



MD/EP 3532459 T2 2024.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3532459 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07D 221/20 (2006.01.01)
C07D 205/12 (2006.01.01)
A61P 35/00 (2006.01.01)
A61P 35/02 (2006.01.01)
A61P 31/18 (2006.01.01)
A61P 31/22 (2006.01.01)
A61K 31/397 (2006.01.01)
A61K 31/438 (2006.01.01)

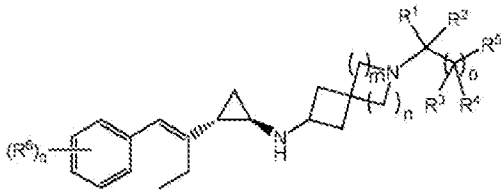
(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2019 0982 (22) Data de depozit: 2017.10.26 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17797805.3, 2017.10.26 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3532459, 2019.09.04 (31) Numărul cererii prioritare: 201662413166 P; 201662413162 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.10.26; 2016.10.26 (33) Țara cererii prioritare: US; US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 06/2024, 2024.06.30 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 31/2023, 2023.08.02 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 10/2019, 2019.10.31
(71) Solicitant: CONSTELLATION PHARMACEUTICALS, INC., US (72) Inventatori: BRUCELLE Francois, US; GEHLING Victor S., US; KHANNA Avinash, US (73) Titular: CONSTELLATION PHARMACEUTICALS INC., US (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Inhibitori ai LSD1 și utilizările medicale ale acestora

(57) Rezumat:

Sunt furnizați compuși noi cu Formula (I sau Ia’):



și săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, care sunt utili pentru tratarea unei

varietăți de boli, tulburări sau stări asociate cu LSD1. De asemenea, sunt furnizate compoziții farmaceutice cuprinzând noi compuși cu Formula (I sau Ia’), săruri acceptabile farmaceutic ale acestora și metode pentru utilizarea lor în tratarea uneia sau mai multor boli, tulburări sau stări, asociate cu LSD1.

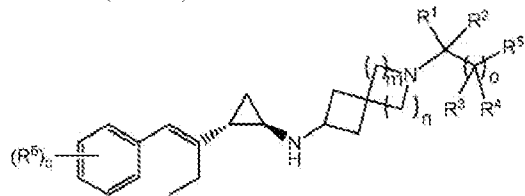
Revendicări: 12

Figuri: 2

MD/EP 3532459 T2 2024.06.30

(54) LSD1 inhibitors and medical uses thereof**(57) Abstract:**

1
 Provided are novel compounds of
 Formula (I or Ia'):



and pharmaceutically acceptable salts
 thereof, which are useful for treating a variety

2
 of diseases, disorders or conditions, associated
 with LSD1. Also provided are pharmaceutical
 compositions comprising the novel compounds
 of Formula (I or Ia'), pharmaceutically
 acceptable salts thereof, and methods for their
 use in treating one or more diseases, disorders
 or conditions, associated with LSD1.

Claims: 12

Fig.: 2

Descriere:

(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)

CERERI DE BREVET DE INVENȚIE CONEXE

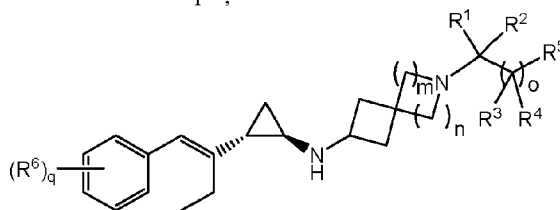
- 5 Această cerere de brevet de invenție revendică prioritatea Cererii de brevet de invenție Provizorii U.S. Nr. 62/413162, depusă în data de 26 octombrie, 2016 și a Cererii de brevet de invenție Provizorii U.S. Nr. 62/413166, depusă în data de 26 octombrie, 2016.

STADIUL TEHNICII

- 10 Demetilaza specifică lizinei (LSD1), cunoscută și că demetilaza 1A specifică lizinei (K) (LSD1), este o proteină umană care este codificată de gena KDM1A și demetilează în mod specific lizina 4 histonei H3 mono - sau dimetilată (H3K4) și lizina 9 histonei H3 mono - sau dimetilată (H3K9) printr-un proces redox. Biochimica et Biophysica Acta 1829 (2013) 981-986. S-a descoperit faptul că LSD1 posedă proprietăți oncogene în mai multe tipuri de cancer, de la prostată (Cancer Res., 66 (2006), pp. 11341-11347) vezica urinară (Mol. Carcinog., 50 (2011), p. 931-944) neuroblastoame, 15 (Cancer Res., 69 (2009), pp. 2065-2071) cancere pulmonare, (PLoS One, 7 (2012), p. e35065) sarcoame și hepatocarcinoame (Tumor Biol., 34 (2013), pp. 173-180). S-a demonstrat faptul că inhibitorii farmacologici LSD1, de exemplu, tratează leucemiile (Nat. Med., 18 (2012), p. 605-611) și, de asemenea, tumorile solide (Tumor Biol., 34 (2013), pp. 173-180). Publicația de cerere 20 internațională de brevet de invenție WO 2013/057320A1 se referă la compuși (hetero)aril ciclopropilamină și utilizarea lor în terapie, inclusiv, de exemplu, în tratamentul sau prevenirea cancerului, a unei boli sau afecțiuni neurologice sau a unei infecții virale. Publicația de cerere internațională de brevet de invenție WO 2016/123387 se referă la inhibitorii LSD1 și utilizarea acestora în tratamentul diferitelor tulburări mediate de LSD1. Stazi, G. și colab., Expert Opinion on 25 Therapeutic Patents, vol. 26, nr. 5 (28.03.2016), p. 565-580 este o revizuire a brevetelor care se referă la inhibitorii LSD1 care acoperă anii 2010 până în 2015. Przespolewski, A. și colab., Expert Opinion on Investigational Drugs, 1 25, nr. 7 (21.04.2016), p. 771-780 se referă la inhibitorii LSD1 ca terapie potențială pentru leucemia mieloidă acută. Lynch, J.T. și colab., Expert Opinion on Therapeutic Tar., vol. 16, nr. 12 (2012), p. 1239-1249 se referă la structura și activitatea enzimatică a LSD1, rolul său în 30 complexe reglatoare ale cromatinei, rolurile sale funcționale în țesutul normal și malign, inhibitorilor farmacologici ai activității sale și rolurile lor teoretice terapeutice.

EXPUNEREA PE SCURT A INVENȚIEI

Prezenta invenție se referă la compuși cu Formula:

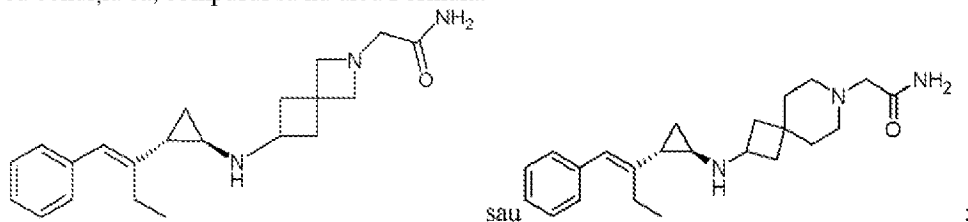


35

în care configurația stereochemică în jurul nucleului ciclopropil este 1R,2S, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

- n este 1 sau 2;
 40 m este 1 sau 2;
 o este 0 sau 1;
 q este 0, 1, 2 sau 3;
 R¹ este un atom de hidrogen sau (C₁-C₆)alchil;
 R² este un atom de hidrogen sau (C₁-C₆)alchil opțional substituit cu OH sau (C₁-C₆)alcoxi;
 45 R³ și R⁴, dacă sunt prezenți, fiecare sunt selectați în mod independent dintre hidrogen, halo, OH și (C₁-C₆)alchil;
 R⁵ este selectat din NH₂, -NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil O(C₁-C₆)alchil, -NHC(O)(C₁-C₆)alchil, -NH(SO₂)(C₃-C₆)cicloalchil, OH, -O(C₁-C₆)alchil, -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil, -C(O)N[(C₁-C₆)alchil]₂, -C(O)NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -C(O)NH(SO₂)(C₃-C₆)cicloalchil, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil OH, 50 -C(O)NH(C₁-C₆)alchil O(C₁-C₆)alchil, și (C₁-C₄)alchil substituit cu OH;
 și

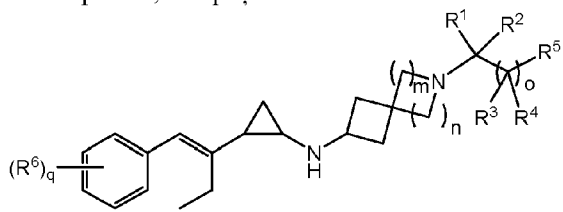
R^6 , dacă este prezent, este selectat dintre (C_1-C_6) alchil, halo (C_1-C_6) alchil, (C_1-C_6) alcoxi, halo (C_1-C_6) alcoxi, halo și ciano;
cu condiția ca, compusul să nu aibă Formula:



sau o sare a acestuia.

Prezenta invenție se referă, de asemenea, la compoziții farmaceutice care cuprind astfel de compuși, precum și astfel de compuși sau compoziții pentru utilizare în tratamentul unei boli sau afecțiuni selectate dintre LMC (leucemie mielogenă cronică), T-ALL (leucemie limfoblastică T acută), neuroblastom, cancer mamar, cancer de prostată, reactivare a virusului herpes simplex și infecție cu HIV

S-a descoperit acum faptul că, compușii cu Formula structurală:



în care configurația stereochemică în jurul nucleului ciclopropil este 1R,2S,

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia și compoziții cuprinzând compuși cu această formulă, în care fiecare dintre R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , m, n, o și q sunt definiți și descriși în conținut, sunt inhibitori eficienți ai LSD1. A se vedea **Tabelul 6** în secțiunea de Exemplificare de mai jos. Condițiile de tratate a compușilor dezvăluiți sunt descrise în conținut.

DESCRIEREA PE SCURT A FIGURILOR

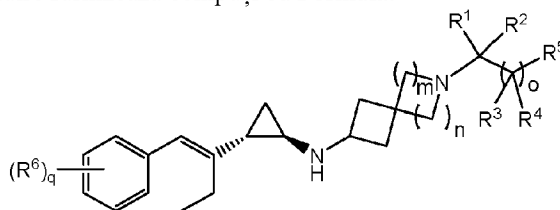
FIG. 1 ilustrează structura cristalină cu raze X pentru intermediarul (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat.

FIG. 2 ilustrează structura cristalină cu raze X pentru sarea monocitrat a Compusului 2.

DESCRIEREA DETALIATĂ A ANUMITOR VARIANTE DE REALIZARE

1. Descrierea Generală a Compușilor

Prezenta dezvoltare furnizează compuși cu Formula:



în care configurația stereochemică în jurul nucleului ciclopropil este 1R,2S,

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

n este 1 sau 2;

m este 1 sau 2;

o este 0 sau 1;

q este 0, 1, 2 sau 3;

R^1 este un atom de hidrogen sau (C_1-C_6) alchil;

R^2 este un atom de hidrogen sau (C_1-C_6) alchil opțional substituit cu OH sau (C_1-C_6) alcoxi;

R^3 și R^4 , dacă sunt prezenți, fiecare sunt selectați în mod independent dintre hidrogen, halo, OH și (C_1-C_6) alchil;

R^5 este selectat din NH_2 , $-NH(SO_2)(C_1-C_6)$ alchil, $-NH(SO_2)(C_1-C_6)$ alchil $O(C_1-C_6)$ alchil, $-NHC(O)(C_1-C_6)$ alchil, $-NH(SO_2)(C_3-C_6)$ cicloalchil, OH, $-O(C_1-C_6)$ alchil, $-SO_2NH_2$, $-C(O)NH_2$,

-C(O)NH(C₁-C₆)alchil, -C(O)N[(C₁-C₆)alchil]₂, -C(O)NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -C(O)NH(SO₂)(C₃-C₆)cicloalchil, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil OH, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil O(C₁-C₆)alchil, și (C₁-C₄)alchil substituit cu OH

și

- 5 R⁶, dacă este prezent, este selectat dintre (C₁-C₆)alchil, halo(C₁-C₆)alchil, (C₁-C₆)alcoxi, halo(C₁-C₆)alcoxi, halo și ciano;

2. Compuși și Definiții

- 10 Termenii "halo" și "halogen" așa cum sunt utilizați în conținut se referă la un atom selectat dintre fluor (fluor, F), clor (clor-, Cl), brom (-brom, Br) și iod (iod-, -I).

- Termenul "alchil" utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mare, cum ar fi "alcoxi", "haloalchil" și altele asemenea, înseamnă un radical hidrocarbură monovalentă saturată cu catenă liniară sau ramificată. Dacă nu se specifică altfel, o grupare alchil are în mod tipic 1-6 atomi de carbon, *adică*, (C₁-C₆)alchil. Așa cum este utilizat în conținut, o grupare "(C₁-C₆)alchil" înseamnă un radical având de la 1 până la 6 atomi de carbon într-un aranjament liniar sau ramificat.

- 15 Termenul "haloalchil" include grupări mono, poli și perhaloalchil în care atomii de halogen sunt selectați în mod independent dintre fluor, clor, brom și iod.

- "Alcoxi" înseamnă un radical alchil atașat printr-un atom de oxigen de legătură, reprezentat de -O-alchil. De exemplu, "(C₁-C₄)alcoxi" include metoxi, etoxi, propoxi și butoxi.

- 20 Când este utilizată în legătură cu descrierea unei grupări chimice care poate avea mai multe puncte de atașare, o cratimă (-) desemnează punctul de atașare al acelei grupări la variabila la care este definită. De exemplu, -NH(SO₂)(C₃-C₆)cicloalchil înseamnă faptul că punctul de atașare pentru această grupare este pe atomul de azot.

- 25 Compușii dezvăluiți există în diferite forme stereoisomerice. Stereoizomerii sunt compuși care diferă doar prin aranjarea spațială a atomilor lor. Aranjamente spațiale diferite într-un compus pot rezulta, de exemplu, din orientarea a patru substituenți diferiți în jurul unui atom de carbon chiral (*adică*, un centru chiral), orientarea a doi sau mai mulți substituenți în jurul unei duble legături sau orientarea a doi sau mai mulți substituenți pe un nucleu cicloalchil.

- 30 Enantiomerii sunt un tip de stereoisomer care poate apărea dintr-un centru chiral sau centri chirali. Enantiomerii sunt perechi de stereoisomeri ale căror imagini în oglindă nu sunt superpozabile, cel mai frecvent deoarece conțin un atom de carbon substituit asimetric sau atomi de carbon care acționează ca un centru (centri) chiral(i). "R" și "S" reprezintă configurația absolută a substituenților în jurul unuia sau mai multor atomi de carbon chiral, unde fiecărui centru chiral i se atribuie prefixul "R" sau "S", în funcție de configurația centrului chiral care este dreapta (rotație în sensul acelor de ceasornic) sau stânga (rotație în sens invers acelor de ceasornic). Dacă rotirea este în sensul acelor de ceasornic sau spre dreapta în jurul unui atom de carbon chiral, desemnarea este "R" pentru dreapta. Dacă rotirea este în sens invers acelor de ceasornic sau spre stânga în jurul unui atom de carbon chiral, desemnarea este "S" pentru stânga.

- 40 Purity enantiomerică reflectă gradul în care un enantiomer al unui compus este prezent în mod predominant față de celălalt enantiomer al acelui compus. Se determină prin scăderea compoziției procentuale a enantiomerului major cu compoziția procentuală a enantiomerului minor care este prezent. De exemplu, un amestec racemic are o puritate enantiomerică de 0%, în timp ce un singur enantiomer complet pur are o puritate enantiomerică de 100%. O compoziție cu 70% dintr-un enantiomer și 30% din celălalt are o puritate enantiomerică de 40% (70% - 30%).

- 45 Diastereomerii sunt stereoisomeri care nu sunt legați ca obiect și imagine în oglindă și nu sunt enantiomeri. Spre deosebire de enantiomerii care sunt imagini în oglindă unul cu celălalt și non-superpozabili, diastereomerii nu sunt imagini în oglindă unul cu celălalt și non-superpozabili. Diastereomerii au doi sau mai mulți centri chirali.

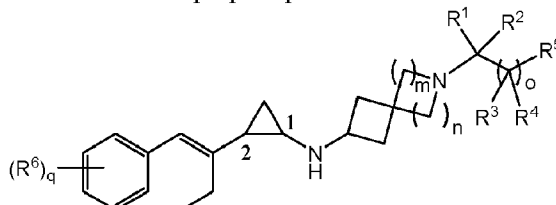
- 50 Izomerii geometrice apar atunci când doi sau mai mulți substituenți de pe o legătură sau un ciclu dublu pot avea orientări spațiale diferite unul față de celălalt, datorită prezenței legăturii duble sau a structurii nucleului. Când orientarea substituenților unui izomer geometric este pe părțile opuse ale dublei legături, se consideră faptul că acei substituenți sunt "trans" unul față de celălalt sau se notează cu litera "E". Când orientarea substituenților unui izomer geometric se află pe aceeași parte a legăturii duble, se spune consideră faptul că acei substituenți sunt "cis" unul față de celălalt sau se notează cu litera "Z".

- 55 Când configurația a doi sau mai mulți substituenți despre o legătură dublă este indicată prin structură, prin denumiri "E" sau "Z", prin "cis" sau "trans", sau printr-o combinație a celor de mai sus, trebuie să se înțeleagă faptul că puritatea stereochemică descrisă în raport cu acea dublă legătură este de cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 95%, cel puțin 97%, cel puțin 98% sau cel puțin 99% din greutate.

Puritatea stereochemică în greutate în raport cu o legătură dublă înseamnă procentul în greutate de compus dintr-o compoziție având stereochemia indicată despre legătura dublă.

Când un compus este descris prin structură fără a indica stereochemia la un centru chiral, trebuie să se înțeleagă faptul că structura include fie configurație la centrul chiral, fie, alternativ, orice amestec de configurații la acel centru chiral.

