, et al., HANDBOOK OF
15 PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2008); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol 66, NR. 1, ianuarie 1977.

Un compus sau o sare a acestuia din prezenta invenție se poate prepara printr-o varietate de procedee cunoscute în domeniu, din care unele sunt ilustrate în Preparările și
20 Exemplele de mai jos. Etapele de sinteză specifice descrise pot fi combinate în diferite moduri pentru a prepara compuși sau săruri din prezenta invenție. Producții din etapele de sinteză pot fi recuperate prin metode convenționale bine cunoscute în domeniu, incluzând extracție, evaporare, precipitare, cromatografie, filtrare, triturare, și cristalizare. Reactivii și materiile prime sunt disponibile cu ușurință cuiva având calificare obișnuită în domeniu.

25 Unii intermediari sau compuși ai prezentei invenții pot avea unul sau mai mulți centri chirali. Prezenta invenție are în vedere toți enantiomerii sau diastereomerii individuali, precum și amestecurile de enantiomeri și diastereomeri ale compușilor menționați, inclusiv racemații. Este preferat ca, compușii prezentei invenții conținând cel puțin un centru chiral să existe ca enantiomeri sau diastereomeri unici. Enantiomerii sau diastereomerii unici pot fi preparați pornind
30 de la reactivi chirali sau tehnici de sinteză stereoselectivă sau stereospecifică. Alternativ, enantiomerii sau diastereomerii unici pot fi izolați din amestecuri prin tehnici standard de cromatografie chirală sau prin cristalizare. Specialistul calificat va aprecia că în unele circumstanțe ordinea de eluare a enantiomerilor sau diastereomerilor poate fi diferită din cauza coloanelor cromatografice și fazelor mobile diferite.

35 Anumiți centri stereochemici au fost lăsați nespecificați și anumiți substituenți au fost eliminați în următoarele scheme pentru claritate și nu se intenționează să limiteze în nici un fel schemele. Mai mult, izomerii, enantiomerii, sau diastereomerii individuali pot fi separați sau rezolvați de cineva având calificare obișnuită în domeniu la orice punct convenabil în sinteza compușilor din prezenta invenție, prin metode cum ar fi tehnici de cristalizare selectivă sau cromatografie chirală (Vezi de exemplu, J. Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates, and
40 Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, and E.L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Suplimentar, intermediarii descriși în următoarele scheme conțin un număr de grupări de protecție la azot. Gruparea de protecție variabilă poate fi identică sau diferită la fiecare apariție, în funcție de condițiile de reacție particulare și de transformările particulare care trebuie efectuate. Condițiile de protejare și de deprotejare sunt cunoscute de către specialiștii în domeniu și sunt descrise în literatura de specialitate (Vezi de exemplu "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", ediția a patra,
45 de Peter G.M. Wuts și Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc. 2007).

Anumite abrevieri sunt definite după cum urmează: „AcOH” se referă la acid acetic sau
50 acid acetic glacial; „ACN” se referă la acetonitril; „AdoMet” se referă la S-adenozil-L-metionină; „AEBP” se referă la proteina de legare a intensificatorului de adipocite; „AUC” se referă la Aria de Sub Curbă; „BOC” se referă la *terț*-butoxicarbonil; „bid” se referă la dozare de două ori pe zi; „bm” se referă la multiplu larg; „Bn” se referă la benzil; „BSA” se referă la Albumină din ser bovin; „c” se referă la concentrație în grame pe mililitru; „CAT. #” Se referă la număr de catalog;
55 „CDI” se referă la carbonildiimidazol; „CO₂” se referă la dioxid de carbon; „CV” se referă la

volumul coloanei; „Ci” se referă la Curie; „CPM” se referă la numere pe milion; „cPr” se referă la ciclopropil; „DCE” se referă la 1,2-dicloroetan; „DCM” se referă la clorură de metilen sau diclorometan; „DIBAL-H” se referă la hidrură de diizobutil aluminii; „DIPEA” se referă la diizopropiletil amină; „dm” se referă la decimetri sau 10 centimetri; „DMA” se referă la dimetilacetamidă; „DMEA” se referă la N,N-dimetiletilamină; „DMF” se referă la dimetilformamidă sau N,N-dimetilformamidă; „DMSO” se referă la dimetil sulfoxid; „DN-ază” se referă la deoxiribonuclează; „DTT” se referă la ditiotritol; „EED” se referă la dezvoltare de ectoderm embrionic; „Et₂O” se referă la dietil eter; „EtOAc” se referă la acetat de etil; „ES/MS” se referă la spectrometrie de masă electrospray; „EtOH” se referă la etanol sau alcool etilic; „Ex” se referă la exemplu; „GAPDH” se referă la gliceraldehid 3-fosfat dehidrogenază; „h” se referă la oră sau ore; „HEC” se referă la hidroxietil celuloză; „HOAt” se referă la hidroxiabenzotriazol; „HOBt” se referă la hidroxibenzotriazol; „HSQC” se referă la Coerență Cuantică Unică Heteronucleară; „IPAm” se referă la izopropilamină, propan-2-amină, sau 2-aminopropan; „iPr” se referă la izopropil sau 1-metiletil; „IrMeO(COD)₂” se referă la dimer (1,5-ciclooctadien)(metoxi)iridiu(I) sau bis(1,5-ciclooctadiene)di-μ-metoxidiiridiu(I); „kPa” se referă la kilopascal sau kilopascali; „KHMDs” se referă la potasiu bis(trimetilsilil)amidă; „KOtBu” se referă la *terț*-butoxid de potasiu sau *t*-butoxid de potasiu; „LAH” se referă la hidrură de litiu aluminii; „LiBH₄” se referă la borohidru de litiu; „LC” se referă la cromatografie de lichide; „LiHMDs” se referă la litiu bis(trimetilsilil)amidă; „LOF” se referă la Pierdere de Funcție; “³H-SAM” se referă la adenzil-L-metionină, S[metil-³H]; „IC₅₀” se referă la concentrația unui agent care produce 50% din răspunsul inhibitor maxim posibil pentru acel agent; „Me” se referă la metil; „MgSO₄” se referă la sulfat de magneziu; „mpk” se referă la miligrame pe kilogram; „min” se referă la minut sau minute; „NaH” se referă la hidrură de sodiu; „NBS” se referă la N-bromosuccinimidă; „NH₃” se referă la amoniac; „nm” se referă la nanometru sau nanometri; „MeOH” se referă la metanol sau alcool metilic; „MsOH” se referă la acid metansulfonic; „MTBE” se referă la metil *terț*-butil eter; „mut” se referă la mutant; „OAc” se referă la acetat; „PBS” se referă la soluție salină tamponată cu fosfat; „PCR” se referă la reacție în lanț mediată de polimerază; „PDX” se referă la xenogrefă derivată de la pacient; „PRC2” se referă la Complex Represiv Policomb 2”; „Prep” se referă la preparare; „psi” se referă la livre pe inci la pătrat; „PTSA” se referă la acid para-toluen sulfonic; “randament cantitativ” se referă la randament în esență mai mare de 99%; „RBBP4” se referă la proteină de legare la retinoblastom 4; „RN-ază” se referă la ribonuclează; „rpm” se referă la rotații pe minut; „RT” se referă la temperatura camerei; „R_t” se referă la timp de retenție în minute; „RuPhos-G3-Palladacycle” se referă la metansulfonat (2-diciclohexilfosfino-2',6'-diizopropoxi-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladiu(II); „SCX” se referă la schimbători de cationi selectivi; „SFC” se referă la cromatografie în fluid supercritic; „SPA” se referă la test de proximitate prin scintilație; „NaHCO₃” se referă la bicarbonat de sodiu; „Na₂SO₄” se referă la sulfat de sodiu; „SoC” se referă la Îngrijire Standard; „THF” se referă la tetrahidrofuran; „TEA” se referă la trietilamină; „Tris” se referă la tri(hidroximetil)-aminometan; “WT” se referă la tip sălbatic; „XPhos Pd Gen 2” se referă la cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triizopropil-1,1'-bifenil)-[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]-paladiu(II); “Å” se referă la angstrom sau angstromi; “λ” se referă la lungime de undă; și “[α]_D²⁰” se referă la rotația optică a unui compus care rotește planul luminii polarizate utilizând linia D a unei lămpi cu sodiu (lungime de undă 589,3 nm) într-un polarimetru, cu o măsurare α a polarimetriei observate, într-un solvent adecvat cum ar fi MeOH, măsurată la 20 °C, la o concentrație c definită, un volum de 2 mL, și o lungime a căii de 1 dm.

In schemele de mai jos, toți substituenții, dacă nu s-a indicat altfel, sunt așa cum s-au definit anterior. Reactivii și materiile prime sunt disponibile cu ușurință pentru cineva care are calificare obișnuită în domeniu. Următoarele scheme, preparări, exemple, și teste ilustrează mai departe invenția, dar nu trebuie să fie interpretate ca limitând în nici un fel domeniul de aplicare a invenției.

Preparări și Exemple

Următoarele Preparări și Exemple ilustrează mai departe invenția și reprezintă sinteze tipice ale compușilor invenției. Reactivii și materiile prime sunt disponibile cu ușurință sau se pot sintetiza cu ușurință de cineva având calificare obișnuită în domeniu. Trebuie să se înțeleagă că Preparările și Exemplele sunt stabilite cu scop de ilustrare și nu de limitare, și că diferite modificări pot fi făcute de cineva având calificare obișnuită în domeniu.

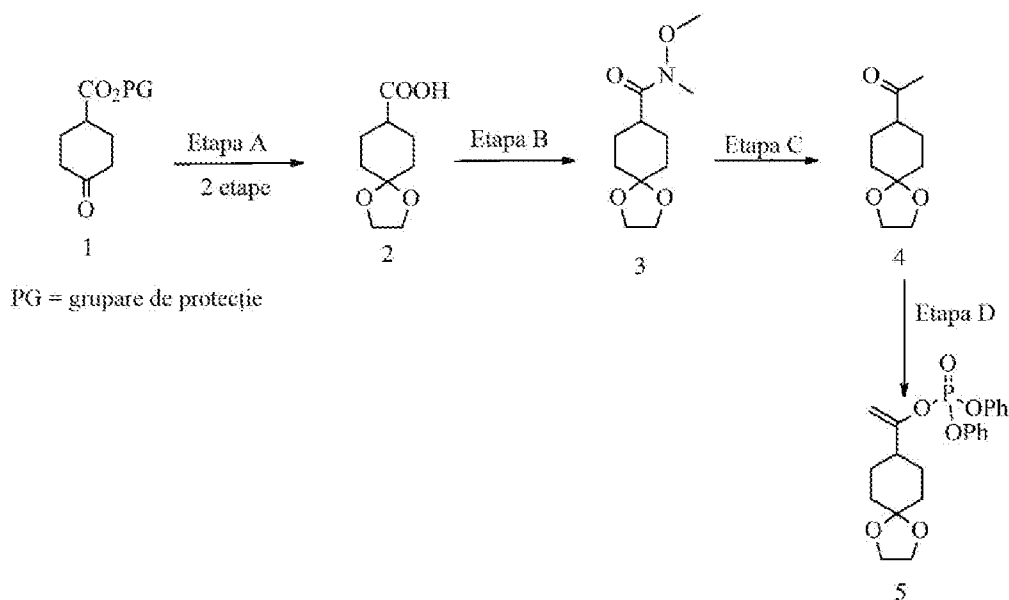
Configurația *R* sau *S* a compușilor invenției poate fi determinată prin tehnici standard cum ar fi analiză cu raze X. ¹H RMN, HPLC chirală, și corelarea cu timpul de retenție al HPLC chirale poate fi utilizată pentru a elucida în continuare stereoisomerismul dacă se cunoaște un centru.

LC-ES/MS este efectuată pe un sistem Agilent HP1100 de cromatografie de lichide. Măsurătorile de Spectrometrie de masă Electrospray (dobândite în mod pozitiv și/sau negativ) sunt efectuate pe un spectrometru de masă quadrupol cu Detector Selectiv de masă interfațat la HPLC HP1100. Condiții LC-MS (pH scăzut): coloană: Fenomenex GEMINI® NX C-18 2,1 ? 50 mm 3,0 μm; gradient: 5-100% B în 3 min, apoi 100% B timp de 0,75 min, temperatura coloanei: 50 °C +/- 10 °C; debit: 1,2 mL/min; Solvent A: apă deionizată cu HCOOH 0,1%; Solvent B: ACN cu 0,1% acid formic; lungime de undă 214 nm. Condiții LC-MS alternative (pH ridicat): coloană: coloană WATERS™ XTERRA® MS C-18 2,1 × 50 mm, 3,5 μm; gradient: 5% solvent A timp de 0,25 min, gradient de la 5% până la 100% de solvent B în 3 min și 100% solvent B timp de 0,5 min sau 10% până la 100% of solvent B în 3 min și la 100% solvent B timp de 0,75 min; temperatura coloanei: 50 °C +/- 10 °C; debit: 1,2 mL/min; Solvent A: NH₄HCO₃ 10 mM pH 9; Solvent B: ACN ; lungime de undă: 214 nm.

Cromatografia cu fază inversă preparativă este efectuată pe un Agilent 1200 LC-ES/MS echipat cu un spectrometru de masă cu Detector Selectiv de masă și autosampler Leap/colector de fracție. Metodele cu pH ridicat sunt efectuate pe o coloană 75 X 30 mm Fenomenex GEMINI®-NX, dimensiunea particulei 5 μm cu un conductor 10 X 20 mm. Debitul este 85 mL/min. Eluentul este bicarbonat de amoniu 10 mM (pH 10) în ACN.

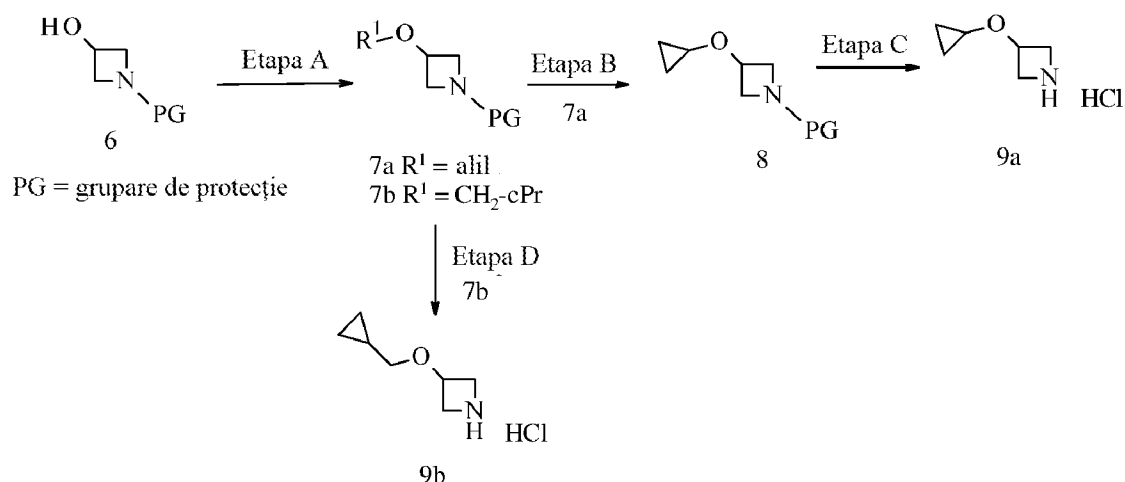
Spectrele RMN sunt efectuate pe un Spectrometru RMN Bruker AVIII HD 400 MHz, obținute ca soluții CDCl₃ sau (CD₃)₂SO raportate în ppm, utilizând solvent rezidual [CDCl₃, 7,26 ppm; (CD₃)₂SO, 2,50 ppm] ca standard de referință. Când sunt raportate multiplicitățile peak-ului, pot fi utilizate următoarele abrevieri: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), br-s (singlet larg), dd (dubleți de dublet), dt (dublet de tripleți). Când sunt raportate constantele de cuplare (J), sunt raportate în hertz (Hz).

Schema 1

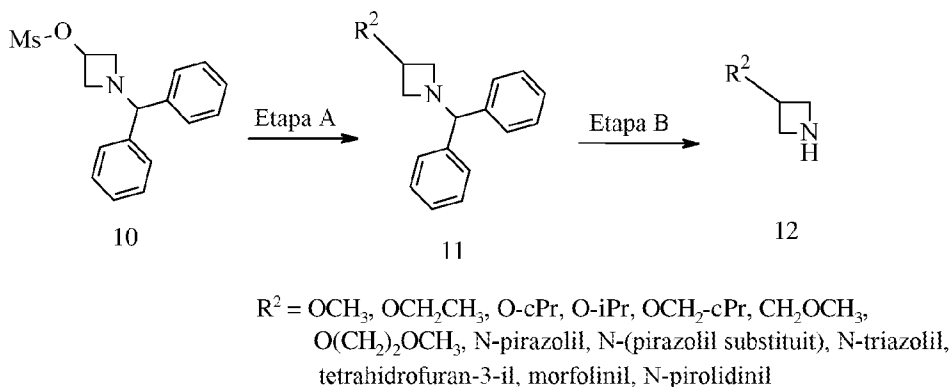


Schema 1 ilustrează formarea unui 1,4-dioxaspiro[4.5]decan substituit (compu-sul 5) pornind de la un 4-oxociclohexancarboxilat protejat (compusul 1). 4-Oxociclohexancarboxilatul protejat poate fi tratat cu acid p-toluensulfonic, triortoformiat de etil și etilen glicol într-un solvent cum ar fi EtOH pentru a da ester 1,4-dioxa-spiro[4,5]decan-8-carboxilic protejat care poate fi apoi deprotejat prin procedee bine cunoscute în domeniu, cum ar fi prin utilizarea unei baze apoase, pentru a da acid 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxilic în 2 etape (compusul 2, Schema 1, Etapa A). Amida Weinreb (compusul 3) se poate prepara din acidul produs din Etapa A cu adăugarea unui reactiv de cuplare cum ar fi CDI sau HOBt în porții mici, urmat de adăugarea clorhidratului de N-metoximetanamină, în porții mici (Schema 1, Etapa B). Amida Weinreb (compusul 3) poate fi convertită la cetonă (compusul 4) utilizând un reactiv organometalic cum ar fi un reactiv Grignard sau un reactiv organolitium (Schema 1, Etapa C). Mai specific, bromura de metil magneziu poate fi adăugată într-un solvent adecvat cum ar fi Et₂O și/sau THF pentru a da metil cetonă (compusul 4). Metil cetona (compusul 4) se poate converti la vinil fosfonat (compusul 5) prin adăugarea în picătură a unei baze nenucleofile cum ar fi LiHMDS într-un solvent cum ar fi THF, cu adăugare de clorură de difenil fosforil (Schema 1, Etapa D).

Schema 2



Schema 3

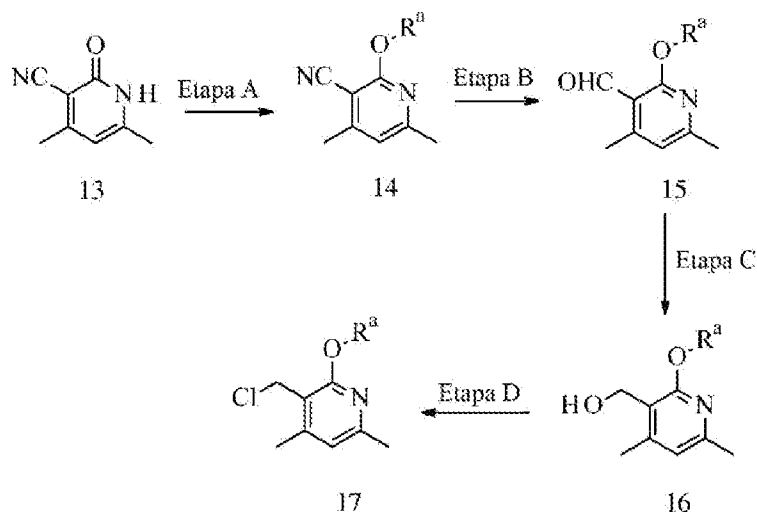


Schemele 2 și 3 ilustrează sintezele azetidelor substituite. N- viniloxiazetidină protejată (compusul 7a, R¹ = alil) se poate prepara prin alchilarea 3-hidroxi-azetidinei substituită adecvat (compusul 6) cu o halogenură de alchil și o bază nenucleofilă cum ar fi DIPEA, sau, alternativ, printr-o eterificare mediată de metal cu o sursă de paladiu (II) în prezența unui ligand dibazic cum ar fi 1,10-fenantrolină în prezența unei baze nenucleofile cum ar fi DIPEA sau TEA utilizând un eter vinilic asimetric ca solvent. O persoană calificată în domeniu va recunoaște că azetidina poate fi protejată cu o gamă largă de grupări de protecție cum ar fi o grupare alchil, un alchil substituit, un aralchil, o amidă, sau un alchil carbamat. Mai specific, o soluție de N-BOC-3-hidroxi-azetidină poate fi tratată cu acetat de paladiu(II) în prezență de TEA și 4,7-difenil-1,10-fenantrolină în n-butil vinil eter pentru a da viniloxiazetidină N-protejată (compusul 7a, R¹ = alil, Schema 2, Etapa A). Gruparea vinil poate fi convertită la 3-ciclopropoxiazetidina protejată (compusul 8) printr-o reacție Simmons-Smith sau în condiții de generare de carbene similare, de exemplu, utilizând cloriodometan și un reactiv alchilzinc în DCE, așa cum se arată în Schema 2, Etapa B. Deprotejarea 3-ciclopropoxiazetidinei protejate (compusul 8) sub condiții standard ca cele bine descrise în domeniu, urmată de tratarea bazei libere cu o soluție de acid mineral în solvent organic, cum ar fi HCl în dietil eter sau 1,4-dioxan, poate furniza sarea stabilă a azetidinei (compusul 9a). Mai specific, când gruparea de protecție este BOC, o persoană calificată în domeniu va recunoaște că tratarea 3-ciclopropoxiazetidinei protejate (compusul 8) cu un acid cum ar fi HCl în 1,4-dioxan, urmată de evaporarea solventului, poate da clorhidratul de 3-ciclopropoxiazetidină brut (compusul 9a, Schema 2, Etapa C). Suplimentar, ciclopropilmetoxiazetidina (compusul 7b, R¹ = ciclopropilmetil, Schema 2, Etapa A) poate fi preparată prin alchilarea 3-hidroxi-azetidinei substituită adecvat (compusul 6) cu bromometilciclopropan sub condiții de deprotonare puternic bazice, de exemplu, cu NaH într-un solvent polar cum ar fi DMF sau DMSO, cu deprotejarea ulterioară a ciclopropilmetoxiazetidinei protejate (compusul 7b, R¹ = ciclopropilmetil) pentru a obține clorhidratul de ciclopropilmetoxi-azetidină brut (compusul 9b, Schema 2, Etapa D).

Alte azetidine substituite pot fi preparate din mesilatul de benzhidrilazetidină disponibil comercial (compusul 10) prin tratare cu o largă varietate de nucleofile conținând N, O, C și S sub condiții de substituție nucleofilă utilizând o bază adecvată precum NaHCO₃, K₂CO₃, DIPEA sau

TEA și încălzire cu microunde, sau prin tratare cu o bază puternică cum ar fi NaH, KOTBu sau LHMDs și încălzire într-un solvent polar organic cum ar fi DMF sau DMSO, pentru a da o benzhidrilazetidină substituită (compusul 11, Schema 3, Etapa A). Deprotejarea ulterioară sub hidrogenare catalitică (Schema 3, Etapa B) poate da azetidina substituită dorită (compusul 12).

Schema 4

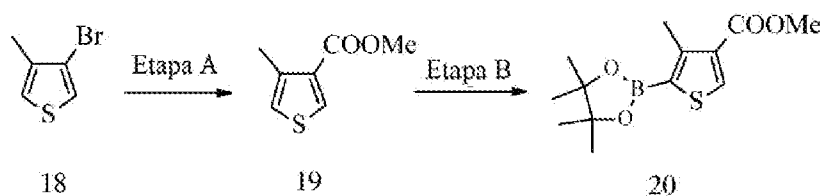


5

Schema 4 ilustrează prepararea 2-alcoxi-3-clorometil-4,6-dimetilpiridinei (compusul 17, unde R^a este CH₃, CH₂CH₃, sau Bn), care se poate prepara pornind de la 3-ciano-4,6-dimetilpiridonă disponibilă comercial (compusul 13). Alchilarea 3-ciano-4,6-dimetilpiridonei (compusul 13) cu halogenura de alchil adecvată sub condiții standard din literatură cunoscute unei persoane calificate în domeniu, poate furniza 2-alcoxi-3-ciano-4,6-dimetilpiridina dorită (compusul 14). Specific, tratarea 3-ciano-4,6-dimetilpiridonei (compusul 13) cu iodură de metil sau clorură de benzil cu AgCO₃ sau Ag₂O într-un solvent aprotic cum ar fi 1,4-dioxan, DMF, toluen, sau CHCl₃ cu încălzire ulterioară, poate da 2-metoxi- sau 2-benziloxi-3-ciano-4,6-dimetilpiridinele necesare (compusul 14, Schema 4, Etapa A). Reducerea ulterioară a grupării ciano în 2-alcoxi-3-ciano-4,6-dimetilpiridină (compusul 14) sub condiții standard din literatură cunoscute unei persoane calificate în domeniu, cum ar fi tratare lentă cu un agent reducător cum ar fi DIBAL-H într-un solvent aprotic cum ar fi DCM la 0 °C sau RT poate da piridin aldehida corespunzătoare (compusul 15, Schema 4, Etapa B). Reducerea în continuare la carbinol (compusul 16, Schema 4, Etapa C) poate fi realizată în condiții standard bine cunoscute unei persoane calificate în domeniu; specific, tratarea piridin aldehydei (compusul 15) în porții cu un agent reducător comun cum ar fi NaBH₄ la 0 °C sau la temperatură mai scăzută, pentru a obține carbinolul (compusul 16). Clorurarea ulterioară a carbinolului (compusul 16) cu un agent de clorurare tipic cum ar fi SOCl₂ sau POCl₃ într-un solvent aprotic cum ar fi DCM la temperaturi scăzute cum ar fi -40 °C până la -60 °C poate da clorometilpiridina necesară (compusul 17, Schema 4, Etapa D).

25

Schema 5

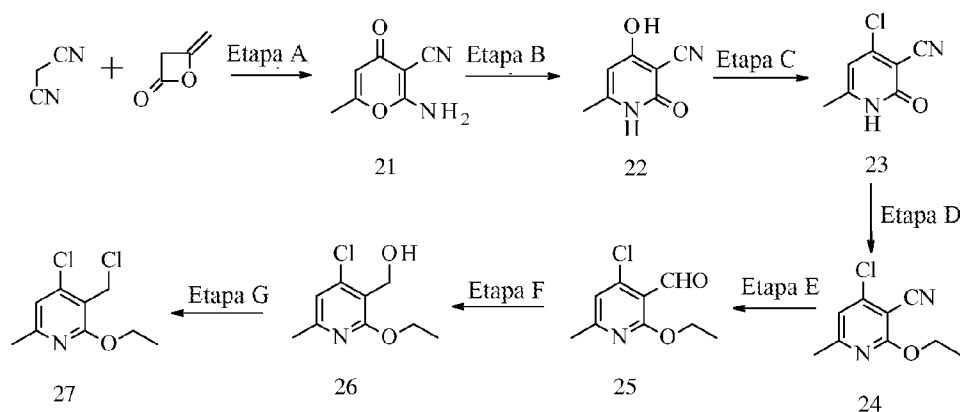


30

Schema 5 ilustrează sinteza 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiopen-3-carboxilatului de metil (compusul 20). Așa cum este bine cunoscut în domeniu, bromura de aril (compusul 18) poate fi carbonilată utilizând o serie de catalizatori de paladiu(II) și o varietate de liganzi de fosfină adecvați, specific acetat de paladiu(II) și 1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen, în prezența unui alcool cum ar fi MeOH într-un solvent polar cum ar fi DMF sau DMA cu sau fără o bază nenucleofilă organică cum ar fi DIPEA sau TEA, sub o atmosferă presurizată de monoxid de carbon, pentru a obține esterul (compusul 19, Schema 5, Etapa A). Esterificarea ulterioară a borolanului poate fi efectuată fie prin deprotonare cu un reactiv alchil metal cum ar fi *n*-butil-, *s*-

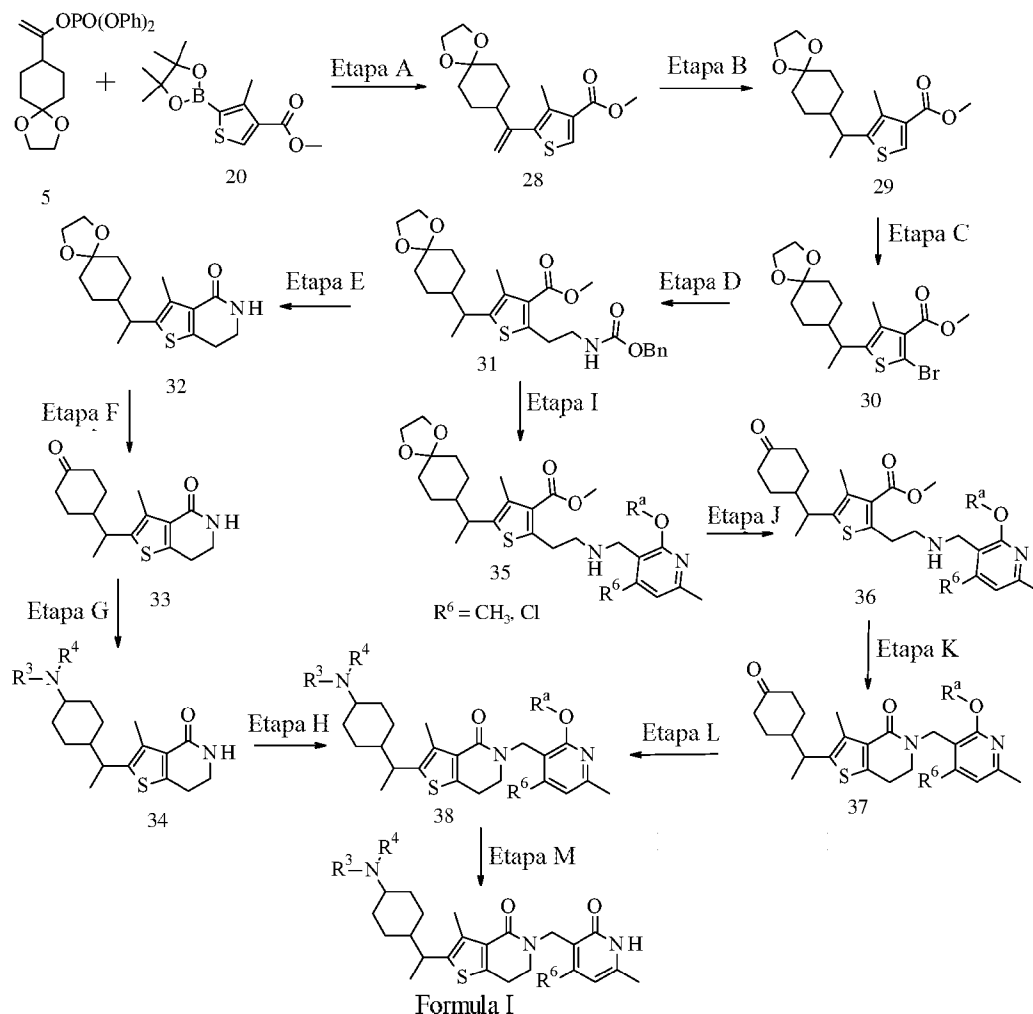
- 5 butil-, sau *t*-butillitiu cu stingerea anionului aril cu un borat ester, fie prin complecși de coordinare cu metal de tranziție utilizând paladiu(II), iridiu(I), sau fier(III), pentru a obține esterul boronic dorit. Specific, esterul (compusul 19) poate fi tratat în porții cu bis(1,5-ciclooctadien)di-μ-metoxidiiridiu(I) și 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan într-un solvent nepolar cum ar fi ciclohexan cu încălzire concomitentă pentru a obține 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofen-3-carboxilat de metil (compu-sul 20, Schema 5, Etapa B).

Schema 6



- 2-Etoxipiridină (compusul 27) se poate prepara în conformitate cu calea reprezentată în Schema 6, începând cu condensarea malononitrilului cu acetil cetenă sub condiții bazice într-un solvent polar organic adecvat, cum ar fi hidrură de sodiu și THF, pentru a obține 2-amino-3-cianopiranonă (compusul 21, Schema 6, Etapa A). Rearanjarea termică ulterioară cu un acid anorganic, cum ar fi HCl, poate da 3-ciano-4-hidroxi-6-metilpiridonă (compusul 22, Schema 6, Etapa B). Clorurarea la 4-cloro-piridonă (compusul 23) poate fi efectuată utilizând mulți de agenți de clorurare bine cunoscuți în domeniu, mai specific un amestec de POCl₃ și PCl₅ (Schema 6, Etapa C); alchilarea piridonelor rezultate (compusul 23) pot fi obținute prin eterificare mediată de metal cu o halogenură de alchil într-un solvent organic nepolar adecvat, mai specific utilizand oxid de argint(I) și iodoetan în toluen, pentru a da 2-etoxi-3-ciano-4-cloropiridina (compusul 24, Schema 6, Etapa D). Reducerea în două etape utilizând agenți de reducere cum ar fi DIBAL-H urmată de NaBH₄ sau NaCNBH₃ poate da alcoolul (compusul 26, Schema 6, Etape E-F), și clorurarea ulterioară cu un agent de clorurare cum ar fi POCl₃ sau PCl₅ într-un solvent organic adecvat poate da etoxipiridina (compusul 27). Mai specific, clorurarea alcoolului (compusul 26) poate fi obținută prin prepararea *in situ* a mesilatului prin tratare cu clorură de metansulfonil în DCM de la 0 °C până la RT pentru a da etoxipiridina (compusul 27, Schema 6, Etapa G).

Schema 7



- Schema 7 ilustrează sinteza compușilor cu Formula I. Cuplarea vinil fosfatului preparat (compusul 5, Schema 1, Etapa D) cu esterul aril boronat (compusul 20, Schema 5, Etapa B) sub condiții de cuplare standard de tip Suzuki ce utilizează un catalizator de paladiu(II) și un ligand fosfină cu o bază anorganică slabă cum ar fi K_3PO_4 într-un solvent polar organic cum ar fi 1,4-dioxan poate da vinil tiofen esterul (compusul 28, Schema 7, Etapa A). Reducerea radicalului vinilic poate fi realizată prin procedee bine documentate în domeniu pentru a obține α -metil tiofen esterul (compusul 29, Schema 7, Etapa B). Reducerea stereoselectivă a grupării vinil poate fi obținută utilizând o serie de catalizatori și liganzi bine documentați în domeniu, în special cu un complex catalizator/ligand de iridiu(I) cum ar fi [(4R,5R)-(+)-O-[1-benzil-1-(5-metil-2-fenil-4,5-dihidrooxazol-4-il)-2-feniletil](diciclohexilfosfinit) (1,5-COD) tetrakis (3,5-bis(trifluorometil)fenilborat de iridiu(I) pentru a da esterul stereospecific dorit (compusul 29). Bromurarea ulterioară în Schema 7, Etapa C, pentru a da 5-bromotiofen esterul (compusul 30), poate fi efectuată utilizând un agent de bromurare cum ar fi elementul brom sau NBS într-un solvent organic adecvat cum ar fi $CHCl_3$, DCM, EtOAc, 1,4-dioxan sau CCl_4 . Alchilarea la 2-[2-(benziloxicarbonilamino)etil]-5-[1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (compusul 31) sub condiții de cuplare standard mediate de paladiu, în special utilizând RuPhos-G3-Palladacycle (Schema 7, Etapa D) urmată de deprotejarea carbobenzioloxi aminei (compusul 31) sub condiții tipice de hidrogenoliză bine cunoscute în domeniu, specific, ciclizare *in situ* într-un solvent polar organic alcoolic cum ar fi MeOH (Schema 7, Etapa E) și deprotejarea la cetonă sub condiții acide standard, de exemplu, utilizând HCl într-un solvent polar adecvat cum ar fi THF sau EtOH, poate fi realizată pentru a da 3-metil-2-[1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidro-5H-tieno[3,2-c]piridin-4-onă (compusul 33, Schema 7, Etapa F). Aminarea reductivă poate fi efectuată în prezența unui acid Lewis cum ar fi izopropoxid de titan și un agent reducător cum ar fi $NaBH_4$, $Na(OAc)_3BH$, sau $NaCNBH_3$ într-un solvent adecvat cum ar fi DCM sau MeOH, pentru a obține un amestec de *trans* și *cis* ciclohexan (compusul 34, Schema 7, Etapa G), care poate fi separabil prin metode de cristalizare sau cromatografie bine cunoscute în domeniu. În plus, o persoană

calificată în domeniu poate recunoaște că utilizarea de LiBH_4 ca agent reducător poate conduce în primul rând la stereoisomer *trans*. Alchilarea sub condiții bine cunoscute cu o halogenură de aralkil substituită adecvat, cum ar fi halogenură de benzil, urmată fie de demetilare fie de debenzilare sub condiții acide, de exemplu utilizând LiCl în prezență de PTSA cu încălzire, poate

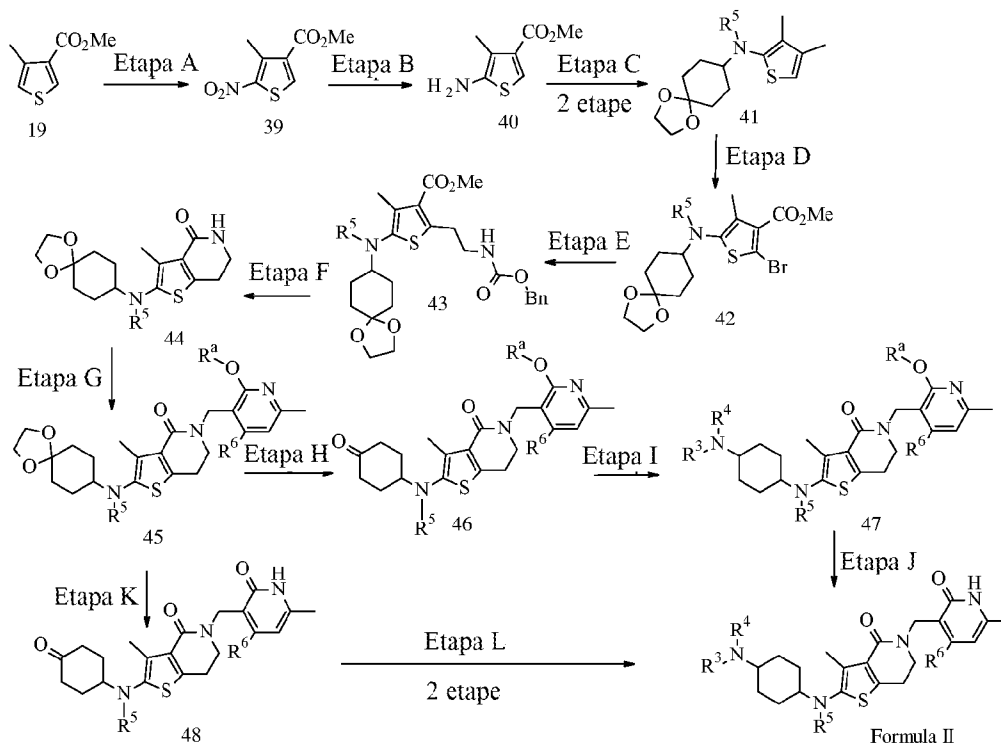
5 da compusul cu Formula I (Schema 7, Etape H și M).