Pozițiile 1 și 2 ale nucleului ciclopropil reprezintă următoarele:

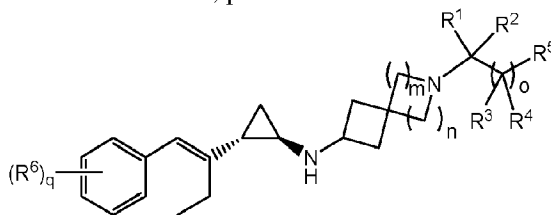


Compușii descriși în conținut pot fi prezenți sub formă de săruri acceptabile farmaceutic. Pentru utilizare în medicamente, sărurile compuşilor conform invenției se referă la "săruri acceptabile farmaceutic" netoxice. Formele de săruri acceptabile farmaceutic includ săruri acide/anionice sau bazice/cationice acceptabile farmaceutic. Sărurile de adiție acidă adecvate acceptabile farmaceutic ale compuşilor descriși în conținut includ de exemplu săruri ale acizilor anorganici (cum ar fi acidul clorhidric, acidul bromhidric, fosforic, azotic și sulfuric) și ale acizilor organici (cum ar fi acidul acetic, acizii benzensulfonic, benzoic, metansulfonic și p-toluensulfonic). Compușii din prezentele cunoștințe tehnice cu grupări acide cum ar fi acizii carboxilici pot forma săruri acceptabile farmaceutic cu baze acceptabile farmaceutic. Sărurile bazice acceptabile farmaceutic adecvate includ, de exemplu, sărurile de amoniu, sărurile de metale alcaline (cum ar fi sărurile de sodiu și potasiu) și sărurile de metale alcalino-pământoase (cum ar fi sărurile de magneziu și calciu). Compușii cu o grupare de amoniu cuaternar conțin, de asemenea, un contra-anion cum ar fi clorură, bromură, iodură, acetat, perclorat și altele asemenea. Alte exemple de astfel de săruri includ clorhidrați, bromhidrați, sulfați, metansulfonați, nitrați, benzoați și săruri cu aminoacizi cum ar fi acidul glutamic.

Termenii "subiect" și "pacient" pot fi folosiți interschimbabil și înseamnă un mamifer care are nevoie de tratament, *de exemplu*, animale de companie (*de exemplu*., câini, pisici și altele asemenea), animale de fermă (*de exemplu*, vaci, porci, cai, oi, capre și altele asemenea) și animale de laborator (*de exemplu*, șobolani, șoareci, cobai și altele asemenea). În mod tipic, subiectul este un om care are nevoie de tratament.

3. Descrierea Compuşilor Exemplari

Într-o primă variantă de realizare, prezenta dezvăluire furnizează un compus cu Formula **Ia**:

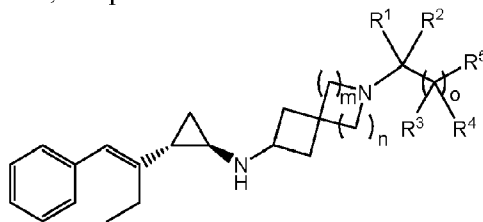


(Ia);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care variabilele sunt cele descrise mai sus.

Într-o a doua variantă de realizare, R^6 în Formula **Ia** este selectat dintre metil, etil, halometil, haloetil, metoxi, halometoxi, halo și ciano, în care variabilele rămase sunt cele descrise în prima variantă de realizare.

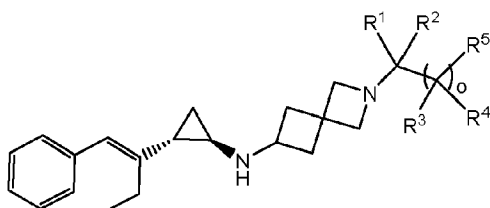
Într-o a treia variantă, compusul cu Formula **Ia** are Formula **II**:



(II);

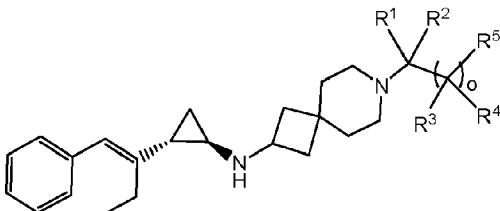
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia..

Într-o a patra variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia**, sau **II** are Formula **III**:



(III);

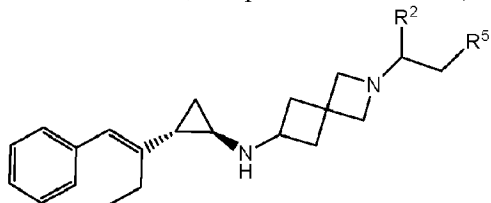
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o a cincea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia**, sau **II** are Formula **IV**:



(IV);

5 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Într-o a șasea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia**, **II**, sau **III** are Formula **V**:

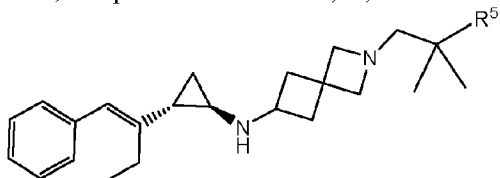


(V);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

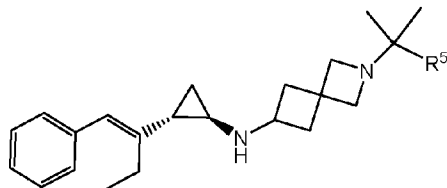
10 Într-o a șaptea variantă de realizare, R^2 în compuşii cu Formula **Ia**, **II**, **III**, **IV**, sau **V** este un atom de hidrogen, metil sau hidroxi (C_1 - C_4)alchil, în care variabilele rămase sunt cele descrise în a doua variantă de realizare. Alternativ, R^2 în compusul cu Formula **Ia**, **II**, **III**, **IV**, sau **V** este hidroxi(C_1 - C_4)alchil, în care variabilele rămase sunt cele descrise în a doua variantă de realizare. Într-o altă alternativă, R^2 în compusul cu Formula **Ia**, **II**, **III**, **IV**, sau **V** este hidroxi (C_1 - C_2)alchil, în care variabilele rămase sunt cele descrise în a doua variantă de realizare.

15 Într-o a opta variantă, compusul cu Formula **Ia**, **II**, sau **III** are Formula:



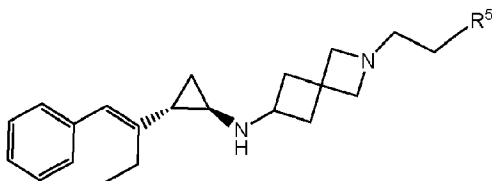
(VI);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o a noua variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia**, **II**, sau **III** are Formula:



(VII);

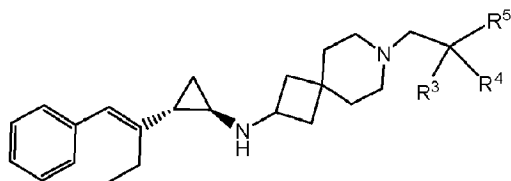
20 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o a zecea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia**, **II**, sau **III** are Formula:



(VIII);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

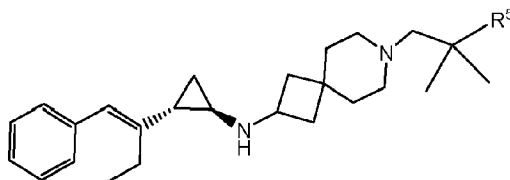
Într-o a unsprezecea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia**, **II**, sau **IV** are Formula:



(IX);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

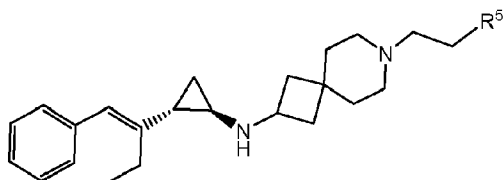
Într-o a douăsprezecea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia, II, IV** sau **IX** are Formula:



(X);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

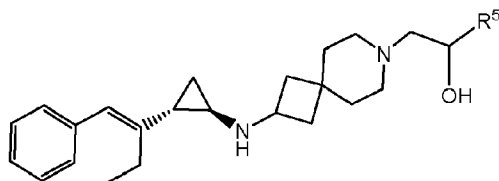
Într-o a treisprezecea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia, II, IV**, sau **IX** are Formula:



(XI);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Într-o a paisprezecea variantă de realizare, compusul cu Formula **Ia, II, IV**, sau **IX** are Formula:

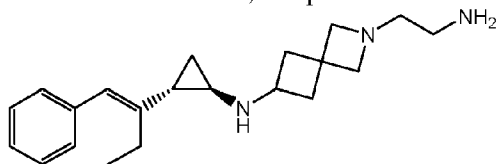


(XII);

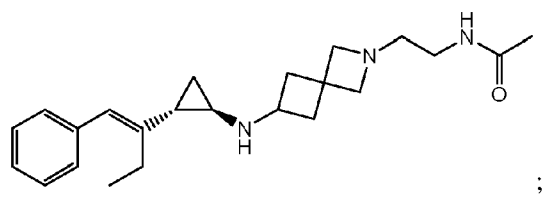
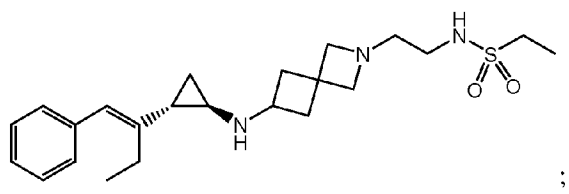
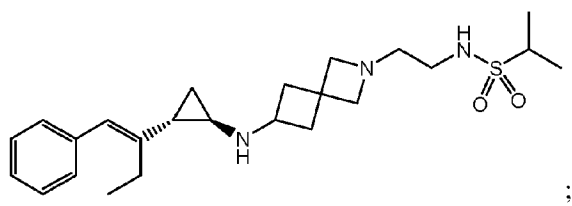
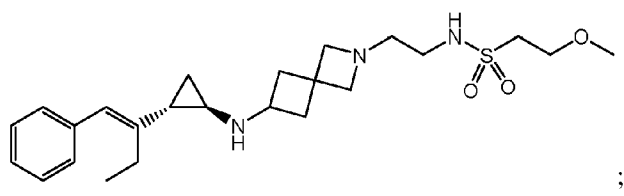
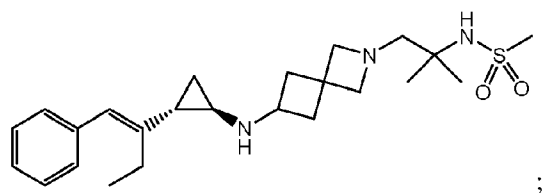
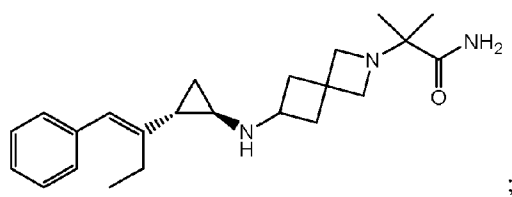
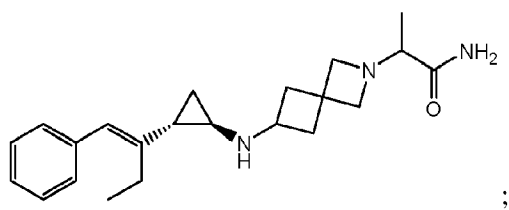
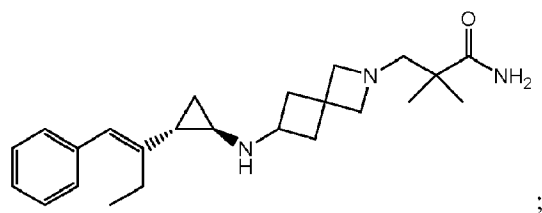
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Într-o a cincisprezecea variantă de realizare, R^5 în oricare dintre compușii cu Formula **Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI**, sau **XII** este NH_2 , $-\text{NH}(\text{SO}_2)(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}$, $-\text{NH}(\text{SO}_2)(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil O}(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}$, $-\text{NHC}(\text{O})(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}$, $-\text{NH}(\text{SO}_2)(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{cicloalchil}$, OH , $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{SO}_2)(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}(\text{SO}_2)(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alchil OH}$, sau $(\text{C}_1\text{-C}_2)\text{alchil}$ substituit cu OH , în care variabilele rămase sunt cele descrise în a doua sau a șaptea variantă de realizare. Alternativ, R^5 în oricare dintre compușii cu Formula **Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI**, sau **XII** este NH_2 , $-\text{NH}(\text{SO}_2)\text{CH}_3$, $-\text{NH}(\text{SO}_2)(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$, $-\text{NH}(\text{SO}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NH}(\text{SO}_2)\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{NH}(\text{SO}_2)\text{ciclopropil}$, OH , $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{SO}_2)\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2(\text{SO}_2)\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, sau $-\text{CH}_2\text{OH}$, în care variabilele rămase sunt cele descrise în a doua sau a șaptea variantă de realizare. Într-o altă alternativă, R^5 în oricare dintre compușii cu Formula **Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI**, sau **XII** este $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, OH , $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ sau $-\text{NH}(\text{SO}_2)\text{CH}_3$, în care variabilele rămase sunt așa cum sunt descrise în a doilea sau a șaptea variantă de realizare. Într-o altă alternativă, R^5 în oricare dintre compușii cu Formula **Ia, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI**, sau **XII** este OH , în care variabilele rămase sunt cele descrise în a doilea sau a șaptea variantă de realizare.

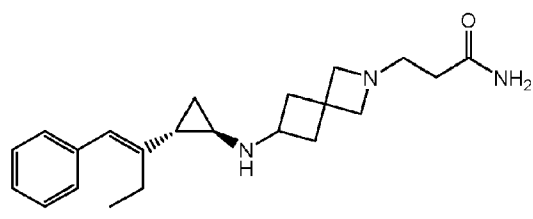
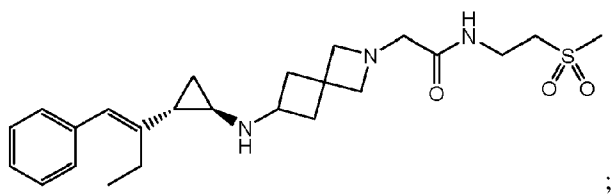
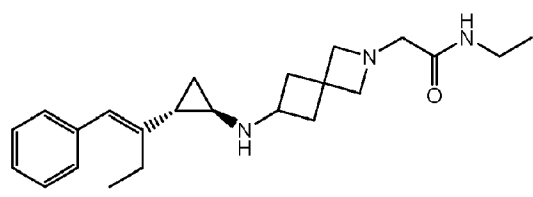
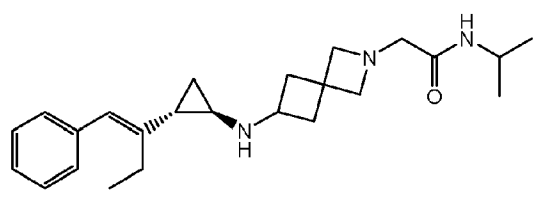
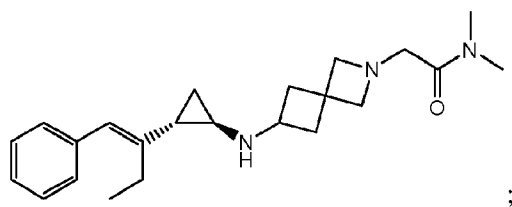
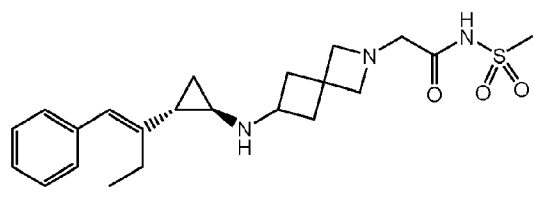
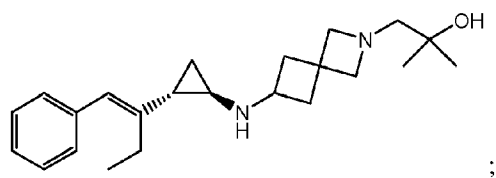
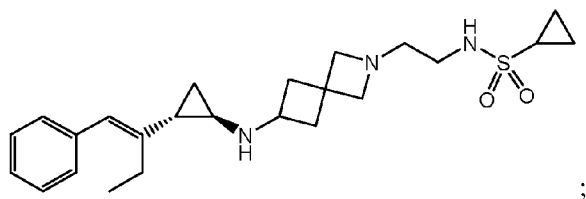
Într-o a șaisprezecea variantă de realizare, compusul este selectat dintre

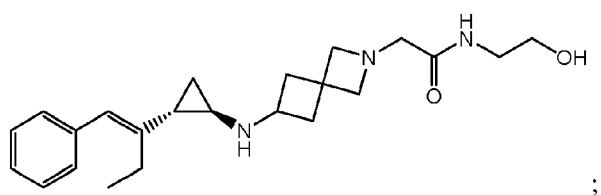
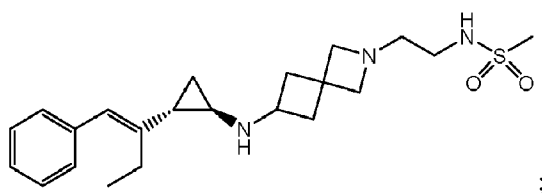
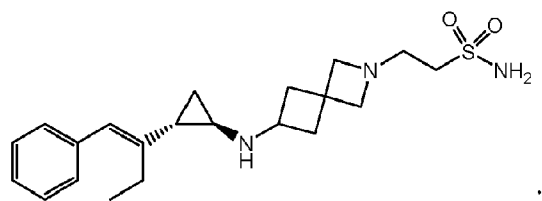


;

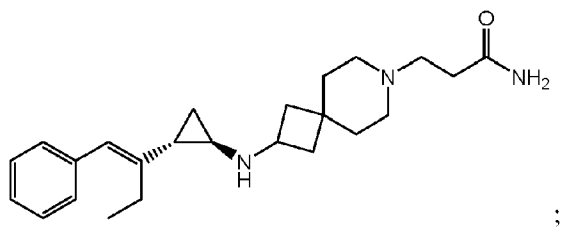
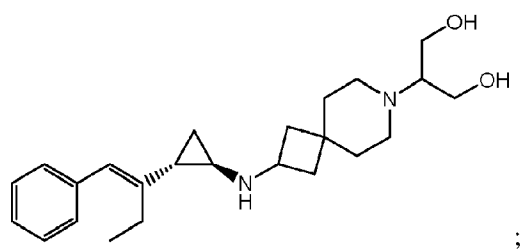


10

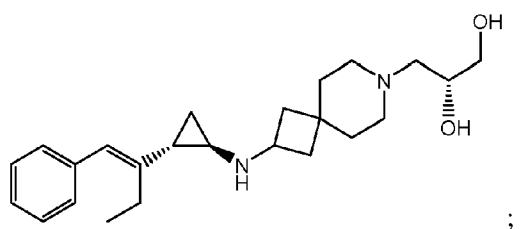
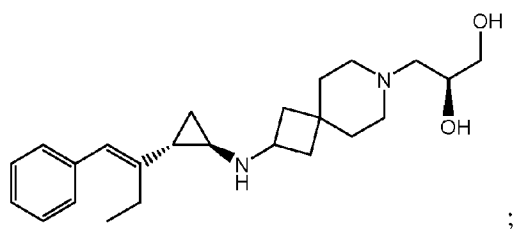




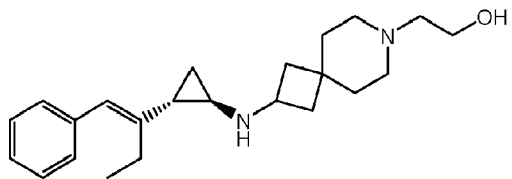
5



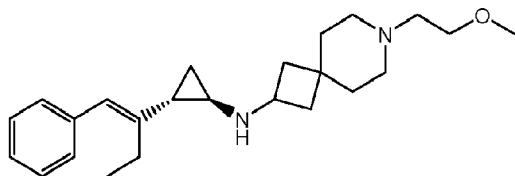
10



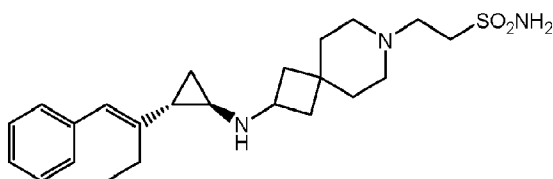
12



;

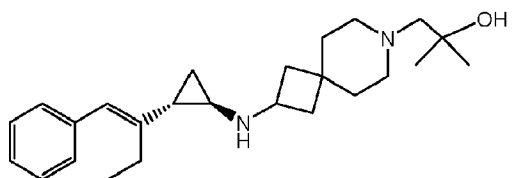


;



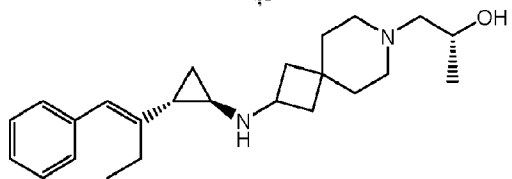
;

5



;

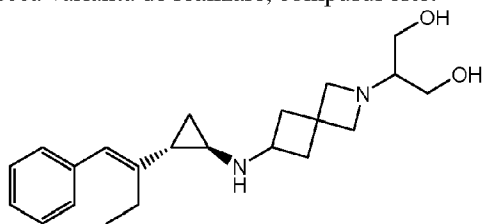
și



;

10 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

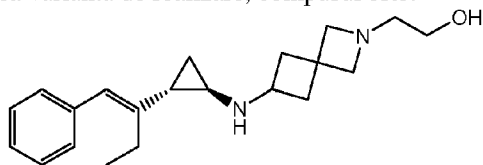
Într-o a șaptesprezecea variantă de realizare, compusul este:



;

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Într-o a optsprezecea variantă de realizare, compusul este:



;

15

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

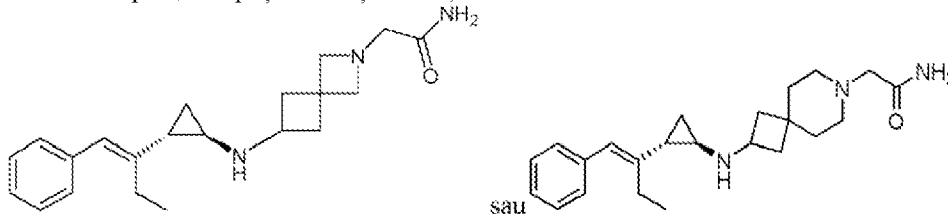
Într-o a nouăsprezecea variantă de realizare, compușii descriși în conținut (de exemplu, Formula **Ia**, **II**, **III**, **IV**, **V**, **VI**, **VII**, **VIII**, **IX**, **X**, **XI**, sau **XII** iar cei din a șaisprezecea până la a optsprezecea variantă de realizare) sunt enantiomeri unici având o puritate enantiomerică de cel puțin 95% (de exemplu, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99%, cel puțin 99,5% sau cel puțin 99,9%).

20

Într-o a douăzecea variantă de realizare, configurația stereochemică corespunzătoare ciclului ciclopropil din compușii descriși în conținut (de exemplu, Formula **Ia**, **II**, **III**, **IV**, **V**, **VI**, **VII**, **VIII**,

IX, X, XI, sau XII și cei din a șaisprezecea până la a optsprezecea variantă de realizare) este 1R,2S și compușii sunt enantiomeri unici având o puritate enantiomerică de cel puțin 95% (de exemplu, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99%, cel puțin 99,5% sau cel puțin 99,9%).

Într-un aspect, compușii descriși în conținut nu sunt



sau o sare a acestuia.

Într-un aspect, când q este 0, m este 1, n este 1, o este 0 și R¹ și R² sunt ambii atomi de hidrogen în compușii descriși în conținut, apoi R⁵ nu este -CONH₂. Într-un alt aspect, când q este 0, m este 2, n este 2, o este 0 și R¹ și R² sunt ambii atomi de hidrogen în compușii descriși în conținut, atunci R⁵ nu este -CONH₂.

Exemple specifice de compuși sunt furnizate în secțiunea EXEMPLIFICARE și sunt incluse ca parte a unei a treisprezecea variantă de realizare în conținut. Sunt incluse, de asemenea, sărurile acceptabile farmaceutic precum și formele neutre ale compușilor din EXEMPLIFICARE.

4. Formulare și Administrare

Într-un aspect, în conținut sunt furnizate compoziții care cuprind compușii descriși în conținut sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora.

Într-un alt aspect, compozițiile cuprind în plus un purtător, adjuvant sau vehicul acceptabil farmaceutic. Cantitatea de compus din compoziție este astfel încât este eficientă pentru a modula măsurabil LSD1, sau un mutant al acestuia într-o probă biologică sau la un pacient, adică "cantitatea eficientă" sau "cantitatea eficientă terapeutică".

În anumite aspecte, o compoziție descrisă în conținut este formulată pentru administrare la un pacient care are nevoie de o astfel de compoziție. În unele aspecte, o compoziție descrisă în conținut este formulată pentru administrare orală la un pacient.

Termenul "purtător, adjuvant sau vehicul acceptabil farmaceutic" sau "purtător acceptabil farmaceutic" se referă la un purtător, adjuvant sau vehicul netoxic care nu distruge activitatea farmacologică a compusului cu care este formulat. Purtătorii, adjuvanții sau vehiculele acceptabile farmaceutic care pot fi utilizate în compozițiile descrise în conținut includ, dar nu se limitează la, schimbătoare de ioni, alumină, stearat de aluminiu, lecitină, proteine serice, cum ar fi albumina serică umană, substanțe tampon cum ar fi fosfații, glicina, acid sorbic, sorbat de potasiu, amestecuri parțiale de gliceride de acizi grași vegetali saturați, apă, săruri sau electroliți, cum ar fi sulfat de protamină, fosfat acid disodic, fosfat acid de potasiu, clorură de sodiu, săruri de zinc, silice coloidal, trisilicat de magneziu, polivinil pirolidonă, substanțe pe bază de celuloză, polietilen glicol, carboximetilceluloză de sodiu, poliacrilati, ceruri, polimeri bloc de polietilen-polioxipropilenă, polietilen glicol și grăsime de lână.

Compozițiile acceptabile farmaceutic descrise în conținut pot fi administrate oral în orice formă de dozare acceptabilă oral incluzând, dar fără a se limita la, capsule, tablete, suspensii sau soluții apoase. În cazul tabletelor pentru uz oral, purtătorii utilizați în mod obișnuit includ lactoza și amidonul de porumb. Agenții de lubrifiere, cum ar fi stearat de magneziu, sunt de asemenea adăugați în mod tipic. Pentru administrarea orală sub formă de capsule, diluanții utili includ lactoză și amidon de porumb anhidru. Când sunt necesare suspensii apoase pentru utilizare orală, ingredientul activ este combinat cu agenți de emulsionare și de suspendare. Dacă se dorește, se pot adăuga și anumiți agenți de îndulcire, aromatizare sau colorare.

Compozițiile acceptabile farmaceutic descrise în conținut pot fi preparate, de asemenea, sub formă injectabilă. Preparatele injectabile, de exemplu, suspensiile apoase sau oleaginoase injectabile sterile pot fi formulate conform tehnicii cunoscute folosind agenți de dispersie sau umectare și agenți de suspendare adecvați. Preparatul injectabil steril poate fi, de asemenea, o soluție, suspensie sau emulsie injectabilă sterilă într-un diluant sau solvent netoxic acceptabil parenteral, de exemplu, ca o soluție în 1,3-butandiol. Printre purtătorii și solvenții acceptabili care pot fi folosiți se numără apa, soluția Ringer, U.S.P. și soluție izotonică de clorură de sodiu. În plus, uleiurile sterile nevolatile, sunt utilizate în mod convențional ca solvent sau mediu de suspendare. În acest scop, poate fi folosit orice ulei nevolatil blând inclusiv mono- sau digliceride sintetice. În plus, acizii grași precum acidul oleic sunt utilizați la prepararea injectabilelor.

Compozițiile acceptabile farmaceutic descrise în conținut pot fi, de asemenea, administrate local, în special atunci când ținta tratamentului include zone sau organe ușor accesibile prin aplicare topică, inclusiv boli ale ochiului, pielii sau tractului intestinal inferior. Formulările topice adecvate sunt preparate cu ușurință pentru fiecare dintre aceste zone sau organe. Aplicarea locală pentru tractul intestinal inferior poate fi efectuată într-o formulare de supozitor rectal (vezi mai sus) sau într-o formulare adecvată pentru clismă. Se pot utiliza, de asemenea, plasturi topic-transdermici.

Cantitatea de compus descris în conținut care poate fi combinată cu materialele purtător pentru a produce o compoziție într-o formă de dozare unică va varia în funcție de gazda tratată și de modul particular de administrare. În unele variante de realizare, compozițiile furnizate trebuie formulate astfel încât să poată fi administrată unui pacient o doză cuprinsă între 0,01 - 100 mg/kg greutate corporală/zi de inhibitor, cum ar fi, de exemplu, 0,1 - 100 mg/kg greutate corporală/zi la un pacient care primește aceste compoziții.

De asemenea, trebuie înțeles faptul că o doză specifică și un regim de tratament pentru orice pacient anume va depinde de o varietate de factori, inclusiv de activitatea compusului specific folosit, vârsta, greutatea corporală, starea generală de sănătate, sexul, dieta, timpul de administrare, rata de excreție, combinația de medicamente și aprecierea medicului curant și severitatea bolii particulare care este tratată. Cantitatea de compus descrisă în conținut în compoziție va depinde de asemenea de compusul particular din compoziție.

5. Utilizări ale Compușilor și Compozițiilor Acceptabile Farmaceutic

Compușii și compozițiile descrise în conținut sunt utile în tratarea bolilor și/sau tulburărilor asociate cu supra-exprimarea LSD1 și/sau exprimarea unei forme mutante a LSD1, cum ar fi acele forme mutante care modifică activitatea substratului LSD1.

Compușii și compozițiile descrise în conținut sunt utile în tratarea bolilor și/sau tulburărilor asociate cu proliferarea celulară. În unele variante de realizare, compușii și compozițiile descrise în conținut sunt utile în tratarea bolilor și/sau a tulburărilor asociate cu reglarea anormală a ciclului celular sau repararea ADN-ului. În unele variante de realizare, compușii și compozițiile descrise în conținut sunt utile în tratarea cancerului. Exemple de tipuri de cancer includ cancerul de sân, cancerul de prostată, cancerul de colon, carcinomul cu celule renale, cancerul multiform glioblastom, cancerul vezicii urinare, melanomul, cancerul bronșic, limfomul și cancerul hepatic.

Prezenta dezvăluire furnizează compuși și compoziții pentru utilizare în reducerea activității LSD1 la un subiect care cuprinde etapa de administrare a unui compus descris în conținut, sau o compoziție care cuprinde oricare dintre compușii din conținut. În unele variante de realizare, prezenta dezvăluire furnizează compuși și compoziții pentru utilizare în reducerea activității LSD1 - de tip general la un subiect care cuprinde etapa de administrare a unui compus descris în conținut, sau o compoziție care cuprinde oricare dintre cele de mai sus. În unele variante de realizare, prezenta dezvăluire furnizează compuși și compoziții pentru utilizarea unei metode de reducere a activității unei forme mutante de LSD1 la un subiect care cuprinde etapa de administrare a unui compus descris în conținut, sau o compoziție care cuprinde oricare dintre cele de mai sus.

În unele variante de realizare, prezenta dezvăluire furnizează compuși și compoziții pentru utilizare în tratarea unei boli sau afecțiuni legate de cancer, incluzând, de exemplu, tumori precum de țesut, de sân, cerebral, carcinoamele de col uterin, carcinoamele testiculare etc. Într-un aspect, cancerele care pot fi tratate prin compozițiile și metodele descrise în conținut includ, dar nu se limitează la tipuri de tumori cum ar fi carcinoame și sarcoame astrocitare, mamare, cervicale, colorectale, endometriale, esofagiene, gastrice, cap și gât, hepatocelulare, laringiene, pulmonare, orale, ovariene, de prostată și tiroidiene.

În unele variante de realizare, prezenta dezvăluire furnizează compuși și compoziții pentru utilizare în tratarea unei boli sau afecțiuni selectate dintre una sau mai multe dintre următoarele, Cardiac: sarcom (angiosarcom, fibrosarcom, rabdomiosarcom, liposarcom), mixom, rabdomiom, fibrom, lipom și teratom; Plămân: carcinom bronhogen (celule scuamoase, celule mici nediferențiate, celule largi nediferențiate, adenocarcinom), carcinom alveolar (bronșioar), adenom bronșic, sarcom, limfom, hamartom condromatos, mezoteliom; Gastrointestinal: esofag (carcinom cu celule scuamoase, adenocarcinom, leiomiiosarcom, limfom), stomac (carcinom, limfom, leiomiiosarcom), pancreas (adenocarcinom ductal, insulinom, glucagonom, gastrinom, tumori carcinoide, vipoame), intestin subțire (adenocarcinom, limfom, tumori carcinoide, sarcom Kaposi, leiomiom, hemangiom, lipom, neurofibrom, fibrom), intestin gros (adenocarcinom, adenom tubular, adenom vilos, hamartom, leiomiom); Tract genito-urinar: rinichi (adenocarcinom, tumora Wilm (nefroblastom), limfom, leucemie), vezică urinară și uretră (carcinom cu celule scuamoase, carcinom cu celule tranzitoriale, adenocarcinom), prostată (adenocarcinom, sarcom), testicul (seminom, teratom, teratom, carcinom

embrionar, teratocarcinom, coriocarcinom, sarcom, carcinom cu celule interstițiale, fibrom, fibroadenom, tumori adenomatoide, lipom); Ficat: hepatom (carcinom hepatocelular), colangiocarcinom, hepatoblastom, angiosarcom, adenom hepatocelular, hemangiom; Osos: sarcom osteogenic (osteosarcom), fibrosarcoma, histiocitom malign fibros, condrosarcom, sarcom Ewing, limfom malign (sarcom cu celule de reticul), mielom multiplu, cordon cu celule tumorale maligne gigant, osteocronfrom (exostoza osteocartilaginoasă), condrom benign, condroblastom, condromixofibrom, osteom osteoid și tumori cu celule gigantice; Sistem nervos: craniu (osteom, hemangiom, granulom, xantom, osteită deformantă), meninge (meningiom, meningiosarcom, gliomatoză), creier (astrocitom, meduloblastom, gliom, ependimom, germinom (pinealom), glioblastom multiform, oligodendrogliom multiform, oligodendrogliom, scwanom, retinoblastom, tumori congenitale), neurofibrom măduvei spinării, meningiom, gliom, sarcom); Ginecologic: uter (carcinom endometrial), col uterin (carcinom cervical, displazie cervicală pretumorală), ovare (carcinom ovarian (cistadenocarcinom seros, chistadenocarcinom mucinos, carcinom neclasificat), tumori celulare granuloso-tecale, disgerminom, teratom malign), vulvă (carcinom cu celule scuamoase, carcinom intraepitelial, adenocarcinom, fibrosarcom, melanom), vagin (carcinom cu celule clare, carcinom cu celule scuamoase, sarcom botrioid (rabdomyosarcom embrionar), trompe uterine (carcinom); Hematologic sânge leucemie mieloidă (acută și cronică), leucemie limfoblastică acută, leucemie limfocitară cronică, boli mieloproliferative, mielom multiplu, sindrom mielodisplazic), boala Hodgkin, limfom non-Hodgkin (limfom malign); Piele: melanom malign, carcinom bazocelular, carcinom cu celule scuamoase, alunițe nevi displazici, lipom, angiom, dermatofibrom, cheloizi, psoriazis și glandele suprarenale: neuroblastom.

Într-o variantă de realizare, prezenta dezvoltare furnizează compuși și compoziții pentru utilizare în tratarea unei boli sau afecțiuni selectate dintre LMC, T-ALL, neuroblastom, cancer de sân, cancer de prostată, reactivarea virusului herpes simplex și infecția cu HIV, cuprinzând etapa de administrare la un subiect care are nevoie de acesta, a unui un compus descris în conținut sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. Într-o alternativă, boala sau starea este selectată dintre CML, T-ALL și neuroblastom.