Alternativ, carbobenzioloxi amina (compusul 31, Schema 7, Etapa D) poate fi supusă la hidrogenoliză utilizând condiții bine cunoscute în domeniu, de exemplu cu $\text{Pd}(\text{OH})_2$ pe carbon într-un solvent organic adecvat cum ar fi MeOH , și hidrogenoliză poate fi efectuată în prezența unei piridin aldehydă (de exemplu, compusul 15, Schema 4, Etapa B), pentru a da 5-[1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metil-2-[2-[(6-metil-3-piridin)metilamino]etil]tiofen-3-carboxilat

10 de metil (compusul 35, Schema 7, Etapa I). Deprotejarea ulterioară la cetonă, aminarea reductivă, ciclizarea sub condiții termice acide, și deprotejarea la O ca mai sus, poate da compuși cu Formula I (Schema 7, Etape J-M).

Alternativ, o amină cum ar fi compusul 38, în care $\text{R}^3=\text{H}$, $\text{R}^4=\text{benzil}$, poate fi supusă la hidrogenoliză utilizând condiții bine cunoscute în domeniu pentru a furniza o amină în care $\text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$. Supunerea acestei amine la condiții de aminare reductivă și deprotejarea la O ca mai sus poate da compuși cu Formula I. Specific, utilizarea de acid, formaldehydă și triacetoxiborohidruă poate conduce la un produs de aminare reductivă în care $\text{R}^3=\text{R}^4=\text{Me}$.

Schema 8



20 Schema 8 ilustrează sinteza compușilor cu Formula II. Nitrarea esterului (compusul 19, Schema 5, Etapa A) cu reducerea ulterioară a grupării nitro sub condiții standard poate da 5-amino-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil (compusul 40, Schema 8, Etape A-B). Protejarea la amino cu o grupare de protecție adecvată a aminei, cum ar fi BOC, și alchilarea ulterioară sub

25 condiții obișnuite, de exemplu alchilare cu iodură de metil în prezența unei baze slabe cum ar fi K_2CO_3 sau Cs_2CO_3 într-un solvent polar cum ar fi DMF, poate da un amino tiofen N-alchilat protejat adecvat, care poate fi urmată de clivarea *in situ* a carbamatului și aminare reductivă ulterioară, de exemplu cu o ciclohexanonă, cum ar fi 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-onă, și $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$ sau NaCHBH_3 , într-un solvent organic adecvat cum ar fi DCE, pentru a obține

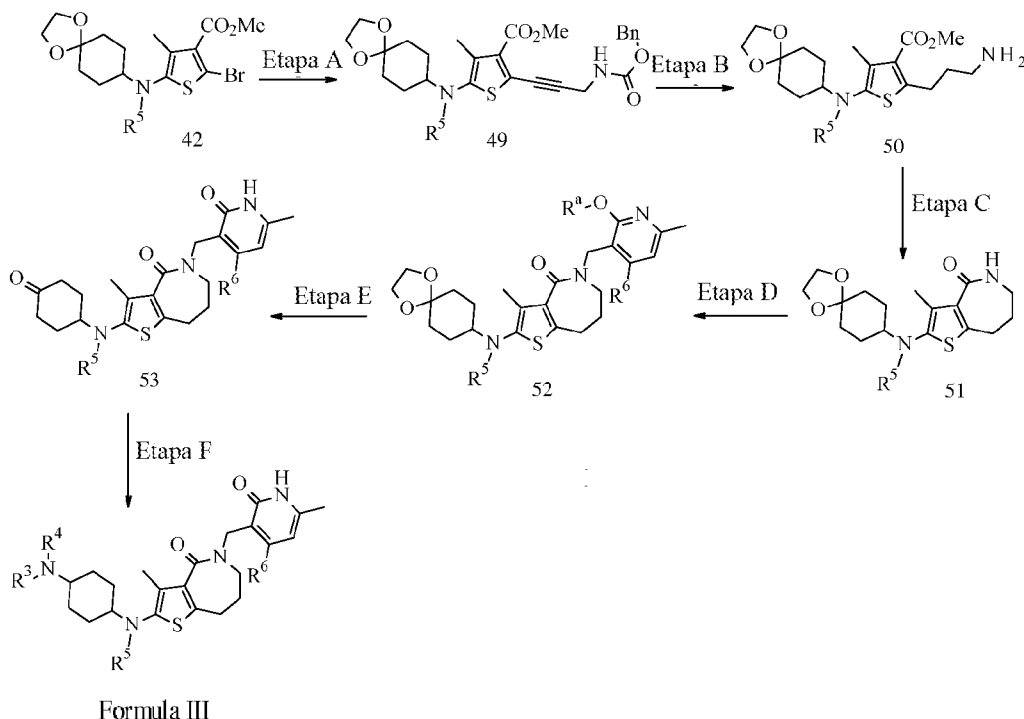
30 amina terțiară necesară (compusul 41, Schema 8, Etapa C, unde $\text{R}^5 = \text{CH}_3$). Alternativ, 5-amino-4-metil-tiofen-3-carboxilatul (compusul 40) poate fi supus la început la condiții de aminare reductivă cu o ciclohexanonă, cum ar fi 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-onă, în prezență de $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$ sau NaCNBH_3 într-un solvent organic adecvat cum ar fi DCE, urmată de o a doua aminare reductivă *in situ* cu acetaldehydă, pentru a obține amina terțiară necesară (compusul 41, Schema 8, Etapa C, unde $\text{R}^5 = \text{CH}_2\text{CH}_3$). Bromurarea ulterioară, alchilarea mediată de metal, ciclizarea la lactama

35 biciclică (compusul 44), N-alchilarea lactamei, deprotejarea la cetonă, aminarea reductivă și

demetilarea sau debenzilarea finală, toate pot fi efectuate în mod similar cu metodele din Schema 7 pentru a obține compușii finali cu Formula II (Schema 8, etape D-J).

- Alternativ, cetalul (compusul 45, Schema 8, Etapa G) poate fi la început dezalchilat pentru a obține piridon cetona (compusul 48, Schema 8, Etapa K) sub condiții similare cu cele descrise în Schema 7. Alchilarea ulterioară urmată de aminare reductivă sau aminarea reductivă dublă (în condiții similare cu Schema 8, Etapa C) poate fi efectuată pentru a obține compușii cu Formula II (Schema 8, Etapa L)

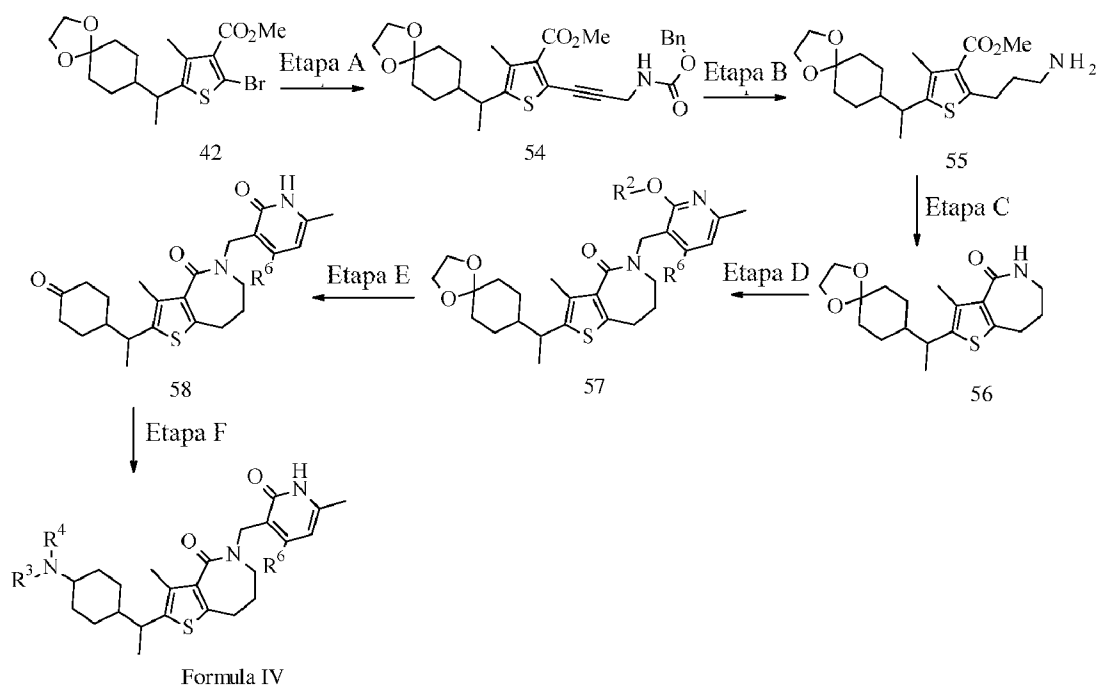
Schema 9



Formula III

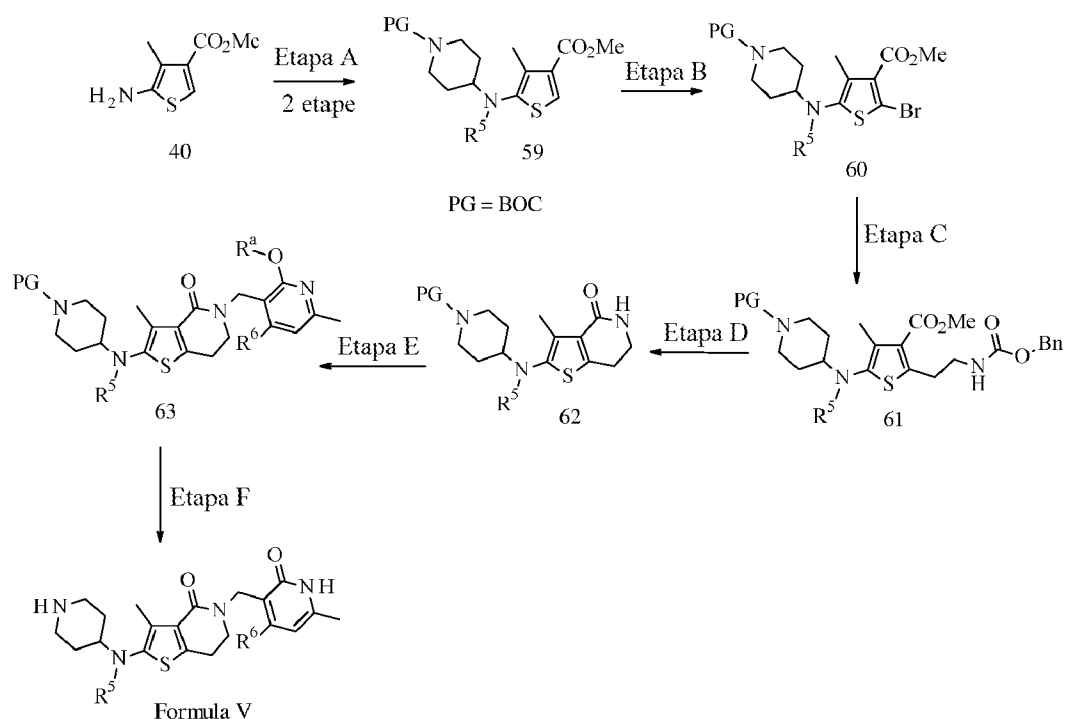
- Schema 9 ilustrează sinteza compușilor cu Formula III. Un 2-bromo-5-[R⁵-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)amino]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil N-alchilat (compusul 42, Schema 8, Etapa D) poate fi alchinitat prin procedee de cuplare mediate de metal de tranziție, bine cunoscute în domeniu. Mai specific, bromotiofenul (compusul 42) poate fi tratat cu benzil prop-2-in-1-il carbamat în prezență de CuI, un complex paladiu(II)-ligand adecvat, cum ar fi diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II), și o bază nenucleofilă organică cum ar fi TEA, pentru a obține alchina (compusul 49, Schema 9, Etapa A). Reducerea ulterioară a alchinei și deprotejarea radicalului aminei este bine cunoscută în domeniu. Specific, tratarea alchinei (compusul 49) sub condiții standard de hidrogenare catalitică și hidrogenoliză *in situ* cu H₂ în prezență de Pd pe carbon sau Pd(OH)₂ pe carbon într-un solvent organic adecvat cum ar fi MeOH, EtOH, sau EtOAc sub presiune, poate da amina (compusul 50, Schema 9, etapa B), care poate fi ulterior ciclizată sub condiții bazice cum ar fi KOtBu și încălzire pentru a obține lactama (compusul 51, Schema 9, Etapa C). Alchilarea azotului lactamei, deprotejarea la cetonă, aminarea reductivă și dezalchilarea finală, toate pot fi efectuate într-un mod similar cu cel descris în Schema 8 pentru a obține compușii cu Formula III (Schema 9, Etape D-F).

Schema 10



Schema 10 ilustrează sinteza compușilor cu Formula IV pornind de la ester 5-bromotiofen substituit adecvat (compusul 30), utilizand metode similare cu cele descrise in Schema 9 (Schema 10, Etapa A-F).

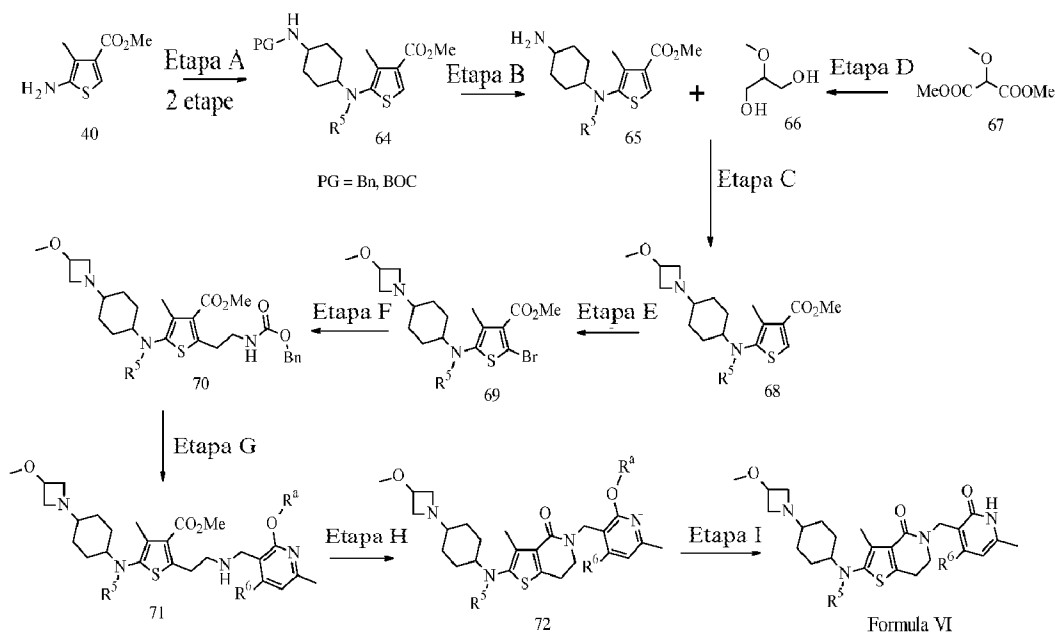
Schema 11



Prepararea compușilor cu Formula V este reprezentată în Schema 11. Tratarea aminotiofenului (compusul 40, Schema 8, Etapa B) cu o aminoalchil cetonă protejată adecvat sub condiții de aminare reductivă bine cunoscute în domeniu cu alchilare ulterioară, utilizand un agent de alchilare cum ar fi CH_3I sau $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$ sub condiții bazice cu o bază adecvată cum ar fi NaH sau K_2CO_3 , sau alchilare printr-o a doua aminare reductivă, de exemplu, cu acetaldehidă, (Schema 11, Etapa A), poate da esterul N-piperidinil tiofen N-alchilat (compusul 59). Mai specific, 3,4-dimetiltiofen-2-amina (compusul 40) poate fi tratată cu 4-oxopiperidin-1-carboxilat de *terț*-butil

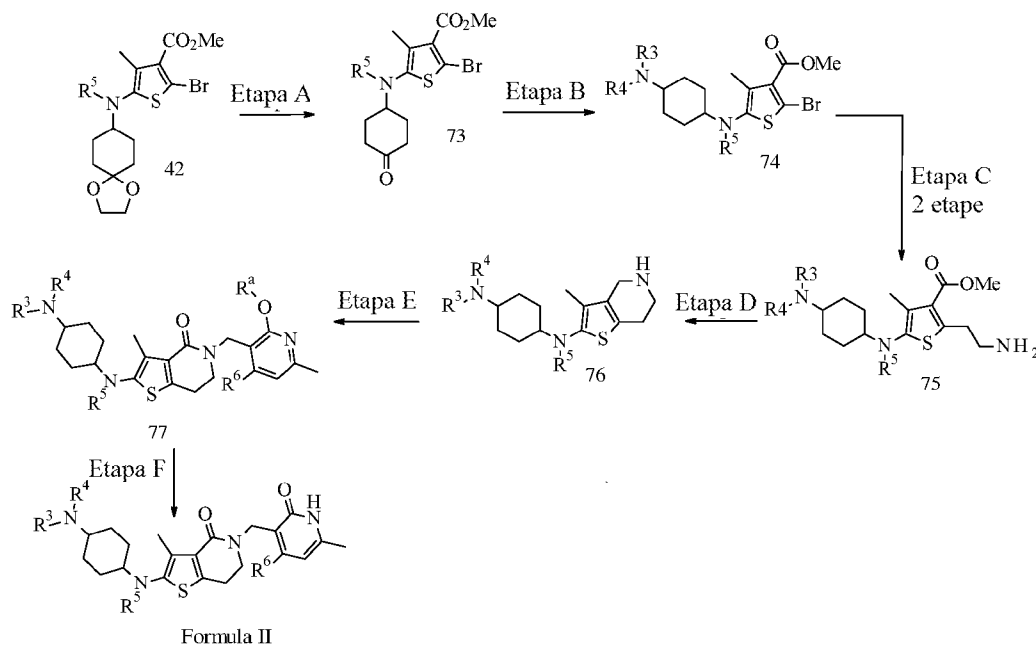
- intr-un solvent organic adecvat cum ar fi DCE adăugând în porții un agent reducător adecvat cum ar fi $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$ cu adăugare ulterioară de formaldehidă sau acetaldehidă pentru a obține N-piperidinil tiofen N-alchilat (compusul 59). Bromurarea ulterioară, alchilarea bromurii de aril (compusul 60) sub condiții de cuplare catalizată de Pd pentru a obține alchiltiofen (compusul 61), ciclizarea la lactamă, N-alchilarea lactamei, și în final deprotejarea într-o manieră similară cu aceea descrisă în Schema 8, poate da compuși cu Formula V (Schema 11, Etape B-F).

Schema 12



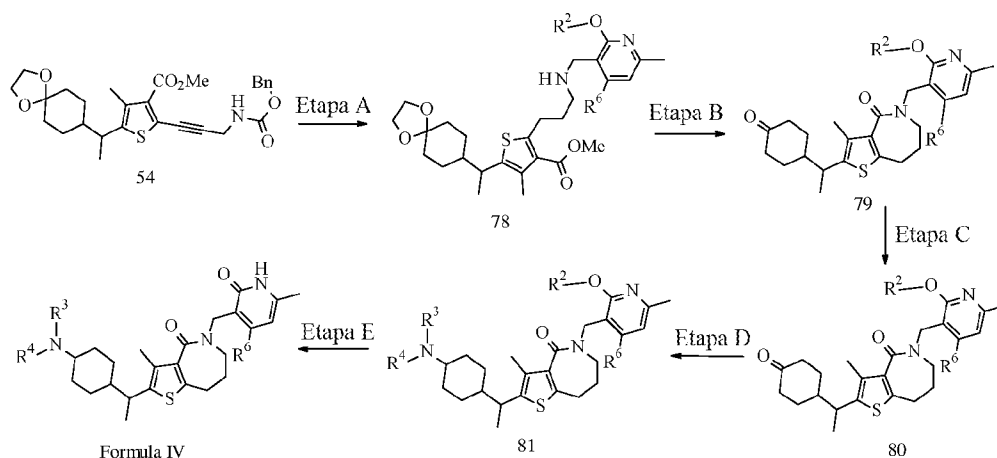
- Schema 12 prezintă sinteza compușilor cu formula VI. Dubla alchilare a aminotiofenului (compusul 40) sub condiții de aminare reductivă, specific utilizând la început o 4-aminociclohexanonă protejată adecvat și apoi acetaldehidă în prezență de $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$, poate da tienilciclohexilamina N-alchilată (compusul 64, Schema 12, Etapa A). Suplimentar, N-metilarea la această tienilciclohexil amină N-alchilată (compusul 64) poate fi efectuată prin protejarea la început a amino tiofenului cu o grupare adecvată de protecție a aminei, cum ar fi BOC, urmată de tratare ulterioară a carbamatului cu o bază puternică, cum ar fi NaH sau KOtBu , tratarea anionului rezultat cu o halogenură de alchil cum ar fi CH_3I , îndepărtarea grupării de protecție a aminei, și în final aminare reductivă cu o 4-aminociclohexanonă protejată adecvat. Deprotejarea grupării ciclohexilamino din care rezultă 4-aminociclohexană (compusul 65) poate fi realizată cu ușurință printr-o serie de condiții bine cunoscute de o persoană calificată în domeniu (Schema 12, Etapa B). Alchilarea (Schema 12, Etapa C) acestui 4-aminociclohexan (compusul 65, Schema 12, Etapa C) poate fi efectuată utilizând triflatul de 2-metoxipropan-1,3-diol generat *in situ* (compusul 66), iar bromurarea ulterioară, utilizând fie brom elementar fie NBS, dă bromotiofenul (compusul 69, Schema 12, Etapa E). Alchilarea bromurii de aril (compusul 69) sub condiții catalizate de paladiu, de exemplu utilizând o sare trifluoroborat de potasiu substituită cu RuPhos-G3-Palladacycle catalitic într-un amestec de toluen și apă în prezența unei baze anorganice cum ar fi K_2CO_3 și încălzire, poate conduce la 2-[2-(benziloxicarbonil-amino)etil]-5-[[4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil N-alchilat (compusul 70, Schema 12, Etapa F). Deprotejarea în condiții bine descrise în domeniu, cu aminare reductivă concomitentă *in situ* utilizând o heteroaril aldehydă substituită adecvat, de exemplu, în prezență de $\text{Pd}(\text{OH})_2$ pe carbon într-un solvent alcoolic, cum ar fi EtOH, sub presiune și încălzire, poate da aminometil piridină substituită (compusul 71, $\text{R}^a = \text{CH}_3$ sau Bn, Schema 12, Etapa G). Ciclizarea ulterioară și deprotejarea în condiții similare cu cele descrise în Schema 8, poate da compuși cu Formula VI (Schema 12, Etape H-I).

Schema 13



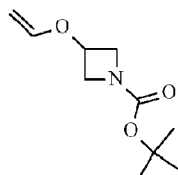
Schema 13 ilustrează o sinteză alternativă a compușilor cu Formula II. Deprotejarea cetalului (compusul 42, Schema 8, Etapa D) sub condiții acide similare cu cele descrise în Schema 7, Etapa J sau Schema 8, Etapa K, poate da cetona corespunzătoare (compusul 73, Schema 13, Etapa A). Dubla aminare reductivă în condiții similare cu Schema 8, Etapa L, poate conduce la ciclohexilamină (compusul 74, Schema 13, Etapa B), și cuplare ulterioară mediată de metal de tranziție în condiții descrise în Schema 7, Etapa D, urmată de deprotejarea aminei bine descrisă în literatură, poate da aminociclohexan (compusul 75, Schema 13, Etapa C). Ciclizarea la 6,7-dihidro-5H-tieno[3,2-c]piridin-4-onă (compusul 76) sub condiții similare cu cele descrise în Schema 11, Etapa D, urmată de condiții de alchilare similare cu cele descrise în Schema 7, Etapa H, poate da piridina substituită (compusul 77, Schema 13, Etapa E), și dezalchilare finală sub condiții similare cu cele descrise în Schema 7, Etapa M, poate conduce la compusul cu Formula II (Schema 13, Etapa F).

Schema 14



Schema 14 ilustrează o cale alternativă de sinteză pentru compuși cu Formula IV. Alchina compusului 54 (Schema 10, etapa A) poate fi redusă simultan și deprotejată utilizând o serie de tehnici bine cunoscute în domeniu, cum ar fi hidrogenare catalitică cu hidroxid de paladiu(II), și aminare reductivă *in situ* cu o 2-alcoxipiridină substituită adecvat, cum ar fi 4,6-dimetil-2-alcoxipiridină, poate fi realizată în condiții similare cu cele reprezentate în Schema 9, etapa B pentru a da cetalul compus 78. Deprotejarea ulterioară la cetona compus 79, ciclizare la lactama compus 80, aminarea reductivă cu o amină substituită adecvat pentru a obține compusul 81, și dezalchilarea finală, toate sub condiții similare cu cele descrise în Schema 7 (etape J-M), pot da compuși cu Formula IV.

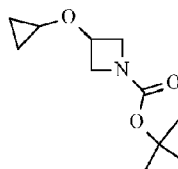
- O persoană calificată în domeniu va recunoaște că separarea tuturor izomerilor *trans* și *cis* relevanți descriși în Schemele 7-12 poate fi realizată utilizând tehnici standard bine cunoscute în domeniu, de exemplu, fie prin utilizarea flash cromatografiei standard pe silice și unui amestec adecvat de solvenți organici (de exemplu, EtOAc/hexani) fie prin cromatografie cu fază inversă pe C-18 cu silice utilizând un amestec apă/solvent organic adecvat (de ex., H₂O tamponată cu NH₄OAc sau NH₄HCO₃ și ACN).

Preparare 1**3-Viniloxiazetidin-1-carboxilat de *terț*-butil**

10

- Se adaugă 3-hidroxiacetidin-1-carboxilat de *terț*-butil (12,0 g, 69,3 mmol), *n*-butil vinil eter (125,0 mL, 961 mmol), și TEA (4,1 mL, 29 mmol) într-un balon etanșat. Se barbotează energic amestecul cu N₂ timp de 10 min. Se adaugă 4,7-difenil-1,10-fenantrolină (1,0 g, 2,92 mmol) și Pd(OAc)₂ (0,66 g, 2,91 mmol). Se etanșează balonul și se agită amestecul sub N₂ la 80 °C timp de 7 zile. Se filtrează amestecul prin pământ de diatomee și se clătește turta de filtru cu EtOAc. Se concentrează filtratul și se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc în hexani 0-20%, pentru a da compusul din titlu (9,95 g, randament 72%) ca ulei galben, după evaporarea solventului. ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 3,90 (dd, *J* = 4,2, 10,1 Hz, 2H), 3,97 (dd, *J* = 2,5, 14,5 Hz, 1H), 4,08 (dd, *J* = 2,5, 6,8 Hz, 1H), 4,17 (dd, *J* = 6,5, 10,1 Hz, 2H), 4,55-4,61 (m, 1H), 6,37 (dd, *J* = 6,8, 14,5 Hz, 1H).

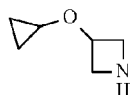
20

Preparare 2**3-(Ciclopropoxi)azetidin-1-carboxilat de *terț*-butil**

25

- Se răcește o soluție de 3-viniloxiazetidin-1-carboxilat de *terț*-butil (9,9 g, 50 mmol) și cloriodometan (12 mL, 159,8 mmol) în DCE (50 mL) to -5 °C, și apoi se adaugă în picătură o soluție de dietilzinc 1M în heptan (80 mL, 80 mmol) în timp de 60 min menținând temperatura internă între 0 și -5 °C. Se încălzește la RT și se agită amestecul timp de 30 min. Se re-răcește amestecul într-o baie cu gheață și se stinge masa de reacție cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl. Se adaugă soluție concentrată de NH₄OH, și apoi se extrage amestecul rezultat de trei ori cu MTBE. Se spală extractele combinate cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl, se usucă pe K₂CO₃ anhidru, se filtrează, și se concentrează in vid. Reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc în hexani 0-20%, pentru a da compusul din titlu (4,90 g, randament 46%) ca ulei incolor după evaporarea solventului. ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃) δ 0,45-0,50 (m, 2H), 0,57-0,62 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 3,21-3,26 (m, 1H), 3,85 (dd, *J* = 4,2, 9,8 Hz, 2H), 4,08 (dd, *J* = 6,6, 9,8 Hz, 2H), 4,32 (m, 1H).

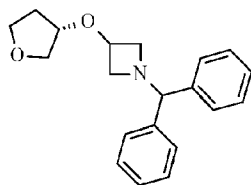
35

Preparare 3**Clorhidrat de 3-(ciclopropoxi)azetidină**

40

- Se răcește o soluție de 3-(ciclopropoxi)azetidin-1-carboxilat de *terț*-butil (4,45 g, 20,9 mmol) în THF (10 mL, 123 mmol) într-o baie cu gheață și se adaugă în picătură o soluție de HCl 4N în 1,4-dioxan (20 mL, 80 mmol). Se agită soluția la RT timp de 3 ore și se concentrează în vid. Se dizolvă reziduul în 2-propanol, se concentrează, și se usucă in vid pentru a da compusul din titlu (3,0 g, randament 96%) care poate fi utilizat fără purificare suplimentară. ¹H RMN (400,1 MHz, CD₃OD) δ 0,48-0,54 (m, 2H), 0,56-0,61 (m, 2H), 3,35-3,40 (m, 1H), 3,98 (dd, *J* = 4,8, 11,8 Hz, 2H), 4,29 (dd, *J* = 6,8, 11,8 Hz, 2H), 4,51-4,58 (m, 1H).

45

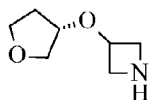
Preparare 4**1-Benzhidril-3-[(3S)-tetrahidrofuran-3-il]oxi-azetidină**

- 5 Se încălzește un amestec de (3S)-tetrahidrofuran-3-ol (10 mL, 122,0 mmol) și metansulfonat de 1-benzhidrilazetidin-3-il (3,0 g, 9,3 mmol) la 100 °C într-un cuptor cu microunde timp de 20 min. Se răcește amestecul la RT și se diluează cu EtOAc și soluție apoasă saturată de Na₂CO₃. Se separă straturile, se spală stratul organic secvențial cu apă și soluție apoasă saturată de NaCl, și se usucă pe MgSO₄. Se filtrează și se concentrează în vid. Se supune reziduul rezultat la
- 10 cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc în hexani 10-30% pentru a da compusul din titlu (0,9 g, randament 30%) ca ulei incolor după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 310 (M+H).

Prepararea 5 se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 4 utilizând (3R)-tetrahidrofuran-3-ol.

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (M+H) (m/z)
5	1-Benzhidril-3-[(3R)-tetrahidrofuran-3-il]oxi-azetidină		310

15

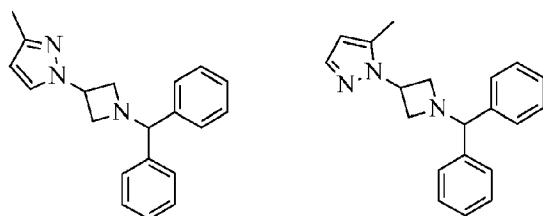
Preparare 6**3-[(3S)-Tetrahidrofuran-3-il]oxiazetidină**

- 20 Se suflă N₂ printr-un amestec de 1-benzhidril-3-[(3S)-tetrahidrofuran-3-il]oxi-azetidină (0,85 g, 2,7 mmol), MeOH (20 mL), EtOAc (5 mL) și AcOH (1 mL) timp de 10 min. Se adaugă Pd 10% pe carbon (0,50 g) și se agită suspensia rezultată sub H₂ la 60 psi timp de 18 ore. Se îndepărtează catalizatorul prin filtrare și se clătește turta de filtru cu MeOH. Reziduul se concentrează și usucă în vid pentru a da compusul din titlu (0,39 g, randament 95%), adecvat
- 25 pentru utilizare fără purificare suplimentară. ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃): δ 1,85-2,05 (m, 2H), 2,05 (bs, 1H), 3,58-3,72 (m, 5H), 3,74 (d, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 4,07 (m, 1H), 4,34 (m, 1H).

Prepararea 7 se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 6 utilizând 1-benzhidril-3-[(3R)-tetrahidrofuran-3-il]oxi-azetidină.

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	¹ H RMN (400,1 MHz, CDCl ₃) δ
7	3-[(3R)-Tetrahidrofuran-3-il]oxiazetidină		1,85-2,02 (m, 2H), 2,48 (bs, 1H), 3,56-3,78 (bm, 5H), 3,74 (d, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 4,36 (m, 1H)

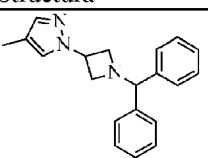
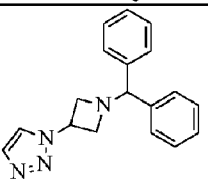
30

Preparare 8**1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]-3-metil-1H-pirazol și 1-(1-benzhidrilazetidin-3-il)-5-metil-pirazol (amestec de regioizomeri)**

35

- 5 Intr-un tub etanșat, se adaugă la o soluție de metansulfonat de (1-benzhidril-azetidin-3-il) (7 g, 22,05 mmol) în DMF (15 mL), 3-metil-1H-pirazol (2,17 g, 26,47 mmol) și Cs₂CO₃ (8,6 g, 26,47 mmol) și amestecul se agită la 120 °C timp de 24 ore. Se răcește la RT, se toarnă amestecul în gheață apă, și se extrage cu o soluție de MeOH 5% în DCM. Se separă straturile, se usucă faza organică pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silicagel, eluând cu un gradient de EtOH 7-30% în hexani, pentru a da compusul din titlu ca un amestec de regioizomeri, ca ulei galben (3,5 g, randament 49%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 304 (M+H).

Următorii compuși se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 8.

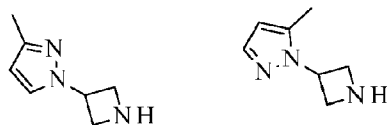
Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z)
9	1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]-4-metil-1H-pirazol		304 (M+H)
10	1-[1-(Difenilmetil)azetidin-3-il]-1H-1,2,3-triazol		291 (M+H)

10

Preparare 11

1-(Azetidin-3-il)-3-metil-1H-pirazol și 1-(Azetidin-3-il)-5-metil-pirazol (amestec de regioizomeri)

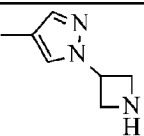
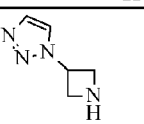
15



20

Intr-o autoclavă Parr de 300 mL, se adaugă un amestec de 1-[1-(difenil-metil)azetidin-3-il]-3-metil-1H-pirazol (3,5 g, 11,5 mmol) și 1-(1-benzhidrilazetidin-3-il)-5-metil-pirazol (amestec de regioizomeri) cu Pd 10% pe carbon (3,5 g, 1 g/g) la o soluție de MeOH (75 mL) și EtOAc (25 mL). Vasul se purjează de trei ori cu H₂, se încarcă H₂ până la 50 psi, și se agită energic la RT timp de 24 ore. Se filtrează printr-un strat de pământ de diatomee și filtratul se concentrează în vid pentru a da compusul din titlu ca un amestec de regioizomeri, ca ulei incolor (1,58 g, randament 93%). ES/MS (m/z): 138 (M+H).

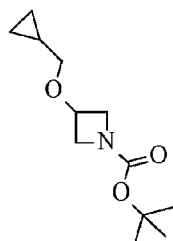
Următorii compuși se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 11 utilizând 1-(difenilmetil)azetidina corespunzătoare.