EXEMPLIFICARE

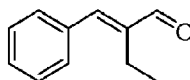
Exemplele reprezentative care urmează sunt destinate să ajute să ilustreze prezenta dezvoltare și nu sunt destinate și nici nu ar trebui să fie interpretate ca limitare a domeniului de aplicare a ceea ce este descris. Modificările și alte variante de realizare, în plus față de cele prezentate și descrise în conținut, vor deveni evidente pentru specialiștii în domeniu.

Se va aprecia în plus faptul că prezenta dezvoltare (inclusiv Exemplificarea) descrie compuși individuali descriși în conținut. Acolo unde compușii individuali exemplificați sunt izolați și/sau caracterizați ca o sare, de exemplu, ca o sare a acidului trifluoracetic, prezenta dezvoltare descrie o bază liberă a sării, precum și alte săruri acceptabile farmaceutic ale bazei libere.

Dacă nu se menționează altfel, toți solvenții, substanțele chimice și reactivii au fost obținuți comercial și utilizați fără purificare. Spectrele ^1H RMN au fost obținute în D_2O , CDCl_3 , d_6 -DMSO, CD_3OD sau d_6 -acetona la 25°C la 400 MHz pe un sistem OXFORD (Varian) cu deplasare chimică (δ , ppm) raportate față de TMS ca standard intern. Cromatogramele și spectrele HPLC-MS au fost obținute cu ajutorul sistemului Shimadzu LC-MS-2020. Analiza chirală și purificarea au fost obținute cu Yilite P270.

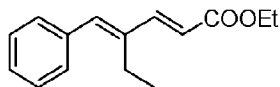
(1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat

Etapa 1:

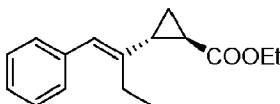


(E)-2-benzilidenbutanal

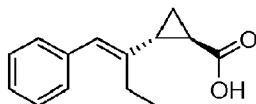
La o soluție de benzaldehidă (130,0 kg, 1226,4 mol) în MeOH (1100,0 kg) s-a adăugat NaOH (apos) (10%, 500,0 kg). Apoi s-a adăugat butanal (92,7 kg, 1287,5 moli) prin picurare la 0°C . Amestecul de reacție a fost agitat la 10°C timp de 10 ore. Solventul a fost îndepărtat și reziduul a fost acidulat cu HCl (apos, 4N) la $\text{pH} = 5$. Amestecul a fost extras cu EtOAc (500 kg+200 kg) și spălat cu saramură (100 kg*2). Stratul organic a fost concentrat sub vid. Produsul brut a fost distilat sub vid ($85\text{--}95^\circ\text{C}$, $2\text{--}10\text{ mm Hg}$) pentru a da (E)-2-benzilidenbutanal (130,0 kg, GC >95%) sub forma unui ulei gălbui.

Etapă 2:**etil (E)-4-((E)-benziliden)hex-2-enoat**

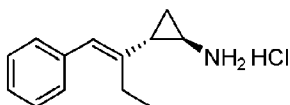
Acetat de 2-(dietoxifosforil)etil (182,0 kg, 812,5 mol) a fost dizolvat în THF (2200 kg) și răcit la 0 °C. S-a adăugat terț-butanolat de potasiu (105,0 kg, 937,5 moli) într-o porție și amestecul de reacție a fost agitat energic la 0 °C timp de 15 min. La amestecul de reacție s-a adăugat (E)-2-benzilidenbutanal (130,0 kg, 812,5 moli 1,0 echiv.) și amestecul de reacție a fost agitat la 25 °C timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost stins cu H₂O (320,0 kg) și extras cu EtOAc (360,0 kg). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu și filtrat. Solventul a fost evaporat sub presiune redusă pentru a da produsul brut sub formă de ulei. Uleiul a fost dizolvat în eter de petrol (560,0 kg), filtrat printr-un strat de silicagel (30,0 kg), iar turta de filtrare a fost spălată cu eter de petrol. Filtratul combinat a fost concentrat pentru a da etil (E)-4-((E)-benziliden)hex-2-enoat sub formă de ulei (170,0 kg). Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Etapă 3:**etil (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-carboxilat**

Terț-butanolat de potasiu (103,5 kg, 924,1 mol) a fost dizolvat în DMSO (1900 kg) într-o atmosferă inertă. Amestecul a fost agitat timp de 15 minute la 25 °C înainte de adăugarea de iodură de trimetilsulfoxoniu (210,0 kg, 959,0 mol). Acest amestec a fost agitat timp de 45 min la 25 °C înainte de adăugarea de etil (E)-4-((E)-benziliden)hex-2-enoat (170,0 kg, 738,0 mol). Reacția a fost încălzită la 50-55 °C și agitată timp de 16 ore. Reacția a fost stinsă cu apă (600 kg). Amestecul a fost extras cu eter de petrol (800 kg). Faza de eter de petrol a fost evaporată sub presiune redusă pentru a da etil (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-carboxilat (76,5 kg) ca lichid maron. Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Etapă 4:**acid (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-carboxilic**

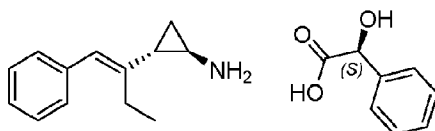
Etil (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-carboxilat (76,5 kg, 313,1 mol) a fost dizolvat în apă (320 kg) și metanol (360 kg). La această soluție s-a adăugat hidroxid de sodiu (41,0 kg, 1025 mol) și soluția a fost agitată timp de 3 ore la 50 °C. Amestecul a fost concentrat la aproximativ 300 L și acidulat la pH = 4 utilizând HCl (apos, 4N). Această soluție a fost extrasă cu EtOAc (520 kg) și straturile au fost separate. Stratul organic a fost spălat cu saramură, uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat pentru a da acid (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-carboxilic (62,5 kg). Acest material a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

Etapă 5:**Clorhidrat de (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină**

La o soluție de acid (trans)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-carboxilic (26,0 kg, 120,4 mol) în toluen (270 kg) s-au adăugat trietilamină (36,3 kg, 359 mol) și difenilfosforil azidă (38,0

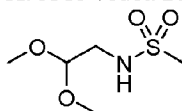
kg, 138,1 mol) la 0 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 0-10 °C timp de 3 ore. S-a adăugat apă (100 kg) și amestecul a fost extras cu EtOAc (80,0 kg) și stratul organic a fost concentrat sub vid pentru a se obține un ulei brut. Uleiul brut a fost dizolvat în eter de petrol (50 kg). Suspensia a fost filtrată printr-un strat de silicagel și turta de filtrare a fost spălată cu eter de petrol. Filtratele combinate au fost concentrate pentru a da acil azidă brută. Acil azida brută a fost preluată în toluen (100 kg) și soluția a fost încălzită la 85 °C timp de 2 ore. Stratul organic a fost concentrat la -60 L. S-a adăugat trimetilsilanolat de potasiu (23,0 kg, 177,9 moli) la amestecul de toluen la temperatura camerei și s-a agitat timp de 1,5 ore. Reacția a fost apoi tratată cu HCl (2N apos, 120 kg) și agitată. Straturile au fost separate. Stratul organic a fost extras de două ori cu HCl (2N apos, 20 kg) și extractele apoase au fost combinate. Stratul apos a fost extras o dată cu MTBE (30 kg) și apoi alcalinizat la pH = 10-11 cu hidroxid de sodiu (47 kg, 30% apos). Stratul apos a fost apoi extras cu MTBE (150 kg). Extractele organice au fost spălate cu saramură, uscate cu sulfat de sodiu și filtrate. La această soluție de MTBE s-a adăugat HCl (23,5 kg, 12% în dietil eter) și un solid alb a precipitat din soluție. Solidul a fost colectat pentru a da clorhidrat de (*trans*)-2-((*E*)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (16,5 kg, 73,8 mol).

Etapă 6:



(1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat

Clorhidrat de (*trans*)-2-((*E*)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (16,5 kg, 73,8 mol) a fost încărcat într-un reactor și s-a adăugat K₃PO₃ (46 I, 37% în greutate, urmat de EtOAc (150 kg). Amestecul de reacție a fost agitat la 0-10 °C timp de 3 ore. Stratul organic a fost separat și concentrat la sec pentru a se obține un ulei. S-au adăugat în reactor acid S-Mandelic (8,4 kg, 55,35 mol) și 95% EtOH (165 kg) și reacția a fost agitată la temperatura camerei timp de 72 de ore (până ee > 99%). Solidul a fost colectat prin filtrare pentru a da (1R,2S)-2-((*E*)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat (5,8 kg, 17,1 mol). LCMS *m/z* 188 [L+H]⁺. Stereochimia absolută a fost determinată prin cristalografie cu raze X. A se vedea **FIG. 1**.

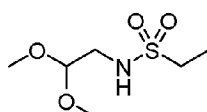


N-(2,2-dimetoxietil)metansulfonamidă

La o soluție de 2,2-dimetoxietanamină (518 μl, 4,75 mmol) în diclormetan (4,75 mL) la 0 °C s-a adăugat trietilamină (1,32 mL, 9,50 mmol) urmată de clorură de metansulfonil (550 μl, 12 mmol). Amestecul a fost agitat la 0 °C timp de 30 minute. Reacția a fost diluată cu diclormetan și spălată cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu. Stratul apos a fost extras de două ori cu diclormetan. Straturile organice combinate au fost uscate cu sulfat de sodiu apoi concentrate sub presiune redusă pentru a da 1,18 g de compus brut sub formă de ulei galben deschis. Amestecul brut a fost apoi diluat în acetonă:apă (1:1, 4 ml) și tratat cu formă de hidrogen amberlyst-15 (1,2 g). Amestecul rezultat a fost agitat timp de 2 ore la temperatura camerei. Suspensia a fost filtrată prin celită și concentrată sub presiune redusă pentru a da N-(2,2-dimetoxietil)metansulfonamidă brută (900 mg) sub formă de ulei galben. Produsul a fost utilizat fără purificare suplimentară. ¹H RMN (400 MHz, dmsO) δ 7,13 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,36 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,28 (s, 6H), 3,02 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,90 (s, 3H).

N-(2-oxoetil)etansulfonamidă

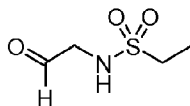
Etapă 1:



N-(2,2-dimetoxietil)etansulfonamidă

La o soluție de 2,2-dimetoxietanamină (247 μ L, 2,28 mmol) în DCM (1,9 mL) la 0 °C s-a adăugat trietilamină (634 μ L, 4,56 mmol) urmată de clorură de etansulfonil (212 μ L, 2,28 mmol). Amestecul a fost agitat la 0 °C timp de 30 min. Reacția a fost diluată cu DCM și spălată cu soluție saturată de NaHCO₃. Stratul apos a fost extras înapoi de două ori cu DCM. Straturile organice combinate au fost uscate cu Na₂SO₄ și apoi concentrate sub presiune redusă pentru a da N-(2,2-dimetoxietil)etansulfonamidă brută sub formă de ulei maron.

Etapa 2:



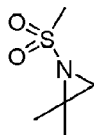
N-(2-oxoetil)etansulfonamidă

La o soluție de N-(2,2-dimetoxietil)etansulfonamidă brută în acetonă: apă (1:1, 4 ml) s-a adăugat forma de Hidrogen Amberlyst-15 (1,0 g). Amestecul rezultat a fost agitat timp de două zile la temperatura camerei. Suspensia a fost filtrată prin celită și concentrată sub presiune redusă pentru a da N-(2-oxoetil)etansulfonamidă brută (614 mg) sub formă de ulei galben. Folosit fără purificare suplimentară. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,68 (s, J = 1,1 Hz, 1 H), 4,15 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 3,07 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 1,40 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

Folosind materialul de pornire și modificările adecvate, au fost sintetizați următorii intermediari din **Tabelul 1** folosind procedurile de sinteză descrise pentru N-(2-oxoetil)etansulfonamidă.

Tabelul 1

Structura	Denumire
	N-(2-oxoetil)acetamidă
	N-(2-oxoetil)ciclopropansulfonamidă
	N-(2-oxoetil)propan-2-sulfonamidă
	2-metoxi-N-(2-oxoetil)etan-1-sulfonamidă

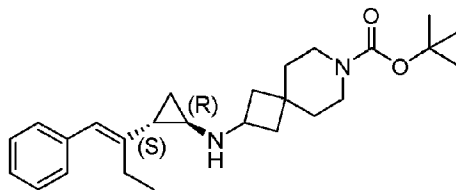


2,2-dimetil-1-(metilsulfonil)aziridină

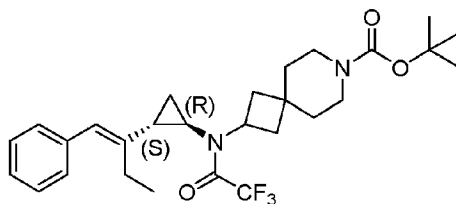
La o soluție de 2-amino-2-metilpropan-1-ol (1,0 g, 11,2 mmol) în DCM (22,4 mL) la 0 °C s-a adăugat trietilamină (7,79 mL, 56,0 mmol) urmată de clorură de metansulfonil (2,16 mL, 28,0 mmol). Amestecul a fost agitat la 0 °C timp de 30 de minute și apoi a fost lăsat să se încălzească la temperatura camerei peste noapte. Reacția a fost diluată cu DCM și spălată cu soluție sat. NaHCO₃. Stratul apos a fost extras o dată cu DCM. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ și apoi concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut 2,2-dimetil-1-(metilsulfonil)aziridină (1,95 g) sub forma unui ulei maron.

2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-il)acetamidă clorhidrat

Etapa 1:

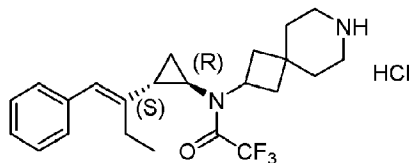
5 **terț-butil 2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat**

La o suspensie de (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropanamină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat (3,5 g, 10,3 mmoli) în 1,2-diclorețan (75 mL) la 0 °C s-a adăugat terț-butil 2-oxo-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat (2,58 g, 10,8 mmoli) urmată de triacetoxiborohidru de sodiu (4,78 g, 22,6 mmoli). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 23 °C și agitat timp de 4 ore. S-au adăugat apoi terț-butil 2-oxo-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat (123 mg, 0,51 mmol) și triacetoxiborohidru de sodiu (328 mg, 1,55 mmol) și amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu o soluție apoasă saturată de K₂CO₃ soluție (50 mL) și extras cu DCM (3 × 20 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (20 mL), uscate pe Na₂SO₄, filtrate și concentrate sub presiune redusă. Reziduul brut a fost purificat prin Biotage (gradient de la 0 la 100% EtOAc în hexani) pentru a da terț-butil 2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat (3,235 g). LCMS (ESI) m/z 411,3 [L+H]⁺.

20 **Etapa 2:**25 **terț-butil 2-(2,2,2-trifluor-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido))-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat**

La o soluție de terț-butil 2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat (3,226 g, 7,84 mmol) în DCM (50 mL) la 0 °C s-a adăugat N,N-diizopropiletilamină (2,03 mL, 11,7 mmol) urmată de anhidridă trifluoracetică (1,40 mL, 10,1 mmol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 23 °C și agitat timp de 4 ore. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (30 mL) și cele două straturi au fost separate. Stratul organic a fost spălat cu soluție de NH₄Cl apoasă saturată (2 x 20 mL), uscat pe Na₂SO₄, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Reziduul brut a fost purificat prin Biotage (gradient 0 până la 50% EtOAc în hexani) pentru a da terț-butil 2-(2,2,2-trifluor-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido))-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat (3,258 g). LCMS (ESI) m/z: 529,2 [M+Na]⁺.

Etapa 3:



40

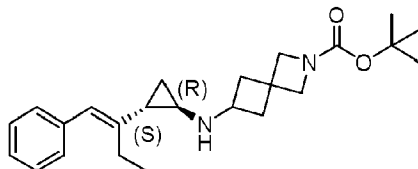
Clorhidrat de 2,2,2-trifluor-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-il)acetamidă

La o soluție de terț-butil 2-(2,2,2-trifluor-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido))-7-azaspiro[3,5]nonan-7-carboxilat (3,254 g, 6,41 mmol) în dioxan (32 mL)

la 23 °C s-a adăugat o soluție 4,0 M de HCl în dioxan (12,8 mL, 51,2 mmol) prin picurare. Amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 2 ore. S-a adăugat apoi HCl suplimentar (12,8 mL, 51,2 mmol, soluție 4,0 M în dioxan) și amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat sub presiune redusă pentru a da Clorhidrat de 2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(7-azaspiro[3,5]nonan-2-il)acetamidă sub formă de spumă galbenă brută (3,185 g). LCMS (ESI) m/z : 407,2 $[M+H]^+$.

2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan- 2,2,2-trifluoracetat de 6-il)acetamidă

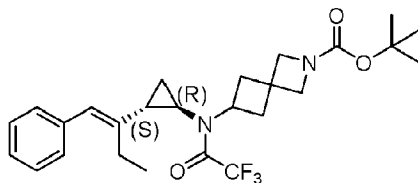
Etapă 1:



terț-butil 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat

La (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropanamină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat (8,65 g, 25,5 mmol) și terț-butil 6-oxo-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (5,15 g, 24,3 mmol) în 1,2-DCE (100 mL) s-a adăugat triacetoxiborohidru de sodiu (10,8 g, 51 mmol). După 30 min. reacția a fost stinsă cu K_2CO_3 (apos) și extrasă cu DCM (2X150 mL). Faza organică a fost concentrată și reziduul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (50 g coloană, 5% până la 100% EtOAc:hexani) pentru a da terț-butil 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (4,61 g). LCMS m/z : 383,7 $[L+H]^+$.

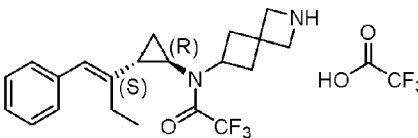
Etapă 2:



terț-butil 6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat

La terț-butil 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (4,61 g, 12 mmol) dizolvat în DCM s-a adăugat diizopropiletilamină (2,81 mL, 16,2 mmol). Soluția a fost răcită la 0 °C înainte de adăugarea de anhidridă trifluoracetică (2,08 mL, 15 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat timp de 2 ore, în timp ce se încălzește la temperatura camerei. Volatilele au fost evaporate sub presiune redusă pentru a se da terț-butil 6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat brut. LCMS m/z 479 $[L+H]^+$.

Etapă 3:



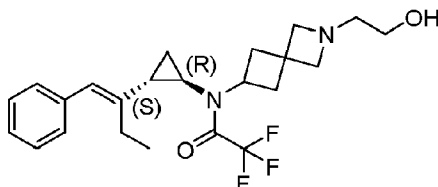
2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan- 2,2,2-trifluoracetat de 6-il)acetamidă

Terț-butil 6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (5,74 g, 12 mmol) a fost dizolvat în DCM (80 mL) și răcit la 10 °C înainte de adăugarea acidului trifluoracetic (20 mL, 240 mmol). Soluția a fost lăsată să se încălzească la temperatura camerei și s-a agitat timp de 3 ore. Reacția a fost concentrată pentru a da 2,2,2-trifluor-

N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2)-azaspiro[3,3]heptan-6-il)acetamidă 2,2,2-trifluoracetat brut.. LCMS m/z 379,2 [L+H]⁺.

Compusul 1: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)etanol

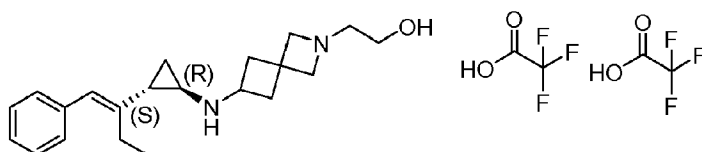
Etapa 1:



2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxietil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă

O soluție de 2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)acetamidă 2,2,2-trifluoracetat (7,57 g, 15,3 mmol) și dimer de glicolaldehidă (5,51 g, 45,9 mmol) în metanol au fost tratate cu acid acetic (2,0 mL) și cianoborohidru de sodiu (2,88 g, 45,9 mmol). Reacția a fost încălzită la 60 °C și monitorizată prin LCMS. După 1 oră, reacția a fost stinsă cu carbonat de potasiu apos 10% până la un pH de 8. Materialele volatile au fost apoi îndepărtate sub vid. Amestecul brut a fost extras de două ori cu 2-metiltetrahidrofuran. Stratul organic a fost apoi uscat cu sulfat de sodiu, filtrat și volatilele au fost îndepărtate sub vid. Produsul dorit 2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxietil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă, a fost utilizat fără purificare suplimentară. LCMS (ESI) m/z : 423,1 [L+H]⁺.

Etapa 2:

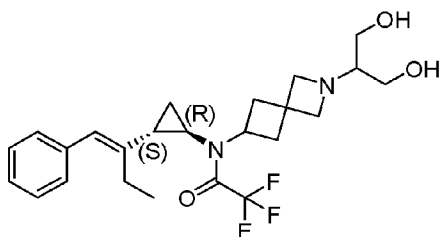


2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)etanol bis(2,2,2-trifluoracetat)

Într-un balon cu fund rotund, 2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxietil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă (6,46 g, 15,3 mmol) a fost dizolvată în metanol (75 mL), răcită la 0° C și tratată cu 10 ml de hidroxid de sodiu apos 10%. Reacția a fost agitată sub atmosferă de azot timp de 30 minute și a fost stinsă cu acid 2,2,2-trifluoracetic la un pH de 2,0. Materialele volatile au fost îndepărtate sub vid. Produsul dorit a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu fază inversă utilizând 10-30 % CH₃CN/0,1% acid 2,2,2-trifluoracetic apos. Frațiunile pure au fost combinate, congelate și liofilizate pentru a da acid 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)etanol bis-(2,2,2-trifluoracetic) (2,90 g). LCMS (ESI) m/z : 327,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,87 (s 1, 1H), 9,21 (s 1, 2H), 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 5,23 (s 1, 1H), 4,25 - 4,11 (m, 2H), 4,11 - 4,06 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,85 - 3,69 (m, 1H), 3,55 (s, 2H), 3,25 - 3,11 (m, 2H), 2,80 - 2,72 (m, 1H), 2,72 - 2,65 (m, 1H), 2,65 - 2,53 (m, 1H), 2,48 - 2,35 (m, 2H), 2,30 - 2,18 (m, 2H), 2,02 - 1,90 (m, 1H), 1,22 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Compusul 2: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-1,3-diol

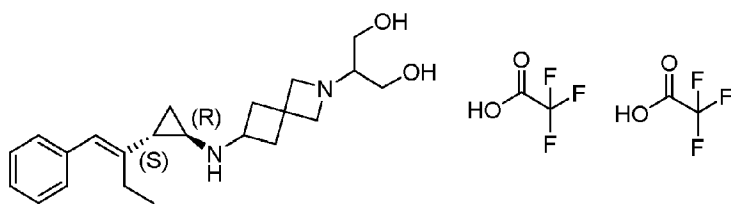
Etapa 1:



N-(2-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-yl)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)acetamidă:

Într-un balon cu fund rotund, la 2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-yl)acetamidă 2,2,2-trifluoracetat (2,75 g, 5,58 mmol) dizolvată în metanol (18,6 mL) s-au adăugat 1,3-dihidroxiopropan-2-onă (3,0 g, 33,4 mmol) și acid acetic (10 picături). Soluția a fost apoi tratată cu cianoborohidru de sodiu (2,09 g, 33,4 mmol) și agitată timp de 1 oră. Reacția a fost apoi stinsă la pH 8 utilizând soluție apoasă de carbonat de potasiu 10% și volatilele au fost îndepărtate sub vid. Amestecul brut a fost extras de două ori cu 2-metiltetrahydrofuran. Straturile organice combinate au fost spălate o dată cu saramură, apoi uscate cu sulfat de sodiu, filtrate și concentrate pentru a da N-(2-(1,3-dihidroxiopropan-2-yl)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-yl)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)acetamidă brută. Produsul brut a fost utilizat fără purificare suplimentară. LCMS (ESI) m/z : 453,4 $[L+H]^+$.

Etapă 2:

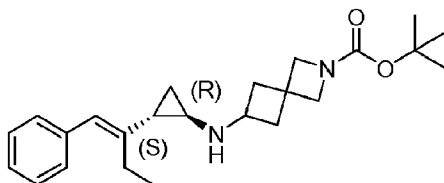


2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propan-1,3-diol bis(2,2,2-trifluoracetat)

N-(2-(1,3-dihidroxiopropan-2-yl)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-yl)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)acetamidă (2,52 g, 5,58 mmoli) a fost dizolvată în metanol, răcită într-o baie de gheață și tratată cu NaOH apos 10% și lăsată să atingă temperatura camerei. După 30 de minute, reacția a fost stinsă la pH 2 folosind TFA și volatilele au fost îndepărtate sub presiune redusă. Amestecul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu fază inversă (60 g) utilizând 10 - 30% MeCN/0,1% TFA apos ca eluent. Frațiile au fost combinate, congelate și liofilizate pentru a da 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propan-1,3-diol bis(2,2,2-trifluoracetat) ca solid alb amorf (740 mg). LCMS (ESI) m/z : 357,4 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,00 (s br, 1H), 9,33 (s br, 2H), 7,42 - 7,31 (m, 2H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,28 (s br, 2H), 4,30 (t, J = 15,6 Hz, 2H), 4,14 (s, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,86 - 3,68 (m, 1H), 3,58 (dd, J = 12,7, 9,6 Hz, 4H), 3,29 (s, 2H), 2,72 (s, 2H), 2,40 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 2,31 - 2,15 (m, 2H), 1,97 (s, 1H), 1,15 (dt, J = 15,1, 5,9 Hz, 5H).

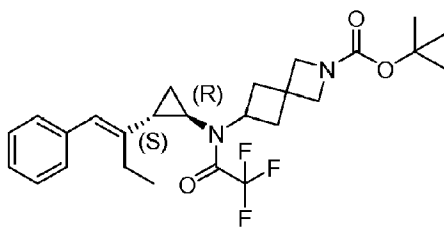
Creșterea gradată și Formarea Sării Monocitrat de 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propan-1,3-diol

Etapă 1:

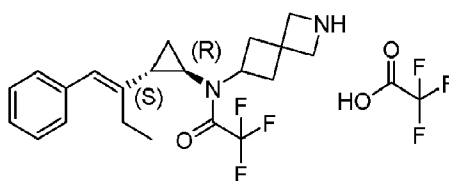


terț-butil 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat

Se încarcă (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină (S)-2-hidroxi-2-fenilacetat (160 g, 1,0 echiv.) într-un balon de 3 L și se dizolvă în DCM (1000 mL). În acest balon s-a adăugat o soluție de 10% K₂CO₃ (500 ml) și apă (500 ml). Soluția a fost agitată timp de 10 min. Straturile au fost separate și stratul apos a fost extras cu DCM (2 X, 300 mL). Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ (100 g), filtrate și concentrate pentru a da (1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropan-1-amină sub forma unui ulei galben deschis. Acest material a fost dizolvat în 2-MeTHF (500 ml) și concentrat. Acest material a fost apoi dizolvat în 2-MeTHF (1000 mL) și transferat într-un balon de 10 L. La balonul de 10 L s-a adăugat 2-MeTHF (1000 mL) pentru a dizolva complet baza liberă și la această soluție s-a adăugat terț-butil 6-oxo-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (100 g). Reacția a fost agitată timp de 10 minute înainte de adăugarea de NaBH(OAc)₃ (200 g, 2,0 echiv.). Reacția a fost agitată la temperatura camerei timp de 4 ore. S-au adăugat NaBH(OAc)₃ suplimentar (8 g, 0,08 echiv.) și soluția a fost agitată la temperatura camerei timp de 2 ore. Această soluție a fost alcalinizată la pH = 8 prin adăugarea unei soluții 10% de K₂CO₃ (950 mL) și reacția a fost agitată timp de 30 min la temperatura camerei. Straturile au fost separate și stratul de apă a fost extras cu DCM (1 X, 500 mL). Stratul de substanțe organice combinat a fost concentrat (temperatura băii < 45 °C) pentru a da terț-butil 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil) amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (220 g).

Etapă 2:**terț-butil 6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat**

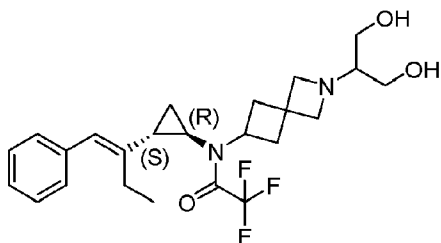
Într-un balon încărcat cu terț-butil 6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat brut (200 g) s-au adăugat DCM (2000 mL) și bază Hunig (100 mL). Reacția a fost răcită la 0 °C înainte de adăugarea de anhidridă trifluoracetică (120 g) prin picurare timp de 30 min. Reacția a fost agitată la 0 °C înainte de încălzire la 10-20 °C și agitată timp de 16 ore. S-a adăugat apă (2000 mL) la această reacție și straturile au fost separate. Stratul organic a fost concentrat pentru a da produs brut (264 g). Uleiul brut a fost dizolvat în heptan (500 ml) și agitat timp de 30 min pentru a se obține o suspensie. Acest material a fost apoi purificat prin cromatografie pe silicagel (1,5 kg, 100-200 meci silicagel; gradient: 1:20 acetat de etil:heptan; 1:10 acetat de etil:heptan; 1:5 acetat de etil:heptan) pentru a da terț-butil 6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (Fracția A: 114 g, puritate 96%; Fracția B: 72 g, puritate 86%).

Etapă 3:**2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan-2,2,6-il)acetamidă trifluoracetat**

La un balon încărcat cu terț-butil 6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-carboxilat (104 g) s-a adăugat DCM (1050 mL) și soluția a fost răcită la 0 °C. La această soluție s-a adăugat TFA (240 g, 10 echiv.) și soluția a fost încălzită la temperatura camerei. Reacția a fost agitată timp de 2 ore înainte de a se adăuga TFA

suplimentar (40 g, 2,0 echiv.). Reacția a fost agitată timp de 1 oră înainte de a fi concentrată pentru a se obține un ulei maron. Uleiul maron a fost dizolvat în MeOH (500 ml) și concentrat. Această etapă a fost repetată (3 X) pentru a da 2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)acetamidă 2,2,2-trifluoracetat brut (365,7 g).

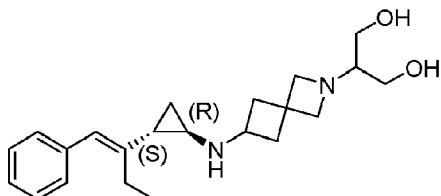
5

Etapă 4:

10 **N-(2-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă**

Într-un balon încărcat cu 2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)acetamidă 2,2,2-trifluoracetat (365,7 g, 1,0 echiv.) brut s-a adăugat MeOH (1500 mL). La această soluție s-a adăugat 1,3-dihidroxipropan-2-onă (120 g, 1,33 echiv.) și soluția a fost agitată la temperatura camerei timp de 20 min înainte de adăugarea de AcOH (20 mL, 1,41 echiv.). Reacția a fost agitată timp de 10 minute înainte de adăugarea de NaBH₃CN (84 g, 6,01 echiv.). Reacția a fost plasată într-o baie rece pentru a menține temperatura sub 40 °C. Reacția a fost agitată timp de 1 oră și în timpul reacției amestecul a devenit galben deschis. Această soluție a fost alcalinizată la pH = 8 prin adăugarea de 10% soluție K₂CO₃ (400 ml). Amestecul a fost concentrat pentru a îndepărta MeOH (temperatura băii < 45 °C). Soluția rezultată a fost dizolvată în DCM (500 mL) și s-a adăugat apă (200 mL). Straturile au fost separate și stratul apos a fost extras cu DCM (2 X). Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, filtrate și concentrate pentru a da N-(2-((1,3-dihidroxipropan-2-il)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă brută (110,6 g).

25

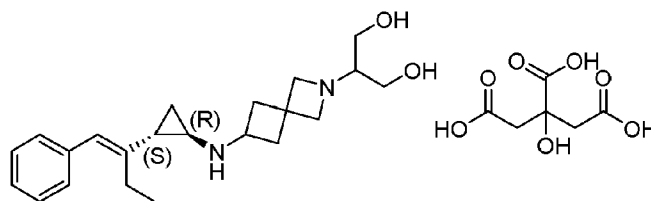
Etapă 5:

30 **2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-1,3-diol**

Într-un balon încărcat cu N-(2-((1,3-dihidroxipropan-2-il)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă (110,6 g) brută s-a adăugat 2-MeTHF (1100 mL). La acest amestec s-a adăugat lent soluție de NaOH (20 g NaOH dizolvată în 500 ml apă). Reacția a fost agitată la temperatura camerei timp de 1 oră. Straturile au fost separate și stratul apos a fost extras cu 2-MeTHF (2 X). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură, uscate pe Na₂SO₄, filtrate și concentrate pentru a obține un ulei galben (190 g). Uleiul galben a fost dizolvat în acetat de etil și spălat cu saramură. Stratul organic a fost concentrat (temperatura băii < 45 °C) pentru a da 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-1,3-diol (76,4 g) ca un solid galben deschis.

40

Etapă 6:



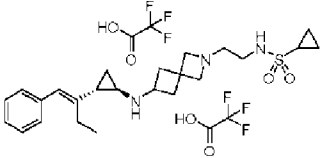
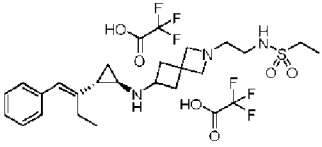
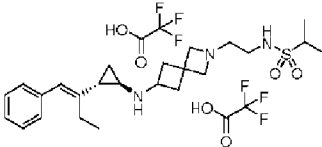
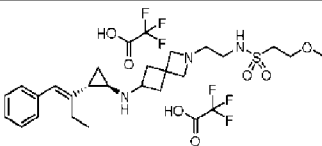
2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propan-1,3-diol 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylate

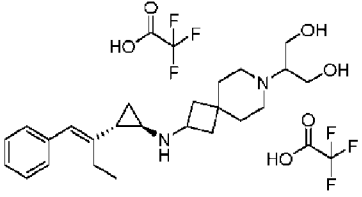
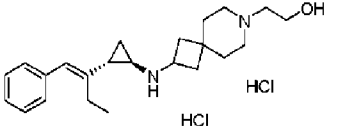
5 Într-un balon încărcat cu 2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propan-1,3-diol (50 g, 1,0 echiv.) s-a adăugat un amestec de DCM:MeOH (500 mL:40 mL). Această soluție a fost agitată la temperatura camerei timp de 10 minute înainte de adăugarea în picături de acid citric (40 g, 1,43 echiv.) dizolvat în MeOH (90 mL). Amestecul a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră înainte ca precipitatul să fie colectat prin filtrare. Solidul a
10 fost spălat cu un amestec de MeOH:DCM (3:20, 200 ml). Turta de filtrare a fost uscată sub vid la 40 °C timp de 16 ore pentru a da 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propan-1,3-diol 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylate (77,4 g) ca produs cristalin. ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ = 7,46 - 7,33 (m, 2 H), 7,31 - 7,25 (m, 3 H), 6,23 (s, 1 H), 4,40 (s, 2 H), 4,32 (s, 1, 2 H), 3,93 (quin, J = 8,1 Hz, 1 H), 3,84 - 3,71 (m, 4 H), 3,40 (quin, J = 4,6 Hz, 1 H),
15 2,90 - 2,52 (m, 9 H), 2,36 - 2,19 (m, 2 H), 2,09 - 2,00 (m, 1 H), 1,30 - 1,19 (m, 2 H), 1,11 (t, J = 7,8 Hz, 3 H). Structura a fost confirmată prin cristalografie cu raze X. A se vedea **FIG. 2**.

Folosind materialul de pornire și modificările adecvate, au fost sintetizați următorii compuși din **Tabelul 2** folosind procedurile de sinteză descrise pentru Compusul 1.