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z)
12	1-(Azetidin-3-il)-4-metil-1H-pirazol		138 (M+H)
13	1-(Azetidin-3-il)-1H-1,2,3-triazol		125 (M+H)

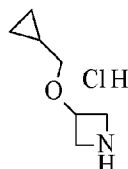
25

Preparare 14

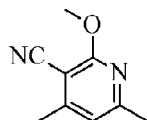
3-(Ciclopropilmetoxi)azetidin-1-carboxilat de *tert*-butil



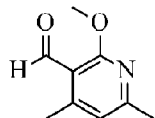
Se adaugă NaH (60% în ulei, 900 mg, 22,5 mmol) la o soluție de 3-hidroxiacetidin-1-carboxilat de *tert*-butil (3 g, 17,32 mmol) în DMF (10 mL) la 0 °C. Amestecul se agită la RT timp de 1,5 ore, apoi se adaugă încet bromometilciclopropan (2,80 g, 20,7 mmol) și se agită peste 72 ore. Amestecul se diluează cu EtOAc și Et₂O, se spală de două ori cu apă, o dată cu soluție apoasă saturată de NaCl, straturile se separă, se usucă extractul organic pe MgSO₄, se filtrează, și filtratul se concentrează în vid. Reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc în hexani 0-20% pentru a da compusul din titlu (1,91 g, randament 48%) ca ulei incolor, după evaporarea solventului. ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃) δ 0,18-0,22 (m, 2H), 0,54-0,58 (m, 2H), 1,00-1,04 (m, 1H), 1,43 (s, 9H), 3,23 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,85 (dd, *J* = 4,3, 10,1 Hz, 2H), 4,06 (dd, *J* = 6,5, 10,1 Hz, 2H), 4,20-4,26 (m, 1H).

Preparare 15**Clorhidrat de 3-(ciclopropilmetoxi)azetidină**

Se adaugă o soluție de HCl 4N în 1,4-dioxan (15 mL, 60 mmol) la 3-(ciclopropilmetoxi)azetidin-1-carboxilat de *tert*-butil (1,91 g, 8,40 mmol) într-un balon cu fund rotund și se agită la RT peste noapte. Amestecul de reacție se concentrează în vid și reziduul rezultat se usucă în vid pentru a da compusul din titlu (1,68 g, randament cantitativ), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ¹H RMN (400,1 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0,14-0,18 (m, 2H), 0,44-0,48 (m, 2H), 0,91-0,99 (m, 1H), 3,21 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,72-3,82 (m, 2H), 4,02-4,12 (m, 2H), 4,30-4,37 (m, 1H), 9,17 (bs, 2H).

Preparare 16**2-Metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbonitril**

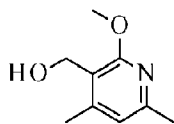
Se adaugă în picătură o soluție de NaOCH₃ în MeOH (30 % în greutate, 175 mL, 940 mmol) la o soluție de 2-cloro-4,6-dimetil-piridin-3-carbonitril (75 g, 441,1 mmol) în MeOH (450 mL) într-o baie de apă urmată de o altă adăugare în picătură de NaOCH₃ în MeOH (25 % în greutate, 250 mL, 1090 mmol). Amestecul rezultat se agită timp de 1 oră, se toarnă în apă rece cu gheață, se agită timp de 30 min, și solidul rezultat se filtrează. Turta de filtru se spală cu hexan și se usucă peste noapte într-un cuptor cu vid. Extractul apos se filtrează cu DCM, faza organică se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează în vid. Se combină solidul filtrat și reziduul evaporat pentru a da compusul din titlu ca solid (71,8 g, randament cantitativ). ES/MS (*m/z*): 163 (M+H).

Preparare 17**2-Metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbaldehidă**

Se adaugă o soluție de DIBAL-H 1M în toluen (240 mL, 240 mmol) la o soluție de 2-metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbonitril (48 g, 295,95 mmol) în DCM (480 mL) la 0 °C în 2 ore. Se îndepărtează baia cu gheață după 1 oră și se agită la RT peste noapte. Se răcește într-o baie de apă la RT și se stinge adăugând încet un amestec de HCl apos 1M (192 mL) și AcOH (192 mL). Se adaugă DCM, se separă straturile, se spală faza organică cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc/hexan 0-20% pentru a da compusul din titlu ca solid (22,6 g, randament 46%), după evaporarea solventului. ES/MS (*m/z*): 166 (M+H). ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃) δ 2,43 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 6,61 (s, 1H), 10,48 (s, 1H).

Preparare 18**(2-Metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metanol**

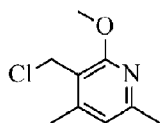
50



NaBH₄ (6,4 g, 170 mmol) se adaugă în porții la o soluție de 2-metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbaldehidă (22,6 g, 137 mmol) în MeOH (500 mL) la 0 °C. Soluția se încălzește la RT și se agită peste noapte. Se adaugă suplimentar NaBH₄ (1,0 g) și amestecul se agită timp de 1 oră. Se răcește flaconul la 0° C, se adaugă apă răcită cu gheață (50 mL), și amestecul rezultat se concentrează în vid până la $\square$? din volum . Se adaugă NaHCO₃ apos saturat la reziduul rezultat, se extrage cu DCM, se separă straturile, se spală faza organică cu soluție apoasă saturată de NaCl, și faza organică se usucă pe Na₂SO₄. Filtratul se filtrează și se concentrează în vid pentru a da compusul din titlu ca ulei (23 g, randament cantitativ). ES/MS (m/z): 168 (M+H).

Preparare 19

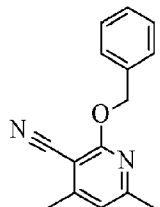
3-(Clorometil)-2-metoxi-4,6-dimetil-piridină



Se adaugă o soluție de clorură de metansulfonil (22 mL, 281 mmol) dizolvat în DCM (100 mL) la o soluție de (2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metanol (39 g, 233,25 mmol) în DCM (500 mL) conținând DIPEA (54 mL) la 0 °C. Se încălzește încet la RT și se agită timp de aproximativ 48 ore. Amestecul de reacție se concentrează în vid și reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc/hexan 2-5%, pentru a da compusul din titlu ca solid (30,85 g, randament 71%), după evaporarea solventului. ¹H RMN (399,8 MHz, DMSO-d₆): 2,28 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 3,84 (s, 3H), 4,69 (s, 2H), 6,70 (s, 1H).

Preparare 20

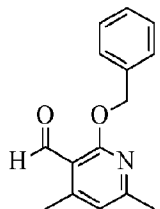
2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-carbonitril



Se adaugă în picătură clorură de benzil (100 mL, 859,5 mmol) la un amestec de 2-hidroxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbonitril (100 g, 675 mmol) și oxid de argint (174 g, 747 mmol) în toluen (1 L) într-un balon cu trei gâturi de 2 L echipat cu un agitator mecanic. Se agită amestecul la 110 °C timp de 6 ore. Se răcește amestecul la $\square$ 60 °C, se filtrează pământul de diatomee, se clătește cu DCM și filtratul se concentrează în vid. Produsul brut se dizolvă în DCM și se adaugă în picătură MeOH până când apare un solid. Solidul rezultat se filtrează și se colectează pentru a da produsul din titlu ca solid maro (144,9 g, randament 90%). ES/MS (m/z): 239 (M+H).

Preparare 21

2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-carbaldehidă

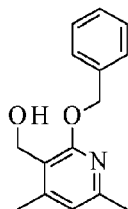


Se adaugă în picătură o soluție de DIBAL-H 1M în toluen (200 mL, 200 mmol) la o soluție de 2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-carbonitril (40,3 g, 169 mmol) în DCM (400 mL) la 0 °C în timp de 3 ore. Amestecul de reacție se încălzește la RT, și se agită timp de 3 ore. Amestecul de reacție se stinge foarte încet cu un amestec 1:1 de HCl 1N (160 mL) și acid acetic (160 mL) la RT. Se adaugă soluție apoasă saturată de NaCl (100 mL) și se extrage cu DCM. Straturile se separă și se usucă extractele organice peste noapte pe Na₂SO₄. Se filtrează, se concentrează filtratul în vid, și se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de

EtOAc in hexani 0-5%, pentru a obține compusul din titlu (24,47 g, randament 60%) după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 242 (M+H).

Preparare 22

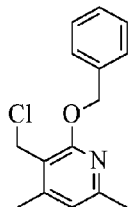
(2-Benziloxi-4,6-dimetil-3-piridil)metanol



Se dizolvă 2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-carbaldehidă (46,5 g, 193 mmol) în MeOH (1 L) într-un balon cu trei gaturi de 2 L într-o baie cu gheață echipat cu un agitator mecanic și se adaugă NaBH₄ (8,7 g, 230 mmol) în porții mici în timp de 1 oră. Amestecul se încălzește la RT și se agită timp de 3 ore. Se re-răcește amestecul la 0 °C și se stinge cu apă răcită cu gheață (50 mL). Amestecul de reacție se concentrează în vid și se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO₃. Se extrage de trei ori cu DCM, extractele combinate se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl, și se usucă pe Na₂SO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul in vid pentru a da compusul din titlu (46,8 g, randament 99,8%) ca ulei incolor. ES/MS (m/z): 244 (M+H).

Preparare 23

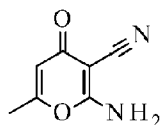
2-Benziloxi-3-(clorometil)-4,6-dimetil-piridină



Se adaugă încet SOCl₂ (4,0 g, 33 mmol) la o soluție de (2-benziloxi-4,6-dimetil-3-piridil)metanol (6,0 g, 25 mmol) în DCM (100 mL) la -60 °C sub N₂ și apoi se încălzește la -40 °C timp de 30 min. Se toarnă amestecul de reacție răcit în gheață/apă (100 mL). Se ajustează pH-ul amestecului cu NaHCO₃ apos saturat până la slab bazic, apoi amestecul apos se extrage secvențial de două ori cu DCM, extractele organice se combină, și se usucă pe MgSO₄, se filtrează și se concentrează filtratul in vid. Reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-30% in hexani pentru a da compusul din titlu (4,90 g, randament 76%) ca solid alb. ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃) δ 2,35 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 4,71 (s, 2H), 5,43 (s, 2H), 6,61 (s, 1H), 7,28-7,33 (m, 1H), 7,35-7,40 (m, 2H), 7,47-7,51 (m, 2H).

Preparare 24

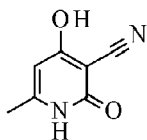
2-Amino-6-metil-4-oxo-4H-piran-3-carbonitril



Se răcește o suspensie de NaH (85,4 g, 2,10 mol) în THF anhidru (0,70 L) până la 0 °C. La suspensia sub agitare se adaugă în picătură malononitril pur (238 g, 3,6 mol). Se agită la 0 °C timp de 10 min, apoi se răcește la -10 °C și se adaugă în picătură o soluție de acetyl cetene (163 g, 1,91 mol) în THF (0,6 L). Se agită la -10 până la 0 °C timp de 1 oră, apoi se neutralizează utilizând HCl concentrat și se diluează cu apă (1,0 L). Se agită la RT timp de 16 h. Solidul se colectează prin filtrare și se usucă la aer pentru a da un solid galben. Se recrystalizează din EtOH pentru a obține compusul din titlu ca pulbere galbenă (120 g, randament 42%). ¹H RMN (400,1 MHz, DMSO-d₆) δ 2,15 (3H, s), 5,87 (1H, s), 8,50 (2H, s).

Preparare 25

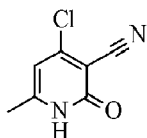
4-Hidroxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-carbonitril



Se încălzește o suspensie de 2-amino-6-metil-4-oxo-4H-piran-3-carbonitril (120 g, 0,80 mol) în HCl apos 10% (1,0 L) la 100 °C timp de 12 ore cu agitare. Se răcește la RT și se concentrează sub presiune redusă. La reziduul rezultat se adaugă EtOH (0,40 L) și solidul se colectează prin filtrare pentru a da compusul din titlu ca solid alb (103 g, randament 86%). ¹H RMN (400,1 MHz, DMSO-d₆) δ 2,15 (3H, s), 5,87 (1H, s), 11,68 (1H, s), 12,49 (bs).

Preparare 26

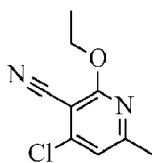
4-Cloro-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-carbonitril



Se suspendă 4-hidroxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-carbonitril (103 g, 0,69 mol) în CHCl₃ (1,0 L) și se adaugă clorură de fosforil (210 g, 1,37 mol) și pentaclorură de fosfor (286 g, 1,37 mol). Se încălzește la 70 °C timp de 8 ore cu agitare. Se răcește la RT, se toarnă încet cu agitare energetică în gheață-apă, amestecul se neutralizează utilizând NH₃ apos concentrat, și precipitatul rezultat se colectează prin filtrare pentru a da compusul din titlu ca solid maro (77 g, randament 65%) după uscare într-un cuptor la vid. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400,1 MHz, ppm) δ 2,27 (3H, s), 6,50 (1H, s).

Preparare 27

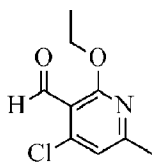
4-Cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-carbonitril



Se adaugă iodoetan (3,3 mL, 41 mmol) la un amestec de 4-cloro-6-metil-2-oxo-1H-piridin-3-carbonitril (4,6 g, 27 mmol) și Ag₂O (13 g, 55,8 mmol) în toluen (250 mL) și se agită amestecul rezultat la reflux timp de 4 ore. Se răcește amestecul până la 60 °C, se filtrează prin pământ de diatomee, și filtratul se concentrează în vid. Reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient EtOAc de 0-100% în hexani, pentru a da compusul din titlu (2,5 g, randament 47%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): (³⁵Cl/³⁷Cl) 197/199 (M+H).

Preparare 28

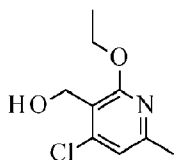
4-Cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-carbaldehidă



Se adaugă în picătură DIBAL-H 1M în toluen (18 mL, 18 mmol) la o soluție de 4-cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-carbonitril (2,2 g, 11 mmol) în DCM (100 mL) la 0 °C. Amestecul se încălzește treptat la RT, se agită peste noapte, se plasează balonul într-o baie de apă la RT, și reacția se stinge prin adăugarea în picătură a unui amestec de HCl apos 1M (9 mL) și AcOH (9 mL). Se diluează amestecul rezultat cu DCM, se separă straturile rezultate, se spală extractul organic cu soluție apoasă saturată de NaCl, și se usucă extractul organic pe Na₂SO₄ anhidru. Se filtrează și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (1,7 g, randament 76%) ca un solid oranj. ES/MS (m/z): (³⁵Cl/³⁷Cl) 200/202 (M+H).

Preparare 29

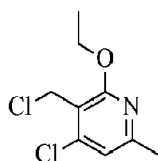
(4-Cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-il)metanol



Se adaugă NaBH_4 (0,230 g, 6,08 mmol) la o soluție de 4-cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-carbaldehidă (1 g, 5 mmol) în MeOH (50 mL) la 0 °C. Amestecul se încălzește treptat la RT, se agită timp de aproximativ 2 ore, amestecul se stinge cu soluție apoasă saturată de NaHCO_3 , se concentrează în vid, reziduul rezultat se diluează cu soluție apoasă saturată de NaHCO_3 , și se extrage cu DCM. Se separă straturile, stratul organic se usucă pe Na_2SO_4 anhidru, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (1,03 g, randament 82%) ca ulei galben. ES/MS (m/z): ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 202/204 (M+H).

Preparare 30

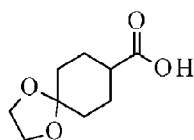
4-Cloro-3-(clorometil)-2-etoxi-6-metilpiridină



Se adaugă DIPEA (0,762 mL, 4,33 mmol) la RT la o soluție de (4-cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-il)metanol (1,03 g, 4,09 mmol, puritate 80%) în DCM (40 mL). Soluția se răcește la 0 °C, apoi se adaugă în picătură clorură de metansulfonil (0,335 mL, 4,28 mmol). Soluția se încălzește la RT, amestecul rezultat se agită la RT timp de aproximativ 3 ore, și se concentrează în vid. Se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și se extrage cu EtOAc. Se separă straturile, se usucă extractul organic pe Na_2SO_4 anhidru, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient EtOAc în hexani de 5-30%, pentru a da compusul din titlu (0,788 g, randament 88%) ca ulei galben, după evaporarea solventului. ^1H RMN δ (400,1 MHz, DMSO): 1,31 (t, J= 7,0 Hz, 3H), 2,37 (s, 3H), 4,37 (q, J= 7,0 Hz, 2H), 4,71 (s, 2H), 7,05 (s, 1H).

Preparare 31

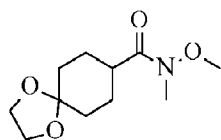
Acid 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxilic



Se adaugă triortoformiat de etil (2,35 kg, 2,65 L, 15,9 mol), PTSA (2,8 g, 16 mmol) și etilen glicol (1,64 kg, 26,4 mol) la o soluție de 4-oxociclohexancarboxilat de etil (900 g, 5,29 mol) în EtOH (4 L) și se agită amestecul la 50 °C timp de 1 oră. Se răcește la RT și se adaugă încet o soluție apoasă 5M de NaOH (4,24 L, 21,18 mol) în timp de 20 min; se agită amestecul rezultat timp de 2 ore. Se evaporă majoritatea din EtOH sub presiune redusă, se adaugă apă (5 L) și MTBE (4 L), se agită, se separă fazele, și se înlătură faza organică. Se răcește faza apoasă până la 15 °C și se acidulează prin adăugare lentă de HCl apos 5M până la pH 3,3 (3,7 L). Se adaugă DCM (8 L), se separă straturile, se usucă faza organică pe Na_2SO_4 , se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu ca ulei vâcos care se solidifică încet la ședere ca alb solid cu punct de topire scăzut (887 g, randament 90%), adecvat pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. (GC-MS) MS (m/z): 99 (M-87).

Preparare 32

N-Metoxi-N-metil-1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxamidă



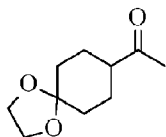
Se adaugă încet CDI (915 g, 5,64 mol) în porții mici în timp de 20 min la o soluție de acid 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxilic (988,6 g, 5,31 mol) în DCM (10 L) și se agită timp de 1 oră. Se adaugă în porții mici clorhidrat de N-metoximetanamină (577 g, 5,92 mol) în timp de 15 min și se agită timp de 12 ore. Se mai adaugă clorhidrat de N-metoximetanamină (53 g, 0,55 mol)

și se agită timp de încă 12 ore. Se adaugă apă (10 L), se separă fazele, se spală faza organică secvențial cu apă (5 L) și soluție apoasă saturată de NaCl (5 L), se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a obține compusul din titlu ca ulei incolor (1,24 kg, randament cantitativ) adecvat pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară.

5 ES/MS (m/z): 230 (M+H).

Preparare 33

1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etanonă

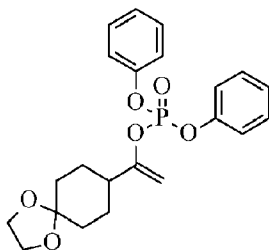


10 Se răcește o soluție de N-metoxi-N-metil-1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-carboxamidă (400 g, 1,74 mol) în THF (3,5 L) până la 0 °C sub N₂ și se adaugă soluție de MeMgBr 3M în Et₂O (697,87 mL, 2,1 mol) în 30 min. Se agită timp de 30 min în timp ce se încălzește până la RT. Se stinge reacția prin adăugare lentă de NH₄Cl apoasă saturată (1 L) și se extrage cu MTBE (500 mL x 3). Se separă straturile și se spală stratul organic cu soluție apoasă saturată de NaCl. Se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a obține compusul brut din titlu ca ulei galben deschis (275 g, randament 86%), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară.

15 (GC-MS) MS (m/z): 184 (M⁺).

Preparare 34

Fosfat de 1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etenildifenil



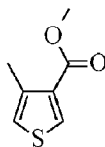
20 Se răcește o soluție de 1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etanonă (150 g, 0,81 mol) în THF (1 L) până la -70 °C și se adaugă în picătură o soluție de LiHMDS 1M în THF (896 mL, 0,89 mol) în 30 min. Se agită amestecul timp de 15 min la -60 °C și apoi se adaugă în picătură clorură de difenil fosforil (240,6 g, 896 mmol) în THF (450 mL) la -70 °C. Se agită amestecul de reacție timp de 14 ore în timp ce se încălzește până la RT. Se stinge reacția cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (1 L) și se agită timp de 1 oră. Se extrage cu MTBE (8 L x 3), se separă straturile, se usucă extractele organice combinate pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc 2-33% în hexani, pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (190 g, randament 56%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 417 (M+H).

25 Se răcește o soluție de 1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etanonă (150 g, 0,81 mol) în THF (1 L) până la -70 °C și se adaugă în picătură o soluție de LiHMDS 1M în THF (896 mL, 0,89 mol) în 30 min. Se agită amestecul timp de 15 min la -60 °C și apoi se adaugă în picătură clorură de difenil fosforil (240,6 g, 896 mmol) în THF (450 mL) la -70 °C. Se agită amestecul de reacție timp de 14 ore în timp ce se încălzește până la RT. Se stinge reacția cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (1 L) și se agită timp de 1 oră. Se extrage cu MTBE (8 L x 3), se separă straturile, se usucă extractele organice combinate pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc 2-33% în hexani, pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (190 g, randament 56%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 417 (M+H).

30 Se răcește o soluție de 1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etanonă (150 g, 0,81 mol) în THF (1 L) până la -70 °C și se adaugă în picătură o soluție de LiHMDS 1M în THF (896 mL, 0,89 mol) în 30 min. Se agită amestecul timp de 15 min la -60 °C și apoi se adaugă în picătură clorură de difenil fosforil (240,6 g, 896 mmol) în THF (450 mL) la -70 °C. Se agită amestecul de reacție timp de 14 ore în timp ce se încălzește până la RT. Se stinge reacția cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (1 L) și se agită timp de 1 oră. Se extrage cu MTBE (8 L x 3), se separă straturile, se usucă extractele organice combinate pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc 2-33% în hexani, pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (190 g, randament 56%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 417 (M+H).

Preparare 35

4-Metiltiofen-3-carboxilat de metil



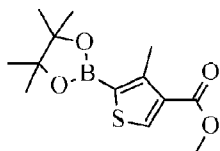
35 Se amestecă 3-bromo-4-metiltiofen (200 g, 1,13 mol), MeOH (800 mL), DMA (1200 mL), TEA (390 mL, 2,8 mol) și se purjază cu azot timp de 10 min. Se adaugă 1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen (50 g, 0,09 mol) și acetat de paladiu (II) (20 g, 0,09 mol) și se agită sub atmosferă de CO la 60 psi timp de 30 ore la 80 °C. Se răcește amestecul până la RT, se diluează cu EtOAc, se spală secvențial cu apă și soluție apoasă saturată de NaCl, și se usucă faza organică pe Na₂SO₄. Se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (360 g) ca ulei galben, suficient pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 157 (M+H).

40 Se amestecă 3-bromo-4-metiltiofen (200 g, 1,13 mol), MeOH (800 mL), DMA (1200 mL), TEA (390 mL, 2,8 mol) și se purjază cu azot timp de 10 min. Se adaugă 1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen (50 g, 0,09 mol) și acetat de paladiu (II) (20 g, 0,09 mol) și se agită sub atmosferă de CO la 60 psi timp de 30 ore la 80 °C. Se răcește amestecul până la RT, se diluează cu EtOAc, se spală secvențial cu apă și soluție apoasă saturată de NaCl, și se usucă faza organică pe Na₂SO₄. Se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (360 g) ca ulei galben, suficient pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 157 (M+H).

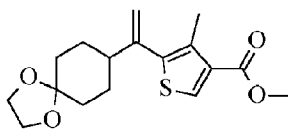
Preparare alternativă a 4-metiltiofen-3-carboxilatului de metil

45 Se dizolvă 3-bromo-4-metiltiofen (1,00 kg, 5,65 mol) și TEA (1,43 kg, 14,12 mol) în DMA (2,5 L) și MeOH (1,32 L) și se adaugă 1,1-bis-difenilfosfinoferocen (187,9 g, 0,34 mol) urmat de Pd(OAc)₂ (63,4 g, 0,28 mol). Se agită amestecul rezultat sub o atmosferă de CO la 50 psi

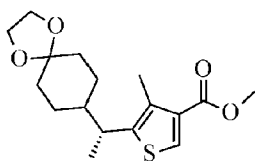
la 80 °C timp de 16 ore. După răcire la RT, se adaugă EtOAc (5 L), se spală secvențial cu soluție apoasă 10% de acid citric (1,6 L x 2), soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (1,6 L x 2), apă (1,2 L x 2) și soluție apoasă saturată de NaCl (1 L x 2). Se separă straturile, se usucă faza organică pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu EtOAc 5% în hexani, pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (653 g, randament 74%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 157 (M+H).

Preparare 36**4-Metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofen-3-carboxilat de metil**

Se amestecă 4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (250 g, 1,60 mol), 4-terț-butil-2-(4-terț-butil-2-piridil)piridină (8,59 g, 32,01 mmol) și [IrMeO(COD)]₂ (5,37 g, 8,00 mmol) în ciclohexan (2,5 L). Se degazează amestecul sub vid, se purjează bine cu N₂, și apoi se adaugă 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan (409,67 g, 3,20 mol) în porții mici, în timp de 1 oră. Se agită amestecul rezultat la 70 °C timp de 3 ore. Se răcește amestecul la RT, se concentrează în vid, și se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-1% în hexani, pentru a obține compusul din titlu ca solid (300 g, randament 66%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 283 (M+H).

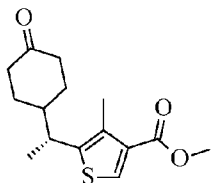
Preparare 37**5-[1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etenil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**

Se agită un amestec de fosfat de 1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etenil difenil (240 g, 576,37 mmol), 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofen-3-carboxilat de metil (211,4 g, 749,28 mmol) și o soluție apoasă de K₃PO₄ 2M (367 g, 1,73 mol) în dioxan (2,4 L) la RT. Se adaugă cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triizopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladiu(II) (9,07 g, 11,53 mmol) și se agită la 80 °C timp de 3 ore. Se evaporă solventul sub presiune redusă, se extrage cu EtOAc (750 mL x 2), se separă straturile, se spală secvențial fazele organice combinate cu apă (150 mL) și soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu EtOAc 5% în hexani, pentru a da compusul din titlu ca solid (375 g, randament 67%), după îndepărtarea solventului. ES/MS (m/z): 323 (M+H).

Preparare 38**5-[(1R)-1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**

Se adaugă [(4R,5R)-(+)-O-[1-benzil-1-(5-metil-2-fenil-4,5-dihidrooxazol-4-il)-2-feniletil](diciclohexilfosfinit) (1,5-COD) tetrakis (3,5-bis(trifluorometil)fenilborat de iridiu(I) (1,61 g, 0,93 mmol) la o soluție de 5-[1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etenil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (60 g, 186 mmol) în DCM (1,9 L) și se eluează soluția printr-un reactor de oțel inoxidabil de 48 mL la o atmosferă de hidrogen de 80 parr la 12 mL/min timp de 2 ore la RT. Se filtrează soluția și se concentrează filtratul în vid pentru a obține compusul din titlu brut ca ulei maro (60 g, randament cantitativ), adecvat pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 325 (M+H).

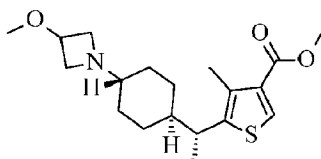
Preparare 39**4-Metil-5-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]tiofen-3-carboxilat de metil**



Se adaugă la o soluție de 5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-yl)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (64,7 g, 178 mmol) în THF (450 mL) o soluție de HCl 1N (450 mL, 5,53 mol) și se agită timp de 16 ore la RT urmată de 2 ore la 45 °C. Se concentrează amestecul de reacție in vid, se adaugă MTBE (500 mL) și se separă fazele. Se spală faza organică secvențial cu apă (200 mL), soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (100 mL) și soluție apoasă saturată de NaCl (100 mL). Se usucă faza organică pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid pentru a da compusul din titlu brut ca ulei maro (53,3 g, randament 96%) care poate fi utilizat fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 281 (M+H).

Preparare 40a

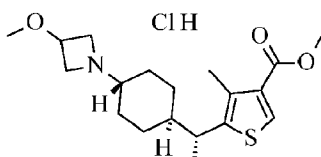
5-[(1R)-1-[trans-4-(3-Metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se agită o soluție de clorhidrat de 3-metoxiazetidină (43,4 g, 351 mmol) și DIPEA (65 mL, 373 mmol) în MeOH (500 mL) timp de 45 min la RT. Acest amestec se adaugă la o soluție de 4-metil-5-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]tiofen-3-carboxilat de metil (50,0 g, 160 mmol) în THF (250 mL) și se agită 40 min la RT. Amestecul se răcește la -70 °C și se adaugă LiBH₄ (4,9 g, 220 mmol) în cinci porții în timp de 25 min. Se lasă să se agite timp de 4 ore în timp ce se încălzește la -20 °C. Amestecul se toarnă încet într-o soluție apoasă de HCl 1M (500 mL) și se agită timp de 10 min. Se evaporă in vid cea mai mare parte din solventul organic, se adaugă DCM (500 mL) și o soluție apoasă de K₂CO₃ 5M (□ pH 9), se separă straturile, și se spală faza apoasă din nou cu DCM (250 mL). Se combină extractele organice, se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă faza organică pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid. Se adaugă EtOAc (50 mL) și se concentrează din nou in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu EtOAc 20% în trietilamină/hexani 2% pentru a da un ulei, după evaporarea solventului. Se dizolvă uleiul rezultat în MTBE (200 mL), se spală cu HCl apos 1M (200 mL) și la faza apoasă se adaugă K₃PO₄ apos 2M (□ pH 7,5). Soluția apoasă se extrage cu EtOAc (2 x 300 mL), se usucă pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid pentru a obține compusul din titlu ca ulei galben pal (15,5 g, randament 57%). ES/MS (m/z): 352 (M+H).

Preparare 40b

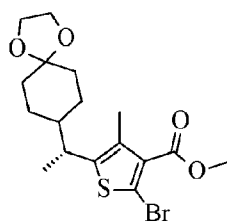
Clorhidrat de 5-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



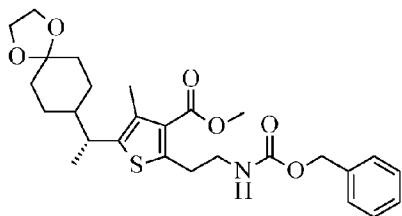
Clorhidratul de 5-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil poate fi preparat in esență așa cum s-a descris in Prepararea 40a, cu evaporarea solventului din amestecul de reacție brut după stingere cu HCl, și cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de NH₃ 2M/MeOH 0-100% în DCM, pentru a da un ulei, după evaporarea solventului, care a cristalizat parțial după uscare in vid. Recristalizarea ulterioară din EtOAc și urme de MeOH dă material suficient de cristalin pentru cristalografie cu raze X. ES/MS (m/z): 352 (M+H).

Se prepară un cristal unic de clorhidrat de 5-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil prin recristalizare din EtOAc și MeOH. Se montează pe o fibră subțire la -173 °C. Se colectează datele utilizând o sursă de radiație CuK_α 1μ (λ = 1,54178 Å) și un difractometru cu goniometru cu 3 cercuri pe bază de Bruker D8 echipat cu un detector de arie SMART® 6000CCD (dimensiuni cristal = 0,150 x 0,080 x 0,020 mm). Se

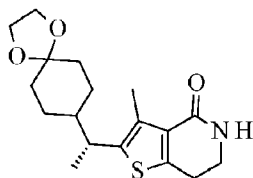
efectuează rafinarea celulelor și reducerea datelor utilizând programul SAINT V8.32b. Se indexează celula unitară, având parametri monoclinici de 12,2214(3) Å, $b = 7,0314(2)$ Å, $c = 12,8284(3)$ Å, și $\beta = 108,8099(15)^\circ$ (volumul celulei din structura cristalului = 1043,52(5) Å³, se calculează densitatea structurii = 1,235 g/cm³ la -173 °C). Se determină structura prin metode directe utilizând programul SHELXS. În mod independent se definesc toți parametrii atomici anizotropici cu excepția atomilor de hidrogen. Se localizează la pozițiile calculate idealizate. Se confirmă alegerea grupului spațial, și anume P2₁, prin convergența reușită a rafinării prin metoda celor mai mici pătrate full-matrice pe F2 folosind programul SHELXL, având o potrivire de 1,110. Indicii R Final ($I > 2\sigma(I)$) sunt $R_1 = 0,0603$, $R_2 = 0,1242$. Se rafinează parametrul structurii absolute la 0,081(12). Se determină structura. Structura este determinată ca fiind sarea clorhidrat și structura absolută este determinată ca având configurație *R* la stereocentru și configurație *trans* în jurul inelului de ciclohexan.

Preparare 41**2-Bromo-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil**

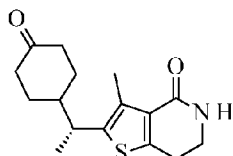
Se adaugă *N*-bromosuccinimidă (6,18 g, 34,7 mmol) la o soluție de 5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (15,56 g, 47,97 mmol) în EtOAc (60 mL) și se agită amestecul la 55 °C timp de 30 min, apoi la 40 °C, peste noapte. Se spală amestecul de reacție de două ori cu soluție apoasă saturată de NaHSO₃, se separă straturile, și se usucă straturile organice combinate pe MgSO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc 0-20% în hexani, pentru a da compusul din titlu (15,67 g, randament 81%) după evaporarea solventului. ES/MS (m/z) (⁷⁹Br/⁸¹Br): 403/405 (M+H).

Preparare 42**2-(2-[(Benziloxi)carbonil]amino)etil)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**

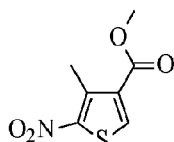
Se adaugă 2-bromo-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (15,44 g, 38,28 mmol), toluen (350 mL) și apă (40 mL) într-un balon cu trei gături de 1 L, echipat cu un agitator mecanic. Se degazează amestecul sub vid timp de 15 min. Se adaugă benzil *N*-[2-(trifluoroboranuidil)etil]carbamit de potasiu (17,3 g, 57,6 mmol), Cs₂CO₃ (37,4 g, 115 mmol), și RuPhos-G3-Palladacycle (2,30 g, 2,69 mmol). Se degazează amestecul timp de încă 15 min și apoi se agită sub N₂ la 80-85 °C peste noapte. Se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și se extrage de trei ori cu EtOAc; se spală extractele combinate secvențial cu apă și soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc 0-50% în hexani pentru a da compusul din titlu (14,72 g, randament 76%) ca ulei. ES/MS (m/z): 502 (M+H).

Preparare 43**2-[(1R)-1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**

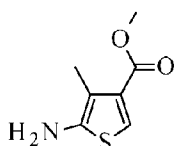
Se agită peste noapte un amestec de 2-(2-[[benziloxi]carbonil]amino)etil)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (14,72 g, 29,35 mmol) și Pd 10% pe carbon uscat (3,0 g) în MeOH (80 mL) sub H₂ la 60 psi. Se filtrează amestecul de reacție pe pământ de diatomee, se agită filtratul la RT timp de 24 ore și se concentrează în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc la hexani 20-100% și apoi cu un gradient de MeOH în EtOAc 10%, pentru a da compusul din titlu (8,20 g, randament 83%) după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 336 (M+H).

Preparare 44**3-Metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**

Se agită o soluție de 2-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (6,18 g, 18,4 mmol) într-un amestec de THF (30 mL) și HCl 1N (30 mL) la RT peste noapte, apoi la 55 °C timp de 2 ore. Se stinge reacția cu Na₂CO₃ solid și se extrage cu EtOAc. Se spală extractele combinate cu soluție apoasă saturată de NaCl și se usucă pe MgSO₄. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc în hexani 0-100 %, pentru a da compusul din titlu (4,69 g, randament 87%) ca spumă, după îndepărtarea solventului. ES/MS (m/z): 292 (M+H).

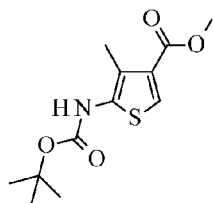
Preparare 45**4-Metil-5-nitrotiofen-3-carboxilat de metil**

Se adaugă anhidridă acetică (2,5 L) la o soluție de 4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (150 g, 0,96 mol) în AcOH (4,5 L) mai jos 25 °C. Se răcește amestecul până la 10 °C, se adaugă încet HNO₃ fumans (220 mL), menținând temperatura mai jos de 15 °C, se încălzește la RT, și se agită timp de 1 oră. Masa de reacție se toarnă încet în gheață apă și se extrage cu EtOAc (2 x 3 L). Straturile rezultate se separă, faza organică se spală secvențial cu apă (4 x 3 L) și soluție apoasă saturată de NaHCO₃, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu EtOAc/hexan 5%, pentru a da compusul din titlu (91 g, randament 47%) ca un solid oranj, după evaporarea solventului. ¹H RMN (400,1 MHz, DMSO-d₆) δ 2,77 (s, 3H); 3,83 (s, 3H); 8,61 (s, 1H).

Preparare 46**5-Amino-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**

Se adaugă încet fier (166 g, 2,98 mol) la o soluție de 4-metil-5-nitrotiofen-3-carboxilat de metil (120 g, 0,55 mol) în AcOH (1200 mL) și EtOH (1200 mL). Se agită amestecul la 80 °C timp de 15 min. Se răcește masa de reacție, se toarnă încet în gheață-apă, și se adaugă o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ până la pH 7-7,5. Se extrage cu EtOAc (2 x 3 L), se separă straturile, se spală straturile organice combinate cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se evaporă filtratul in vid pentru a obține compusul din titlu (98 g, randament 98%) ca ulei galben, suficient pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 172 (M+H).