Tabelul 2

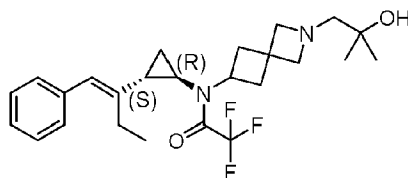
Compus	Structură/denumire	¹ H RMN	LCMS m/z
3	2-(2-aminoetil)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-amină bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,43 (s, 3H), 9,25 (s, 13H), 7,98 (s, 17H), 7,33 (t, J = 7,5 Hz, 15H), 7,28 - 7,11 (m, 22H), 6,18 (s, 7H), 4,08 (s, 20H), 3,77 (s, 9H), 2,93 (s, 19H), 2,71 (s, 13H), 2,58 (s, 14H), 2,44 - 2,35 (m, 12H), 2,30 - 2,16 (m, 17H), 1,95 (s, 8H), 1,25 - 1,06 (m, 38H).	326,4 [M+H] ⁺
4	N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etil)metansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,91 (s, 1H), 9,22 (s, 1, 2H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,30 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 7,26 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,06 (m, 3H), 3,88 - 3,70 (m, 1H), 3,28 - 3,20 (m, 2H), 3,20 - 3,11 (m, 2H), 2,96 (s, 3H), 2,82 - 2,64 (m, 2H), 2,63 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,29 - 2,17 (m, 2H), 2,02 - 1,89 (m, 1H), 1,17 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	404,1 [M+H] ⁺
5	N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etil)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,81 (s, 1H), 9,21 (s, 1, 2H), 8,05 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,27 - 4,18 (m, 1H), 4,15 - 4,05 (m, 3H), 3,85 - 3,74 (m, 1H), 3,26 - 3,10 (m, 4H), 2,80 - 2,70 (m, 1H), 2,70 - 2,63 (m, 1H), 2,63 - 2,54 (m, 1H), 2,47 - 2,36 (m, 1H), 2,30 - 2,18 (m, 2H), 2,00 - 1,91 (m, 1H).	368,4 [M+H] ⁺

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN	LCMS m/z
	azaspiro[3,3]heptan-2-il)etil)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H), 1,83 (s, 3H), 1,21-1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	
6	 N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etil)ciclopropansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,91 (s 1, 1H), 9,20 (s 1, 2H), 7,42 - 7,31 (m, 3H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,27 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,15 (m, 1H), 4,15 - 4,06 (m, 2H), 3,87 - 3,72 (m, 1H), 3,27 - 3,14 (m, 4H), 2,81 - 2,66 (m, 2H), 2,66 - 2,60 (m, 1H), 2,60 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,30 - 2,17 (m, 2H), 2,01 - 1,91 (m, 1H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,04 - 0,95 (m, 2H), 0,95 - 0,87 (m, 2H).	430,4 [M+H] ⁺
7	 N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etil)etansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,92 (s 1, 1H), 9,22 (s 1, 2H), 7,40 - 7,29 (m, 3H), 7,29 - 7,15 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,03 (m, 3H), 3,79 (s 1, 1H), 3,26 - 3,17 (m, 2H), 3,16 - 3,10 (m, 2H), 3,07 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 2,80 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,31 - 2,17 (m, 2H), 2,03 - 1,90 (m, 1H), 1,19 (t, J = 7,4 Hz, 3H), 1,17 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	418,1 [M+H] ⁺
8	 N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etil)propan-2-sulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,93 (s 1, 1H), 9,25 (s 1, 2H), 7,40 - 7,28 (m, 3H), 7,27 - 7,15 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,20 (m, 1H), 4,20 - 4,06 (m, 3H), 3,86 - 3,73 (m, 1H), 3,26 (dd, J = 13,4, 6,6 Hz, 1H), 3,23 - 3,09 (m, 4H), 2,80 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,48 - 2,36 (m, 1H), 2,32 - 2,17 (m, 2H), 2,03 - 1,92 (m, 1H), 1,22 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 1,20 - 1,15 (m, J = 12,4, 5,3 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	432,2 [M+H] ⁺
9	 2-metoxi-N-(2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etil)etansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,83 (s 1, 1H), 9,15 (s 1, 2H), 7,39 - 7,33 (m, 2H), 7,31 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,29 - 4,19 (m, 1H), 4,19 - 4,06 (m, 3H), 3,87 - 3,72 (m, 1H), 3,65 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,51 - 3,42 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,21 (s, 2H), 3,18 - 3,08 (m, 2H), 2,81 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,46 - 2,35 (m, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	448,3 [M+H] ⁺

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN	LCMS m/z
10	 2-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)propan-1,3-diol bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,01 - 9,78 (m, 2H), 9,59 (s 1, 1H), 7,37 - 7,31 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,39 (s 1, 2H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,77 (d, J = 4,5 Hz, 4H), 3,44 - 3,39 (m, 2H), 3,23 - 3,15 (m, 2H), 3,13 - 3,05 (m, 1H), 2,69 - 2,61 (m, 1H), 2,38 - 2,31 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 3H), 2,19 - 2,09 (m, 3H), 1,99 - 1,86 (m, 4H), 1,36 - 1,27 (m, 1H), 1,17 - 1,09 (m, 4H).	385,5 [M+H] ⁺
11	 2-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)etanol diclorhidrat	(500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,89 (s 1, 1H), 9,84 (s 1, 1H), 9,79 (s 1, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,19 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,31 (s 1, 1H), 3,89 - 3,82 (m, 1H), 3,78 - 3,72 (m, 2H), 3,43 - 3,37 (m, 2H), 3,14 - 3,06 (m, 2H), 3,02 - 2,82 (m, 2H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,38 - 2,30 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 3H), 2,17 - 2,09 (m, 3H), 1,97 - 1,81 (m, 4H), 1,34 - 1,28 (m, 1H), 1,17 - 1,09 (m, 4H)	355,3 [M+H] ⁺

Compusul 12: 2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-2-ol bis(2,2,2-trifluoracetat)

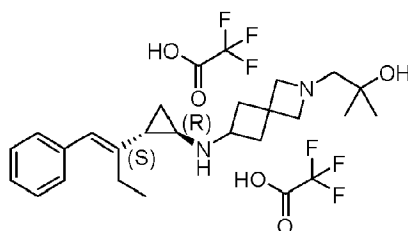
5 Etapa 1:



2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-(((1R,2S)-2-((E))-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă

- Într-un tub etanș s-au adăugat 2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-N-(2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)acetamidă 2,2,2-trifluoracetat (200 mg, 406 μmol), 2,2-dimetiloxiran (54,0 μL, 609 μmol), diizopropiletilamină (210 μL, 1,21 mmol) și EtOH (4,1 ml). Amestecul de reacție a fost agitat la 50 °C timp de 18 ore. Amestecul a fost concentrat sub presiune redusă, diluat cu acetat de etil apoi stins cu HCl 1N. Straturile au fost separate și soluția apoasă a fost extrasă o dată cu acetat de etil. Stratul organic combinat a fost spălat o dată cu saramură, uscat cu sulfat de sodiu și evaporat sub presiune redusă pentru a da 2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaspiro[3,3] heptan-6-il)-N-(((1R,2S)-2-((E))-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă ca un ulei galben(296 mg). LCMS m/z 451,3 [L+H]⁺.

Etapa 2:

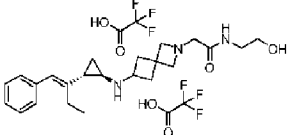
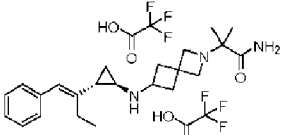
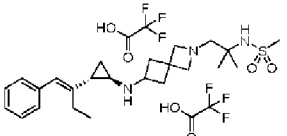


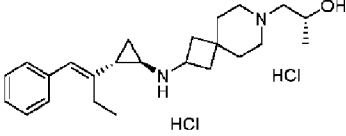
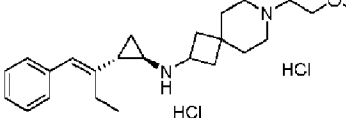
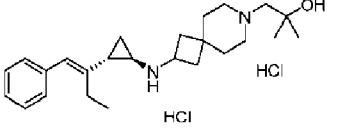
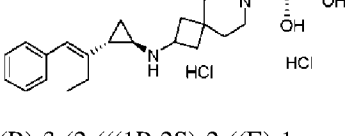
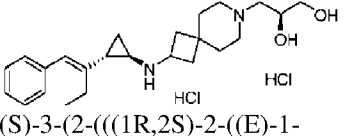
2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-2-ol bis(2,2,2-trifluoracetat)

La o soluție de 2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă (250 mg, 554 pmol) în MeOH (2,8 mL) la temperatura camerei s-a adăugat NaOH (1 M, 2,77 mL, 2,77 mmol). Amestecul a fost lăsat sub agitație la temperatura camerei timp de 60 min. Amestecul a fost stins cu TFA apoi concentrat sub presiune redusă. Produsul brut a fost purificat pe o coloană de 30 g C-18 utilizând MeCN/0,1% TFA H₂O ca eluant cu următorul gradient (2 CV 0%, 20 CV 0-30%, 3 CV 30%) pentru a da 2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-2-ol bis(2,2,2-trifluoracetat) (22,0 mg) după liofilizare. LCMS *m/z* 355,3 [L+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,59 (s, 1H), 9,27 (s, 1H), 7,35 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,29 - 7,14 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 4,37 - 4,25 (m, 1H), 4,25 - 4,07 (m, 3H), 3,83 - 3,64 (m, 1H), 3,18 - 3,09 (m, 2H), 2,79 - 2,65 (m, 2H), 2,65 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,33 (m, 1H), 2,30 - 2,13 (m, 2H), 2,03 - 1,89 (m, 1H), 1,23 - 1,15 (m, 2H), 1,13 (s, 6H), 1,11 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

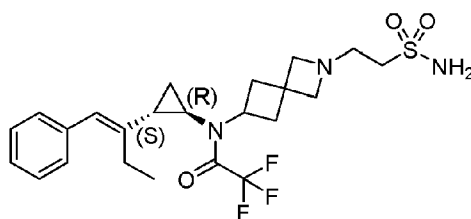
Folosind materialul de pornire și modificările adecvate, au fost sintetizate următoarele exemple din **Tabelul 3** folosind procedurile de sinteză descrise pentru Compusul 12.

Tabelul 3

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN	LCMS <i>m/z</i>
13	 N-(2-hidroxietyl)-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,5 (s br, 1H), 9,3 (s br, 2H), 8,46 (s br, 1H), 7,4 - 7,3 (m, 2H), 7,3 - 7,2 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,23 (s, 1H), 4,2 - 4,0 (m, 3H), 3,96 (m, 2H), 3,76 (s, 1H), 3,15 (2H), 2,72 - 2,68 (m, 2H), 2,58 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,96 (m, 1H), 1,12 (m, 5H)	384,2 [M+H] ⁺
14	 2-metil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propanamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,51 (s br, 1H), 9,44 (s br, 2H), 8,79 (s br, 1H), 7,75 (d, J = 59,3 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,28 - 7,14 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 4,20 (d, J = 14,2 Hz, 1H), 4,04 (dd, J = 12,5, 6,9 Hz, 1H), 3,92 (dd, J = 12,1, 6,4 Hz, 1H), 3,76 (s, 1H), 2,72 (s, 1H), 2,58 (ddd, J = 16,3, 12,1, 6,0 Hz, 2H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,30 - 2,16 (m, 2H), 1,98 (s, 1H), 1,42 (s, 6H), 1,29 - 1,05 (m, 5H).	368,7 [M+H] ⁺
15	 N-(2-metil-1-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propan-2-il)metansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,54 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 7,39 - 7,32 (m, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 7,15 (s, 1H), 6,21 (s, 1H), 4,41 - 4,30 (m, 1H), 4,30 - 4,17 (m, 3H), 3,87 - 3,70 (m, 1H), 3,20 (s, 2H), 3,03 (s, 3H), 2,81 - 2,65 (m, 3H), 2,64 - 2,52 (m, 1H), 2,48 - 2,35 (m, 2H), 2,31 - 2,16 (m, 2H), 1,97 (s, 1H), 1,29 (s, 3H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).	432,2 [M+H] ⁺

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN	LCMS m/z
16	 (R)-1-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)propan-2-ol diclorhidrat	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,99 - 9,76 (m, 2H), 9,52 (s 1, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,46 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 4,17 - 4,08 (m, 1H), 3,89 - 3,80 (m, 1H), 3,44 - 3,37 (m, 2H), 3,09 - 3,01 (m, 1H), 2,99 - 2,84 (m, 3H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,37 - 2,29 (m, 1H), 2,29 - 2,20 (m, 3H), 2,18 - 2,09 (m, 3H), 1,96 - 1,83 (m, 4H), 1,35 - 1,27 (m, 1H), 1,16-1,07 (m, 7H)	369,3 [M+H] ⁺
17	 7-(2-metoxietil)-N-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)-7-azaspiro[3,5]nonan-2-amină diclorhidrat	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,02 (s 1, 1H), 9,95 - 9,79 (m, 2H), 7,37 - 7,31 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,69 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,37 - 3,31 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,25 - 3,18 (m, 2H), 3,03 - 2,92 (m, 1H), 2,92 - 2,80 (m, 1H), 2,70 - 2,61 (m, 1H), 2,37 - 2,29 (m, 1H), 2,29 - 2,19 (m, 3H), 2,19 - 2,08 (m, 3H), 1,97 - 1,80 (m, 4H), 1,35 - 1,27 (m, 1H), 1,17 - 1,09 (m, 4H)	369,3 [M+H] ⁺
18	 2-metil-1-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)propan-2-ol diclorhidrat	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,96 - 9,82 (m, 2H), 9,11 (s 1, 1H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 5,26 (s, 1H), 3,89 - 3,81 (m, 1H), 3,45 - 3,38 (m, 2H), 3,09 - 3,03 (m, 3H), 3,01 - 2,94 (m, 1H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,35 - 2,21 (m, 4H), 2,18 - 2,10 (m, 3H), 2,05 - 1,94 (m, 2H), 1,92 - 1,82 (m, 2H), 1,35 - 1,27 (m, 1H), 1,25 (s, 6H), 1,17 - 1,10 (m, 4H)	383,3 [M+H] ⁺
19	 (R)-3-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)propan-1,2-diol diclorhidrat	¹ H RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ 9,90 (s 1, 2 H), 9,58 (s 1, 1 H), 7,43 - 7,14 (m, 5 H), 6,19 (s, 1 H), 5,54 (s 1, 1 H), 4,98 (s 1, 1 H), 4,03 - 3,77 (m, 2H), 3,16 (d, J = 7,0 Hz, 1 H), 2,95 (dd, J = 9,8, 13,5 Hz, 3 H), 2,64 (s 1, 1 H), 2,40 - 2,06 (m, 7 H), 2,01 - 1,71 (m, 4 H), 1,38 - 1,25 (m, 1H), 1,13 (s, 4 H)	385,3 [M+H] ⁺
20	 (S)-3-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)propan-1,2-diol diclorhidrat	¹ H RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ 10,06 - 9,79 (m, 2 H), 9,60 (s 1, 1 H), 7,45 - 7,30 (m, 2 H), 7,26 - 7,15 (m, 3 H), 6,19 (s, 1 H), 5,55 (s 1, 1 H), 4,99 (s 1, 1H), 3,95 (s 1, 1 H), 3,84 (d, J = 5,5 Hz, 2 H), 3,38 - 3,24 (m, 2 H), 3,22 - 3,10 (m, 1 H), 3,05 - 2,77 (m, 2 H), 2,65 (s 1, 1 H), 2,33 (s 1, 1 H), 2,29 - 2,19 (m, 2H), 2,19 - 2,06 (m, 4 H), 2,01 - 1,76 (m, 4H), 1,38 - 1,24 (m, 1 H), 1,19 - 1,04 (m, 4H)	385,3 [M+H] ⁺

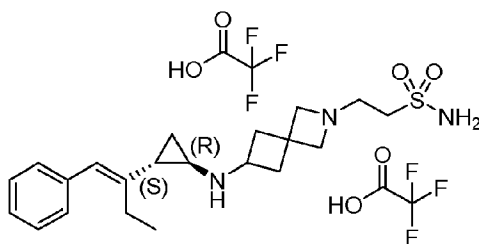
Compusul 21: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)etansulfonamidă



2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etansulfonamidă

Într-un flacon etanș încărcat cu 2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropil)acetamidă (0,1610 g, 326 pmol) N,N-dimetilformamidă și carbonat de sodiu (100 mg, 943 pmol) s-au adăugat etansulfonamidă (80,1 mg, 748 pmol) la temperatura camerei. Flaconul a fost apoi sigilat și încălzit la 60 °C într-o baie de ulei peste noapte. Amestecul brut a fost împărțit între 2-metiltetrahidrofuran și apă. Faza organică a fost spălată de două ori cu apă/saramură (1:1 v/v), uscată pe sulfat de sodiu și evaporată sub vid pentru a da 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etansulfonamidă brută. Produsul brut a fost utilizat fără purificare suplimentară. LCMS (ESI) *m/z*: 485,9 [L+H]⁺.

Etapă 2:

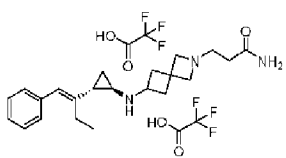


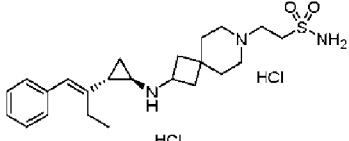
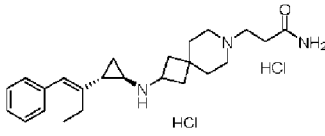
Compusul 32: 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)

2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etansulfonamidă brută a fost dizolvată în metanol (2,0 ml) și tratată cu soluție apoasă de NaOH 10 % (0,5 ml) la 0 °C timp de 30 min. Amestecul de reacție a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu fază inversă 10 - 30% MeCN/0,1% TFA apos ca eluant. Frațiile pure au fost combinate, congelate și liofilizate timp de trei zile. Produsul dorit 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)etansulfonamidă bis(2,2,2-trifluoracetat) a fost obținut ca un solid alb amorf (49,6 mg). LCMS (ESI) *m/z*: 390,2 [L+H]⁺. ¹H RMN (500 MHz, MeOD) 7,34 - 7,28 (m, 2H), 7,23 - 7,15 (m, 3H), 6,26 (s, 1H), 4,36 (s, 2H), 4,27 (s, 2H), 3,92 (p, J = 8,1 Hz, 1 H), 3,67 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,41 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,88 - 2,79 (m, 2H), 2,79 - 2,72 (m, 1 H), 2,67 - 2,56 (m, 2H), 2,40 - 2,25 (m, 2H), 2,09 - 2,01 (m, 1 H), 1,40 (s, 2H), 1,33 - 1,20 (m, 3H), 1,17 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Folosind materialul de pornire și modificările adecvate, au fost sintetizate următoarele exemple din **Tabelul 4** folosind procedurile de sinteză descrise pentru Compusul 21.

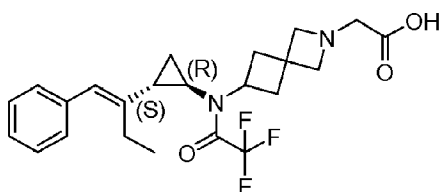
Tabelul 4

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN
22	 3-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-phenylbut-1-en-2-yl)cyclopropyl)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-yl)propanamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (500 MHz, MeOD) δ 7,35 - 7,28 (m, 2H), 7,24 - 7,16 (m, 3H), 6,26 (s, 1H), 4,45 - 4,12 (m, 4H), 3,97 - 3,87 (m, 1H), 3,44 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,92 - 2,73 (m, 3H), 2,70 (s, 1H), 2,64 - 2,53 (m, 4H), 2,39 - 2,25 (m, 2H), 2,09 - 1,99 (m, 1H), 1,32 - 1,20 (m, 2H), 1,17 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN
23	 2-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro[3,5]nonan-7-il)etansulfonamidă diclorhidrat	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,73 (s 1, 1H), 9,91 - 9,73 (m, 2H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,25 (s 1, 2H), 7,23 - 7,18 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 3,91 - 3,82 (m, 1H), 3,62 - 3,57 (m, 2H), 3,46 - 3,37 (m, 4H), 3,07 - 2,98 (m, 1H), 2,94 - 2,86 (m, 1H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,39 - 2,30 (m, 1H), 2,29 - 2,21 (m, 3H), 2,17 - 2,08 (m, 3H), 1,99 - 1,79 (m, 4H), 1,34 - 1,26 (m, 1H), 1,14 (app-t, J = 7,4 Hz, 4H)
24	 3-(2-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-7-azaspiro [3,5]nonan-7-il)propanamidă diclorhidrat	¹ H RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ 10,33 - 10,17 (m, 1 H), 9,90 (s 1., 2 H), 7,61 (s 1., 1 H), 7,39 - 7,28 (m, 2 H), 7,28 - 7,14 (m, 3 H), 7,09 (s 1., 1H), 6,19 (s, 1 H), 3,84 (s 1., 1H), 3,34 - 3,16 (m, 4 H), 2,92 (d, J = 12,3 Hz, 2 H), 2,67 - 2,55 (m, 3 H), 2,33 (s 1., 1 H), 2,24 (q, J = 7,5 Hz, 2 H), 2,19 - 2,06 (m, 2 H), 2,00 - 1,73 (m, 3 H), 1,37 - 1,27 (m, 1 H), 1,13 (dt, J = 1,3, 7,5 Hz, 4 H)

Compusul 25: N-etil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)

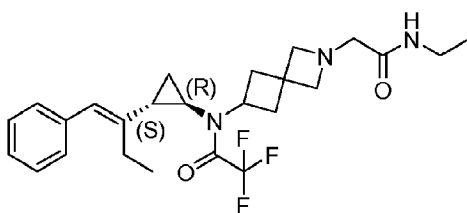
5 Etapa 1:



acid 2-(6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetic

- 10 O soluție de 2,2,2-trifluor-N-(2-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă (800 mg, 1,62 mmol), acid 2-oxoacetic hidrat (298 mg, 3,24 mmol) și 5 picături de AcOH în MeOH (16,2 mL) a fost tratată cu cianoborohidru de sodiu (305 mg, 4,86 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră. După 1 oră, s-a adăugat suplimentar acid 2-oxoacetic hidrat (298 mg, 3,24
- 15 mmol) și reacția a fost agitată la 45 °C timp de 1,5 ore. Amestecul a fost răcit la temperatura camerei și concentrat sub presiune redusă. Reziduul a fost diluat cu DCM apoi stins cu NaHCO₃ saturat. Straturile au fost separate și soluția apoasă a fost extrasă o dată cu DCM. Stratul organic combinat a fost spălat o dată cu saramură, uscat cu sulfat de sodiu și evaporat sub presiune redusă pentru a da acid
- 20 2-(6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetic brut (522 mg). LCMS *m/z* 437,2 [L+H]⁺.

Etapa 2:

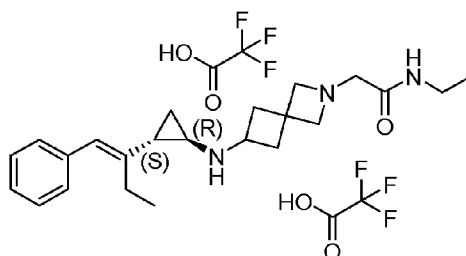


25

N-(2-(2-(etilamino)-2-oxoetil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă

La o soluție de acid 2-(6-(2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamido)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetic (175 mg, 400 μ mol), clorură de etilamoniu (40,4 mg, 496 μ mol) și diizopropiletilamină (215 μ L, 1,24 mmol) în DMF (2,8 mL) la 0 °C s-a adăugat HATU (236 mg, 621 μ mol). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească și agitat la temperatura camerei timp de 3 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu apă și extras cu acetat de etil (2 x 15 mL). Faza organică combinată a fost spălată o dată cu saramură, uscată pe Na₂SO₄ anhidru apoi concentrată pentru a da N-(2-(2-(etilamino)-2-oxoetil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă brută (199 mg, 430 μ mol) sub formă de ulei galben cu DMF rezidual. LCMS *m/z* 464,2 [L+H]⁺.

Etapa 3:



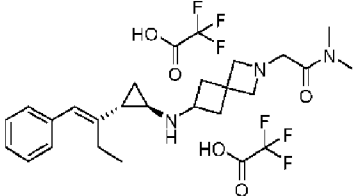
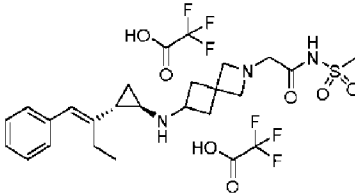
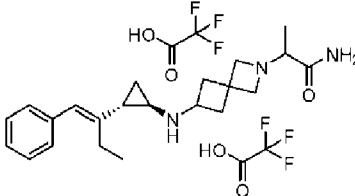
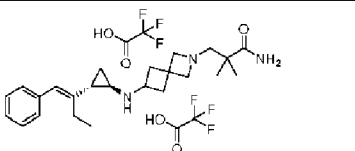
N-etil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoroacetat)

La o soluție de N-(2-(2-(etilamino)-2-oxoetil)-2-azaspiro[3,3]heptan-6-il)-2,2,2-trifluor-N-((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)acetamidă (190 mg, 409 μ mol) în MeOH (2,0 mL) la temperatura camerei s-a adăugat NaOH (1 M, 2,04 mL, 2,04 mmol). Amestecul a fost lăsat sub agitare la temperatura camerei timp de 30 min. Amestecul a fost concentrat la presiune redusă și produsul brut a fost dizolvat în TFA/apă și purificat pe o coloană de 12 g C-18 folosind MeCN/0,1% TFA H₂O ca eluanți cu următorul gradient (2 CV 0%, 20 CV 0-30 %, 5 CV 30%) pentru a da N-etil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoroacetat) (86,7 mg) ca solid alb după liofilizare. LCMS *m/z* 368,1 [L+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,23 (s 1, 1H), 9,23 (s 1, 2H), 8,45 - 8,33 (m, 1H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,27 - 7,14 (m, 3H), 6,19 (s, 1H), 4,27 - 4,10 (m, 1H), 4,10 - 3,99 (m, 2H), 3,98 - 3,87 (m, 2H), 3,80 - 3,63 (m, 1H), 3,16 - 3,04 (m, 2H), 2,77 - 2,57 (m, 2H), 2,57 - 2,52 (m, 2H), 2,48 - 2,35 (m, 2H), 2,30 - 2,17 (m, 2H), 2,01 - 1,85 (m, 1H), 1,20 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,03 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Folosind materialul de pornire și modificările adecvate au fost sintetizate următoarele exemple din Tabelul 5 folosind procedurile de sinteză descrise pentru Compusul 25.

Tabelul 5

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN
26	N-(2-(metilsulfonyl)etil)-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoroacetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,26 (s 1, 1H), 9,15 (s 1, 2H), 8,70 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,31 - 4,19 (m, 1H), 4,17 - 4,12 (m, 1H), 4,12 - 4,05 (m, 2H), 4,04 - 3,96 (m, 1H), 3,52 (q, J = 6,5 Hz, 2H), 3,27 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,75 (s, 1H), 2,71 - 2,64 (m, 1H), 2,63 - 2,52 (m, 1H), 2,46 - 2,34 (m, 2H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,20 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).
27	N-isopropil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoroacetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,21 (s 1, 1H), 9,25 (s 1, 2H), 8,31 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,26 - 7,18 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,29 - 4,19 (m, 1H), 4,15 - 4,11 (m, 1H), 4,11 - 4,04 (m, 2H), 3,96 - 3,90 (m, 2H), 3,84 (sept, J = 6,6 Hz, 1H), 3,80 - 3,70 (m, 1H), 2,79 - 2,65 (m, 2H),

Compus	Structură/denumire	¹ H RMN
	N-izopropil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	2,62 - 2,52 (m, 1H), 2,47 - 2,35 (m, 1H), 2,28 - 2,20 (m, 2H), 2,02 - 1,91 (m, 1H), 1,22 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 5,9 Hz, 3H), 1,07 (d, J = 6,6 Hz, 6H).
28	 N,N-dimetil-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,08 (s 1, 1H), 9,16 (s 1, 2H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,27 - 7,18 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,32 - 4,27 (m, 2H), 4,27 - 4,23 (m, 1H), 4,18 - 4,10 (m, 2H), 4,10 - 4,03 (m, 1H), 3,77 (s 1, 1H), 2,87 (d, J = 8,9 Hz, 6H), 2,79 - 2,71 (m, 1H), 2,71 - 2,64 (m, 1H), 2,65 - 2,54 (m, 1H), 2,48 - 2,35 (m, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,01 - 1,90 (m, 1H), 1,20 - 1,15 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,6 Hz, 3H).
29	 N-(metilsulfonil)-2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)acetamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,32 (s 1, 1H), 9,18 (s 1, 2H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,29 - 7,14 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,22 (s, 2H), 4,13 (s, 2H), 4,11 - 4,04 (m, 1H), 3,84 - 3,71 (m, 1H), 3,18 (d, J = 1,0 Hz, 3H), 2,80 - 2,70 (m, 1H), 2,70 - 2,57 (m, 2H), 2,49 - 2,39 (m, 2H), 2,29 - 2,17 (m, 2H), 2,02 - 1,86 (m, 1H), 1,22 - 1,14 (m, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).
30	 2-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propanamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 10,33 (s 1, 1H), 9,28 (s 1, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,29 - 7,16 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 4,28 - 4,13 (m, 1H), 4,13 - 3,88 (m, J = 16,5, 9,8 Hz, 3H), 3,87 - 3,70 (m, 1H), 2,81 - 2,63 (m, J = 20,1 Hz, 2H), 2,62 - 2,52 (m, 1H), 2,46 - 2,34 (m, J = 8,4 Hz, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 2,04 - 1,90 (m, 1H), 1,27 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,22 - 1,14 (m, J = 12,7, 5,5 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H).
31	 2,2-dimetil-3-(6-(((1R,2S)-2-((E)-1-fenilbut-1-en-2-il)ciclopropil)amino)-2-azaspiro[3,3]heptan-2-il)propanamidă bis(2,2,2-trifluoracetat)	¹ H RMN (400 MHz, dmso) δ 9,39 (s 1, 1H), 9,18 (s 1, 2H), 7,47 (s, 1H), 7,39 - 7,32 (m, 2H), 7,30 (s, 1H), 7,27 - 7,17 (m, 3H), 6,20 (s, 1H), 4,36 - 4,27 (m, 1H), 4,24 - 4,08 (m, 3H), 3,82 - 3,69 (m, 1H), 3,29 - 3,18 (m, 2H), 2,82 - 2,64 (m, 2H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,50 - 2,31 (m, 2H), 2,31 - 2,17 (m, 2H), 2,06 - 1,84 (m, 1H), 1,21 - 1,15 (m, 2H), 1,14 (s, 6H), 1,11 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Testul LSD1 TR-FRET

Reacțiile LSD1 demetilază au fost efectuate în 50 mM HEPES pH 7,4, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0,01% Tween-20 și 0,1 mg/mL BSA. Toate reacțiile enzimatică au fost efectuate timp de 50 de minute la temperatura camerei într-un volum de 10 μL. Cinci microlitri de soluție 8 μM de peptidă

H3K4me1 biotinitată au fost adăugați în fiecare godeu al unei plăci de analiză neagră cu 384 de godeuri, cu fund clar, care conține 80 nL de compus (concentrație finală de 0,8% DMSO și 4 μ M substrat). Reacțiile au fost inițiate prin adăugarea unui amestec care conține 20 nM LSD1 și 80 nM FAD (5 μ L). Concentrațiile finale de LSD1 și FAD au fost de 10, respectiv 40 nM. Activitatea enzimei a fost oprită prin adăugarea a 90 μ L de tampon cu concentrație ridicată de sare constând din 50 mM HEPES pH 7,4, 500 mM NaCl, 1 mM DTT, 0,01% Tween-20 și 0,1 mg/mL BSA. Zece microlitri din amestecurile de reacție stinse au fost transferați pe o placă ProxiPlate neagră cu 384 de godeuri. Zece microlitri de amestec de detectare au fost adăugați la placa ProxiPlate, au fost utilizați anticorpi marcați cu Europiu și Streptavidină APC la concentrații finale de 0,3 nM și, respectiv, 200 nM (volum total de analiză de 20 μ L). Captarea peptidei produsului de către anticorpus anti-H3K4me0 și Streptavidină APC a fost lăsată să se desfășoare timp de 60 de minute la temperatura camerei înainte de măsurarea semnalului TR-FRET. Plăcile au fost citite pe un cititor Perkin Elmer EnVision. Procentul de inhibiție a fost calculat utilizând controalele Max (fără inhibitor) și Min (stins cu tampon de oprire) și curbele de inhibiție au fost reprezentate pentru a determina valorile IC₅₀.

Testul LSD1 LY96 Quantigene

Celulele MV4-11 au fost cultivate la o densitate de 4 x 10⁴ celule per godeu în plăci cu 96 de godeuri și tratate cu diferite doze de inhibitor începând de la 10 μ M până la 0,0005 μ M timp de 16 ore. Inducerea ARNm LY-96 a fost cuantificată utilizând sistemul Quantigene 2,0 (Affymetrix). Celulele au fost lizate cu un amestec de liză care conține proteinaza K. Reactivul de lucru pentru captarea ARN a fost preparat conform etapelor detaliate în "Capturing Target ARN from Cultured Cell sau Blood Lysates" din manualul Quantigene. Hibridizarea ulterioară cu sonda LY-96, amplificarea semnalului și etapele de detectare au fost efectuate așa cum este descris în manual. Chemiluminiscența a fost citită folosind Envision (PerkinElmer) și Abase (software IDBS) a fost folosit pentru a reprezenta curbele de răspuns la doză și pentru a calcula IC₅₀.

Testul Kasumi-1 GI₅₀

Celulele au fost placcate la 5000 de celule per godeu în vase de cultură de țesut cu 96 de godeuri care conțineau compuși de lucru aranjați într-o curbă de doză în 10 puncte, variind de la 0 la 10 mM cu diluții de 4 ori și împărțite la fiecare a patra zi la un raport fix pentru a re-stabili o densitate de 5000 de celule/godeu pentru controalele tratate cu DMSO. Tratamentele celulare au fost efectuate pentru un total de 12 zile. La fiecare împărțire de 4 zile, numerele de celule viabile au fost determinate utilizând testul de viabilitate a celulelor luminescente Cell Titer-Glo (Promega, Madison, WI USA) folosind un Cititor de plăci EnVision® multietichete (Perkin Elmer, Waltham, MA SUA). GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA USA) a fost utilizat pentru ajustarea curbei și determinarea valorilor GI₅₀.