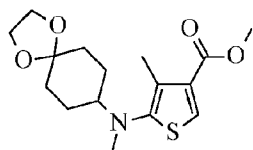
Preparare 47**5-[(*tert*-Butoxicarbonil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**



La o soluție de 5-amino-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (7,79 g, 37,3 mmol) în 1,4-dioxan (40 mL), se adaugă *terț*-butoxicarbonil *terț*-butil carbonat (16,3 g, 74,6 mmol), se încălzește la reflux timp de 2 ore, apoi se răcește la RT și se concentrează amestecul de reacție în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc în hexani 0-10%, pentru a da compusul din titlu (8,88 g, randament 88%) ca ulei galben gros, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 272 (M+H).

Preparare 48

5-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil

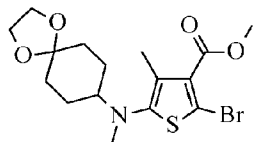


La o soluție de 5-[(*terț*-butoxicarbonil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (2,01 g, 7,41 mmol) în DMF (20 mL) se adaugă Cs₂CO₃ (6,03 g, 18,5 mmol) și CH₃I (1,05 g, 7,41 mmol). Se încălzește amestecul la 80 °C timp de 10 min și se răcește amestecul de reacție la RT. Se diluează cu DCM (50 mL) și apă (10 mL), se separă stratul organic, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se adaugă MeOH (40 mL) și HCl apos 5M (20 mL) la reziduu rezultat, și se încălzește la 50 °C timp de aproximativ 1 oră. Se concentrează amestecul în vid, se diluează cu DCM și se adaugă NaHCO₃ solid până când amestecul este neutralizat până la pH aproximativ 7. Se separă stratul organic, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da 4-metil-5-(metilamino)-tiofen-3-carboxilat de metil brut. ES/MS (m/z): 186 (M+H).

Se dizolvă 4-metil-5-(metilamino)-tiofen-3-carboxilatul de metil brut în DCM (20 mL), se adaugă 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-onă (1,16 g, 7,40 mmol) în timp ce agitare timp de 30 min, apoi se adaugă triacetoxiborohidru de sodiu (3,13 g, 14,8 mmol) și se agită la RT timp de încă 30 min. Se adaugă suplimentar 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-onă (0,289 g, 1,85 mmol), se agită timp de 15 min, se mai adaugă triacetoxiborohidru de sodiu (0,784 g, 3,70 mmol), și se agită amestecul rezultat peste noapte la RT. Se diluează masa de reacție cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (10 mL) și DCM (40 mL), se agită timp de 1 oră, se separă stratul organic, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de EtOAc 0-10% în hexani, pentru a da compusul din titlu (1,21 g, randament 50%) ca ulei incolor după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 326 (M+H).

Preparare 49

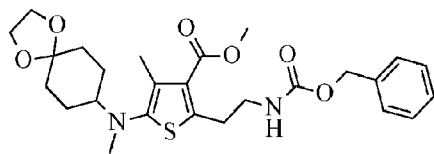
2-Bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



La 5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (1,13 g, 3,47 mmol) în DCM (11 mL) se adaugă N-bromosuccinimidă (0,701 g, 3,82 mmol) la RT. După 5 min, se diluează masa de reacție cu DCM (40 mL) și se spală cu NaOH 0,1M (2 x 10 mL). Se separă stratul organic, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu brut (1,47 g, randament cantitativ) ca ulei maro. ES/MS (m/z): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 404/406 (M+H).

Preparare 50

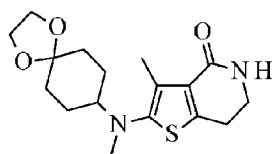
2-(2-[(Benziloxi)carbonil]amino)etil-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se adaugă toluen (15 mL) și apă (2,5 mL) la 2-bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil brut (1,36 g, 3,20 mmol), benzil N-[2-(trifluoroboranuidil)etil]carbamat de potasiu (1,25 g, 4,15 mmol) și Cs₂CO₃ (3,64 g, 11,2 mmol) intr-un balon. Amestecul se purjează cu N₂, apoi se adaugă RuPhos (0,0761 g, 0,160 mmol) și precatalizator Ruphos din generația a 2-a (0,124 g, 0,160 mmol). Se agită amestecul energic și se încălzește la 100 °C timp de 18 ore. Se răcește la RT și se diluează masa de reacție cu EtOAc (40 mL) și apă (10 mL). Se separă stratul organic, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-30% in hexani, pentru a da compusul din titlu (0,93 g, randament 58%) ca ulei portocaliu, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 503 (M+H).

Preparare 51

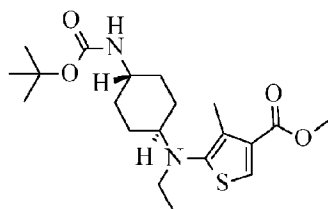
2-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



La 2-(2-[[benziloxi]carbonil]amino)etil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)-amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (0,93 g, 1,86 mmol) în MeOH (10 mL), se adaugă Pd(OH)₂ 20% pe carbon (0,500 g, 3,56 mmol) și TEA (0,78 mL, 5,57 mmol). Se încarcă vasul de reacție cu H₂ (345 kPa) și se agită la RT. După aproximativ 1,5 ore se îndepărtează catalizatorul prin filtrare, apoi se încălzește amestecul la 70 °C timp de 5 ore. Se răcește amestecul la RT și se concentrează în vid pentru a da compusul din titlu (0,513 g, randament 82%) ca spumă galbenă, suficient pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 337 (M+H).

Preparare 52

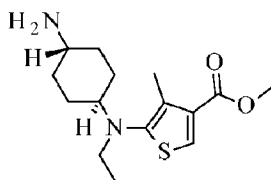
5-[[trans-4-[(*tert*-Butoxicarbonil)amino]ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se adaugă triacetoxiborohidru de sodiu (441 g, 2,05 mol) la o soluție de 5-amino-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (98 g, 0,57 mol) în DCE (1000 mL) conținând (4-oxociclohexil)carbamat de *tert*-butil (156,7 g, 0,75 mol) și AcOH (118 mL) la RT. Se agită amestecul rezultat timp de 30 min la RT, se adaugă acetaldehidă (63,7 mL, 1,15 mol), se agită timp de încă 45 min, și se adaugă apă urmată de soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (pH □ 9-10). Amestecul apos se extrage cu EtOAc (2 x 3 L), extractele organice combinate se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu EtOAc 5% in hexani, pentru a da 337 g de amestec cis/trans după îndepărtarea solventului. Izomerii *cis* și *trans* se separă prin SFC chirală secvențială multiplă (CHIRALPAK® AD, 5 μm, 5 x 25 cm; eluent: amestec izocratic de 5 MeOH % in CO₂; Temp. coloană: 50 °C; Debit: 400 g/min) pentru a da *trans* compusul din titlu pur (183 g, randament 76%) ca solid maro după îndepărtarea solventului. R_t = 3,54 min. ES/MS (m/z): 397 (M+H).

Preparare 53

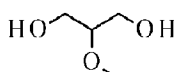
5-[[trans-4-Aminociclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se răcește o soluție de 5-[[4-(tert-butoxycarbonylamino)ciclohexil]-etil-amino]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil (40 g, 100,9 mmol) în THF (200 mL) până la 0 °C. Se adaugă în picătură o soluție de HCl 4M în dioxan (250 mL, 1000 mmol), și se agită amestecul rezultat la RT timp de 16 ore. Se concentrează în vid la ¼ din volum, se adaugă EtOAc (400 mL) și soluție apoasă saturată de K₂CO₃ (200 mL), și amestecul rezultat se agită la RT timp de 1 oră. Fazele rezultate se separă, fază apoasă se spală cu EtOAc (2 x 100 mL), straturile organice se combină, și se spală secvențial cu apă (100 mL) și soluție apoasă saturată de NaCl (100 mL). Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (31,7 g, randament cantitativ) ca ulei maro închis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 297 (M+H).

Preparare 54

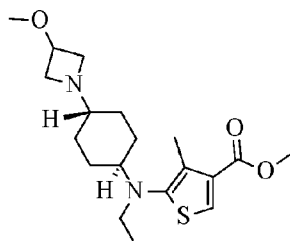
2-Metoxipropan-1,3-diol



La o soluție rece de 2-metoxipropan-1,3-diol (25 g, 154,19 mmol) în THF (300 mL) la -15 °C, se adaugă în picătură o soluție de LAH 2,3M în 2-metil-tetrahidrofuran (170 mL, 150 g, 385,47 mmol) la -15 °C și se agită timp de 2 ore la 0 °C, apoi timp de 1 oră la RT. Se răcește la -15 °C și se stinge încet cu apă (15 mL), KOH 2N (15 mL) și apă (30 mL), și se agită amestecul rezultat timp de 30 min la RT. Se filtrează solidul rezultat alb, se spală solidele cu EtOAc (250 mL) urmat de MeOH/EtOAc 40% (v/v) (500 mL), și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silicagel, eluând cu un gradient de MeOH 0-20% în EtOAc, pentru a da compusul din titlu ca ulei incolor (6,66 g, randament 40%), după evaporarea solventului. ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃) δ 2,50 (bs, 2H), 3,47 (s, 3H), 3,36 (cvintet, J= 4,5 Hz, 1H), 3,69 (dd, J= 4,6, 11,7 Hz, 2H), 3,79 (dd, J= 4,2, 11,7 Hz, 2H).

Preparare 55

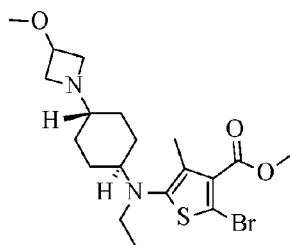
5-{Etil[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se adaugă în picătură anhidridă trifluorometansulfonică (36,47 mL, 61,16 g, 214,6 mmol) la o soluție de 2-metoxipropan-1,3-diol (14,81 g, 139,6 mmol) în ACN (500 mL) la -20 °C în timp de 45 min. Apoi se adaugă în picătură DIPEA (44,4 mL, 32,9 g, 255 mmol) în timp de 35 min și se agită amestecul rezultat timp de 45 min la -15 °C. Se răcește amestecul la -25 °C și se adaugă DIPEA (44,4 mL, 32,9 g, 255 mmol) în picătură în timp de 20 min. Se adaugă în picătură o soluție de 5-[(trans-4-aminociclohexil)(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil 31,72 g, 107,0 mmol) în ACN (300 mL) în 30 min. Masa de reacție se încălzește la RT și apoi se agită la 70 °C timp de încă 1 oră. Se răcește amestecul la RT, se diluează cu EtOAc (500 mL) și apă (500 mL), se separă fazele, și se extrage faza apoasă cu EtOAc (2 x 250 mL). O soluție apoasă 4M de K₂CO₃ (250 mL) se adaugă la extractele organice combinate și se agită timp de 2 ore la RT. Fazele se separă, stratul organic se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl (250 mL), stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de MeOH 0-10% în EtOAc, pentru a da compusul din titlu (29,2 g, randament 74%) ca solid maro, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 367 (M+H).

Preparare 56

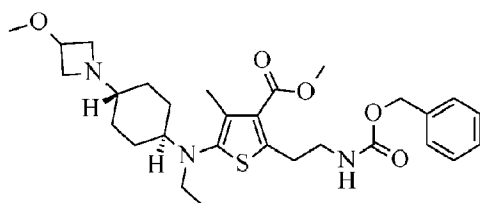
2-Bromo-5-{etil[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se amestecă 5-{etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidină-1-il)ciclohexil]amino}-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil (29,17 g, 79,59 mmol) și NBS (17,00 g, 95,51 mmol) în DMF (400 mL) și se agită amestecul rezultat timp de 2 ore la RT. Se diluează cu EtOAc (400 mL) și apă (250 mL), se separă fazele, și se spală stratul organic secvențial cu soluție apoasă de K₂CO₃ 4M (2 x 200 mL), apă (200 mL), și soluție apoasă saturată de NaCl (200 mL). Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (32,4 g, randament 89%) ca ulei maro, adecvat pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z) (⁷⁹Br/⁸¹Br): 445, 447 (M+H).

10 Preparare 57

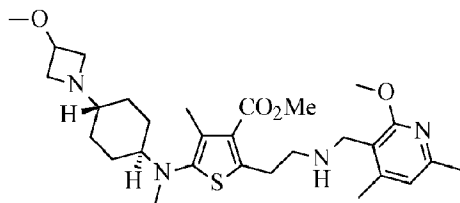
2-(2-[[(Benziloxi)carbonil]amino]etil)-5-{etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidină-1-il)ciclohexil]amino}-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



La o soluție de K₂CO₃ (657,8 g, 414,3 mmol) în apă (123 mL, 6828 mmol) se adaugă în picătură benzil *N*-[2-(trifluoroboranuidil)etil]carbamate de potasiu (23,62 g, 82,85 mmol) urmată de o soluție de 2-bromo-5-{etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidină-1-il)ciclohexil]amino}-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (32,37 g, 69,04 mmol) în toluen (450 mL). Se purjează încet amestecul cu N₂ sub încălzire până la 90 °C în 30 min, apoi se adaugă 2-diciclohexilfosfino-2',6'-diizopropoxi-1,1'-bifenil (2,46 g, 5,18 mmol) și cloro(2-diciclohexilfosfino-2',6'-diizopropoxi-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]-paladiu (II) (4,02 g, 5,18 mmol). Se agită amestecul rezultat la 105 °C timp de 4 ore, se răcește la RT, se diluează cu EtOAc (300 mL) și apă (100 mL), se separă fazele, se extrage faza apoasă cu EtOAc (3 x 100 mL), și se spală straturile organice combinate secvențial cu K₂CO₃ apos 4M (2 x 100 mL), apă (150 mL), și soluție apoasă saturată de NaCl (150 mL). Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se concentrează filtratul în vid, și se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de MeOH 0-5% în EtOAc, pentru a da compusul din titlu (23,1 g, 51% randament) ca ulei maro după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 544 (M+H).

Preparare 58

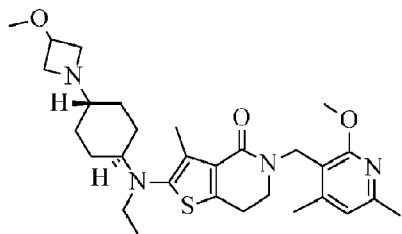
5-{Etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidină-1-il)ciclohexil]amino}-2-(2-[[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]amino]etil)-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se adaugă Pd(OH)₂ pe carbon, bază uscată 20%, umectată cu apă (5,75 g) la un amestec de 2-(2-[[(benziloxi)carbonil]amino]etil)-5-{etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidină-1-il)ciclohexil]amino}-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (23,00 g, 35,11 mmol) și 2-metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbaldehidă (7,03 g, 42,13 mmol) în EtOH (280 mL) și se agită la 50 °C sub H₂ (70 psi) timp de 24 ore. Se filtrează amestecul prin pământ de diatomee, se clătește cu EtOH, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de MeOH 0-25% în DCM, pentru a da compusul din titlu (18,4 g, randament 89%) ca ulei maro, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 559 (M+H).

Preparare 59

2-{Etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-5-[(2-metoksi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



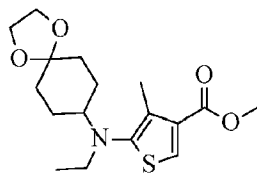
5

Se agită un amestec de 5-{etil[*trans*-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-2-2-[[[(2-metoksi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]amino]etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (18,35 g, 30,21 mmol) și AcOH (9,07 g, 151,1 mmol) în toluen (175 mL) la 110 °C timp de 3 ore. Se răcește amestecul, se diluează cu EtOAc (250 mL) și apă (150 mL), fazele se separă, se extrage faza apoasă cu EtOAc (3 x 100 mL), se spală extracțele organice combinate secvențial cu soluție apoasă 4M de K₂CO₃ (2 x 100 mL), apă (150 mL), și soluție apoasă saturată de NaCl (150 mL). Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid, pentru a da compusul din titlu (16,42 g, randament 95%) ca ulei maro adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 527 (M+H).

15

Preparare 60

5-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



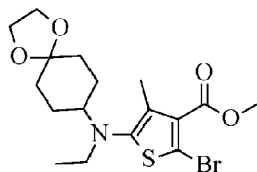
La o soluție de 5-amino-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (43 g, 251 mmol), 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-onă (39,23 g, 251 mmol) și AcOH (47 mL) în DCE (430 mL) se adaugă încet triacetoxiborohidru de sodiu (159,6 g, 754 mmol) mai jos de 25 °C. Se agită amestecul la RT timp de 30 min și apoi se adaugă acetaldehidă (28 mL, 503 mmol). Se agită amestecul la RT timp de 30 min. Se toarnă conținuturile amestecului în gheață-apă și se alcalinizează prin adăugarea unei soluții apoase saturate de NaHCO₃ până la pH 7,0-7,5. Se extrage amestecul rezultat cu EtOAc (2 x 3 L), se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu EtOAc 5% în hexani, pentru a da compusul din titlu (55 g, randament 67%), ca solid după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 340 (M+H).

25

Preparare 61

2-Bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil

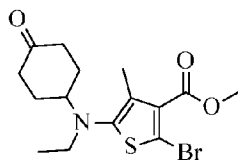
30



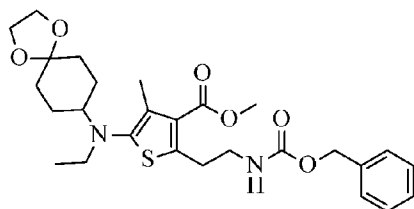
Intr-un balon cu fund rotund cu trei gâturi echipat cu o pâlnie de adăugare, se adaugă o soluție de 5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (91 g, 268,1 mmol) în DCM (1,2 L). Se răcește balonul la 0 °C, apoi se adaugă în porții NBS (58,4 g, 322 mmol) în timp de 1 oră. Se îndepărtează baia cu gheață și se agită amestecul de reacție la RT timp de 2 ore. Se adaugă apă, se separă stratul organic și se concentrează faza organică în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice în patru șarje, eluând de fiecare dată cu EtOAc 10-50% în hexani. Se concentrează fracțiunile combinate din primele două șarje pentru a da ulei. Se usucă materialul în vid peste noapte pentru a da un solid alb (40,9 g). Se concentrează fracțiunile din șarjele trei și patru pentru a da ulei maro. Se tratează materialul rezultat cu o cantitate mică de hexani până când apare un solid, se filtrează, și se usucă în vid peste noapte pentru a da un solid maro deschis (37,9 g). Se combină cele două șarje colectate care rezultă pentru a da compusul din titlu (78,8 g, randament 70%) ca solide uleioase maro. ES/MS (m/z): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 418/420 (M+H).

40

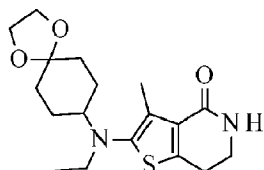
45

Preparare 62**2-Bromo-5-[etil(4-oxociclohexil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**

5 La 2-bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (7,81 g, 18,7 mmol) în THF (140 mL) se adaugă HCl apos 1M (100 mL). Se agită masa de reacție la RT timp de aproximativ 25 ore. Se diluează amestecul de reacție cu EtOAc (200 mL) și se separă straturile. Se spală stratul organic cu NaHCO₃ apos saturat (2 x 25 mL). Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu brut (6,71 g, randament 96%) ca ulei gros maro roșiatic, suficient pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 374/376 (M+H).

Preparare 63**2-(2-[(Benziloxi)carbonil]amino)etil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**

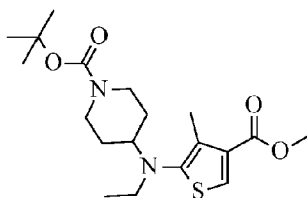
15 În două șarje separate, se adaugă toluen (428 mL) și apă (100 mL) la un amestec de 2-bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (20 g, 48 mmol), benzil N-[2-(trifluoroboranidil)etil]carbammat de potasiu (17,5 g, 58,9 mmol), metansulfonat de (2-diciclohexilfosfino-2',6'-diizopropoxi-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladiu(II) (4,1 g, 4,8 mmol) și Cs₂CO₃ (47 g, 144 mmol). Amestecul de reacție se suflă cu N₂, apoi se încălzește la 80 °C timp de 4 ore. Amestecul de reacție se toarnă în apă rece-gheață, se adaugă EtOAc, se separă straturile, se filtrează faza organică pe pământ de diatomee, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc in hexani 5-40%. Se concentrează fracțiunile dorite rezultate și se usucă în vid timp de 72 ore pentru a da compusul din titlu (41,9 g masă combinată, randament combinat 85% de la două rulări) ca ulei maro. ES/MS (m/z): 517 (M+H).

Preparare 64**2-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**

30 Se purjează cu N₂ un balon Parr, se adaugă Pd(OH)₂ 20% pe carbon (40 g, 284,9 mmol), se purjează din nou balonul cu N₂, și se adaugă TEA (150 mL, 1080 mmol), MeOH (500 mL) și o soluție de 2-(2-[(benziloxi)carbonil]amino)etil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (39,5 g, 76,5 mmol) in MeOH (500 mL). Se etanșează balonul, se purjează cu N₂, se purjează cu H₂ gazos, și se umple sistemul cu H₂ (414 kPa). Se agită timp de aproximativ 4 ore la RT și se lasă amestecul de reacție să stea timp de 72 ore. Se filtrează suspensia rezultată, se concentrează filtratul in vid, se dizolvă reziduul rezultat în EtOAc, și se adaugă puțin Et₂O până când se formează un solid. Se filtrează și se colectează solidul rezultat pentru a da compusul din titlu (15,3 g) ca solid alb. Se concentrează filtratul galben și se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc in hexani 10-60%, pentru a da suplimentar compusul din titlu (8 g). Se combină filtratul și materialul cromatografiat pentru utilizare in continuare (23,3 g, randament 86%). ES/MS (m/z): 351 (M+H).

Preparare 65

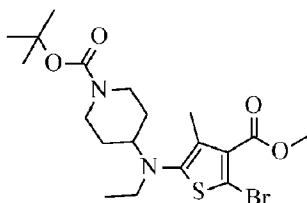
45 **4-{Etil[4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il]amino}piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil**



Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă 5-amino-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (puritate 50%, 34 g, 99 mmol), *terț*-butil-4-oxopiperidin-1-carboxilat (25,7 g, 129 mmol) în DCE (408 mL) și AcOH (17 mL, 297 mmol), se agită la RT timp de 10 min, apoi se răcește la 0 °C și se adaugă în portii, încet, triacetoxiborohidruă de sodiu (54,2 g, 248 mmol). Amestecul de reacție se încălzește treptat la RT și se agită timp de 2 ore. Se adaugă în picătură acetaldehidă (11,1 mL, 199 mmol), apoi se agită timp de 72 ore. Se răcește amestecul de reacție la 0 °C, se stinge cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃, și se diluează cu DCM. Se separă straturile, se extrage stratul apos cu DCM, se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-10% în hexani, pentru a da compusul din titlu (6,4 g, randament 17%) ca un solid oranj, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 383 (M+H).

Preparare 66

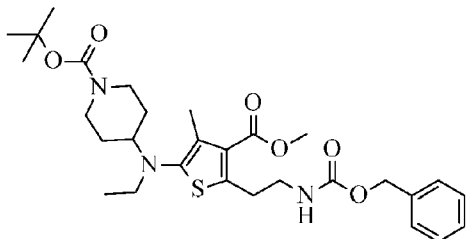
4-{{5-Bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il}(etil)amino}piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil



Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă 4-{etil[4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il]amino}piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil (6,4 g, 17 mmol) în DCM (84 mL), se răcește la 0 °C, se adaugă în portii NBS (3,3 g, 18 mmol), și se agită timp de 1 oră. Se diluează amestecul de reacție cu apă, se separă straturile, se extrage stratul apos cu DCM suplimentar, se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc în hexani 0-20%, pentru a da compusul din titlu (6,7 g, randament 87%) ca ulei portocaliu, după îndepărtarea solventului. ES/MS (m/z): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 405/407 (M+H - t-butil).

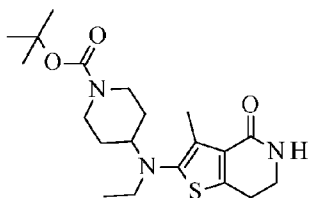
Preparare 67

4-{{5-(2-{{(Benziloxi)carbonil}amino}etil)-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il}(etil)amino}piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil

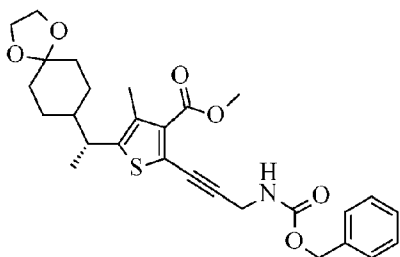


În două șarje separate, se adaugă 4-{{5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il}(etil)amino}piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,900 g, 1,95 mmol), benzil N-[2-(trifluoroboranuidyl)etil]carbamate de potasiu (0,695 g, 2,34 mmol), metansulfonat de (2-diciclohexil-fosfino-2',6'-diizopropoxi-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladiu(II) (0,167 g, 0,195 mmol), Cs₂CO₃ (1,91 g, 5,85 mmol), toluen (9,75 mL) și apă (3,55 mL) într-un balon cu fund rotund. Se degazează fiecare amestec cu N₂ timp de 15 min, apoi se încălzește la 90 °C peste noapte. Se răcește fiecare amestec de reacție la RT și se combină. Se stinge cu gheață-apă, se diluează cu EtOAc, se separă straturile, se extrage stratul apos cu EtOAc suplimentar, se combină fazele organice, și se usucă pe Na₂SO₄. Se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-30% în hexani, pentru a da compusul din titlu (1,29 g, randament 59%) ca ulei galben, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 460 (M+H- BOC).

Preparare 68

4-[Etil(3-metil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il)amino]piperidin-1-carboxilat de *tert*-butil

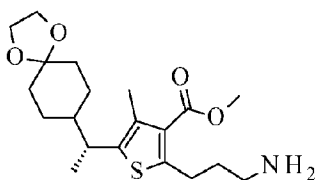
- 5 Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă 4-{ [5-(2-{[(benziloxi)carbonil]-amino}etil)-4-(metoxicarbonil)-3-metiltiofen-2-il](etil)amino}piperidin-1-carboxilat de *tert*-butil (1,29 g, 2,30 mmol) în MeOH (23 mL) și THF (15 mL), se degazează cu N₂ timp de □10 min, se adaugă Pd 10% pe carbon (1,29 g) și TEA (0,400 mL, 2,84 mmol), apoi se plasează sub o atmosferă de H₂ și se agită la RT timp de aproximativ 72 ore. Se filtrează amestecul de reacție prin pământ de diatomee, se spală cu MeOH, și se concentrează filtratul in vid. Se transferă reziduul într-un flacon cu microunde, se adaugă TEA (0,300 mL), și se încălzește la 90 °C timp de 2 ore. Se răcește peste noapte la RT cu agitare, apoi se concentrează amestecul de reacție in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de ACN 0-30% in DCM, pentru a da compusul din titlu (0,466 g, randament 51%) ca spumă galbenă, după evaporarea solventului.
- 10
- 15 ES/MS (m/z): 394 (M+H).

Preparare 69**2-(3-{[(Benziloxi)carbonil]-amino}prop-1-in-1-il)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil**

- 20 La un amestec de 2-bromo-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil brut (10,1 g, 25,0 mmol), CuI (1,91 g, 10,0 mmol), și prop-2-in-1-ilcarbamate de benzil (11,4 g, 60,3 mmol) in 1,4-dioxan (130 mL) se adaugă TEA (52 mL, 369 mmol). Se degazează și se purjează amestecul cu N₂, apoi se adaugă diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (3,6 g, 5,1 mmol). Se agită la 40 °C timp de 1 oră. Se filtrează amestecul pe pământ de diatomee și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-20% in hexani, pentru a da compusul din titlu (10,8 g, randament 80%) ca ulei maro deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 512 (M+H).
- 25

Preparare 70

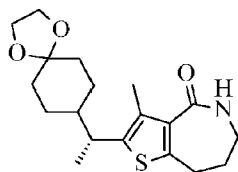
- 30 **2-(3-Aminopropil)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**



- 35 Se adaugă TEA (0,500 mL, 3,55 mmol) la un amestec de 2-(3-{[(benziloxi)-carbonil]-amino}prop-1-in-1-il)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil (10 g, 19,55 mmol) în MeOH (150 mL). Se degazează și se purjează amestecul cu N₂, se adaugă Pd(OH)₂ 20% pe carbon (4,10 g, 5,84 mmol), se încarcă vasul de reacție cu H₂ (414 kPa) și se agită peste noapte. Se adaugă o porție suplimentară de Pd(OH)₂ 20% pe carbon (500 mg, 0,712 mmol) și TEA (0,500 mL, 3,55 mmol), se degazează cu N₂ din nou și se încarcă vasul de reacție cu H₂ (414 kPa). Se agită timp de încă 6 ore, se filtrează masa de reacție pe pământ de diatomee, și se concentrează filtratul in vid până la ulei galben. Uleiul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH 0-30% in DCM, pentru a da compusul din titlu (6,6 g, randament 89%) ca ulei galben, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 382 (M+H).
- 40

Preparare 71

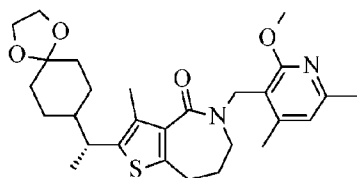
2-[(1R)-1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă



5 Intr-un flacon la microunde, se adaugă o soluție de 2-(3-aminopropil)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (1,5 g, 3,9 mmol) în toluen (8 mL), apoi se adaugă KOtBu (940 mg, 7,87 mmol). Se agită amestecul la 90 °C peste noapte. Se toarnă masa de reacție în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează stratul organic in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH 0-5% în DCM, pentru a da compusul din titlu (1,3 g, randament 85%) ca solid maro deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 350 (M+H).

Preparare 72

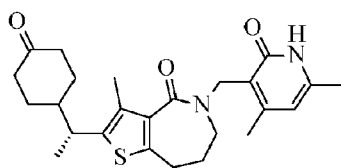
15 **2-[(1R)-1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



20 La o soluție de 2-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (1,1 g, 3,1 mmol) în THF (10 mL) se adaugă KOH măcinat (700 mg, 12,4 mmol). Se agită timp de 30 min, apoi se adaugă 3-(clorometil)-2-metoxi-4,6-dimetil-piridină (700 mg, 3,77 mmol) dizolvată în THF (1 mL), și se agită amestecul rezultat timp de 2 ore. Amestecul de reacție se toarnă în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează stratul organic in vid. Se usucă reziduul rezultat sub vid pentru a da compusul din titlu brut (2,2 g, randament 87%) ca ulei maro, adecvat pentru
25 utilizare în continuare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 499 (M+H).

Preparare 73

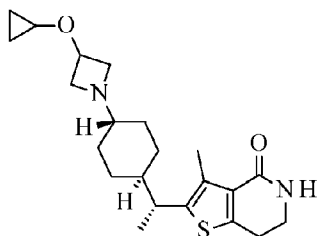
30 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



35 Se adaugă PTSA (1,3 g, 7,2 mmol) la 2-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă brută (1,0 g, 1,2 mmol) în DMF (10 mL), și se agită amestecul rezultat la 70 °C timp de 2 ore. Amestecul se toarnă în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează stratul organic in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH 0-5% în DCM, pentru a da compusul din titlu (680 mg, randament cantitativ) ca ulei maro deschis după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 441 (M+H).

Preparare 74

40 **2-[(1R)-1-{Trans-4-[3-(ciclopropoxi)azetidina-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



Se adaugă izopropoxid de titan(IV) (1,40 g, 4,9 mmol) și clorhidrat de 3-(ciclopropiloxi)azetidină (0,74 g, 4,9 mmol) la o soluție de 3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,72 g, 2,5 mmol) în DCM (10 mL) conținând DIPEA (0,87 mL, 4,9 mmol), se agită amestecul de reacție rezultat la RT timp de 18 ore, și se concentrează amestecul de reacție in vid. Se adaugă THF (4 mL) și MeOH (6 mL) la reziduul rămas și se răcește soluția rezultată la -78 °C. Se adaugă în picătură LiBH₄ 2M în THF (1,9 mL, 3,8 mmol) și se încălzește treptat la RT în timp de 3 ore. Se diluează amestecul de reacție cu un amestec 1:1 de DCM/CHCl₃ (100 mL) și soluție saturată de NaHCO₃ 50% (50 mL), se separă straturile rezultate, se usucă extractele organice combinate pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 10-50% dintr-un amestec de MeOH 10% în DCM și DCM pentru a da compusul din titlu (0,40 g, randament 42%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 389 (M+H).

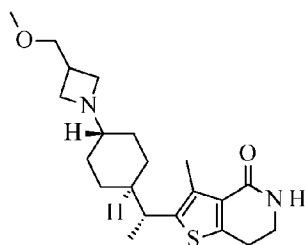
Următorii compuși se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 74 utilizând azetidină substituită corespunzător.

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
75	2-[(1R)-1-[Trans-4-(azetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă.		333
76	2-[(1R)-1-{Trans-4-[3-(ciclopropilmetoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		403
77	3-Metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(propan-2-iloxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		391
78	3-Metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		399

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
79	3-Metil-2-[(1R)-1-(trans-4-{3-[(3S)-tetrahidrofuran-3-iloxi]azetidin-1-il}ciclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		419
80	3-Metil-2-[(1R)-1-(trans-4-{3-[(3R)-tetrahidrofuran-3-iloxi]azetidin-1-il}ciclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		419

Preparare 81

5 **2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(Metoximetil)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



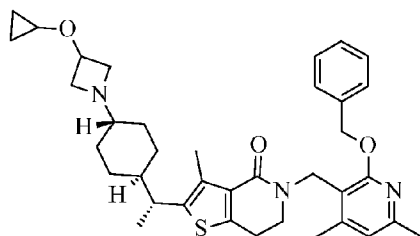
10 Se agită un amestec de clorhidrat de 3-(metoximetil)azetidină (368 mg, 2,67 mmol) și DIPEA (400 mg, 3,06 mmol) în MeOH (5 mL) sub N₂ la RT timp de 10 min, se adaugă 3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (400 mg, 1,37 mmol), și se agită amestecul timp de 4 ore. Se răcește la -78 °C, se adaugă încet LiBH₄ 2M în THF (0,90 mL, 1,8 mmol), și se încălzește treptat până la RT peste noapte. Se concentrează amestecul in vid, se diluează reziduul rezultat cu soluție apoasă saturată NaHCO₃, se extrage cu DCM, și straturile rezultate se separă. Stratul organic se usucă pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în

15 vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-80% dintr-un amestec de (10% soluție NH₃ 2N în MeOH) în DCM și DCM. Se combină fracțiunile conținând produsul dorit și se concentrează în vid. Reziduul rezultat se supune la cromatografie cu fază inversă pe C-18-silice (40 g), eluand cu NH₄HCO₃ 10 mM, pH 10, în MeOH/apă 5% și ACN utilizand o etapă cu gradient de 100% NH₄HCO₃ 10 mM în MeOH/apă 5% timp de 5 min, apoi 25% ACN/NH₄HCO₃ 10 mM în MeOH/apă 5% timp de 5 min, apoi un gradient liniar de 25%-

20 90% ACN/NH₄HCO₃ 10 mM în MeOH/apă 5%. Se combină fracțiunile pure și se concentrează în vid pentru a da compusul din titlu (114 mg, randament 22%). ES/MS (m/z): 377 (M+H).

Preparare 82

25 **5-[[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(ciclopropiloxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



30 Se adaugă încet KHMDS 0,7M în toluen (1,2 mL, 0,84 mmol) la o soluție de 2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(ciclopropoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (230 mg, 0,59 mmol) în THF (10 mL) la RT în 30 min, și se agită suplimentar 30 min. Se adaugă în picătură o soluție 2-benziloxi-3-(clorometil)-4,6-dimetil-piridină (200 mg, 0,76

- mmol) în THF (5 mL) și se agită la RT timp de 18 ore. Se încălzește amestecul de reacție la 55 °C, se agită timp de 1 oră, se răcește la RT, se toarnă într-o soluție apoasă de NaHCO₃ răcită cu gheață, și se extrage cu EtOAc. Se separă straturile, se spală extractul organic cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient EtOAc în hexani 10-50%, pentru a da compusul din titlu (210 mg, randament 57%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 614 (M+H).

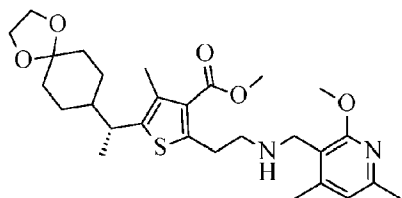
Următorii compuși se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 82 și 6,7-dihidro-5H-tieno[3,2-c]piridin-4-onă substituită adecvat.

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
83	2-{(1R)-1-[<i>trans</i> -4-(Azetidin-1-il)ciclohexil]etil}-5-{[2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		558
84	5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(metoximetil)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		602
85	5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(ciclopropilmetoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		628
86	5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-3-metil-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(propan-2-iloxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		616
87	5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-3-metil-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		624
88	5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-3-metil-2-[(1R)-1-(<i>trans</i> -4-{3-[(3S)-tetrahidrofuran-3-iloxi]azetidin-1-il}ciclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		644
89	5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-3-metil-2-[(1R)-1-(<i>trans</i> -4-{3-[(3R)-tetrahidrofuran-3-iloxi]azetidin-1-il}ciclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		644

10

Preparare 90

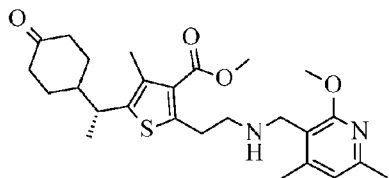
5-[(1R)-1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-2-(2-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]amino)etil)-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se dizolvă 2-(2-{{(benziloxi)carbonil}amino}etil)-5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro-[4.5]dec-8-il)etil]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (77 g, 153,5 mmol) și 2-metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbaldehidă (23,3 g, 140 mmol) în EtOH (500 mL) într-un reactor Parr și se adaugă Pd(OH)₂ pe carbon, bază uscată 20%, umezită cu apă (11,5 g). Se umple vasul cu H₂ (100 psi) și se agită timp de 3,5 ore la 50 °C. După răcire la RT, se filtrează amestecul prin pământ de diatomee și se spală cu EtOH. Se concentrează filtratul in vid, la reziduu se adaugă toluen (800 mL), și se continuă distilarea parțială a volatilelor până la o greutate finală de aproximativ 400 g, pentru a obține compusul din titlu ca soluție în toluen, adecvată pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. ES/MS a unui probe evaporate (m/z): 517 (M+H).

Preparare 91

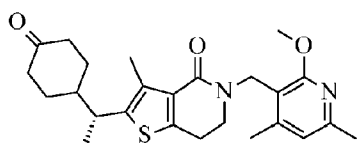
2-(2-{{(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil}amino}etil)-4-metil-5-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]tiofen-3-carboxilat de metil



La soluția în toluen (aproximativ 76 g) de 5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il)etil]-2-(2-{{(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil}amino}etil)-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil brut de la Prepararea 90, se adaugă HCl apos 1M (800 mL) și se agită la RT timp de 1 oră. Se separă straturile, se spală stratul organic secvențial cu HCl apos 2M (2 x 50 mL), și se spală straturile apoase acide combinate cu toluen (100 mL). Se adaugă toluen (0,4 L) la stratul apos și se adaugă K₂CO₃ apos 6M până la pH 9, se agită timp de 5 min, se separă fazele, se spală stratul organic cu NaCl apoasă saturată, apoi se trece printr-un dop scurt de Na₂SO₄. În continuare se clătește dopul de Na₂SO₄ cu toluen pentru a obține o soluție în toluen a compusului din titlu brut (volum aproximativ 1 L), adecvată pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. ES/MS a unui evaporate mostră (m/z): 473 (M+H).

Preparare 92

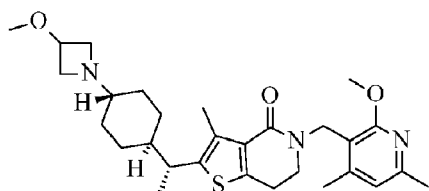
5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Se adaugă AcOH (9 mL, 157,1 mmol) la soluția de 2-(2-{{(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil}amino}etil)-4-metil-5-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]tiofen-3-carboxilat de metil brut (1 L, aproximativ 79 g, de la Prepararea 91) și se agită la 90 °C timp de 2 ore. Se spală amestecul de două ori cu HCl apos 2M (total 0,15 L), și secvențial o dată cu fiecare dintre apă, K₃PO₄ apos 1M, și soluție apoasă saturată de NaCl (fiecare 0,1 L). Stratul organic se usucă pe MgSO₄, se filtrează, și se evaporă filtratul in vid pentru a da compusul din titlu ca ulei vascos portocaliu (40,98 g, randament 48,5%). ES/MS (m/z): 441 (M+H).

Preparare 93

5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



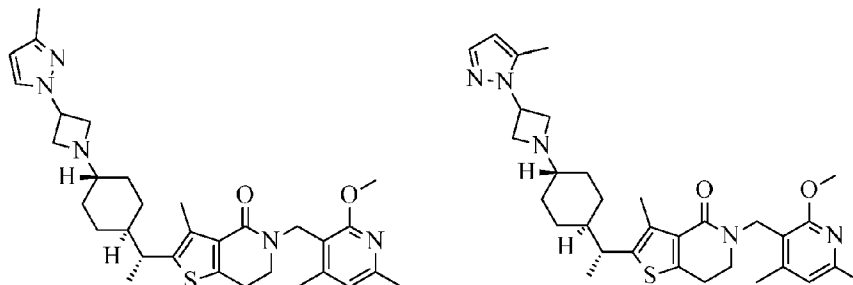
Se adaugă DIPEA (29 mL, 21,5 g, 166 mmol) la o soluție de clorhidrat de 3-metoxiazetidină (18,7 g, 151 mmol) în MeOH (280 mL) și se agită la RT timp de 30 minute. Se adaugă acest amestec la 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (27,55 g, 56,28 mmol), se agită la RT timp de 1,5 ore sub N₂ și apoi se adaugă THF (50 mL). Se răcește masa de reacție la -70 °C și se adaugă LiBH₄ 2M în THF (40 mL, 80 mmol) în 30 minute. Se agită masa de reacție la aceeași temperatură timp de 2 ore. Se stinge reacția prin turnarea lentă a masei de reacție în soluție apoasă de HCl 1M (aproximativ 1 L) în timp de 10 minute. Se spală cu MTBE (2 × 0,25 L), apoi tratează faza apoasă cu K₃PO₄ apos 2M la pH 9 și se extrage cu EtOAc (aproximativ 0,5 L). Se spală faza organică secvențial cu K₂CO₃ apos 3M și soluție apoasă saturată de NaCl (fiecare cca 100 mL), se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 10-25% de soluție de NH₃ 7N/MeOH 20% in EtOAc pentru a da compusul din titlu ca solid alb (19,5 g, randament 68%). ES/MS (m/z): 512 (M+H).

Preparare 94

5-[2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{*trans*-4-[3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă și

5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{*trans*-4-[3-(5-metilpirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă (amestec de regioizomeri)

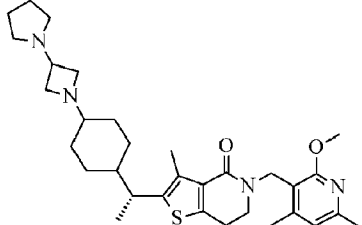
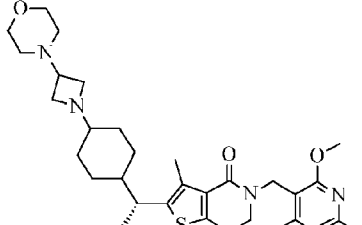
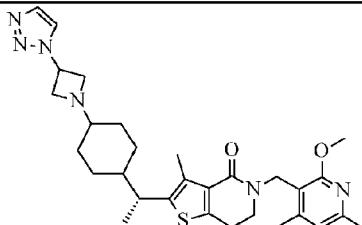
20



Se agită o soluție dintr-un amestec de 1-(azetidin-3-il)-3-metil-1H-pirazol și 1-(azetidin-3-il)-5-metil-pirazol (0,53 g, 3,59 mmol, amestec de regioizomeri), DIPEA (1,37 mL, 7,79 mmol) și HCl 4N in dioxan (1,8 mL, 7,190 mmol) in MeOH (5 mL) timp de 30 min la RT. Aceasta se adaugă la o soluție de 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (600 mg, 1,2 mmol) în MeOH (19 mL) și se agită 2 ore la RT. Se răcește amestecul la -78 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M in THF (0,78 mL, 1,56 mmol); se încălzește treptat la RT și se agită amestecul de reacție peste noapte. Se concentrează amestecul de reacție in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe cartuş SCX (25 g), eluând cu MeOH (2 x 100 mL) urmată de o soluție de NH₃ 2N in MeOH. Se concentrează fracțiunea MeOH în NH₃ in vid pentru a da compusul din titlu ca un amestec de regioizomeri, ca ulei galben pal (0,51 g, randament 65%). ES/MS (m/z): 562 (M+H).

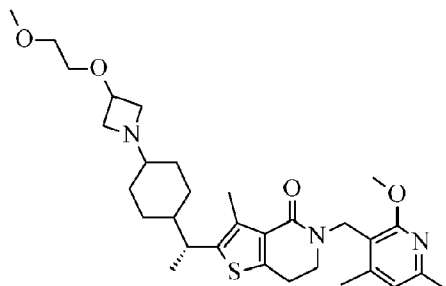
Următorii compuși se prepară în esență prin metoda de la Prepararea 94 utilizând 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)-etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă și azetidina substituită adecvat.

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
95	5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{4-[3-(4-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		562

Nr. Prep.	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
96	5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{4-[3-(pirolidin-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		551
97	5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{4-[3-(morfolin-4-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		567
98	5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{4-[3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		549

Preparare 99

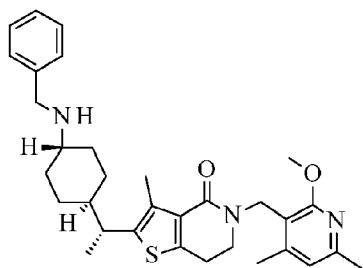
- 5-[(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-{4-[3-(2-metoxietoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (amestec de diastereomeri)



- Se adaugă DIPEA (0,45 mL, 2,49 mmol) la o soluție de clorhidrat de 3-(2-metoxietoxi)azetidină (0,42 g, 2,38 mmol) în MeOH (5,6 mL) și se agită la RT timp de 30 min. Se adaugă 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,62 g, 1,12 mmol) și se agită la RT peste noapte. Se răcește amestecul la -78 °C, se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,74 mL, 1,47 mmol), se încălzește la RT, și se agită peste noapte. Se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO₃, se extrage cu EtOAc, și se separă straturile. Se usucă faza organică pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid pentru a da compusul din titlu ca ulei (0,5 g, randament 98%). ES/MS (m/z): 556 (M+H).

Preparare 100

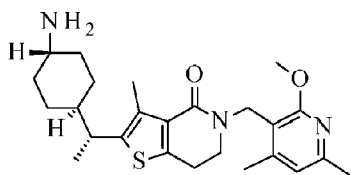
2-[(1R)-1-[Trans-4-(benzilamino)ciclohexil]etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



- Se agită o soluție de benzil amină (0,257 g, 2,397 mmol), DIPEA (0,95 mL, 5,39 mmol) și HCl 4N în dioxan (600 μ L, 2,397 mmol) în MeOH (5 mL) timp de 30 min la RT. Se adaugă acest amestec la o soluție de 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,6 g, 1,2 mmol) în MeOH (19 mL) și se agită amestecul rezultat timp de 18 ore la RT. Se răcește amestecul la -70 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,78 mL, 1,558 mmol). Se lasă să se încălzească treptat până la temperatura camerei. Se adaugă o soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu EtOAc (100 mL), se separă straturile, se spală extractul organic cu soluție apoasă saturată de NaCl, și se usucă extractul organic pe Na₂SO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul in vid pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (0,75 g, randament 99%) adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 532 (M+H).

Preparare 101

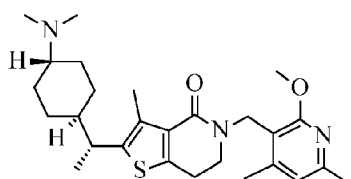
- 2-[(1R)-1-(*trans*-4-Aminociclohexil)etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



- Se agită o soluție de 2-[(1R)-1-[*trans*-4-(benzilamino)ciclohexil]etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (750 mg, 1,19 mmol) în MeOH (20 mL). Se adaugă Pd-C 10% (500 mg, 0,474 mmol) și se agită sub H₂ la 30 psi la RT peste noapte. Se filtrează prin pământ de diatomee și se spală cu MeOH. Se evaporă filtratul pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (0,5 g, randament 80%), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 442 (M+H).

Preparare 102

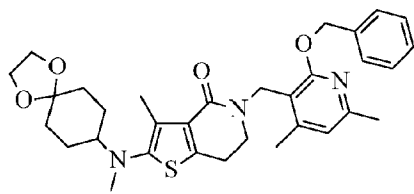
- 2-[(1R)-1-(*trans*-4-(Dimetilamino)ciclohexil)etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



- Se agită o soluție de 2-[(1R)-1-(*trans*-4-aminociclohexil)etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,5 g, 0,95 mmol) în MeOH (10 mL). Se adaugă AcOH (172 mg, 2,85 mmol), formaldehidă apoasă 37% (232 mg, 2,853 mmol). Se răcește soluția cu o baie cu gheață și se adaugă triacetoxiborohidru (605 mg, 2,853 mmol). Se lasă să se încălzească treptat la RT și se agită peste noapte. Se adaugă soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, și se extrage cu DCM (2 x 100 mL). Se separă straturile, se combină fazele organice, și se spală extractele organice combinate cu soluție apoasă saturată de NaCl. Se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid pentru a da compusul din titlu ca ulei galben (390 mg, randament 70%), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 470 (M+H).

Preparare 103

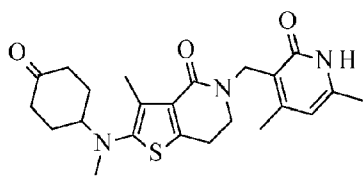
- 5-[(2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



La 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-yl(metil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,51 g, 1,53 mmol) în THF (5 mL) la 0 °C, se adaugă o soluție de KHMDS 1M în THF (2,14 mL, 2,14 mmol). Se încălzește la RT și după 15 min se adaugă 2-benziloxi-3-(clorometil)-4,6-dimetil-piridină (0,60 g, 2,29 mmol). Se agită la RT timp de aproximativ 17 ore, apoi se stinge cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl (1 mL). Se diluează amestecul cu EtOAc (40 mL) și apă (5 mL), se separă stratul organic, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (0,94 g, randament 92%) ca ulei galben, adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 562 (M+H).

Preparare 104

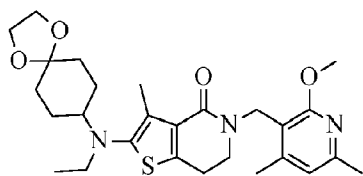
5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



La 5-{[2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-yl(metil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă brută (0,94 g, 1,4 mmol) în THF (14 mL), se adaugă HCl apos 1M (14 mL, 14 mmol), se încălzește amestecul la 50 °C timp de 8 ore și se agită la RT timp de 2 zile. Se adaugă NaHCO₃ solid (1,8 g, 21 mmol) și EtOAc (125 mL), se separă stratul organic, și se usucă pe Na₂SO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-10% NH₃ metanolic 7N în DCM, pentru a da compusul din titlu (0,408 g, randament 62%) ca spumă galbenă, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 428 (M+H).

Preparare 105

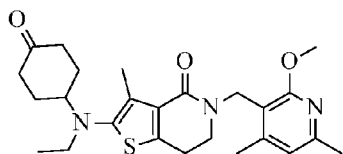
2-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-yl(etil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



În două șarje separate, se adaugă încet o soluție 0,91M de potasiu bis(trimetilsilil)amidă în THF (22 mL, 20 mmol) la o soluție de 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-yl(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (6 g, 17,12 mmol) în THF (70 mL) la RT în 30 min. Se agită amestecurile rezultate timp de încă 30 min la RT, apoi se adaugă în picătură 3-(clorometil)-2-metoxi-4,6-dimetil-piridină (3,4 g, 18 mmol) în THF (10 mL). Se agită amestecurile rezultate la RT peste noapte. Se combină ambele amestecuri, se toarnă într-o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, și se extrage cu EtOAc. Se separă fazele, se usucă extractul organic pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (total 18,55 g, randament cantitativ) ca rășină galbenă, adecvată pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 500 (M+H).

Preparare 106

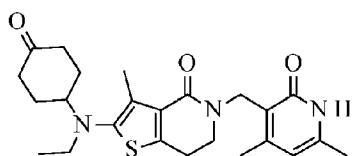
2-[Etil(4-oxociclohexil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Se adaugă HCl apos 6M (20 mL, 120 mmol) la soluție de 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă brută (18,05 g, 36,12 mmol) în THF (20 mL). Se încălzește amestecul rezultat la 50 °C timp de 2 ore, și se agită la RT peste noapte. Amestecul de reacție se toarnă în NaHCO₃ apos saturat răcit cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează stratul organic în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 10-50% în hexani pentru a da compusul din titlu (4,01 g, randament 24%) ca ulei galben deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 456 (M+H).

Preparare 107

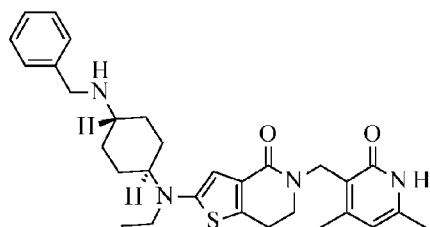
- 10 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



- 15 Intr-o eprubetă etanșată, se adaugă o soluție de 2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (6,3 g, 14 mmol) în DMF (50 mL), se răcește eprubeta la 0 °C, și se adaugă LiCl (3 g, 70 mmol) urmată de PTSA (13 g, 72 mmol). Se încălzește amestecul rezultat la 70 °C timp de 2 ore. Se răcește la RT, și se toarnă încet în NaHCO₃ apos saturat răcit cu gheață (400 mL). Se filtrează solidul precipitat și se spală cu apă. Se transferă solidul într-un balon cu fund rotund, se diluează cu MeOH, și se concentrează în vid. Se azeotropizează solidul din nou cu MeOH și THF în vid, apoi se usucă reziduul într-un cuptor cu vid peste noapte pentru a da compusul din titlu (6,1 g, randament 100%) ca solid maro. ES/MS (m/z): 442 (M+H).

Preparare 108

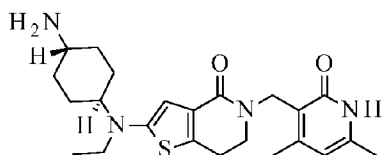
- 25 **2-[(trans-4-(Benzilamino)ciclohexil)(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



- 30 Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă fenilmetanamină (0,445 mL, 4,076 mmol), 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,600 g, 1,359 mmol) la THF (25 mL) și MeOH (5 mL), și se agită la RT peste noapte. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C și se adaugă în picătură LiBH₄ 2M în THF (1,698 mL, 3,397 mmol). Se plasează masa de reacție într-o baie cu gheață și se lasă să se încălzească la RT cu agitare, timp de 3 ore. Se stinge amestecul de reacție cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și se diluează cu DCM. Se separă stratul organic și se extrage suplimentar stratul apos cu DCM. Se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH în DCM 0-10%, și se concentrează în vid amestecul rezultat de izomeri *trans* și *cis*. Se supune amestecul rezultat la cromatografie cu fază inversă, eluând cu un gradient de 10-75% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM/apă, pentru a da compusul din titlu (0,132 g, randament 18%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 533 (M+H).

Preparare 109

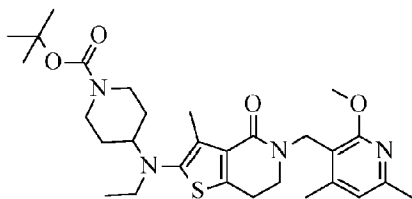
- 45 **2-[(trans-4-Aminociclohexil)(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă 2-[[*trans*-4-(benzilamino)ciclohexil]-(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,095 g, 0,178 mmol), Pd 10% pe carbon (0,095 g) și NH₄HCO₂ (0,057 g, 0,892 mmol) în EtOH 90% umed (0,89 mL). Se degazează cu N₂ timp de 10 min, se etanșează vasul de reacție, și se încălzește la 90 °C peste noapte. Se răcește amestecul de reacție la RT, se filtrează prin pământ de diatomee, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 7-100% soluție de DCM:MeOH:NH₄OH 87,5:11:1,5/DCM pentru a da compusul din titlu (0,045 g, randament 57%) ca pulbere albă, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 443 (M+H).

Preparare 110

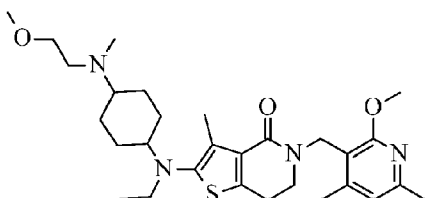
4-(Etil{5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il}amino)piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil



Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă 4-[etil(3-metil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il)amino]piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,770 g, 1,957 mmol) și 3-(clorometil)-2-metoxi-4,6-dimetil-piridină (0,436 g, 2,348 mmol) în THF (20 mL) conținând o soluție de KHMDS în THF (0,91M, 2,6 mL, 2,348 mmol). Se agită amestecul de reacție la RT timp de 4 ore, se stinge cu NaHCO₃ apos saturat răcit cu gheață, se diluează cu EtOAc, se separă straturile, și se extrage stratul apos cu EtOAc suplimentar. Se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (1,17 g, randament 99%) ca ulei galben, suficient pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 543 (M+H).

Preparare 111

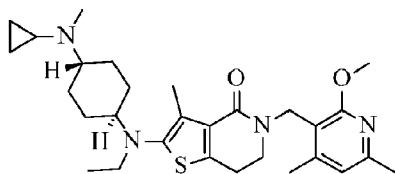
2-(Etil{4-[(2-metoxietil)(metil)amino]ciclohexil}amino)-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (amestec de diastereomeri *cis* și *trans*)



Se adaugă 2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,57 g, 1,25 mmol) la o soluție de 2-metoxietanamină (0,19 g, 2,64 mmol) în MeOH (10 mL) și se agită amestecul timp de 4 ore. Se răcește la -78 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,82 mL, 1,63 mmol). Se crește încet temperatura la RT și se agită 1 oră. Se concentrează amestecul in vid, se adaugă NaHCO₃ apos saturat, se extrage cu EtOAc, se separă straturile rezultate, se usucă stratul organic pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se dizolvă reziduul rezultat în DCM (6,2 mL) și se adaugă formaldehidă 37% în H₂O (0,27 mL, 3,7 mmol), se agită amestecul rezultat la RT timp de 15 min, apoi se adaugă triacetoxiborohidru de sodiu (1,06 g, 5,03 mmol) și se agită amestecul rezultat la RT peste noapte. Se încarcă conținutul amestecului de reacție pe un cartuș SCX, eluând la început cu MeOH apoi cu NH₃ 2M în MeOH, și se concentrează în vid fracțiunile metanolice cu amoniac, pentru a da compusul din titlu ca ulei (0,57 g, randament 86%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 529 (M+H).

Preparare 112

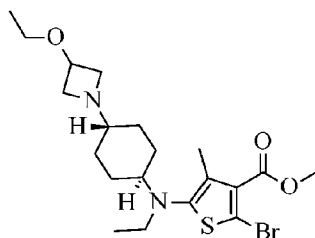
2-[[4-*trans*-[Ciclopropil(metil)amino]ciclohexil](etil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Se adaugă 2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,57 g, 1,26 mmol) la o soluție de ciclopropanamină (0,15 g, 2,641 mmol) în MeOH (10 mL) și se agită amestecul timp de 4 ore. Se răcește la -78 °C, și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,82 mL, 1,64 mmol). Se încălzește încet amestecul de reacție la RT și se agită 1 oră. Se îndepărtează solventul in vid, se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO₃, se extrage cu EtOAc, straturile rezultate se separă, și se usucă faza organică pe Na₂SO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul in vid. Se dizolvă reziduul rezultat în DCM (6,2 mL), se adaugă soluție de formaldehidă 37% în H₂O (0,27 mL, 3,77 mmol), și se agită 15 min. Apoi, se adaugă triacetoxiborohidru de sodiu (0,8 g, 5,03 mmol) și se agită la RT peste noapte. Se încarcă amestecul de reacție direct pe un cartuş SCX, eluând la început cu MeOH apoi cu NH₃ 2M în MeOH. Se concentrează fracțiunea de amoniac metanolic in vid pentru a da după evaporarea solventului, un ulei (0,56 g, randament 87%), adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 511 (M+H).

15 Preparare 113

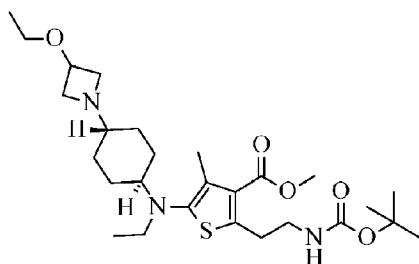
2-Bromo-5-[[trans-4-(3-etoxiazetidin-1-il)ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



La o probă de 2-bromo-5-[etil(4-oxociclohexil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil brut (2,17 g, 5,80 mmol) în DCM (20 mL), se adaugă izopropoxid de titan(IV) (6,79 g, 23,2 mmol) și clorhidrat de 3-etoxiazetidină (1,60 g, 11,6 mmol). Masa de reacție se agită la RT timp de aproximativ 18 ore. Se adaugă THF (20 mL), apoi amestecul se concentrează în vid până la aproximativ 20 mL. Se răcește amestecul rezultat la -78 °C, apoi se adaugă MeOH (25 mL) urmat de adăugarea în picătură a LiBH₄ 2M în THF (4,34 mL, 8,70 mmol). Se agită amestecul rezultat timp de aproximativ 3 ore, apoi se îndepărtează baia de răcire și se lasă amestecul să se încălzească încet la RT. Se diluează amestecul de reacție cu EtOAc (200 mL) și soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (50 mL), se filtrează solidele, se concentrează filtratul in vid, se diluează reziduul cu EtOAc (50 mL), și se filtrează din nou solidele. Se concentrează stratul organic in vid pentru a da compusul din titlu (2,25 g, randament 78 %) ca rășină galbenă, adecvată pentru utilizare fără separarea izomerilor sau cromatografie suplimentară. ES/MS (m/z): (⁷⁹Br/⁸¹Br) 459/461 (M+H).

30 Preparare 114

2-{2-[(terț-Butoxicarbonil)amino]etil}-5-[[trans-4-(3-etoxiazetidin-1-il)ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil

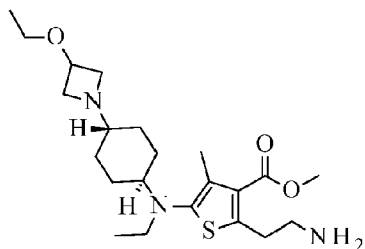


Se adaugă N-[2-(trifluoroboranuidil)etil]carbamate de terț-butil potasiu (0,47 g, 1,8 mmol) și carbonat de cesiu (0,89 g, 2,7 mmol, 0,89 g) în apă (0,6 mL) la 2-bromo-5-[[trans-4-(3-etoxiazetidin-1-il)ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil brut (0,68 g, 1,4 mmol) în toluen (6 mL), apoi se adaugă acetat de paladiu(II) (0,031 g, 0,14 mmol) și 2-diciclohexilfosfino-2',6'-diizopropoxi-1,1'-bifenil (0,13 g, 0,27 mmol). Se degazează amestecul rezultat prin suflare de N₂. Se încălzește amestecul rezultat la 100 °C timp de aproximativ 2 ore, se

diluează amestecul cu EtOAc (60 mL), și se separă straturile. Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și filtratul se concentrează în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de NH₃ 7N în MeOH/DCM 0-10%, pentru a da compusul din titlu (0,401 g, randament 44%) ca rășină galbenă, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 524 (M+H).

Preparare 115

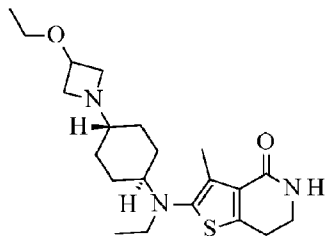
2-(2-Aminoetil)-5-[[trans-4-(3-etoxiazetidină-1-il)ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil



Se adaugă HCl 4M în dioxan (5 mL, 20 mmol la 2-{2-[(terț-butoxicarbonil)-amino]etil}-5-[[trans-4-(3-etoxiazetidină-1-il)ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (0,401 g, 0,605 mmol) în DCM (5 mL) la RT. Masa de reacție se agită timp de aproximativ 2 ore la RT și amestecul se concentrează în vid. Se adaugă MeOH (5 mL), și amestecul se concentrează în vid din nou. Se diluează reziduul rezultat cu DCM (25 mL), se spală cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (3 mL), se separă straturile, și stratul organic se usucă pe Na₂SO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu brut (0,380 g, randament 95%) ca rășină galbenă, adecvată pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 424 (M+H).

Preparare 116

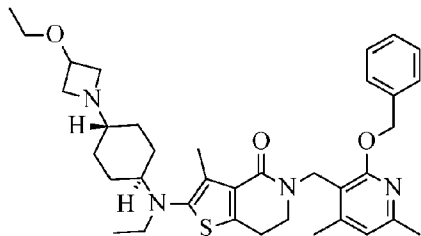
2-[[trans-4-(3-Etoxiazetidină-1-il)ciclohexil](etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Se încălzește 2-(2-aminoetil)-5-[[trans-4-(3-etoxiazetidină-1-il)ciclohexil](etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (0,380 g, 0,574 mmol) în MeOH (4 mL) la reflux timp de 3 ore, se concentrează amestecul de reacție în vid, și se supune reziduul la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (WATERS™ XBRIDGE® OBD, 30 x 75 mm, 5 μm), eluând cu un gradient de 20-90% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM conținând 5%, MeOH pentru a da compusul din titlu (0,113 g, randament 50%) ca rășină albicioasă, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 392 (M+H).

Preparare 117

5-[[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil]-2-[[trans-4-(3-etoxiazetidină-1-il)ciclohexil](etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă

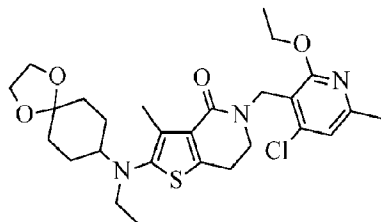


Se răcește 2-[[trans-4-(3-etoxiazetidină-1-il)ciclohexil](etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,113 g, 0,289 mmol) în THF (2 mL) într-o baie de gheață, se adaugă KHMDS 1M în THF (0,404 mL, 0,404 mmol), se îndepărtează baia de gheață, se încălzește la RT, și se agită amestecul timp de 30 min. Se adaugă în picătură 2-benziloxi-3-(clorometil)-4,6-dimetil-piridină (0,113 g, 0,433 mmol) în THF (2 mL). Se agită amestecul de reacție la RT timp de 22 ore. Se stinge amestecul de reacție cu NH₄Cl apoasă saturată (2 mL), se

extrage cu EtOAc (40 mL), se separă stratul organic, se usucă pe Na_2SO_4 , se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silicagel, eluand cu un gradient de 0-10% NH_3 7N/MeOH în DCM, pentru a da compusul din titlu (0,084 g, randament 45%) ca rășină galbenă. ES/MS (m/z): 617 (M+H).

5 Preparare 118

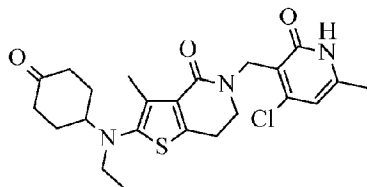
5-[(4-Cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-il)metil]-2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



10 Se adaugă într-o porție KOH pulverizat (0,427 g, 7,53 mmol) la o soluție de 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,660 g, 1,88 mmol) în THF (10 mL). Se agită amestecul rezultat timp de 30 min, se adaugă 4-cloro-3-(clorometil)-2-etoxi-6-metilpiridină (0,500 g, 2,27 mmol) în THF (1 mL), și se agită amestecul rezultat la RT peste noapte. Se stinge amestecul cu NaHCO_3 apos saturat, se extrage cu DCM, se
15 separă straturile, se usucă faza organică pe Na_2SO_4 anhidru, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-100% în hexani, pentru a da compusul din titlu (0,988 g, randament 98%), ca ulei galben pal, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 534/536 (M+H).

Preparare 119

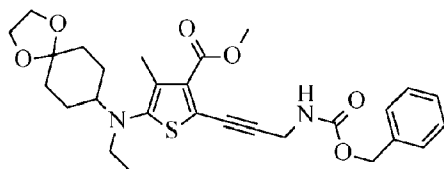
20 **5-[(4-Cloro-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



25 Se adaugă LiCl (0,395 g, 9,22 mmol) și PTSA (1,67 g, 9,21 mmol) la o soluție de 5-[(4-cloro-2-etoxi-6-metilpiridin-3-il)metil]-2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,985 g, 1,84 mmol) în DMF (20 mL) și se încălzește amestecul rezultat la 70 °C timp de 1 oră. Se crește temperatura la 90 °C, se agită timp de 5 ore, se răcește amestecul la RT, se adaugă apă, și se agită la RT peste noapte. Se stinge amestecul cu NaHCO_3 apos saturat, se extrage cu DCM, straturile rezultate se separă, și se spală faza organică
30 cu LiCl apoasă 5%. Se separă straturile, se usucă faza organică pe Na_2SO_4 anhidru, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-50% în hexani urmat de un gradient de MeOH 0-20% în DCM, pentru a da compusul din titlu (0,450 g, randament 26%), ca ulei portocaliu, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): ($^{15}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 462/464 (M+H).

35 Preparare 120

2-(3-[(Benziloxi)carbonil]amino)prop-1-in-1-il)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil

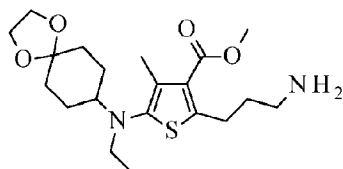


40 Se adaugă TEA (55,6 g, 550,0 mol) la un amestec de 2-bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (7,9 g, 19,0 mmol), CuI (1,5 g, 7,90 mmol), și N-prop-2-inilcarbamit de benzil (8,9 g, 47 mmol) în THF (200 mL). Se degazează amestecul cu un curent de N_2 și se adaugă diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu (II) (2,8 g, 3,9 mmol). Se agită amestecul la RT peste noapte. Se filtrează amestecul de reacție pe pământ de diatomee, și se
45 concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un

gradient de EtOAc 0-60% în hexani, pentru a da compusul din titlu (8,2 g, randament 82%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 513 (M+H).

Preparare 121

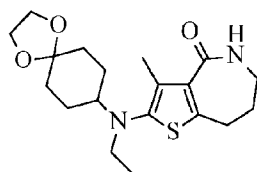
5 **2-(3-Aminopropil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**



Intr-un vas de presiune, se adaugă o soluție de 2-(3-[[benziloxi]carbonil]-amino}prop-1-in-1-il)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (7,6 g, 14 mmol) în MeOH (200 mL) conținând TEA (1,0 mL, 7,1 mmol) și Pd 10% pe carbon (3 g, 2,82 mmol). Se umple vasul de reacție cu H₂ (414 kPa) și se agită timp de 4 ore. Se filtrează amestecul de reacție pe pământ de diatomee, se concentrează filtratul în vid până la aproximativ 150 mL, se adaugă Pd(OH)₂ 20 % pe carbon (2,0 g), se degazează cu N₂ urmat de H₂, și se agită sub o atmosferă de H₂ peste noapte. Se filtrează amestecul de reacție printr-un strat de pământ de diatomee, se concentrează în vid până la aproximativ 100 mL, se adaugă Pd(OH)₂ 20% pe carbon (1,2 g) și se agită sub H₂ (414 kPa) peste noapte. Se filtrează masa de reacție pe pământ de diatomee și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (6,5 g, randament cantitativ) ca ulei maro, adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 397 (M+H).

20 Preparare 122

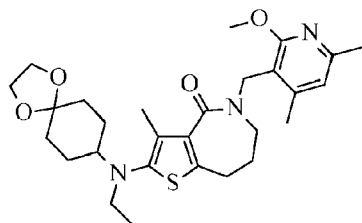
2-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă



25 Se adaugă KOtBu (3 g, 25 mmol) la o soluție de 2-(3-aminopropil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (7,6 g, 19 mmol) în THF (200 mL) și TEA (1,0 mL, 7,1 mmol). Se încălzește amestecul la 80 °C timp de 4 ore, se răcește la RT, și se adaugă apă (100 mL). Se concentrează întregul amestec în vid și se tratează reziduul rezultat cu o cantitate mică de MeOH până când apare un solid. Se filtrează solidul rezultat și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluând cu un gradient de 0-50% ACN conținând 0,1% acid formic și apă conținând 0,1% acid formic, pentru a da compusul din titlu (1,7 g, randament 24%) ca solid maro deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 365 (M+H).

Preparare 123

35 **2-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**

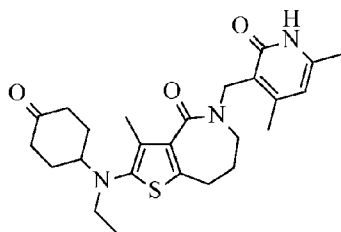


40 La o soluție de 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (1,7 g, 4,7 mmol) în dimetil sulfoxid (20 mL) și THF (20 mL), și se adaugă KOH pulverizat (1,1 g, 19 mmol). Se agită amestecul timp de 30 min, apoi se adaugă 3-(clorometil)-2-metoxi-4,6-dimetil-piridină (1,0 g, 5,4 mmol). Se agită amestecul rezultat timp de 1 oră, amestecul se toarnă în soluție apoasă de NaHCO₃ răcită cu gheață, și se extrage cu DCM. Straturile rezultate se separă și se concentrează faza organică în vid pentru a da compusul din titlu

(2,1 g, randament 61%) ca ulei maro, adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 514 (M+H).

Preparare 124

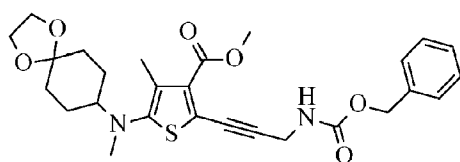
5 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



Se adaugă LiCl (0,830 g, 19,4 mmol) și PTSA (3,5 g, 19 mmol) la o soluție de 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(etil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (2,0 g, 2,7 mmol, -puritate 70%) în DMF (20 mL) și se încălzește amestecul rezultat la 70 °C timp de 1 oră. Se răcește amestecul de reacție la RT, se toarnă în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcit cu gheață, se extrage cu DCM (2 x 100 mL), și se separă straturile. Se concentrează straturile organice combinate in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH în DCM 0-10%, pentru a da compusul din titlu (1,8 g, puritate □85% prin LCMS analitică) ca ulei maro deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 456 (M+H).

Preparare 125

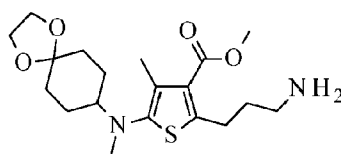
20 **2-(3-{[(Benziloxi)carbonil]amino}prop-1-in-1-il)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil**



Se adaugă TEA (35,4 g, 350,0 mmol) la o suspensie de 2-bromo-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (5,40 g, 13,0 mmol), CuI (0,987 g, 5,18 mmol) și N-prop-2-ilcarbamit de benzil (3,17 g 14,3 mmol, puritate 85%) în 1,4-dioxan (54 mL). Se degazează amestecul prin suflare N₂, se adaugă diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (1,84 g, 2,59 mmol), se agită amestecul la 40 °C timp de 1 oră, se adaugă suplimentar N-prop-2-ilcarbamit de benzil (3,17 g, 14,3 mmol, puritate 85%), și se încălzește la 40 °C timp de 1 oră. Se concentrează amestecul de reacție in vid, se adaugă DCM/hexani (aproximativ 1:1), se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul uleios maro rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MTBE 0-75% în hexani, se concentrează fracțiunile prin cromatografia in vid, se dizolvă reziduul rezultat în MeOH, și se concentrează din nou în vid pentru a da compusul din titlu (5,23 g, randament 75%) ca reziduu maro lipicios. ES/MS (m/z): 513 (M+H).

35 Preparare 126

2-(3-Aminopropil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil

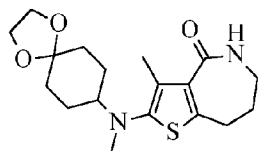


La 2-(3-{ [(benziloxi)carbonil] amino}prop-1-in-1-il)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (5,23 g, 9,18 mmol) în MeOH (45 mL) și EtOAc (15 mL) se adaugă TEA (6,40 mL, 45,9 mmol) și Pd 10% pe carbon (2,6 g, 2,4 mmol). Se evacuează vasul de reacție și se agită la RT sub H₂ (345 kPa) timp de 5 ore. Se adaugă Pd(OH)₂ 20% pe carbon (2,78 g, 3,96 mmol), se evacuează vasul de reacție, se încarcă cu H₂, și se agită timp de aproximativ 17 ore la RT. Se adaugă suplimentar Pd(OH)₂ 20% pe carbon (1,0 g, 1,4 mmol), se încarcă cu H₂, și se agită la RT timp de 4 ore. Se filtrează amestecul de reacție printr-un

strat de pământ de diatomee, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-12% NH₃ metanolic 7N în DCM. Se concentrează fracțiunile prin cromatografie sub presiune redusă, se dizolvă reziduul rezultat în MeOH, și se concentrează în vid din nou pentru a da compusul din titlu (2,60 g, randament 73%) ca ulei galben. ES/MS (m/z): 383 (M+H).

Preparare 127

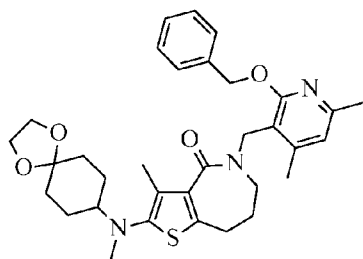
2-[1,4-Dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4h-tieno[3,2-c]azepin-4-onă



Se adaugă KOtBu (20% în greutate în THF, 5,46 g, 9,72 mmol) la un amestec de 2-(3-aminopropil)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (2,53 g, 6,48 mmol) în toluen (25 mL). Se agită la 120 °C timp de 1 oră, se răcește la RT, se adaugă anhidridă propilfosonică (50% în greutate în acetat de etil, 0,386 mL 0,648 mmol) și se agită timp de 30 min. Se stinge amestecul de reacție cu soluție saturată de NH₄Cl, se diluează cu EtOAc (aproximativ 50 mL), și se separă straturile. Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da compusul din titlu (2,21 g, randament 97%) ca ulei galben, adecvat pentru utilizare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 351 (M+H).

Preparare 128

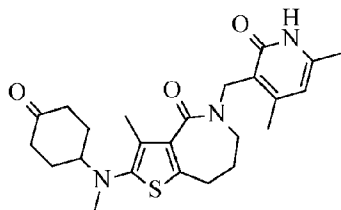
5-{[2-(Benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă



La o soluție de 2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4h-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (2,21 g, 6,31 mmol) în THF (10 mL) și dimetil sulfoxid (10 mL) se adaugă într-o porție KOH pulverizat (1,43 g, 25,2 mmol), se agită timp de 30 min, apoi se adaugă 2-benziloxi-3-(clorometil)-4,6-dimetil-piridină (1,98 g, 6,81 mmol, puritate 90%) dizolvat în THF (2 mL). Se agită amestecul rezultat la RT timp de 4 ore, apoi se toarnă în soluție apoasă de NaHCO₃ răcită cu gheață, și se extrage cu DCM. Se separă straturile și se concentrează stratul organic în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 0-50% în hexani, pentru a da compusul din titlu (3,2 g, randament 86%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 576 (M+H).

Preparare 129

5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă

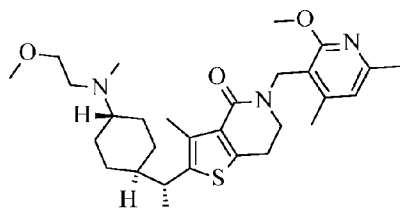


Se adaugă LiCl (1,4 g, 33 mmol) și PTSA (5,8 g, 32 mmol) la o soluție de 5-{[2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (3,2 g, 5,4 mmol) în DMF (30 mL). Se încălzește la 70 °C timp de 1 oră, se răcește la RT, se toarnă în soluție apoasă de NaHCO₃ răcită cu gheață, și se extrage cu DCM. Straturile rezultate se separă și se concentrează faza organică în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-5% NH₃ metanolic 7N în

DCM, pentru a da compusul din titlu (1,7 g, randament 60%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 442 (M+H).

Preparare 130

5 **5-[(2-Metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[2-metoxietil(metil)amino]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă**

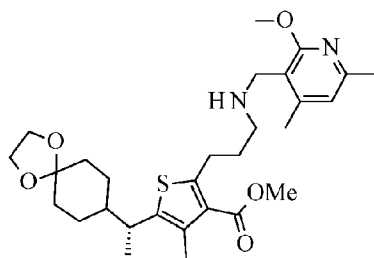


Se dizolvă 2-metoxietanamină (100 mg, 1,33 mmol) în MeOH (4 mL) și se adaugă 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)-etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (160 mg, 0,36 mmol). Se agită amestecul timp de 4 ore. Se răcește la -78 °C și se adaugă în picătură LiBH₄ 2M în THF (235 μL, 0,47 mmol). Se agită amestecul rezultat timp de 15 minute și se încălzește la RT sub agitare timp de 1 oră. Se concentrează amestecul de reacție in vid și se diluează cu DCM și NaHCO₃ apos saturat. Se separă straturile, se extrage faza apoasă cu DCM suplimentar, se combină extractele organice, și se usucă faza organică pe MgSO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul pentru a obține 5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[(2-metoxietilamino)ciclohexil]etil}-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă brută (150 mg, randament 83%) ca ulei, suficient pentru utilizare în etapa următoare fără purificare suplimentară. ES/MS (m/z): 500 (M+H).

Se dizolvă 5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[(2-metoxietilamino)ciclohexil]etil}-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă brută (100 mg, 0,20 mmol) în DCM (2 mL) și se adaugă o soluție de formaldehidă apoasă 37% (0,4 mL, 5,0 mmol); se agită amestecul la RT timp de 15 min, se adaugă Na(OAc)₃BH (170 mg, 0,80 mmol) și se agită amestecul la RT timp de aproximativ 3 ore. La amestecul de reacție se adaugă o soluție suplimentară de formaldehidă apoasă 37% (1,5 mL, 18,75 mmol) și se agită timp de 2 ore la RT. Se concentrează amestecul de reacție in vid și se adaugă DCM (25 mL). Amestecul se suspendă în continuare în MeOH (8 mL) cu TEA (1,5 mL, 11 mmol). Se adaugă o soluție de formaldehidă apoasă 37% (6 mL, 80,0 mmol). Se agită amestecul la RT timp de 1 oră. Se adaugă Na(OAc)₃BH (300 mg, 1,42 mmol) și se agită amestecul rezultat la RT timp de aproximativ 4 ore. Se diluează masa de reacție cu DCM (40 mL) și NaHCO₃ apos saturat (1,0 mL). Se separă straturile, se usucă faza organică pe MgSO₄ și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH 0-10% în DCM, pentru a da compusul din titlu (48 mg, randament 47%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 514 (M+H).

Preparare 131

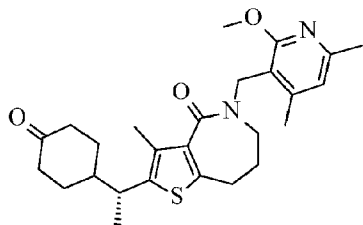
35 **5-[(1R)-1-(1,4-Dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-2-[3-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metilamino]propil]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil**



Se supune o soluție de 2-(3-[[benziloxi]carbonil]amino}prop-1-in-1-il)-5-[1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-il(metil)amino]-4-metiltiofen-3-carboxilat de metil (803 g, 1,57 mol), 2-metoxi-4,6-dimetil-piridin-3-carbaldehidă (314,5 g, 1,90 mol) și paladiu Pd(OH)₂ pe carbon activat (298 g) în EtOH (7,5 L) la hidrogenare la 100 psi la 60 °C. După încetarea absorbției de H₂ (18 h), masa de reacție se răcește și amestecul rezultat se filtrează prin pământ de diatomee, se clătește cu EtOH (2 L). Se îndepărtează solventul sub presiune redusă pentru a da compusul din titlu (892 g, randament >99%) ca ulei. ES/MS (m/z): 531 (M+H).

Preparare 132

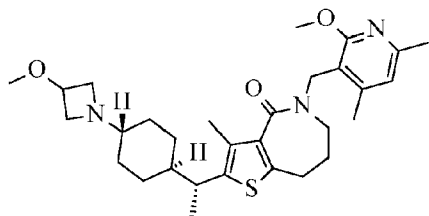
45 **5-[(2-Metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-7,8-dihidro-6H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



- Se adaugă trimetilsilanolat de potasiu (256,7 g, 2,0 mol) la o soluție de 5-[(1R)-1-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)etil]-2-[3-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metilamino]-propil]-4-metil-tiofen-3-carboxilat de metil (531,4 g, 1,0 mol) în THF (6,4 L). Se încălzește amestecul la 65 °C timp de 18 h, se răcește la 5 °C, și se adaugă secvențial TEA (382 ml, 2,7 mol) și clorhidrat de trietilamină (471 g, 3,4 mol). După agitare timp de 10 minute, se adaugă 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrifosforinan-2,4,6-trioxid în EtOAc (887 ml, 1,5 mol) într-o perioadă de 30 minute menținând temperatura $\square$ 5 °C. Se agită amestecul de reacție peste noapte la RT, și se adaugă HCl apos 2N (5,0 L, 10,0 mol) la 23 °C. Masa de reacție se agită timp de 16 h, se diluează cu EtOAc (6,5 L), și se neutralizează cu K₃PO₄ 2M (6,5 L). Se spală stratul organic cu soluție apoasă saturată de NaCl (3,2 L), se separă straturile, se usucă stratul organic pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratele rezultate sub presiune redusă. Se purifică reziduul rezultat prin cromatografie pe silice (4 kg), eluând cu un gradient de EtOAc 10 până la 50% în heptani. Se triturează fracțiunile purificate cu heptani (2,3 L) și se usucă sub vid la 40 °C pentru a obține compusul din titlu (196,2 g, randament 43%). ES/MS (m/z): 455 (M+H).

Preparare 133

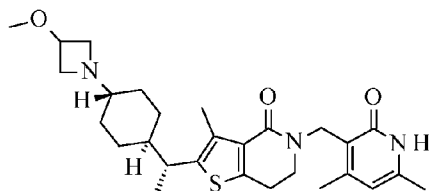
- 2-[(1R)-1-[4-(3-Metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-3-metil-7,8-dihidro-6H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă



- Se adaugă 5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-7,8-dihidro-6H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (246,3 g, 0,5418 mol) la o soluție de clorhidrat de 3-metoxiazetidină (186,9 g, 1,51 mol) în MeOH (2,9L) conținând DIPEA (573 ml, 3,29 mol). Se agită amestecul de reacție rezultat la RT peste noapte. Se adaugă THF (991 ml) și se răcește soluția la -72 °C. Se adaugă în picătură o soluție de LiBH₄ 2M în THF (379 ml, 0,758 mol) în timp de 45 min, menținând temperatura internă mai jos de -70 °C. După agitare timp de 2,5 h, se stinge masa de reacție prin adăugarea amestecului de reacție în HCl apos 1M (6,6 L) în timp de 20 min. Se agită amestecul timp de 10 min și se ajustează la pH $\square$ 9 cu K₂CO₃ apos 6M (1,25 L). Se concentrează amestecul rezultat pentru a îndepărta volatilele și se diluează amestecul apos rămas cu EtOAc (6 L). Se separă straturile și se spală stratul organic secvențial cu K₂CO₃ 3M (1,65 L) și soluție apoasă saturată de NaCl. Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul sub presiune redusă. Se purifică reziduul rezultat pe silicagel (3,2 kg), eluând cu un gradient dintr-un amestec de 0 până la 5% NH₃ 7N/MeOH în EtOAc, pentru a obține compusul din titlu (208,6 g, randament 73%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 526 (M+H).

Exemplul 1

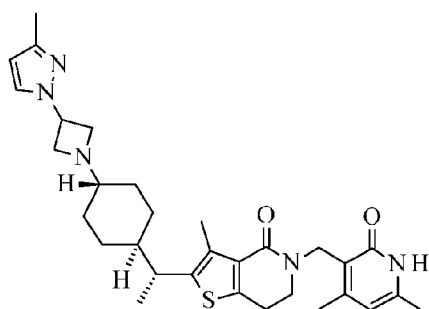
- 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



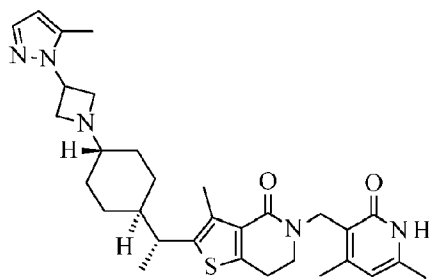
Se adaugă LiCl (9,83 g, 230 mmol) și PTSA (41,6 g, 230 mmol) la o soluție de 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (23,5 g, 45,9 mmol) în DMF (188 mL). Se agită amestecul rezultat la 50 °C timp de 8 ore și la RT timp de 16 ore. Se adaugă apă (400 mL) și soluție apoasă de K₂CO₃ 2M (300 mL), se extrage cu EtOAc (2 x 250 mL), se separă straturile, se usucă fazele organice combinate pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se suspendă solidul rezultat în heptan (400 mL) și se încălzește la 80 °C timp de 3 ore. Se răcește suspensia, se filtrează, și se usucă sub vid la 45 °C timp de 16 ore. Se suspendă solidul rezultat în diizopropil eter (195 mL), se încălzește la 70 °C timp de 2 ore, se răcește suspensia, se filtrează, și se usucă sub vid la 45 °C timp de 16 ore. Se suspendă solidul colectat în apă (180 mL) și se încălzește la 70 °C timp de 5 ore, apoi la RT timp de 5 ore. Se filtrează solidele rezultate și se usucă sub vid la 45 °C timp de 16 ore pentru a da compusul din titlu ca solid alburiu (16,6 g, randament 70%). ES/MS (m/z): 498 (M+H). [α]_D²⁰ = -68,93° (c=1,0, MeOH).

Exemplul 2 și 3

Exemplul 2: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Exemplul 3: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1H-piridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-[4-[3-(5-metilpirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil]etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă



La o soluție de 5-[2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă și 5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-[trans-4-[3-(5-metilpirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil]etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă (800 mg, 0,925 mmol, amestec de regioizomeri) în DMF (5 mL) la 0 °C, se adaugă LiCl (198 mg, 4,63 mmol) și PTSA (839 mg, 4,63 mmol). Se încălzește suspensia rezultată la 50 °C peste noapte. Se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață se extrage cu DCM (2 x 100 mL), se separă straturile, se combină fazele organice, se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (XBRIDGE™, 5 μm, 19 x 100 mm, debit: 25 mL/min), utilizând un gradient de NH₄HCO₃ apos 20 mM (pH 9) 40-60% în ACN, pentru a da compusul din titlu ca un amestec de regioizomeri ca solid pulbere galben pal (130 mg, 26%), după evaporarea solventului. Se separă regioizomerii prin cromatografie SFC preparativă (CHIRALPAK® IA, EtOH 35% (0,2% IPAm)/CO₂, 21 x 250 mm) și se atribuie structurile pe baza spectroscopiei ¹H și HSQC. Regioizomerul 1 (Exemplul 2): 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă, ES/MS (m/z): 548 (M+H), t_R = 2,93 min (SFC analitică, CHIRALPAK® IA, 35% (0,2% IPAm)/CO₂, 5 mL/min, 225 nm, 5 x 25 mm). ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃): δ 0,87-1,04 (m, 4H), 1,22 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,31-1,25 (m, 1H), 1,60-1,69 (m, 1H), 1,69-1,79 (m, 1H), 1,86-1,91 (m, 1H), 1,92-2,01 (m, 1H), 2,08-2,17 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,79-2,89 (m, 3H), 3,33-3,43 (m, 2H), 3,62-3,71 (m, 2H), 3,77 (q, J = 6,8 Hz, 2H),

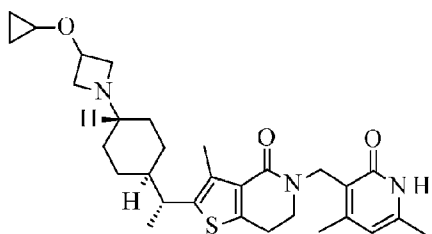
4,71 (s, 2H), 4,85 (cvintet, J= 7,2 Hz, 1H), 5,92 (s, 1H), 6,01 (d, J= 1,9 Hz, 1H), 7,36 (d, J= 2,0 Hz, 1H), 12,53-12,55 (bs, 1H). C5 al pirazolului afișează o deplasare a carbonului de 128,6 ppm în spectroscopie HSQC. Regioizomer 2 (Exemplul 3): 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1H-piridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-[4-[3-(5-metilpirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil]etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă, ES/MS (m/z): 548 (M+H), t_R = 3,69 min (SFC analitică, CHIRALPAK® IA, 35% (0,2% IPAm)/CO₂, 5 mL/min, 225 nm, 5 x 25 mm). ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃): δ 0,90-1,04 (m, 4H), 1,21 (d, J= 6,9 Hz, 3H), 1,25-1,31 (m, 1H), 1,62-1,67 (m, 1H), 1,79 (s, 1H), 1,84-1,91 (m, 1H), 1,99-2,01 (m, 1H), 2,09-2,19 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,81-2,89 (m, 3H), 3,50-3,56 (m, 2H), 3,62-3,71 (m, 2H), 3,79 (q, J= 6,7 Hz, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,81-4,88 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 7,43 (d, J= 1,5 Hz, 1H), 12,32-12,34 (bs, 1H). C3 al pirazolului afișează o deplasare a carbonului de 138,4 ppm în spectroscopie HSQC.

Următorii compuși se prepară în esență prin metoda din Exemplul 2 utilizând 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1H-piridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-[4-substituit-ciclohexil]etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-ona adecvată și purificare prin cromatografie fie cu fază normală fie inversă.

Nr. Exemplu	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
4	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(4-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		548
5	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(pirolidin-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		537
6	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(morfolin-4-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		553
7	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{ <i>trans</i> -4-[3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		535
8	2-{(1R)-1-[<i>trans</i> -4-(Dimetilamino)ciclohexil]etil}-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		458

Exemplul 9

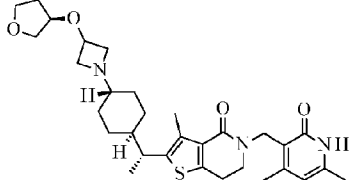
2-[(1R)-1-[4-[3-(ciclopropoxi)azetidin-1-il]ciclohexil]etil]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1H-piridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă



- Se agită un amestec de 5-{[2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(ciclopropiloxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (200 mg, 0,33 mmol) în THF (6 mL) și HCl 1N (10 mL) la 90 °C timp de 2 ore. Se răcește la RT și amestecul se toarnă într-o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ cu gheață, și apoi se extrage de două ori cu EtOAc. Se spală extractele combinate cu soluție apoasă saturată de NaCl, se usucă pe MgSO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 20-50% dintr-un amestec de (10% NH₃ 7N MeOH) în DCM și DCM pentru a da 66 mg de produs pur, după evaporarea solventului. Se supun fracțiunile combinate mai puțin pure (54 mg după evaporarea solventului) prin cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (Fenomenex LUNA®, 5 μm C-18 AXIA®, 30 x 75 mm, temperatura coloanei 25 °C, 85 mL/min), utilizand un gradient de 10-75% ACN în NH₄HCO₃ 10 mM (pH 10) în apă. Se combină fracțiunile similare, se concentrează în vid, și reziduul rezultat se supune la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 20-50% dintr-un amestec de (10% 7N NH₃ în MeOH) în DCM și DCM, pentru a da suplimentar 22 mg de compus din titlu, după evaporarea solventului. Se amestecă cele două materiale purificate de compus din titlu (88 mg, randament 51%). ES/MS (m/z): 524 (M+H). ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃): 0,40-0,47 (m, 2H), 0,49-0,55 (m, 2H), 0,91-1,01 (m, 4H), 1,20 (d, J= 6,9 Hz, 3H), 1,24-1,29 (m, 1H), 1,55-1,65 (m, 1H), 1,67-1,76 (m, 1H), 1,76-1,82 (m, 1H), 1,86-1,97 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,77-2,89 (m, 5H), 3,17-3,22 (m, 1H), 3,57-3,69 (m, 4H), 4,71 (s, 2H), 4,20 (cvintet, J= 6,0 Hz, 1H), 5,92 (s, 1H), 12,81-12,83 (bs, 1H).

Următorii compuși se prepară în esență prin metoda din Exemplul 9, utilizând 5-[(2-benziloxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-2-[(1R)-1-[4-azetidin-1-il]ciclohexil]etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă substituită adecvat.

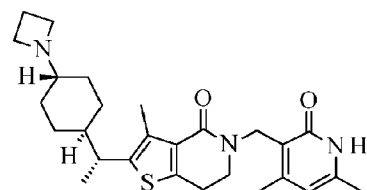
Nr. Exemplu	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
10	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(metoximetil)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		512
11	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(propan-2-iloxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		526
12	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{trans-4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		534
13	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(trans-4-{3-[(3S)-tetrahydrofuran-3-iloxi]azetidin-1-il}ciclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		554

Nr. Exemplu	Denumire chimică	Structură	ES/MS (m/z) (M+H)
14	5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(<i>trans</i> -4-{3-[(3R)-tetrahydrofuran-3-iloxi]azetidin-1-il}ciclohexil)etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă		554

Exemplul 12: ¹H RMN (399,8 MHz, CDCl₃): 1,05-1,07 (m, 2H), 1,32-1,46 (m, 2H), 1,83-1,85 (m, 2H), 1,93-1,94 (m, 2H), 2,14-2,16 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,58-2,67 (m, 1H), 2,76-2,80 (m, 2H), 3,43-3,47 (m, 2H), 3,62-3,66 (m, 2H), 3,77-3,81 (m, 2H), 4,69 (s, 2H), 4,92-4,95 (m, 1H), 5,90 (s, 1H), 6,24 (t, J= 2,0 Hz, 1H), 7,46 (d, J= 2,1 Hz, 1H), 7,53 (d, J= 1,9 Hz, 1H). (Nu a fost observat proton NH schimbabil.)

Exemplul 15

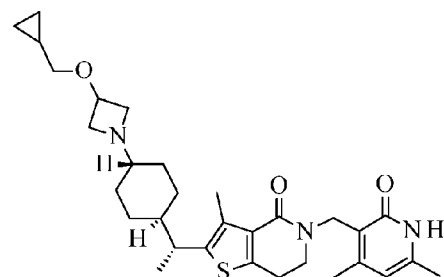
2-[(1R)-1-(*trans*-4-(Azetidin-1-il)ciclohexil)etil]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Se agită peste noapte un amestec de 2-[(1R)-1-(*trans*-4-(azetidin-1-il)ciclohexil)etil]-5-[[2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (190 mg, 0,34 mmol) și Pd 10% pe carbon (60 mg) în MeOH (15 mL) sub H₂ la 60 psi. Se filtrează amestecul de reacție printr-un strat de pământ de diatomee și se concentrează filtratul. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de 0-60% dintr-un amestec de 10% NH₃ 7N MeOH/DCM în DCM, pentru a obține compusul din titlu (117 mg, randament 73%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 468 (M+H).

Exemplul 16

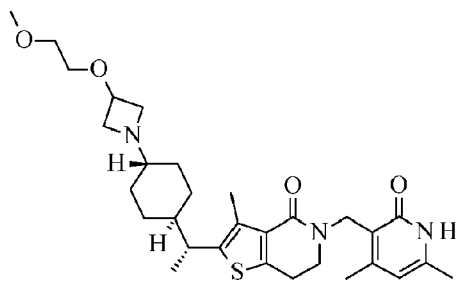
2-[(1R)-1-(*trans*-4-[3-(Ciclopropilmetoxi)azetidin-1-il]ciclohexil)etil]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



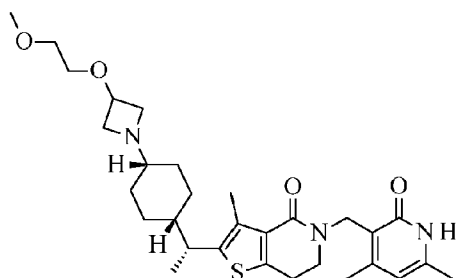
Se agită un amestec de 5-[[2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil]-2-[(1R)-1-(*trans*-4-[3-(ciclopropilmetoxi)azetidin-1-il]ciclohexil)etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (96 mg, 0,15 mmol), LiCl (34 mg, 0,79 mmol) și acid p-toluensulfonic monohidrat (135 mg, 0,77 mmol) în DMF (3 mL) la 62 °C timp de 1,5 ore și se concentrează amestecul de reacție in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de 0-70% dintr-un amestec de 10% NH₃ 2N în MeOH/DCM în DCM pentru a da compusul din titlu (40 mg, randament 48%), după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 538 (M+H).

Exemple 17 și 18

Exemplul 17: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-{*trans*-4-[3-(2-metoxietoxi)azetidin-1-il]ciclohexil)etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



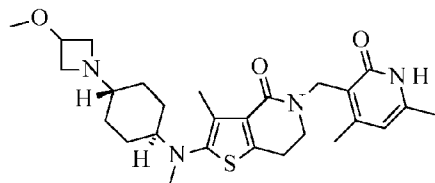
Exemplul 18: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-{cis-4-[3-(2-metoxietoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



5 Se adaugă LiCl (0,2 g, 5,57 mmol) și PTSA (1,01 g, 5,578 mmol) la o soluție de 5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-{4-[3-(2-metoxietoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,62 g, 1,11 mmol, amestec de *cis*- și *trans*-diastereomeri) în DMF (5,6 mL) și se agită la 90 °C timp de 2 ore. Se adaugă NaHCO₃ apos saturat, se extrage cu EtOAc, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe SCX (10 g), eluând la început cu MeOH apoi cu NH₃ 2M în MeOH. Se concentrează în vid MeOH în fracțiunea amoniacală, și se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (coloană Xterra XBRIDGE®, 5 μm, 19 x 100 cm), eluând cu un gradient de 35-55% NH₄CO₃ 20 mM (pH 9) în apă/ACN în timp de 3 min la 25 mL/minut, pentru a da compusul *trans* care eluează primul Exemplul 17 ca solid (0,148 g, randament 25%), după evaporarea solventului, ES/MS (m/z): 541 (M+H), și compusul *cis* care eluează al doilea din Exemplul 18, ca solid (0,027 g, randament 4,5%), ES/MS(m/z): 541 (M+H).

Exemplul 19

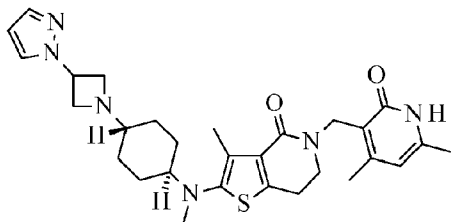
20 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil](metil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



25 Se agită clorhidratul 3-metoxiazetidină (0,304 g, 2,460 mmol) în MeOH (5 mL) și THF (5 mL) cu DIPEA (0,308 mL, 1,77 mmol) la RT timp de 30 min. Se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,28 g, 0,49 mmol) și se agită la RT timp de 1 oră. Se răcește amestecul la -78 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (6,4 mL, 13 mmol), se agită amestecul rezultat timp de 1 oră la -78 °C, și se încălzește la RT. Amestecul de reacție se toarnă în soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, se usucă extractele organice pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează extractul organic in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluând cu un gradient de 0-50% al soluției 10% de NH₃ 7N metanolic în DCM la DCM. Se colectează prin cromatografie fracțiunile conținând izomerii *trans* și *cis* și se concentrează în vid. Se separă izomerii *trans* și *cis* prin cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (30 g Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluând cu un gradient de 10-100% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM, pentru a da compusul din titlu (0,064 g, randament 26%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 499(M+H).

Exemplul 20

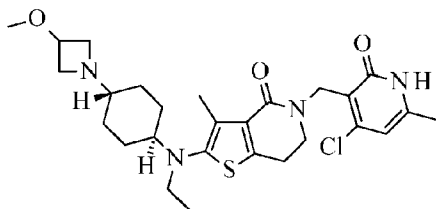
40 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-(metil{trans-4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}amino)-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



Se adaugă izopropoxid de titan(IV) (0,373 g, 1,27 mmol) la 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,148 g, 0,32 mmol) în DCM (2,5 mL) la RT urmat de diclorhidrat de 1-(azetidin-3-il)pirazol (0,187 g, 0,955 mmol). După 3 ore, se adaugă THF (2,5 mL), apoi se concentrează amestecul până la aproximativ 2,5 mL în vid. Se răcește amestecul rezultat la -78 °C, se adaugă MeOH (2,5 mL) urmat de o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,24 mL, 0,48 mmol), se încălzește treptat la RT, și se agită peste noapte. Se diluează amestecul cu DCM (50 mL) și apă (10 mL), se filtrează printr-un strat de pământ de diatomee, și se spală turta de filtru cu DCM (100 mL). Se concentrează filtratul in vid și se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (WATERS™ XBRIDGE®, 30 x 75 mm, 5 μm), eluând cu un gradient de 20-60% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM conținând 5% MeOH, pentru a da compusul din titlu (0,025 g, randament 14%) ca peliculă subțire clară, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 535 (M+H).

Exemplul 21

5-[(4-Cloro-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-{etil[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă

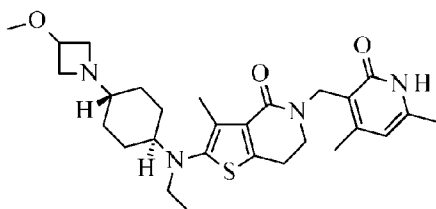


Se adaugă clorhidrat de 3-metoxiazetidină (0,300 g, 2,43 mmol) în metanol (5 mL) într-un balon cu fund rotund conținând THF (5 mL) și DIPEA (0,306 mL, 1,75 mmol), se agită la RT timp de 30 min, apoi la soluție se adaugă 5-[(4-cloro-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-{etil(4-oxociclohexil)amino}-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,450 g, 0,487 mmol, puritate 50%), și se agită la RT timp de 1 oră. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,63 mL, 1,3 mmol). Se agită timp de 1 oră, apoi amestecul se încălzește treptat la RT, amestecul se toarnă în NaHCO₃ apos saturat răcit cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, se usucă faza organică pe Na₂SO₄ anhidru, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-40% dintr-un amestec 10% de NH₃ 7N/MeOH în DCM/DCM. Pentru a separa izomerii *cis* și *trans*, se evaporă fracțiunile conținând produs și se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (15,5 g Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluand cu un gradient de 10-100% ACN în NH₄CO₃ 10 mM conținând 5% MeOH, pentru a da compusul din titlu (0,120 g, randament 46%), ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): (³⁵Cl/³⁷Cl) 533/535 (M+H).

35

Exemplul 22

5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-{etil[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



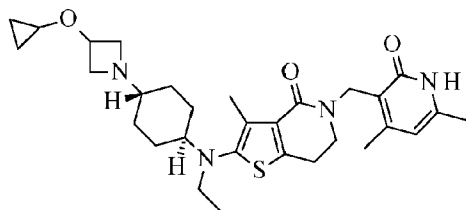
40

Se adaugă LiCl (6,13 g, 143,2 mmol) la un amestec de 2-{etil[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino}-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (16,40 g, 28,65 mmol) și PTSA (25,96 g, 143,2 mmol) în DMF (100 mL) și se

agită la 50 °C timp de 9 ore și apoi la RT timp de 18 ore. Se diluează cu EtOAc (400 mL) și soluție apoasă de K₂CO₃ 4M (200 mL). Fazele se separă, se extrage faza apoasă cu EtOAc (3 x 100 mL), și se spală secvențial straturile organice combinate cu soluție apoasă de K₂CO₃ 4M (2 x 100 mL), apă (100 mL), și soluție apoasă saturată de NaCl (100 mL). Se usucă faza organică pe Na₂SO₄, se
 5 filtrează, și se concentrează filtratul în vid pentru a da solid maro pal. Se suspendă solidul cu EtOAc (100 mL) și se agită timp de 1 oră la RT. Se adaugă dietil eter (100 mL), se agită timp de 2 ore la RT, se filtrează solidul, se spală cu dietil eter rece (50 mL), și se usucă sub vid. Se adaugă TEA (21,54 g, 212,8 mmol) la un amestec al solidului rezultat în ACN (500 mL) și se agită timp de 24 ore la 85 °C. Se răcește amestecul, se concentrează în vid, Se suspendă reziduul rezultat în
 10 apă (165 mL), și se agită timp de 4 ore la RT. Se filtrează solidul rezultat, se spală cu apă (50 mL), și se usucă sub vid la 50 °C timp de 16 ore pentru a da compusul din titlu (10,83 g, randament 76%) ca solid de culoarea fildeșului, pal. ES/MS (m/z): 513 (M+H).

Exemplul 23

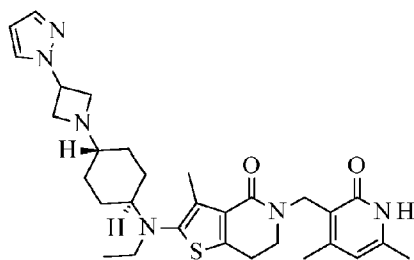
2-[(*trans*-4-[3-(Ciclopropiloxi)azetidin-1-il]ciclohexil}(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



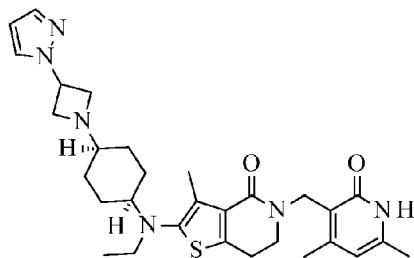
Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă clorhidrat de 3-(ciclopropoxi)azetidină (0,6776 g, 4,529 mmol), MeOH (4 mL), DIPEA (0,5853 g, 4,529 mmol), 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,500 g, 1,13 mmol) și THF (20 mL). Se agită soluția rezultată la RT peste noapte. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C și se adaugă în picătură LiBH₄ 2M în THF (1,13 mL, 2,26 mmol). Masa de reacție se plasează într-o baie cu gheață la 0 °C și se lasă să se încălzească încet la RT în timp de 1,5 ore. Se stinge amestecul de reacție cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃, se
 25 diluează cu DCM, se separă straturile, și se extrage faza apoasă cu DCM suplimentar. Se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄ anhidru, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18. Se concentrează fracțiunile dorite în vid pentru a da compusul din titlu (0,092 g, 15%) ca pulbere albă. ES/MS (m/z): 539 (M+H).

Exemplul 24 și 25

Exemplul 24: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{*trans*-4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}amino)-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



35 **Exemplul 25:** 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{*cis*-4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}amino)-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă

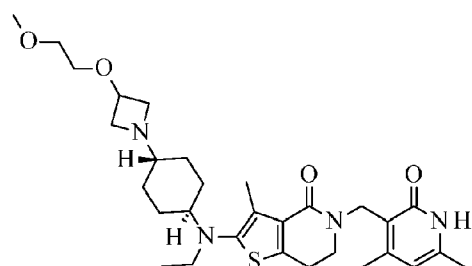


40 Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă diclorhidrat de 1-(azetidin-3-il)pirazol (0,266 g, 1,36 mmol), MeOH (6,8 mL), și DIPEA (0,239 mL, 1,36 mmol), și se agită la RT timp de 30 min.

La amestecul de reacție se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,150 g, 0,340 mmol) și se agită timp de 3 ore. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C, apoi se adaugă în picătură LiBH₄ 2M în THF (0,255 mL, 0,510 mmol) și se agită timp de 3 ore. Amestecul de reacție se încălzește la RT, se toarnă în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se diluează suspensia rezultată cu DCM/apă, și se extrage de trei ori cu DCM. Se separă straturile, se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18, eluand cu un gradient de 0-55% ACN în NH₄CO₃ 10 mM/apă, pentru a da *trans*-compusul din titlu, Exemplul 24 (0,088 g, randament 47%) ca solid alb, ES/MS (m/z): 549 (M+H), și *cis*-compusul din titlu, Exemplul 25 (0,048 g, randament 26%), ca solid alb, ES/MS (m/z): 549 (M+H).

Exemplul 26

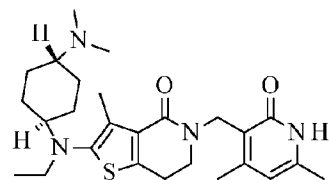
5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{*trans*-4-[3-(2-metoxietoxi)azetidin-1-il]ciclohexil}amino)-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă



Intr-un balon cu fund rotund, se adaugă clorhidrat de 3-(2-metoxietoxi)azetidină (1,5 g, 8,9 mmol) și DIPEA (2 mL, 11,5 mmol) în MeOH (20 mL). Se agită la RT timp de 30 min, apoi se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (1,0 g, 2,3 mmol) în THF (5 mL) și se agită amestecul rezultat la RT peste noapte. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C și se adaugă în picătură LiBH₄ 2M în THF (2,8 mL, 5,6 mmol). Masa de reacție se plasează într-o baie cu gheață și se încălzește încet la RT timp de 2 ore. Amestecul de reacție se toarnă în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează extractele organice in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-3% dintr-un amestec de NH₃ 7N/MeOH în DCM, pentru a da *trans*-izomerul (0,450 g, randament 36%) ca solid maro deschis impur și *cis*-izomerul (0,220 g, randament 17%) ca ulei maro deschis, după evaporarea solventului. Se supune *trans*-izomerul la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18, eluand cu un gradient de 0-60% ACN în NH₄CO₃ 10 mM/apă, pentru a da *trans*-compusul din titlu (233 mg, randament 18%) ca solid maro deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 557 (M+H). ¹H RMN (400,1 MHz, CDCl₃): 0,94 (t, J= 7,0 Hz, 3H), 0,98-1,03 (m, 2H), 1,20-1,28 (m, 2H), 1,78-1,81 (m, 2H), 1,86-1,92 (m, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,35 (s, 6H), 2,67-2,77 (m, 1H), 2,83 (t, J= 6,6 Hz, 2H), 2,85-2,95 (m, 4H), 3,39 (s, 3H), 3,59 (dd, J= 6,1, 7,5 Hz, 2H), 3,52 (s, 4H), 3,69 (t, J= 6,6 Hz, 2H), 4,13 (cvintet, J= 5,9 Hz, 1H), 4,73 (s, 2H), 5,94 (s, 1H), 12,24-12,25 (bs, 1H).

Exemplul 27

2-[(*trans*-4-(Dimetilamino)ciclohexil)(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă

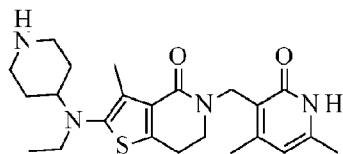


Intr-un flacon cu microunde de 5 mL, se adaugă 2-[(*trans*-4-aminociclohexil)(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,050 g, 0,113 mmol), acid acetic (0,019 mL, 0,339 mmol), și formaldehidă apoasă 37% (0,025 mL, 0,3389 mmol) în MeOH (4 mL). Se răcește flaconul la 0°C și la amestecul de reacție se adaugă încet NaCNBH₄ (0,0213 g, 0,3389 mmol). Se încălzește la RT, se agită timp de 4,5 ore, apoi se concentrează amestecul de reacție in vid. Se diluează reziduul rezultat cu DCM și apă, se separă straturile, și se extrage stratul apos cu DCM suplimentar. Se combină fazele organice, se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul

rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (50 g), eluand cu ACN în NH_4CO_3 10 mM/apă, pentru a da compusul din titlu (0,0135 g, randament 25%) ca pulbere albă, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 471 (M+H).

Exemplul 28

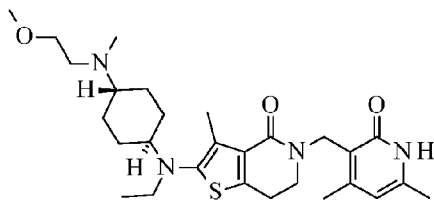
- 5 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(piperidin-4-il)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



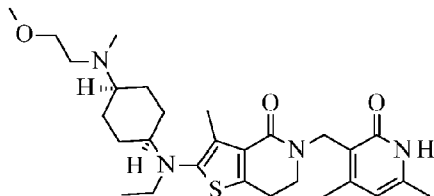
- 10 Se adaugă 4-(etil{5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrotieno[3,2-c]piridin-2-il}amino)piperidin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,700 g, 1,290 mmol) în DMF (6,45 mL) într-un flacon cu microunde. Se răcește la 0 °C, apoi se adaugă LiCl (0,276, 6,45 mmol) și PTSA (1,17 g, 6,45 mmol). Amestecul rezultat se încălzește la 90 °C peste noapte, amestecul de reacție se răcește la RT, se stinge cu NaHCO_3 apos saturat răcit cu gheață, și se diluează cu DCM. Se separă straturile, se extrage stratul apos cu DCM suplimentar, se combină
- 15 fazele organice, se usucă pe Na_2SO_4 , se filtrează, și se concentrează în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-10% NH_3 7N în MeOH/DCM, pentru a da compusul din titlu (0,284 g, randament 51%) ca solid bej, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 429 (M+H).

Exemple 29 și 30

- 20 **Exemplul 29: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{trans-4-[(2-metoxietil)(metil)amino]ciclohexil}amino)-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



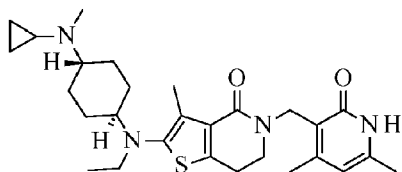
- 25 **Exemplul 30: 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{cis-4-[(2-metoxietil)(metil)amino]ciclohexil}amino)-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă**



- Se adaugă LiCl (0,22 g, 5,20 mmol) și PTSA (0,94 g, 5,20 mmol) la o soluție de 2-(etil{4-[(2-metoxietil)(metil)amino]ciclohexil}amino)-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă (0,55 g, 1,04 mmol, amestec de diastereomeri *cis* și *trans*) în DMF (5,2 mL) și se încălzește la 90 °C într-o eprubetă etanșată, timp de 1 oră. Masa de reacție se răcește la RT, se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO_3 , se extrage cu EtOAc, și se concentrează extractul organic în vid. Se încarcă reziduul rezultat pe un cartuș SCX (25 g), eluând la început cu MeOH și apoi cu NH_3 2M în MeOH. Se concentrează în vid fracțiunile metanolice de amoniac și reziduul rezultat se supune la cromatografie în fluid supercritic (CHIRALCEL® OD, 5 μm, 2 x 25 cm), eluând izocratic la 30% cu o fază mobilă de CO_2 /MeOH conținând 0,2% DMA la 65 mL/min, pentru a da compușii din titlu: 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{*trans*-4-[(2-metoxietil)(metil)amino]ciclohexil}amino)-3-metil-6,7-
- 30 dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă, Exemplul 29, (0,07 g, randament 13%), ES/MS (m/z): 515 (M+H).
- 40 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{*cis*-4-[(2-metoxietil)(metil)amino]ciclohexil}-amino)-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4(5H)-onă, Exemplul 30, (0,04 g, randament 8%), ES/MS (m/z): 515 (M+H).

Exemplul 31

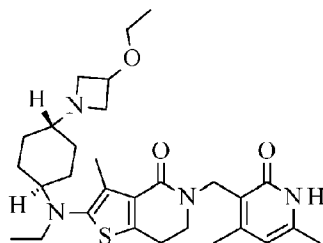
2-[[*trans*-4-[Ciclopropil(metil)amino]ciclohexil}(etil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă



Se adaugă LiCl (0,23 g, 5,38 mmol) și PTSA (0,97 g, 5,38 mmol) la o soluție de 2-[[*trans*-[ciclopropil(metil)amino]ciclohexil}(etil)amino]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă (0,55 g, 1,07 mmol) în DMF (5,4 mL) și se încălzește la 90 °C timp de 1 oră. Se răcește la RT și se adaugă soluție apoasă saturată de NaHCO₃, se extrage cu EtOAc, și se separă straturile. Se usucă faza organică pe Na₂SO₄ anhidru, se filtrează, se concentrează în vid, și se încarcă reziduul rezultat pe un cartuș SCX, eluând la început cu MeOH și apoi cu NH₃ 2M în MeOH. Se concentrează fracțiunea metanolică de amoniac in vid și se supune reziduul rezultat la cromatografie prin SFC (CHIRALCEL® OD, 5 μm, 2 x 25 cm), eluând izocratic la 30% cu o fază mobilă de CO₂/MeOH conținând 0,2% DMA la 65 mL/minut, pentru a da compusul din titlu ca solid (0,15 g, randament 29%). ES/MS (m/z): 497 (M+H).

Exemplul 32

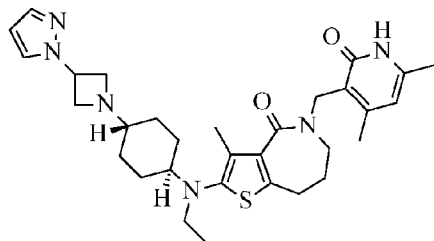
5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[[*trans*-4-(3-etoxiazetidin-1-il)ciclohexil}(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă



Se adaugă Pd 10% pe carbon (0,035 g, 0,033 mmol) la o soluție de 5-{ [2-(benziloxi)-4,6-dimetilpiridin-3-il]metil}-2-[[*trans*-4-(3-etoxiazetidin-1-il)ciclohexil}(etil)amino]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă (0,084 g, 0,13 mmol) în EtOAc (2 mL) și MeOH (2 mL). Se încarcă vasul de reacție cu H₂ (345 kPa), se agită timp de aproximativ 3 ore, se filtrează, și se concentrează amestecul de reacție in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de EtOAc 20% in DCM urmat de 0-10% NH₃ 7N/MeOH in DCM, pentru a da compusul din titlu (0,041 g, randament 57%) ca rășină galbenă, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 527 (M+H).

Exemplul 33

5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-(etil{*trans*-4-[3-(1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}amino)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4h-tieno[3,2-*c*] azepin-4-onă

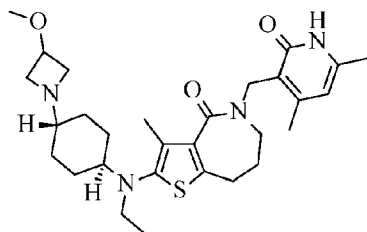


Se adaugă 1-(azetidin-3-il)pirazol (0,600 g, 4,87 mmol) la o soluție de MeOH (10 mL) conținând DIPEA (1,5 mL, 8,6 mmol), se agită la RT timp de 30 min, apoi se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)-amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-*c*]azepin-4-onă (0,800 g, 1,76 mmol) în THF (10 mL). Se agită la RT timp de 1 oră, se răcește amestecul de reacție la -78 °C, și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M in THF (0,9 mL, 1,8 mmol). Se agită amestecul rezultat timp de 3 ore, se încălzește treptat la RT, și se agită peste noapte. Amestecul de reacție se toarnă în soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează faza organică in vid. Se supune reziduul la

cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (100 g, Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluand cu un gradient de 0-50% ACN conținând 0,1% acid formic și apă conținând 0,1% acid formic, se evaporă solventul, și se supune reziduul rezultat un timp suplimentar la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (100 g, Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluand cu un gradient de 0-40% ACN conținând 0,1% acid formic și apă conținând 0,1% acid formic. Se tratează fracțiunile cromatografice combinate cu soluție apoasă saturată de NaHCO₃, se extrage cu DCM, se separă straturile, se usucă faza organică pe MgSO₄, se filtrează, se concentrează filtratul în vid, și se usucă într-un cuptor cu vid peste noapte pentru a da compusul din titlu ca singur izomer (0,047 g, randament 4,7%) ca solid alb. ES/MS (m/z): 563 (M+H).

Exemplul 34

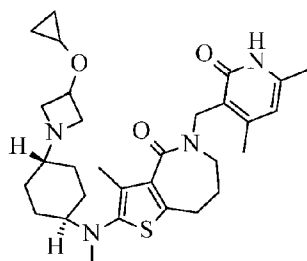
5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă



Se adaugă clorhidrat de 3-metoxiazetidină (0,580 g, 4,69 mmol) la o soluție de MeOH (5 mL) și DIPEA (1 mL, 5,7 mmol), se agită la RT timp de 30 min, apoi se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[etil(4-oxociclohexil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (0,600 g, 1,12 mmol, puritate 85%) în THF (5 mL). Se agită amestecul rezultat la RT timp de 1 oră, se răcește la -78 °C, și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (1,2 mL, 2,4 mmol). Se agită amestecul rezultat timp de 1 oră, se încălzește la RT cu agitare timp de 2 ore, apoi amestecul de reacție se toarnă în soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață. Se extrage cu DCM (3 x 100 mL), se separă straturile, și se concentrează faza organică în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH 0-10% în DCM, pentru a da un amestec de izomeri *trans* și *cis* după evaporarea solventului. Se separă izomerii *trans* și *cis* prin cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (100 g, Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluand cu un gradient de ACN 0-60% în NH₄CO₃ apos 10 mM, pentru a da compusul din titlu (0,0779 g, randament 13%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 527 (M+H).

Exemplul 35

2-[[trans-4-[3-(ciclopropiloxi)azetidin-1-il]ciclohexil](metil)amino]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă

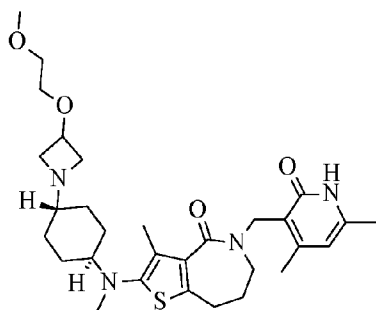


Se suspendă clorhidrat de 3-(ciclopropoxi)azetidină (0,400 g, 2,67 mmol) în MeOH (10 mL), se adaugă THF (10 mL) și DIPEA (0,600 mL, 3,44 mmol), se agită la RT timp de 30 min, se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (0,300 g, 0,577 mmol, puritate 85%), și se agită amestecul rezultat la RT peste noapte. Se răcește amestecul la -78 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,700 mL, 1,4 mmol). Se agită amestecul rezultat timp de 1 oră la -78 °C. Amestecul se încălzește la RT, se agită timp de 1 oră, amestecul de reacție se toarnă în soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, și se concentrează stratul organic în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-5% NH₃ metanolic 7N în DCM. Se colectează fracțiunile cromatografice conținând izomerii *trans* și *cis* și se concentrează în vid. Se separă izomerii *trans* și *cis* prin cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (40 g, Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluand cu un gradient de ACN 5-60% în NH₄CO₃ apos 10 mM, pentru a da compusul din titlu

(0,0662 g, randament 21%) ca solid maro deschis, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 539 (M+H).

Exemplul 36

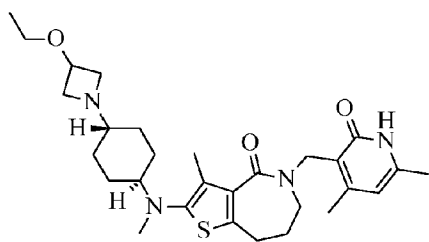
- 5 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(trans-4-[3-(2-metoxietoxi)azetidin-1-il]ciclohexil)(metil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



- Se agită 3-(2-metoxietoxi)azetidină (0,437 g, 2,460 mmol) în MeOH (5 mL) și THF (5 mL) conținând DIPEA (0,418 mL, 2,40 mmol) la RT timp de 30 min. Se adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (0,35 g, 0,67 mmol) și se agită la RT timp de 1 oră. Se răcește amestecul la -78 °C și se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,87 mL, 1,7 mmol), se agită amestecul rezultat timp de 2 ore la -78°C și se încălzește la RT peste noapte. Se răcește amestecul la -78 °C, se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,5 mL, 1,0 mmol), și se încălzește la RT. Amestecul de reacție se toarnă în soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, se usucă extractele organice pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează extractele organice in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-40% de soluție 10% de NH₃ 7N metanolic/DCM în DCM. Se colectează fracțiunile cromatografice conținând izomerii *trans* și *cis* și se concentrează în vid. Se separă izomerii *trans* și *cis* prin cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (15,5 g Thermo Scientific Hypersil GOLD™), eluand cu un gradient de 10-100% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM conținând 5% MeOH, pentru a da compusul din titlu (0,036 g, randament 9%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 557(M+H).

Exemplul 37

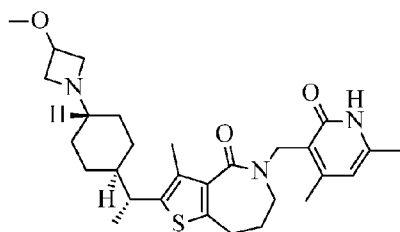
- 25 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[[trans-4-(3-etoxiazetidin-1-il)ciclohexil](metil)amino]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



- La 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[metil(4-oxociclohexil)amino]-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (0,320 g, 0,616 mmol) în THF (10 mL), se adaugă clorhidrat de 3-etoxiazetidină (0,424 g, 3,08 mmol) în MeOH (5 mL) și DIPEA (0,55 mL, 3,15 mmol). Se agită la RT timp de 30 min. Se răcește amestecul la -78 °C și se adaugă încet o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,650 mL, 1,3 mmol), se agită amestecul rezultat timp de 1 oră la -78°C, se încălzește la RT, și se agită timp de 1 oră. Amestecul de reacție se toarnă în soluție saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se separă straturile, se usucă extractul organic pe Na₂SO₄, se filtrează, și se concentrează filtratul în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de 0-70% de soluție NH₃ metanolic 7N 10% în DCM la DCM. Se colectează fracțiunile cromatografice conținând izomerii *trans* și *cis* și se concentrează în vid. Se separă izomerii *trans* și *cis* prin cromatografie cu fază inversă pe silice C-18 (Fenomenex Luna), eluand cu un gradient de 40-75% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM conținând 5% MeOH, pentru a da compusul din titlu (0,099 g, randament 37%) ca solid alb, după evaporarea solventului. ES/MS (m/z): 527(M+H).

Exemplul 38

- 45 **5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă**



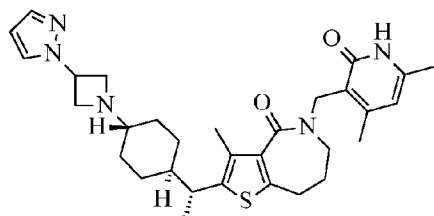
La clorhidrat de 3-metoxiazetidină (480 mg, 3,88 mmol) în MeOH (10 mL) și THF (10 mL), se adaugă DIPEA (1,0 mL, 5,7 mmol) și se agită la RT timp de 30 min. La soluție se adaugă
 5 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-
 5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (0,25 g, 0,57 mmol) și se agită la RT timp de 1 oră. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C și apoi se adaugă borohidru de litium 2M în THF (1,0 mL, 2,0 mmol). După 3 ore, se îndepărtează baia de răcire și se agită timp de 1 oră la RT. Amestecul de reacție se toarnă într-o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață și se
 10 concentrează în vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă eluând cu un gradient de 0-50% ACN (conținând 0,1% acid formic) în apă (conținând 0,1% acid formic). Se colectează fracțiunile pure și se concentrează pentru a da produsul, ca sare a acidului formic. Se combină produsul cu materialul dintr-o reacție efectuată anterior la scară de aproximativ 2 ori mai mare urmând un procedeu similar. La amestecul de produs combinat se adaugă soluție apoasă
 15 saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM, se spală cu saramură, se usucă pe MgSO₄ și se filtrează. Se concentrează filtratul in vid și se usucă peste noapte la etuvă pentru a da compusul din titlu (masă combinată 0,057 g, randament combinat 6%), ca solid alb. ES/MS (m/z): 512 (M+H). $[\alpha]_D^{20} = -42,80^\circ$ (c=1,0, MeOH).

Procedeu alternativ pentru Exemplul 38

20 Se adaugă clorotrimetilsilan (233 mL, 1,83 mol) într-o perioadă de 10 minute la o temperatură de 25 până la 34 °C la un amestec de 2-[(1R)-1-[4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil)etil]-5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-3-metil-7,8-dihidro-6H-tieno[3,2-
 25 c]azepin-4-onă (240 g, 0,456 mol) și NaI (267 g, 1,78 mol) în acetonitril. Masa de reacție se încălzește la 33 până la 41 °C timp de 2 ore. Se răcește la RT, și se diluează de două ori cu acetonitril (4 L), amestecul se concentrează la volumul original de fiecare dată, sub presiune redusă. Se diluează amestecul cu acetat de etil (2,4 L) și apă (2,4 L), și se ajustează la pH aproximativ 10 cu NH₄OH (380 mL). Straturile rezultate se separă, stratul organic se spală cu soluție apoasă saturată de NaCl (1,9 L). Stratul organic se usucă pe Na₂SO₄, se filtrează, și se
 30 îndepărtează solventul sub presiune redusă. Se purifică reziduul rezultat prin filtrare pe un strat de silicagel, eluand la început cu EtOH 10% în EtOAc, apoi cu un amestec de 5% NH₃ 7N în MeOH și EtOH 10% în EtOAc. Se evaporă filtratul de amoniac metanolic și se triturează reziduul rezultat cu acetonă (3 volume) la 0 °C. Se usucă sub vid la RT pentru a obține compusul din titlu (186,4 g, randament 80%) ca solid alb. ES/MS (m/z): 512 (M+H).

Exemplul 39

35 5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1H-piridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-[4-(3-pirazol-1-ilazetidin-1-il)ciclohexil)etil]-7,8-dihidro-6H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă

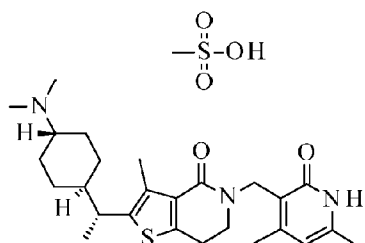


Se adaugă THF (5 mL) și DIPEA (0,500 mL, 2,87 mmol) la o soluție de 1-(azetidin-3-il)pirazol (0,380 g, 3,09 mmol) în MeOH (5 mL), amestecul rezultat se agită la RT timp de 30 min, se
 40 adaugă 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-(4-oxociclohexil)etil]-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă (0,400 g, 0,763 mmol, puritate 84%), și se agită amestecul peste noapte la RT. Se răcește amestecul de reacție la -78 °C, se adaugă o soluție de LiBH₄ 2M în THF (0,720 mL, 1,4 mmol), se agită amestecul rezultat la -78 °C
 45 timp de 2 ore, se încălzește la RT, se agită timp de 2 ore, se toarnă amestecul în soluție apoasă saturată de NaHCO₃ răcită cu gheață, se extrage cu DCM (3x100 mL), se separă straturile, și se concentrează fazele organice combinate in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie cu fază inversă pe silice C-18, eluand cu un gradient de 5-60% ACN în NH₄CO₃ apos 10 mM, pentru

a da compusul din titlu (0,110 g, randament 26%) ca solid alb, după evaporarea solventului și uscare in vid. ES/MS (m/z): 548 (M+H).

Exemplul 40

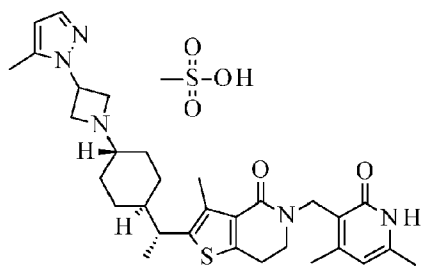
5 **Metansulfonat de 2-[(1R)-1-[*trans*-4-(dimetilamino)ciclohexil]etil]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă**



10 Se adaugă MsOH (9,1 mg, 94,3 mmol) la o suspensie de 2-[(1R)-1-[*trans*-4-(dimetilamino)ciclohexil]etil]-5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă (42,9 mg, 90,5 mmol) în MeOH (2 mL) și se sonicează pentru a obține o soluție incoloră. Se concentrează soluția in vid pentru a obține compusul din titlu (47,8 mg, randament 93,8%) ca solid alb. ES/MS (m/z): 454,3 (M-H).

Exemplul 41

15 **Metansulfonat de 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{*trans*-4-[3-(5-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă**

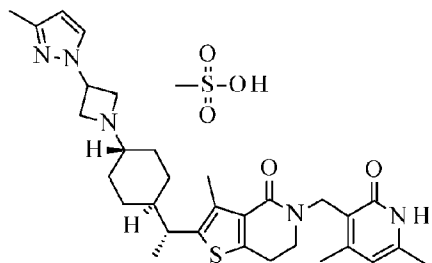


20 Se adaugă o soluție de MsOH (1,55 μ L, 0,0238 mmol) în MeOH (1 mL) la o soluție de 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1H-piridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-[4-[3-(5-metil-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil]etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4-onă (12,7 mg, 0,023 mmol) în MeOH (2 mL). Se sonicează amestecul pentru a obține o soluție clară. Se concentrează în vid și se usucă reziduul rezultat într-un cuptor la aproximativ 40 °C, apoi la RT timp de cateva zile, pentru a da compusul din titlu (13,8 mg, randament 84%) ca solid alb. ES/MS (m/z): 548 (M+H).

25

Exemplul 42

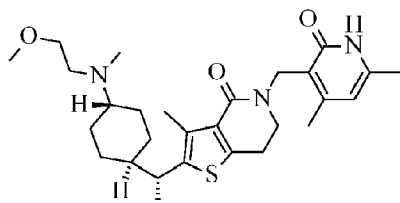
30 **Metansulfonat de 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{*trans*-4-[3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă**



35 Se adaugă MsOH (1,73 μ L, 0,0265 mmol) la o suspensie de 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-3-metil-2-[(1R)-1-{*trans*-4-[3-(3-metil-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-il]ciclohexil}etil]-6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin-4(5H)-onă (14,5 mg, 0,027 mmol) în MeOH (2 mL). Se concentrează soluția in vid și se usucă reziduul rezultat într-un cuptor cu vid la 50 °C timp de 2 ore pentru a da compusul din titlu (15,1 mg, randament 89%), ca solid alb. ES/MS (m/z): 548 (M+H).

Exemplul 43

5-[(4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[2-metoxietil](metil)amino]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-C]piridin-4(5H)-onă



5 Se dizolvă 5-[(2-metoxi-4,6-dimetil-3-piridil)metil]-2-[(1R)-1-{trans-4-[2-metoxi-etil(metil)amino]ciclohexil}etil]-3-metil-6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-4-onă (48,0 mg, 0,093 mmol) în DMF (3,0 mL). Se adaugă LiCl (30,0 mg, 0,71 mmol) și PTSA (30mg, 0,16 mmol). Se încălzește amestecul la 60 °C timp de 4 ore. se răcește la RT și se agită peste noapte. Se diluează cu EtOAc (30 mL) și apă (3 mL). Se extrage acetatul de etil strat cu apă și se usucă faza EtOAc pe
10 MgSO₄. Se filtrează și se concentrează filtratul in vid. Se supune reziduul rezultat la cromatografie pe silice, eluand cu un gradient de MeOH 0-10% în DCM, pentru a da compusul din titlu (47 mg, randament cantitativ) ca pulbere albă, după îndepărtarea solventului. ES/MS (m/z): 500 (M+H).

Teste biologice

Expresia EZH2 a fost legată în literatura de specialitate de mai multe tipuri de cancer, de exemplu, limfoame (Velichutina, I. et al. (2010) Blood 116:5247-55; Sneeringer, C.J. et al. (2010) Proc Natl Acad Sci SUA. 107:20980-5; McCabe et al. (2012) Nature 492:108-12. Beguelin, W. et al. (2013) Cancer Cell 23:677-92; Kpiuliteon, S.K. et al. Mol Cancer Ther 13:842-54), tumori rabdoide (Kpiuliteon, S.K. et al. (2013) Proc Natl Acad Sci U S A. 110: 7922-7), tumori la care SNF5 lipsește sau are defecte (Wilson, B.G. et al. (2010) Cancer Cell 18:316-28), sarcoame (Kadoch și Crabtree (2013) Cell 153:71-85; Shen et al. (2016) Sci Rep 6:25239), mielom multiplu (Kalushkova, A. et al. (2010) PLoS One 5:e11483; Popovic, R. et al. (2014) PLoS Genet, 10:e1004566; Hernando, H. et al. (2016) Mol Cancer Ther. 15(2):287-98; Agarwal, P et al. (2016) Oncotarget 7:6809-23), melanom (Zingg et al. (2015) Nat Commun. 6:6051; Barsotti, A.M. et al. (2015) Oncotarget 6(5):2928-38; Souroullas, G.P. et al. (2016) Nat. Med. 22:632-40), cancer colorectal (Nagarsheth, N. et al. (2016) Cancer Res. 76:275-82), cancer pulmonar (Byers, L.A. et al. (2012) Cancer Discov. 2:798-811; Behrens, C. et al. (2013) Clin Cancer Res, 19:6556-65; Riquelme, E. et al. (2014) Clin Cancer Res. 20:3849-61; Fillmore, C.M. et al. (2015) Nature 520:239-42), cancer la rinichi (Adelaiye, R. et al. (2015) Mol Cancer Ther, 14(2):513-22), cancer la san (Kleer, C.G. et al. (2003), Proc Natl Acad Sci U S A. 100:11606-11; Ren et al. (2012) Cancer Res 72:3091-104), cancer ovarian (Bitler et al. (2015) Nat Med 21:231-8), și cancer la prostată (Varambally, S. et al. (2002) Nature 419:624-9; Yu, J. et al. (2007) Cancer Res. 67:10657-63; Varambally, S. et al. (2008) Science 322:1695-9; Yu, J. et al. (2010) Cancer Cell 17:443-54).

Rezultatele următoarelor teste demonstrează faptul că, compușii din Exemplele 1-43 sunt inhibitori ai EZH2 și că, compușii prezentei invenții, de exemplu, Exemplele 1, 9, 13, 22, și 38 din
35 acest document pot fi utile în tratarea cancerului. Așa cum s-a utilizat în acest document, „IC₅₀” se referă la concentrația unui agent care produce 50% din răspunsul inhibitor maxim posibil pentru acel agent, (IC₅₀ relativă), sau concentrația unui agent care produce inhibare 50% a activității enzimei țintă în comparație cu martorul placebo (IC₅₀ absolută).

Test Biochimic al EZH2 WT/Y641N mut în plăci cu 384 de godeuri

40 Scopul acestui test este de a măsura efectul compusului asupra activității catalitice a EZH2 WT/Y641N în contextul complexului PRC2.

Se exprimă EZH2 marcat cu FLAG sau EZH2 Y641N sub formă de complex cu 5 membri (5-mer) al PRC2 constând din proteinele EZH2, EED, SUZ12, RBBP4 și AEBP utilizând un sistem de exprimare a baculovirusului în celule Sf9, și se purifică utilizând FLAG® Affinity Purification (Sigma-Aldrich). Se diluează complexul enzimatic într-un stoc de lucru de 3,33 nM (6,67 nM pentru testul mut) cu Tampon de Testare (Tris-HCl pH 8,5 50 mM, DTT 10 mM, TRITON®-X 100 0,005%). În testul WT se diluează peptida co-activator non-biotin lizină 27 histonă tri-metilată H3 (21-44) (CPC Scientific Cat # 869799) în soluția de lucru a enzimei de mai sus, la o concentrație finală de 13,33 nM. Se co-diluează substratul peptidei biotin histonă H3 (21-44) (resturi 21-44, CPC Scientific Cat# 811115) pentru testul WT sau substratul peptidei biotin lizină 27 histonă di-metilată H3 (21-44) (CPC Scientific, Cat# 830754) pentru testul mut cu ³H-SAM (Adenozil-L-metionină, S-(metil)-³H(Adomet), lot 169500/12, 15 Ci/mmol sau 0,55 mCi/mL, 36,7 μM, Perkin Elmer NET155) la o concentrație finală de 4 μM (test WT) sau 2 μM (test mut) în Tampon de Testare.

Se adaugă compușii testați în DMSO 100% (50 μ L dintr-un stoc 4 mM pentru testul WT sau 50 μ L dintr-un stoc 0,2 mM pentru testul mut) la o placă cu 384 godeuri NUNC™ (Thermo Scientific, Cat# 264573). Se plasează 20 μ L DMSO 100% în godeurile de diluție. Se efectuează 3 $\times$ diluții seriale transferând 10 μ L dintr-un godeu în următorul. În testul WT, se amestecă 2 μ L de compus diluat serial cu 38 μ L de DMSO într-o placă cu 384 de godeuri Labcyte (Cat# P-05525), în timp ce în testul mut, se transferă toți cei 20 μ L de compus diluat serial la placa cu volum scăzut Labcyte cu 384 de godeuri (Cat# LP-0200). 200 nL (test WT) sau se transferă acustic 100 nL (test mut) compus la un recipient placă de testare cu 384 de godeuri (Corning 3706). În testul WT, se distribuie 15 μ L de amestec enzima/peptidă co-activator tri-metil H3 în placa de testare, urmat de 5 μ L de amestec substrat de peptidă biotină H3/³H-SAM. Se sigilează plăcile și se agită timp de 2 ore la RT. Condițiile de testare finale sunt complex enzimatic 2,5 nM, tri-metil histonă/co-activator peptidă H3 10 nM, substrat peptidă biotină 1 μ M, 1 μ M ³H-SAM, și compus de testat la o concentrație de vârf de 1 μ M (test WT); sau complex enzimatic 5 nM substrat peptidă biotină, 0,5 μ M, ³H-SAM 0,5 μ M, și compus de testat la o concentrație de vârf de 1 μ M (test mut). Se reconstituie perle de Yttriu Silicete Streptavidină SPA (Perkin Elmer, Cat# RPNQ0012) la 1 mg/mL (test WT) sau 0,5 mg/mL (test mut) în guanidină-HCl 3 M. Se adaugă amestecul de perle la plăcile de testare la 20 μ L pe godeu, se agită timp de 10 min, și se lasă să stea timp de 1 oră la RT înainte de numărare pe MICROBETA®. Se calculează datele primare (CPM) și se normalizează la % inhibare utilizând Genedata Test Analizor ca % Inhibare = 100 - [(CPM Compus de testat - CPM Min Mediu)/(CPM Max Mediu - CPM Min Mediu) $\times$ 100]. Datele normalizate se reprezintă grafic și se interpretează curbele utilizând GENEDATA® Condooseo ca % inhibare (axa y) vs. log concentrație compus (axa x), și se determină valorile IC₅₀ utilizând un algoritm de fitare logistic neliniar cu 4 parametri. Compușii din domeniul invenției pot fi testați în acest test în esență așa cum s-a descris mai sus. De exemplu, compușii din Exemplele 1 și 20 au rezultate biochimice IC₅₀ care demonstrează inhibarea activității metiltransferazei din EZH2 WT recombinant/mut în contextul complexului PRC2. De exemplu, compusul din Exemplul 1 prezintă o IC₅₀ de 2,06 $\pm$ 1,90 nM (n=5) față de EZH2 5-mer WT și 2,11 $\pm$ 0,58 nM (n=2) față de EZH2 5-mer mut. Compusul din Exemplul 22 prezintă o IC₅₀ de 3,29 $\pm$ 1,24 nM (n=3) față de EZH2 5-mer WT și 7,21 nM (n=1) față de EZH25-mer mut. Compusul din Exemplul 38 prezintă o IC₅₀ de 0,923 $\pm$ 0,091 nM (n=2) față de EZH2 5-mer WT și 2,65 nM (n=1) față de EZH25-mer mut.

ELISA pe bază de celule H3K27me3

Scopul acest test este de a evalua capacitatea unui compus de a inhiba activitatea funcțională a EZH2 în celule, prin măsurarea nivelurilor de H3K27tri-metilată în celule. Se plachează celule Karpas-422 (EZH2 Y641N) la 5000 celule/100 μ L/godeu în plăci cu Poli-Lizină BD BIOCOAT® Cellware, cu 96 de godeuri, negre (BD Biosciences, Cat# 354640). Se pregătesc plăcile cu compus în Plăci MICROWELL™ de Polipropilenă cu 96 de godeuri NUNC™ (Thermo Scientific Cat# #249944) cu adăugarea a 40 μ L/godeu de compus 10 mM (reprezentând concentrația finală de început de 20 μ M) sau 40 μ L DMSO, apoi se prepară diluții seriale prin transferul a 20 μ L dintr-un godeu în următorul. Se adaugă 5 μ L de compus de testat la 245 μ L/godeu de mediu de creștere într-o placă separată MICROWELL™ de polipropilenă cu 96 de godeuri NUNC™, și se marchează cu 11 μ L amestec de compus/mediu pe plăcile cu celule. Se plasează plăcile cu celule într-un incubator la 37 °C timp de 48 ore. Se îndepărtează plăcile din incubator, se plasează plăcile la temperatura camerei timp de 15-20 min, și se rotesc plăcile la 1000 rpm timp de 5 min. Se fixează celulele cu 30 μ L de paraformaldehidă 16% timp de 15 min la RT. Se îndepărtează paraformaldehida și se permeabilizează celulele cu 100 μ L/godeu PBS fără calciu sau magneziu (-/-) conținând TRITON® X-100 0,1% timp de 20 min la RT. Se spală plăcile cu PBS(-/-) (2 $\times$), urmată de incubare timp de 2 ore la RT 50 μ L/godeu de soluție de anticorp primar (Diagenode anti-H3K27me3 MAb-181-050; diluție 1:3000 în PBS cu calciu și magneziu (+/+)) conținând BSA 1%). Se spală plăcile cu PBS-/-, (3 $\times$) urmată de incubare cu 50 μ L/godeu soluție de anticorp secundar (anticorp de capră anti IgG de soarece Alexa 488, Invitrogen Cat# A11001; diluție 1:1000 în PBS+/+) timp de 1 oră la RT, în întuneric. Se spală plăcile cu PBS-/-, (3 $\times$), urmată de adăugarea a 50 μ L/godeu de soluție de colorare de iodură de propidiu 5 μ g/mL (Invitrogen; Cat# p3566) în PBS conținând 200 μ g/mL ARN-ază (Invitrogen; Cat# 12091021). Se acoperă plăcile cu sigilii de placă negre și se scanează pe Citometru cu scanare laser ACUMEN® (TTP Lab Tech) cu Ex 488nm/Em 505 nm-530 nm (semnal H3K27m3) și LP655nm (semnal nuclear celular). Compușii din domeniul invenției pot fi testați în acest test substanțial așa cum s-a descris mai sus. De exemplu, compusul din Exemplul 1 prezintă o IC₅₀ celule H3K27me3 de 19,2 $\pm$ 1,55 nM (n=2) sau 23,6 $\pm$ 20,5 nM (n=6) în MDA MB-231 și respectiv Karpas-422. Compusul din Exemplul 22 prezintă o IC₅₀ celule H3K27me3 de <1 nM (n=1) sau 0,0148 $\pm$ 0,0147 nM (n=6) în MDA MB-231 și respectiv Karpas-422. Compusul din Exemplul 38 prezintă o IC₅₀ celule H3K27me3 de 0,00973 $\pm$ 0,00956 nM (n=4) în Karpas-422.

Test de Proliferare a Karpas-422

Scopul acestui test este de a demonstra capacitatea compușilor testați de a inhiba creșterea celulelor tumorale *in vitro*.

- Se plachează celulele Karpas-422 la o densitate de 5000 celule/100 μ L/godeu în 96 godeuri, plăci Poli-Lizină BD BIOCOAT® Cellware, cu 96 de godeuri, negre (BD Biosciences, Cat# 354640). 40 μ L de compus de testat 10 mM (reprezentând concentrația finală de început de 20 μ M) sau se adaugă DMSO 100% la o Placă MICROWELL™ din Polipropilenă cu 96 de godeuri NUNC™ (Thermo Scientific Cat# #249944). Se efectuează diluții seriale prin transferul a 20 μ L de la un godeu la următorul. Se adaugă 5 μ L de compus la 245 μ L/godeu de mediu de creștere într-o Placă MICROWELL™ de Polipropilenă cu 96 de godeuri separată NUNC™ și se marchează cu 11 μ L de amestec compus/mediu pe plăcile cu celule. Se incubează plăcile cu celule la 37 °C timp de 7 zile. Se adaugă 100 μ L/godeu de reactiv Cell Titer GLO® (Promega, Cat# G7671) la plăcile cu celule. Se agită 2 min și se măsoară luminiscenta utilizând un cititor de placă. Compușii în domeniul invenției pot fi testați în acest test în esență așa cum s-a descris mai sus. De exemplu, compusul din Exemplul 1 prezintă o IC₅₀ de 176±165 nM (n=5). Compusul din Exemplul 22 prezintă o IC₅₀ de 84,5±42,7 nM (n=5). Compusul din Exemplul 38 prezintă o IC₅₀ de 10,1±4,6 nM (n=4).

Studii de Xenogrefă

- Scopul acestui test este de a evalua capacitatea unui compus de testat de a inhiba funcția EZH2 în tumoare și creșterea tumorii mediată de EZH2 *in vivo*.

- Se efectuează studii *in vivo* de inhibiție și eficacitate cu compusul din Exemplul 1 folosind modelul de xenogrefă Karpas-422 în esență, așa cum este descris în McCabe et al. (2012) Nature 492:108-12, cu următoarele modificări/specificații: 1) Se utilizează hidroxietilceluloză (HEC 1%/TWEEN® 80 0,25%/antispumant 0,05%) în loc de CAPTISOL® 20% ca vehicul de formulare; 2) Se administrează compusul prin gavaj oral mai degrabă decât prin injecție intraperitoneală; 3) Se începe tratamentul cu compus când volumele tumorale atinse sunt în intervalul de 150-200 mm³ pentru experimente de eficacitate și 300-350 mm³ pentru experimente de inhibare a țintei și; 4) Se măsoară inhibarea metilării tumorale sau expresia TNFRSF21 tumorale în ziua 7 în loc de ziua 10.

- Măsurarea bazată pe ELISA a H3K27 tri-metilată derivată din tumoare**

- Pentru a extrage cu acid histonele din tumori, se plasează secțiuni tumorale de aproximativ 0,5 cm pe 0,25 cm sau 20-30 mg în greutate în eprubete Lysing Matrix D 500 x 2 ml fără ARNază/ADNază cu perle pentru omogenizare (MP Biomedicals, Cat# 6913-500). Se adaugă 650 μ L de Tampon de Lizare Acid (HCl 0,4 N conținând Tablete Cocktail Inhibitor de Protează (Roche; Cat# 11836153001)). Se omogenizează mostrele din tumoare de 2-3 ori la viteză de 6 m/secundă timp de 20 secunde într-un omogenizator FASTPREP® FP120. Se așează probele pe gheață timp de 1 oră pentru a se separa. Se transferă supernatanții la o eprubetă Eppendorf și se plasează într-o eprubetă rotatorie pentru lizare peste noapte la 4°C. Se rotesc probele la 8000 rpm timp de 10 min la 4 °C. Se transferă supernatanții într-o eprubetă nouă și se măsoară concentrația de proteină.

- Se adaugă 150 μ L/godeu de Soluție de blocare A MSD (Meso Scale Discovery (MSD); concentrație finală de 3%) pe o placă MULTI-SPOT® Tri-Metil-Histone H3(K27) SINGLEPLEX® (MSD; Cat#: N45CA-1). Se agită la RT timp de 1 oră. Se spală placa cu IX MSD Tris Wash Buffer™ (MSD), (3×). Se distribuie 0,25 μ g de lizat tumoral în 25 μ L Tampon de Lizare Acid pe godeu, în triplicat. Se agită peste noapte la 4 °C. Se spală placa de trei ori cu IX MSD Tris Wash Buffer™. Se adaugă 25 μ L/godeu de anticorp de detecție SULFO-TAG™ - Trimetil-Histonă H3 (K27) diluat la o concentrație finală de 1,5 μ g/ μ L în Tampon de Diluare a Anticorpului (concentrații finale de MSD Blocant-A 1%; MSD Blocant D-B 0,1% și MSD® Blocant D-G 0,1%). Se agită timp de 1-2 ore la RT. Se spală placa de trei ori cu IX MSD Tris Wash Buffer. Se fixează placa cu adăugare de 100 μ L/godeu de formaldehidă 4% în PBS. Se agită timp de 30 min la RT. Se spală plăcile de trei ori cu 1× MSD Tris Wash Buffer. Se adaugă 150 μ L/godeu Tampon de Citire IX MSD® și se măsoară chemoelectroluminiscenta utilizând un instrument MSD SECTOR® Imager 6000. Un compus în domeniul invenției poate fi testat în acest test în esență așa cum s-a descris mai sus. De exemplu, administrarea BID la șoareci a 50 mpk de compus din Exemplul 1 conduce la inhibarea 53% a metilării tumorii (n=8 șoareci; p<0,0001). Administrarea BID la șoareci a 15 mpk de compus din Exemplul 38 conduce la inhibarea 73% a metilării tumorii (n=8 șoareci; p<0,0001).

Măsurarea bazată pe qPCR a expresiei TNFRSF21 ARNm care derivă din tumoare

- Pentru a izola ARN din țesut tumoral, se plasează secțiuni de tumoare de aproximativ 0,5 cm pe 0,25 cm sau 20-30 mg în greutate, în eprubete Lysing Matrix D 500 x 2 ml fără ARNază/ADNază cu perle pentru omogenizare (MP Biomedicals, REF: 6913-500). Se adaugă 650

μL de tampon RLT din Kitul RNEASY® (Qiagen; Cat#74104). Se omogenizează mostrele din tumoare 2-3 ori la viteză de 6 m/secundă timp de 20 secunde într-un omogenizator FASTPREP® FP120. Se așează probele pe gheață pentru a se răci timp de 10 min. Se centrifughează la 13 000 rpm timp de 10 min la 4°C. Se plasează supernatantii într-o eprubetă QIA și se izolează ARN-ul

5 utilizând Kitul RNEASY® (Qiagen; Cat#74104).

Se prepară ADNc de la 3 μg de ARN tumoral utilizând Kitul de transcripție inversă a ADNc de înaltă capacitate (Applied Biosystems; Cat# 4368813) și mostrele incubate într-un PCR Thermocycler utilizând următoarele condiții ale ciclului: 10 min la 25 °C; 2 ore la 37 °C, menținere la 4°C. Se amplifică ADNc produs utilizând Thermo Scientific Absolute Blue QPCR ROX Mix (Applied Biosystems; Cat# AB-4139) și probe Taqman pentru TNFRSF21 (Applied Biosystems; Cat# Hs01560899_ml) și housekeeping gena GAPDH (Applied Biosystems; Cat# Hs02758991-gl) în Applied Biosystems ViiA 7™ Real-Time PCR cycler. Se calculează valorile pragului ciclului TNFRSF21 și se normalizează la nivelurile de GAPDH ale mostei respective. Un compus în domeniul invenției poate fi testat în acest test în esență așa cum s-a descris mai sus. De

10

15

exemplu, administrarea BID a 50 mpk de compus din Exemplul 1 conduce la o creștere de 25 de ori a expresiei genei TNFRSF21 în tumoare (n=8 șoareci; p<0,0001). Administrarea BID a 15 mpk compus din Exemplul 38 conduce la o creștere de 60 de ori a expresiei genei TNFRSF21 în tumoare (n=8 șoareci; p<0,0001).

Tratamente de combinație cu inhibitori ai EZH2 și alți agenți chimioterapici ai cancerului

Următoarele paragrafe furnizează dovezi care susțin utilizarea inhibitorilor EZH2, incluzând, dar nu exclusiv, Ex. 1 sau Ex. 38, singuri și/sau în combinație cu chimioterapie Standard de Ingrijire (SoC), în tratamentul cancerelor ovarian, gastric, pulmonar sau colorectal care poartă combinații de mutații în componentele complexului SWI/SNF și/sau complexului MLL și/sau căii PI3K. Acestea include, dar nu sunt exclusive, cancere ovariene care nu au expresia proteinei ARID1A combinată cu mutații în PTEN sau PIK3CA și/sau expresia proteinei constitutive din Akt fosforilată pe treonină 308 (Thr308). În plus, acestea includ, dar nu sunt exclusive, cancerele ovariene, în care lipsesc expresiile ambelor proteine SMARCA2 și SMARCA4. Suplimentar, acestea include, dar nu sunt exclusive, cancerele gastrice care poartă mutații cu pierderi de funcție (LOF) heterozigote (incluzând dar nu limitat la acestea, mutații nonsens, frameshift și coding-splice) în ARID1A combinate cu mutații LOF heterozigote în MLL2, și care nu poartă mutații homozigote în TP53. Suplimentar, acestea include, dar nu sunt exclusive, cancere gastrice care poartă o mutație LOF heterozigotă (incluzând dar nu limitat la acestea, mutații nonsens, frameshift și coding-splice) în ARID1A combinate cu o mutație în PTEN sau PIK3CA și/sau expresia proteinei constitutive din Akt fosforilată pe Thr308, și care nu poartă mutație homozigotă în TP53. Suplimentar, acestea includ, dar nu sunt exclusive, cancere pulmonare cu mutații LOF heterozigote în MLL3. Suplimentar, acestea include, dar nu sunt exclusive, cancere colorectale cu mutații LOF heterozigote în ARID1A combinate cu mutații în PTEN sau PIK3CA și/sau expresia proteinei constitutive din Akt Akt fosforilată pe Thr308.

20

25

30

35

Se testează linii celulare de cancer ovarian pentru răspunsul la Exemplul 1 sau Exemplul 38 într-un test de proliferare de 7 sau 10 zile. Se optimizează fiecare linie celulară pentru numărul de celule și regimul de divizare care maximizează creșterea fazei log în formatul cu 96 de godeuri în timpul perioadei de 7 sau 10 zile. Se plachează celulele într-o placă cu 96 de godeuri acoperită cu poli-D-lizină, cu fund clar, cu 96 de godeuri negre, (BD BioSciences; BD BIOCOAT™ Cellware, Poly-Lysine, Cat. #354640) în ziua 0 într-un volum total de 90 μL mediu de cultură celulară și se incubează la 37 °C/5% CO₂ timp de 18-24 ore. În ziua 1, se pregătește o placă de diluție a compusului prin adăugarea a 150 μL mediu conținând dimetil sulfoxid 2% (DMSO; Sigma-Aldrich Cat. #D2438) la coloanele 3-12 ale unei plăci cu fund plat clar cu 96 de godeuri (placă de cultură celulară CORNING® COSTAR® Cat #3596). Se prepară stocuri 10 mM din Exemplul 1 sau Exemplul 38 în DMSO 100%, și se diluează în continuare la o concentrație de lucru 200 μM în mediu de cultură celulă. Se adaugă 225 μL din Exemplul 1 sau Exemplul 38 în coloana 2 a plăcii de diluție a compusului, și se prepară diluții seriale 1:3 în 10 puncte ale compusului de testat cu coloanele 3 până la 12. Se adaugă 10 μL de compus diluat serial la plăcile de celule, rezultând o concentrație finală de compus de testat în intervalul de 1 nM până la 20 μM și o concentrație finală de DMSO de 0,2%. La sfârșitul perioadei de testare de 7 sau 10 zile, celule se supun la Testul de Viabilitate celulară Luminescent CELLTITER-GLO® (Promega, Cat. #G7570) după cum urmează: 1) Se dezgheață tamponul CELLTITER-GLO® și se echilibrează la temperatura camerei; 2) Se echilibrează substratul CELLTITER-GLO® liofilizat la temperatura camerei; 3) Se transferă tamponul CELLTITER-GLO® în vasul cu substrat pentru a forma reactivul CELLTITER-GLO®; 4) Se echilibrează plăcile cu celule la temperatura camerei; 5) Doar pentru celulele aderente – se îndepărtează mediul de la plăcile cu celule; 6) Se adaugă 25 μL reactiv CELLTITER-GLO® la fiecare godeu; 7) Se lasă plăcile să se incubeze încă 20-30 min la

40

45

50

55

60

temperatura camerei; 8) Se citește luminiscenta utilizând cititorul de microplacă multi detecție Perkin Elmer EnVision 2104.

- Se derivă lizatele de celule întregi ale liniilor de celule canceroase ovariene așa cum s-a descris în Ye, X.S. et al. (1997) Methods Enzymol. 283:520-32 și se măsoară prin Western blot pentru expresia proteinei din complexul SWI/SNF, complexul MLL și componentele căii PI3K incluzând ARID1A, SMARCA2, SMARCA4 (utilizând SDS-PAGE 3-8%) și Akt fosforilată pe Thr308 (utilizând SDS-PAGE 4-20%), utilizând următorii anticorpi: anti-ARID1A (Betil, Cat. #A301-040A); anti-SMARCA2/BRM (Abcam, Cat. # ab15597); anti-BRG1/SMARCA4 (Betil, Cat. #A300-813A) și anti-fosfo-Akt (Thr308) Anticorp D25E6 (Cell Signaling, Cat. #13038). Se utilizează anti-Akt (pan) Anticorp 40D4, (Cell Signaling, Cat. #2920) și anticorpi anti- β -actină AC-74 (Sigma, Cat. #A2228) pentru a măsura Akt total și nivelurile de actină drept controale pentru încărcarea proteinei.

- Tabelul 1 rezumă efectul din Exemplul 38 asupra unei liste de linii celulare ovariene și arată sensibilitatea pentru inhibitorii EZH2 în linii celulare de cancer ovarian care sunt fie atât ARID1A-negative cât și Akt fosforilate pe Thr308, fie fără expresie atât în SMARCA2 cât și în SMARCA4.

Tabelul 1. Efectul Exemplului 38 asupra proliferării liniilor celulare de cancer ovarian 9, precum și asupra SWI/SNF și profilelor de exprimare ale proteinei componentelor căii PI3K.

Linie celulară de cancer ovarian	IC ₅₀ Exemplul 38 (μM)	Nivel de expresie a proteinei			
		ARID1A	SMARCA2	SMARCA4	AKT-pT308
COV-434	0,02	+	-	-	-
TOV-21G	0,1	-	+	+	+++
TOV-112D	0,2	+	-	-	-
A2780	0,2	-	-	+	+
Caov-3	8,0	+	+	+	-
OVCAR3	8,6	+	+	+	-
SKOV3	>20	+	+	+	+
HeyA8	>20	+	+	+	-
HEC59	>20	+	+	+	-

- Efectul Exemplului 38 în comparație cu SoC carboplatin plus paclitaxel în cancer ovarian este testat *in vivo* utilizând un model de xenogrefă A2780. Se plantează subcutanat 2 milioane celule A2780 în MATRIGEL® 50% în flancul posterior drept de la 10 șoareci atimici nuzi (Envigo RMS, Inc., Indianapolis, IN) pe grup. Se începe tratamentul când volumele tumorilor ating 100-150 mm³. Se pre-tratează animalele timp de 5 zile cu Exemplul 38 urmat de co-administrarea Exemplului 38 și SoC timp de cel puțin 23 zile în plus sau până când volumele tumorale la tratament cu vehicul ating 2000 mm³. Se formulează Exemplul 38 în HEC 1%/TWEEN® 80 0,25%/Antispumant 0,05% și se administrează 50 mpk de două ori pe zi (BID) prin gavaj oral (p.o.). Se formulează carboplatin (APP Pharmaceuticals NDC 63323-172-60) în soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) și se administrează la 60 mpk 2 săptămâni (Q14D) prin injecție intraperitoneală (i.p.). Se formulează paclitaxel (Hospira, Inc NDC 61703-342-50) în PBS și se administrează la 10 mpk Q14D prin injecție intravenoasă (IV). Se măsoară inhibarea creșterii tumorale ca $\Delta T/C$ (%), calculată ca medie a animalelor individuale [(volum tumoral pentru tratament cu Exemplul 38 28 zile minus volumul tumoral la ziua 0), împărțit la (volumul tumoral la tratament cu vehicul 28 zile minus volumul tumoral la ziua 0)], înmulțit cu 100. Tabelul 2 rezumă rezultatele efectelor Exemplului 38 și SoC de cancer ovarian asupra creșterea tumorii A2780 în 28 zile de tratament. În contrast cu efectul slab al SoC singur asupra creșterea tumorii A2780, inhibarea semnificativă a creșterii tumorii A2780 este observată după tratament cu 50 mpk BID p.o. cu Exemplul 38 singur, și după tratament cu Exemplu 38 50 mpk QD p.o. în combinație cu SoC.

- Tabelul 2: Efectul Exemplului 38, al SoC ovarian carboplatin plus paclitaxel, și al Exemplului 38 în combinație cu SoC, asupra creșterii tumorii A2780 la administrare 28 de zile.

Tratament	Doză și frecvență	Cale	$\Delta T/C$ (%), valoare p
Exemplu 38	50 mpk BID	p.o.	10,5 (p<0,001)
carboplatin/paclitaxel	60 mpk Q14D (carboplatin)	i.p. (carboplatin)	64,9 (p=0,084)
	10 mpk Q14D (paclitaxel)	IV. (paclitaxel)	

Tratament	Doză și frecvență	Cale	$\Delta T/C$ (%), valoare p
Exemplu 38 + carboplatin/paclitaxel	50 mpk QD (Ex. 38)	p.o. (Ex. 38)	15,6 (p<0,001)
	60 mpk Q14D (carboplatin)	i.p. (carboplatin)	
	10 mpk Q14D (paclitaxel)	IV (paclitaxel)	

- START Discovery (<http://startdiscovery.net/>) are o platformă de modele tumorale derivate de la pacient. Se selectează două modele START Discovery de cancer ovarian derivat de la pacient pe baza prezenței sau absenței mutațiilor componentei SWI/SNF de pierdere a funcției și ale căii PI3K, și se testează la START Discovery pentru efectul Exemplului 1 asupra creșterii tumorii. Se tratează 2 grupuri de 2 șoareci fiecare timp de 28 zile. Grupul 1 se tratează cu compuși de Îngrijire Standard în cancer ovarian (SoC) carboplatin (format în NaCl 0,9% și administrat la 60 mpk Q14D i.p.) și paclitaxel (format în NaCl 0,9% și administrat la 10 mpk Q14D IV). Grupul 2 se pre-tratează cu Exemplul 1 (format în HEC 1%/TWEEN® 80 0,25%/Antispumant 0,05% și se administrează la 50 mpk BID p.o.) timp de 5 zile, urmat de co-administrarea Exemplului 1 și a SoC timp de 23 zile sau până când volumele tumorale ating 2000 mm³. Se monitorizează modelele care prezintă staza sau regresia tumorii cu tratament de combinație la 28 de zile după încetarea administrării până când este observată re-creșterea tumorii. Se compară media % de modificare a volumului tumoral față de volumul tumoral de bază la ziua 0, și se calculează ca medie a animalelor individuale [(volumul tumoral la tratament x zile minus volumul tumoral la ziua 0), împărțit la volumul tumoral la ziua 0], înmulțit cu 100. Tabelul 3 rezumă efectul tratamentului cu Exemplul 1 asupra creșterii din cele două modele de tumoare ovariană derivate de la pacient. ST884 - un model de tumoare ovariană derivată de la pacient prezentând inhibarea semnificativă a creșterii tumorale la tratamentul cu Exemplul 1 poartă o mutație homozigotă în ARID1A combinată cu o mutație în PIK3CA. În contrast, ST416 - un model de tumoare ovariană derivată de la pacient care este ARID1A mutant heterozigot și fără mutație în PIK3CA sau PTEN - nu prezintă inhibarea creșterii tumorale la tratamentul cu Exemplul 1.
- Tabelul 3: Efectul Îngrijirii Standard (SoC) de cancer ovarian, carboplatin și paclitaxel, sau al combinației Exemplu 1 plus SoC, asupra creșterii în 2 modele de tumori ovariene derivate de la pacient.

Model tumoral derivat de la pacient cu cancer ovarian	Medie % modificare a volumului tumoral			Mutație			
	SoC	Ex. 1 + SoC	Zi	ARID1A LOF	SMARCA2 LOF	SMARCA4 LOF	PIK3CA
ST884	254 ± 476	29 ± 92	28	+/+	nici una	nici una	D478V +/-
	1713 ± 165	29 ± 92	47				
ST416	1502 ± 464	2107 ± 991	24	+/-	nici una	nici una	nici una

- Oncotest (<http://www.oncotest.com/>) are de asemenea o colecție mare stabilită de explanturi tumorale ale pacientului transplantat direct de la pacienți și trecute subcutanat la șoareci nuzi ca PDX. Se selectează PDX gastrice Oncotest 9 pe baza prezenței mutațiilor SWI/SNF de pierdere a funcției (LOF) și/sau mutațiilor complexe MLL, și se testează la Oncotest pentru efectul Exemplului 1 sau vehiculului asupra creșterii tumorii. Pentru modelele GX-3011, se testează 5 animale pe grup și se tratează timp de 28 zile fie cu vehicul (HEC 1%/TWEEN® 80 0,25%/Antispumant 0,05%) fie cu Exemplul 1 la 50 mpk BID p.o. Se monitorizează modelele care prezintă staza sau regresia tumorii la 28 de zile după încetarea administrării până când este observată re-creșterea tumorii. Se calculează $\Delta T/C$ (%) ca medie a animalelor individuale [(volumul tumoral la tratament cu Exemplul 1 $\geq$ 28 zile minus volumul tumoral la ziua 0), împărțit la (volumul tumoral la tratament cu vehicul $\geq$ 28 zile minus volumul tumoral la ziua 0)], înmulțit cu 100.

- Pentru alte PDX gastrice Oncotest, se tratează 2 grupuri de 2 șoareci fiecare timp de 28 zile. Grupul 1 se tratează cu compuși de îngrijire Standard (SoC) de cancer gastric, oxaliplatin (format în glucoză 5% și administrat la 8 mpk Q14D i.p.) și paclitaxel (format în NaCl 0,9% și administrat la 10 mpk Q14D IV). Animalele din Grupul 2 se pre-tratează cu Exemplul 1 (format

în HEC 1%/TWEEN® 80 0,25%/Antispumant 0,05% și administrat la 50 mpk BID p.o.) timp de 5 zile, urmat de co-administrarea Exemplului 1 și a SoC timp de 23 zile sau până când volumele tumorale ating 2000 mm³. Se calculează media % modificare a volumului tumoral ca medie a animalelor individuale [(volumul tumoral la tratament ≥ 28 zile minus volumul tumoral la ziua 0), împărțit la volumul tumoral la ziua 0], înmulțit cu 100.

- 5 Tabelul 4 rezumă rezultatele efectelor tratamentului cu Exemplul 1 asupra creșterii în modele de cancer gastric derivat de la un pacient (carcinoame sau adenocarcinoame), și arată că modelele a căror creștere este împiedicată cu tratament cu Exemplul 1 poartă două mutații: 1) cel puțin o mutație LOF heterozigotă în ARID1A și 2) fie o LOF heterozigotă în MLL2 (găsită în PDX-urile GXA-3052, GXA-3079, GXA-3083) și/sau fie o mutație care afectează componente ale căii PI3K (incluzând dar nu limitat la PIK3CA și PTEN; găsită în PDX-urile GXA-3002 și GXA-3005). Modelele a căror creștere nu este inhibată după tratament cu Exemplul 1 au o mutație homozigotă în p53, indiferent de statusul mutației LOF în ARID1A sau MLL2 (ca în PDX GXA 3011), și indiferent de statusul mutației componentelor căii PI3K (ca în PDX GXA-3069).
- 10 Tabelul 4: Efectul SoC oxaliplatin plus paclitaxel, sau combinației din Exemplul 1 plus SoC, asupra creșterii în modelele de cancer gastric derivat de la un pacient.

PDX gastric	ΔT/C (%)	Medie % modificare în volumul tumoral vs. bază (medie ± deviație standard)			Mutație LOF (mutații)		Mutație PIK3CA sau PTEN	TP53
		Exemplu 1	SoC	Exemplu 1 + SoC	Zi	ARID1A	MLL2	
GXA 3002	ND	262 ± 137	122 ± 5	28	wt	wt	PTEN 267fs +/-	wt
		658 ± 247	93 ± 47	42				
GXA 3005	ND	512 ± 96	228 ± 46	25	+/-	wt	PIK3CA C420R +/-	wt
		838	274	46				
GXA 3079	ND	471 ± 267	67 ± 117	28	+/-	+/-	wt	wt
		940	52 ± 75	49				
GXA 3083	ND	709	-41 ± 3	28	+/- (2)	+/-	wt	wt
GXA 3011	141	ND	ND	28	+/-	+/-	wt	71fs -/-, ins70 -/-
GXA 3069	ND	488 ± 258	235	28	+/-	wt	E545A +/-	R273C -/-
GXA 3095	ND	348 ± 33	326 ± 68	28	-/-	+/- (2)	wt	wt
GXA 3096	ND	390	505 ± 303	28	-/-	wt	D545K P2S +/-	+/-, wt
GXF 602	ND	1346	559 ± 123	21	+/-	wt	F542K -/-, E726 +/-	wt

- 20 În mod similar, creșterea în modelul tumoral pulmonar LXFE 937 derivat de la un pacient care poartă două mutații MLL3 heterozigote cu pierdere de funcție, este inhibată semnificativ după tratamentul cu Exemplul 1 în combinație cu SoC de cancer pulmonar, gemcitabină (formulată în NaCl 0,9% și administrată o dată pe săptămână la 120 mpk i.p) plus cisplatin (formulat în NaCl 0,9% și administrat subcutanat la 3,2 mpk o dată pe săptămână). Datele sunt prezentate în Tabelul 5.
- 25 Tabelul 5: Efectul Ingrijirii Standard (SoC) gemcitabină plus cisplatin, sau al combinației din Exemplul 1 plus SoC, asupra creșterii într-un model cu celule scuamoase de carcinom NSCLC derivat de la un pacient cu cancer pulmonar

Model tumoral derivat de la pacient	Tip tumoare	Medie % modificare a volumului tumoral			Mutație LOF
		SoC	Exemplul 1 + SoC	Zile	
LXFE 937	plămân	11 ± 2	-29 ± 25	28	MLL3 (+/-) (2)
		788 ± 113	-79 ± 10	46	

În mod similar, tumoarea C XF 1034 colorectală derivată de la un pacient, care nu exprimă proteină ARID1A și poartă mutații în PIK3CA și PTEN, este inhibată semnificativ în creștere când s-a testat cu combinație din Exemplul 1 și SoC clorhidrat de irinotecan trihidrat (format în NaCl 0,9% și administrat la 20 mpk Q7D IV) plus oxaliplatin (format în glucoză

5 și administrat la 8 mpk Q14D i.p.) Datele sunt prezentate în Tabelul 6.

Tabelul 6: Efectul Îngrijirii Standard (SoC) irinotecan plus oxaliplatin, sau al combinației din Exemplul 1 plus SoC, asupra creșterii din modelul de carcinom colorectal derivat de la un pacient.

Model tumoral derivat de la un pacient	Tip tumoare	Medie % modificare a volumului tumoral			Profil SWI/SNF/MLL
		SoC	Exemplu 1 + SoC	Zile	
CXF 1034	colorectală	650	221 ± 88	28	ARID1A negativ
					PIK3CAR741* (+/-)
					PTEN del63 (+/+)

10

În concluzie, rezultatele descrise mai sus furnizează dovezi care susțin utilizarea inhibitorilor EZH2, inclusiv, dar nu exclusiv pentru Exemplul 1 sau Exemplul 38, singuri și/sau în combinație cu chimioterapia de Îngrijire Standard (SoC), în tratamentul cancerelor ovarian, gastric, pulmonar sau colorectal care poartă combinații de mutații în componentele complexului

15 SWI/SNF și/sau complexului MLL și/sau căii PI3K.

Compușii prezentei invenții sunt formulați de preferință drept compoziții farmaceutice administrate printr-o varietate de căi. Cel mai preferabil, astfel de compoziții sunt pentru administrare orală. Astfel de compoziții farmaceutice și procedeele pentru prepararea acestora sunt bine cunoscute în domeniu. *Vezi, de ex.*, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF

20 PHARMACY (D. Troy, et al., eds., 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005).

Dozele pentru compușii SoC la pacienți pot fi administrate ca pentru dozarea aprobată, sau pot varia în conformitate cu recomandarea medicului. Exemplele de doze pentru compușii SoC pot fi, de exemplu, după cum urmează: Pentru cancer ovarian, dozele de carboplatin plus paclitaxel pot fi 175 mg/m² IV în fiecare din cele 3 săptămâni de paclitaxel, urmat de 175 mg/m² IV în

25 fiecare din cele 3 săptămâni de carboplatin. Pentru cancer gastric, dozele de paclitaxel plus oxaliplatin pot fi 50 mg/m² IV săptămânal de paclitaxel și 2 mg/mL AUC săptămânal de oxaliplatin. Pentru cancer pulmonar, dozele de gemcitabină plus cisplatin pot fi 1250 mg/m² IV în fiecare din cele 3 săptămâni de gemcitabină plus 75 mg/m² IV în fiecare din cele 3 săptămâni de cisplatin. Pentru cancer colorectal, dozele de irinotecan plus oxaliplatin pot fi 125 mg/m² IV

30 săptămânal sau 350 mg/m² IV în fiecare din cele 3 săptămâni de irinotecan și 85 mg/m² IV în fiecare din cele 2 săptămâni de oxaliplatin. (Referințele pentru dozele de tratament SoC pot fi de asemenea găsite la <http://www.cancertherapyadvisor.com/gastrointestinal-cancers/gastric-cancer-treatment-regimens/article/218159/>)

Compușii EZH2 ai prezentei invenții sunt în general eficienți într-un interval de dozare larg. De exemplu, dozele zilnice pot fi în intervalul zilnic de până la 5000 mg/zi, preferabil

35 aproximativ 100-2000 mg/zi, administrate în una sau mai multe doze. Se va înțelege totuși că, cantitatea de compus administrat de fapt va fi determinată de către un medic, în lumina circumstanțelor relevante, incluzând afecțiunea care trebuie tratată, calea de administrare aleasă, compusul sau compușii administrați de fapt, vârsta, greutatea, și răspunsul individual al

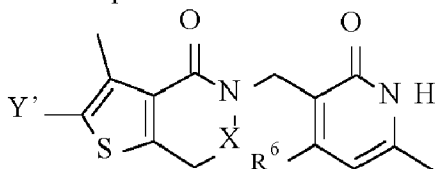
40 pacientului, și severitatea simptomelor pacientului.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-2014/097041
- WO-A1-2014/177982

(57) Revendicări:

1. Un compus cu formula:



în care:

X este -CH₂-sau-CH₂-CH₂-;

Y' este -NR⁴R⁵, -CH(CH₃)-ciclohexil-4-il-N-metil-N-metoxietil, sau-CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il în care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, pirazolil, metilpirazolil, triazolil, pirolidinil, tetrahydrofuraniloxi, sau morfolinil;

R⁴ este ciclohex-4-il substituit cu N-metil-N-metoxietilamino, N-metil-N-ciclopropilamino, sau azetidin-1-il în care azetidin-1-il este substituit cu metoxi, etoxi, metoxietoxi, ciclopropiloxi, sau pirazolil;

R⁵ este metil sau etil; și

R⁶ este metil sau cloro; sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

2. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu Revendicarea 1, în care X este -CH₂-.

3. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu Revendicarea 1, în care X este -CH₂-CH₂-.

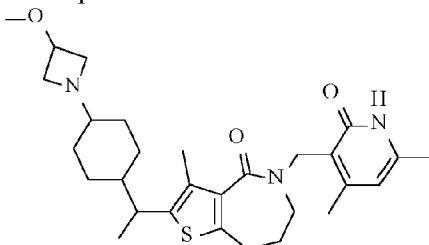
4. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-3 în care Y' este -CH(CH₃)-ciclohexil-4-il-N-metil-N-metoxietil sau -CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il în care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, pirazolil, metilpirazolil, triazolil, pirolidinil, tetrahydrofuraniloxi, sau morfolinil.

5. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-4 în care Y' este -CH(CH₃)-ciclohex-4-il-azetidin-1-il în care azetidin-1-il este substituit opțional cu metoxi, 2-propoxi, metoximetil, metoxietoxi, ciclopropiloxi, ciclopropilmetoxi, pirazolil, metilpirazolil, triazolil, pirolidinil, tetrahydrofuraniloxi, sau morfolinil.

6. Compusul sau sarea în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-5 în care R⁶ este metil.

7. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-3 în care Y' este -NR⁴R⁵.

8. Compusul în conformitate fie cu Revendicarea 1 fie cu 3 care este



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

9. Compusul în conformitate cu Revendicarea 8 care este 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-[4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

10. Compusul în conformitate cu Revendicarea 9 care este 5-[(4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil]-2-[(1R)-1-[trans-4-(3-metoxiazetidin-1-il)ciclohexil]etil]-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-onă, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

11. O compoziție farmaceutică cuprinzând compusul sau sarea acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 și unul sau mai mulți excipienți, purtători, sau diluanți acceptabili farmaceutic,.

12. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 pentru utilizare în terapie.

13. Compusul sau sarea acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 pentru utilizare în tratamentul cancerului.

14. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate cu Revendicarea 13 în care cancerul este selectat din grupul constând din limfoame, tumori rabdoide, tumori în care lipsesc, sau sunt defecte una sau mai multe componente din complexul SWI/SNF, complexii MLL, și calea PI3K activă constitutiv, sarcoame, mielom multiplu, melanom, cancer gastrointestinal, cancer colorectal, cancer pulmonar, cancer la rinichi, cancer la sân, cancer ovarian, și cancer la prostată.

15. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate cu Revendicarea 14, în care cancerul este limfom difuz cu celule B mari sau limfom folicular.

16. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate fie cu Revendicarea 14 fie cu 15, în care cancerul este limfom difuz cu celule B mari.

17. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate cu Revendicarea 14, în care cancerul este o tumoare rabdoidă cu SNF5 lipsă.

18. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate cu Revendicarea 14, în care cancerul este cancer gastric.

19. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate cu Revendicarea 14, în care cancerul este cancer ovarian.

20. Compusul sau sarea acestuia pentru utilizare în conformitate cu Revendicarea 14, în care cancerul este mielom multiplu.

21. Un compus sau sare a acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 pentru utilizare simultană, separată sau secvențială în combinație cu carboplatin și paclitaxel în tratamentul cancerului ovarian.

22. Un compus sau sare a acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 pentru utilizare simultană, separată sau secvențială în combinație cu oxaliplatin și paclitaxel în tratamentul cancerului gastric.

23. Un compus sau sare a acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 pentru utilizare simultană, separată sau secvențială în combinație cu gemcitabină și cisplatin în tratamentul cancerului pulmonar.

24. Un compus sau sare a acestuia în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-10 pentru utilizare simultană, separată sau secvențială în combinație cu irinotecan și oxaliplatin în tratamentul cancerului colorectal.