Tabelul 6

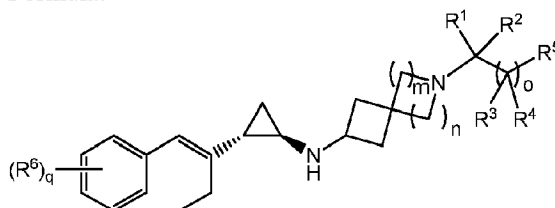
Compus	IC ₅₀ LSD1 TR-FRET	EC ₅₀ LSD1 LY96	GI ₅₀ Kasumi-1
1	A	A	A
2	A	A	A
4	A	A	A
5	ND	A	A
6	ND	A	A
7	ND	A	A
8	ND	A	A
9	ND	A	A
10	ND	A	A
11	A	A	A
13	A	A	A
14	ND	A	A
15	ND	A	A

Compus	IC ₅₀ LSD1 TR-FRET	EC ₅₀ LSD1 LY96	GI ₅₀ Kasumi-1
16	ND	A	A
17	A	A	A
18	ND	A	A
19	ND	A	A
20	ND	A	A
22	A	A	A
23	A	A	A
24	ND	A	A
26	ND	A	A
27	ND	A	A
28	ND	A	A
29	ND	A	A
30	ND	A	A
32	A	A	A

* Valorile IC₅₀, EC₅₀ și GI₅₀ sunt raportate după cum urmează: "A" indică o valoare IC₅₀ mai mică de 100 nM; "B" indică o valoare IC₅₀ de la 100 nM până la 1 μM; "C" indică o valoare IC₅₀ mai mare de 1 μM și mai mică de 10 μM pentru fiecare enzimă; "D" indică o valoare IC₅₀ mai mare de 10 μM pentru fiecare enzimă; "(X μM)" indică faptul că nu a fost observată nicio inhibare la cea mai mare concentrație (adică, X μM) de compus testat; iar "ND" indică faptul că este nedeterminat.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-2013/057320
- STAZI, G. ET AL.: "LSD1 inhibitors: a patent review (2010-2015)", EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC PATENTS, vol. 26, no. 5, 28 March 2016 (2016-03-28) , pages 565-580, XP55443194, ISSN: 1354-3776, DOI: 10.1517/13543776.2016.1165209
- WO-A1-2016/123387
- PRZESPOLEWSKI, A. ET AL.: "Inhibitors of LSD1 as a potential therapy for acute myeloid leukemia", EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, vol. 25, no. 7, 21 April 2016 (2016-04-21) , pages 771-780, XP55372825, ISSN: 1354-3784, DOI: 10.1080/13543784.2016.1175432
- WO-A1-2016/172496
- LYNCH, J.T. ET AL.: "LSD1 inhibition: a therapeutic strategy in cancer?", EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC TAR, vol. 16, no. 12, 2012, pages 1239-1249, XP009178646, ISSN: 1472-8222, DOI: 10.1517/14728222.2012.722206

(57) Revendicări:**1. Compus cu Formula:**

în care configurația stereochemică în jurul nucleului ciclopropil este 1R,2S,

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

n este 1 sau 2;

m este 1 sau 2;

o este o sau 1;

q este o, 1, 2 sau 3;

R¹ este un atom de hidrogen sau (C₁-C₆)alchil;

R² este un atom de hidrogen sau (C₁-C₆)alchil opțional substituit cu OH sau (C₁-C₆)alcoxi;

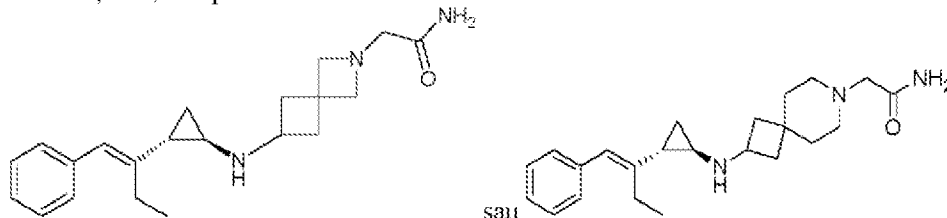
R³ și R⁴, dacă sunt prezenți, fiecare sunt selectați în mod independent dintre hidrogen, halo, OH și (C₁-C₆)alchil;

R⁵ este selectat din NH₂, -NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil O(C₁-C₆)alchil, -NHC(O)(C₁-C₆)alchil, -NH(SO₂)(C₃-C₆)cicloalchil, OH, -O(C₁-C₆)alchil, -SO₂NH₂, -C(O)NH₂, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil, -C(O)N[(C₁-C₆)alchil]₂, -C(O)NH(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil(SO₂)(C₁-C₆)alchil, -C(O)NH(SO₂)(C₃-C₆)cicloalchil, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil OH, -C(O)NH(C₁-C₆)alchil O(C₁-C₆)alchil, și (C₁-C₄)alchil substituit cu OH

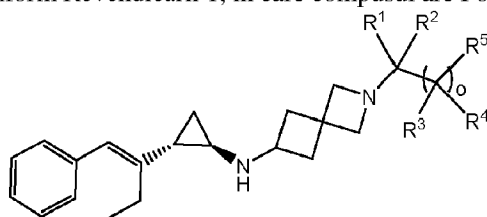
și

R⁶, dacă este prezent, este selectat dintre (C₁-C₆)alchil, halo(C₁-C₆)alchil, (C₁-C₆)alcoxi, halo(C₁-C₆)alcoxi, halo și ciano;

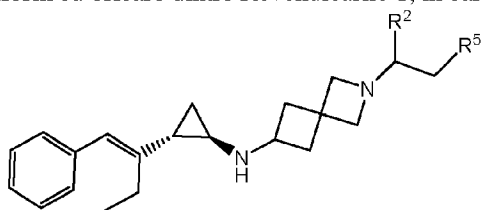
cu condiția ca, compusul să nu aibă Formula:



sau o sare a acestuia.

2. Compusul conform Revendicării 1, în care compusul are Formula:

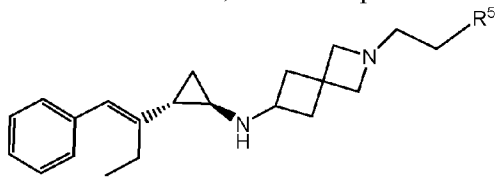
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

3. Compusul conform cu oricare dintre Revendicările 1, în care compusul are Formula:

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

4. Compusul conform cu oricare dintre Revendicările de la 1 până la 3 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care R_2 este un atom de hidrogen, metil sau hidroxi (C_1 - C_4)alchil.

5. Compusul conform Revendicării 1, în care compusul are Formula:

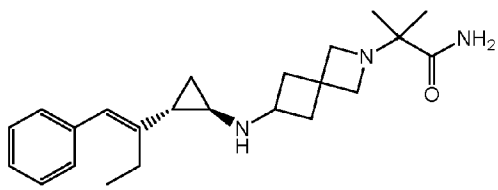
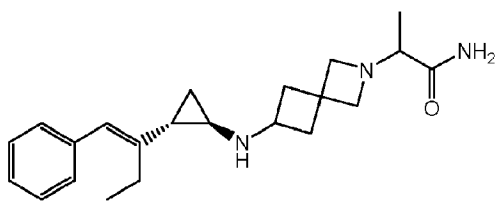
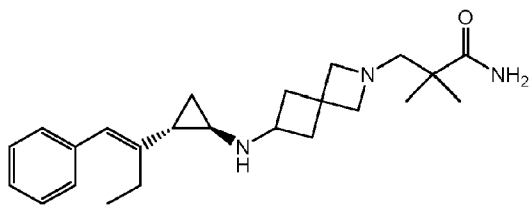
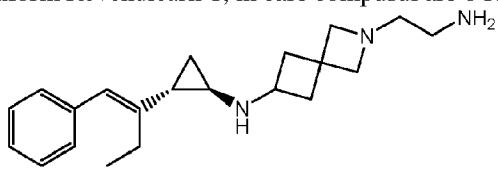


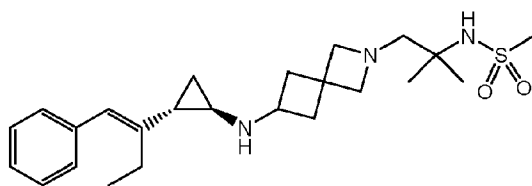
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

6. Compusul conform cu oricare dintre Revendicările de la 1 până la 5 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care R^5 este NH_2 , $-NH(SO_2)(C_1-C_4)$ alchil, $-NH(SO_2)(C_1-C_4)$ alchil $O(C_1-C_4)$ alchil, $-NHC(O)(C_1-C_4)$ alchil, $-NH(SO_2)(C_3-C_6)$ cicloalchil, OH , $-SO_2NH_2$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(C_1-C_4)$ alchil, $-C(O)NH(SO_2)(C_1-C_4)$ alchil, $-C(O)NH(C_1-C_4)$ alchil(SO_2)(C_1-C_4)alchil, $-C(O)NH(C_1-C_4)$ alchil OH , sau (C_1-C_2)alchil substituit cu OH

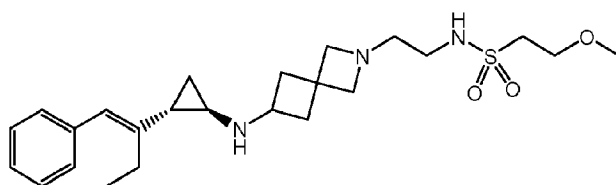
7. Compusul conform cu oricare dintre Revendicările de la 1 până la 6 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care R^5 este $-NH(SO_2)CH_3$, $-NH(SO_2)(CH_2)_2OCH_3$, $-NH(SO_2)CH(CH_3)_2$, $-NH(SO_2)CH_2CH_3$, $-NHC(O)CH_3$, $-NH(SO_2)$ ciclopropil, $-C(O)NH(SO_2)CH_3$, $-C(O)NH(CH_3)_2$, $-C(O)NHCH(CH_3)_2$, $-C(O)NHCH_2CH_3$, $-C(O)NH(CH_2)_2(SO_2)CH_3$, $-C(O)NH(CH_2)_2OH$ sau $-CH_2OH$.

8. Compusul conform Revendicării 1, în care compusul are o formulă selectată dintre

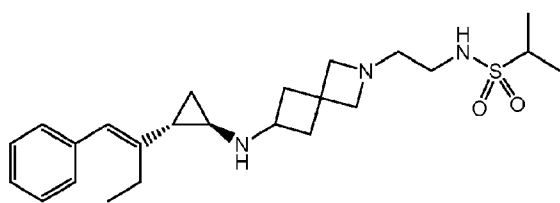




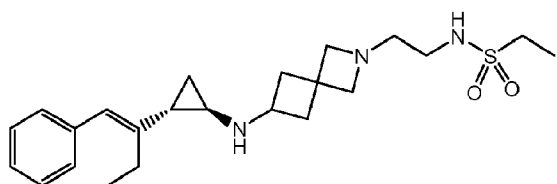
;



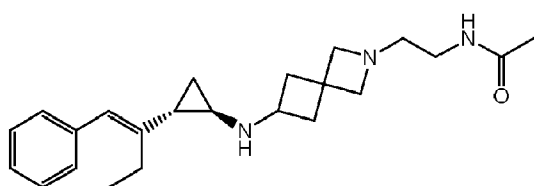
;



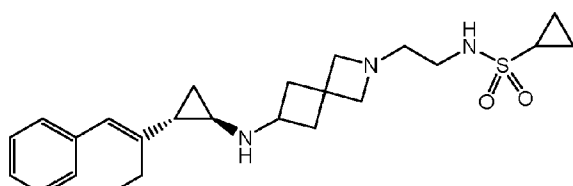
;



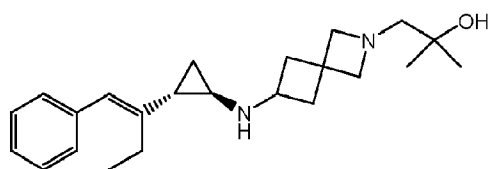
;



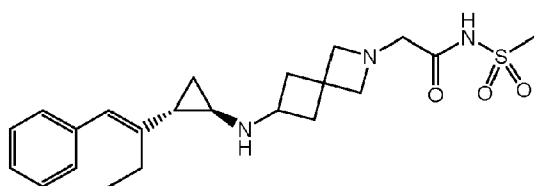
;



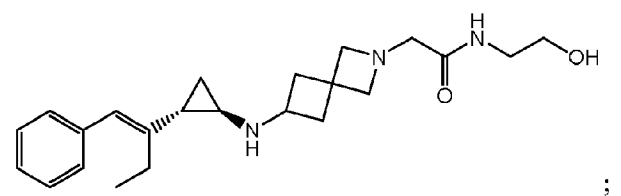
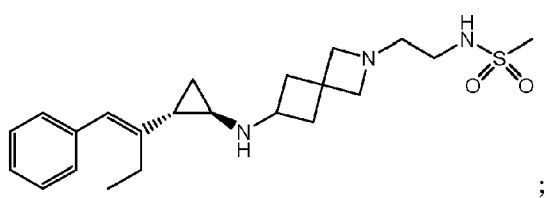
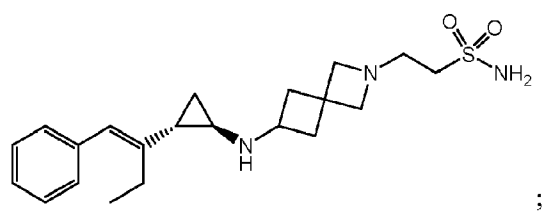
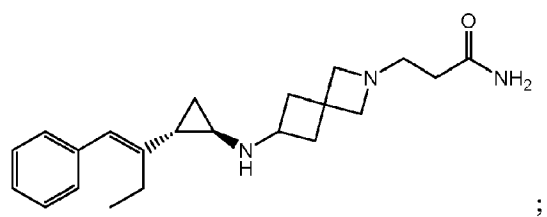
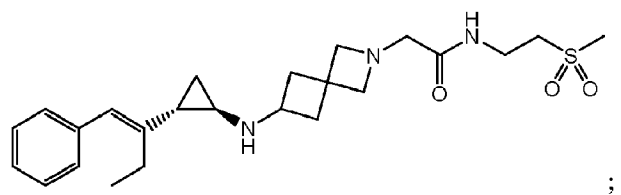
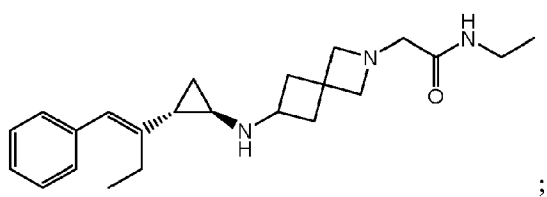
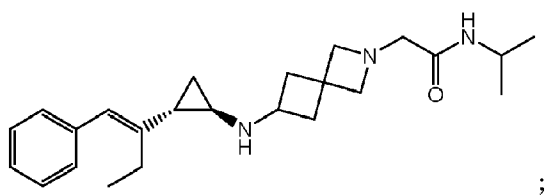
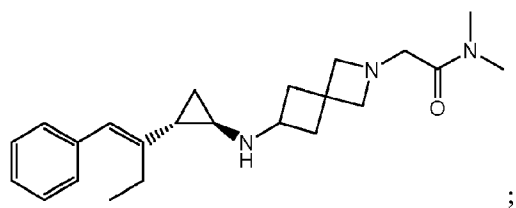
;

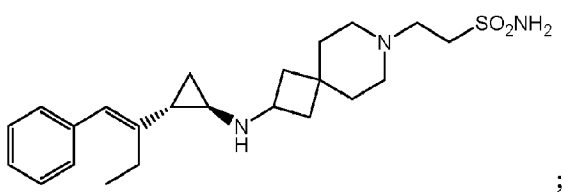
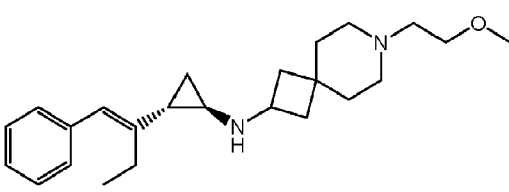
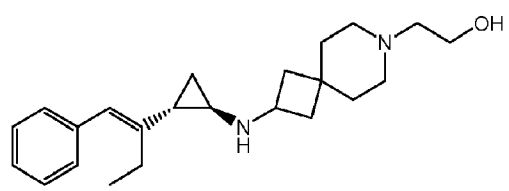
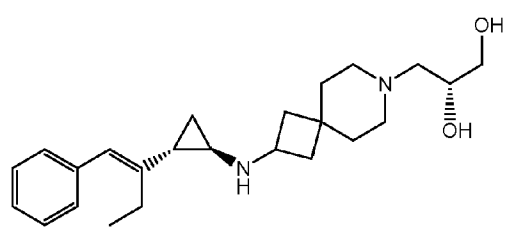
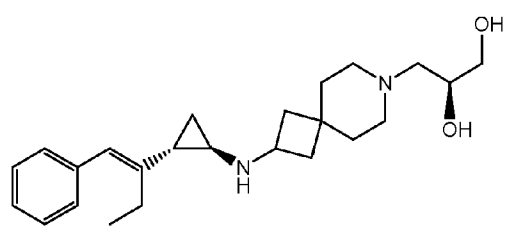
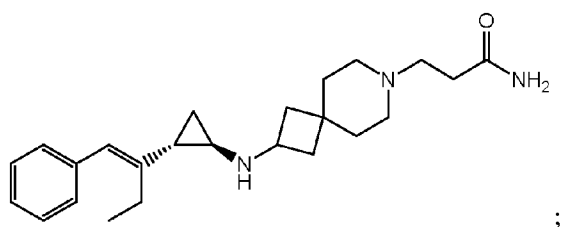
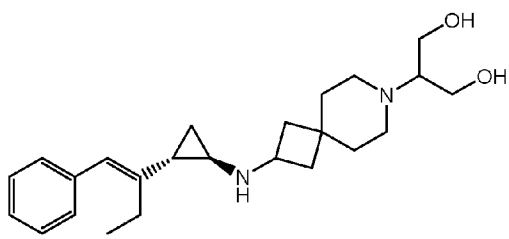


;

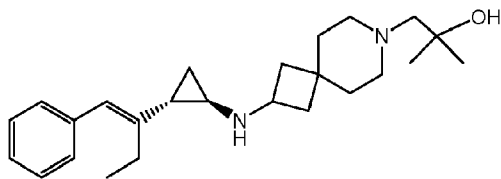


;

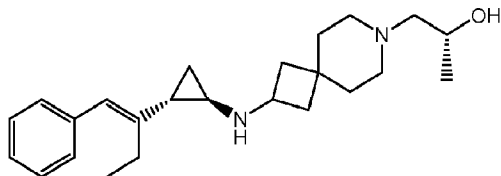




și



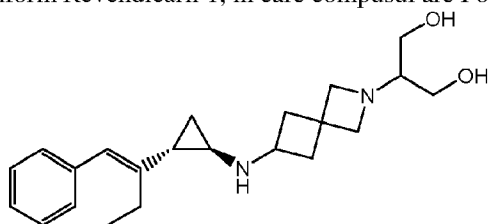
;



;

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

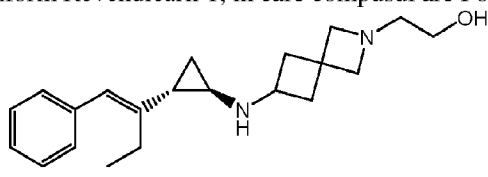
9. Compusul conform Revendicării 1, în care compusul are Formula



;

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

10. Compusul conform Revendicării 1, în care compusul are Formula



;

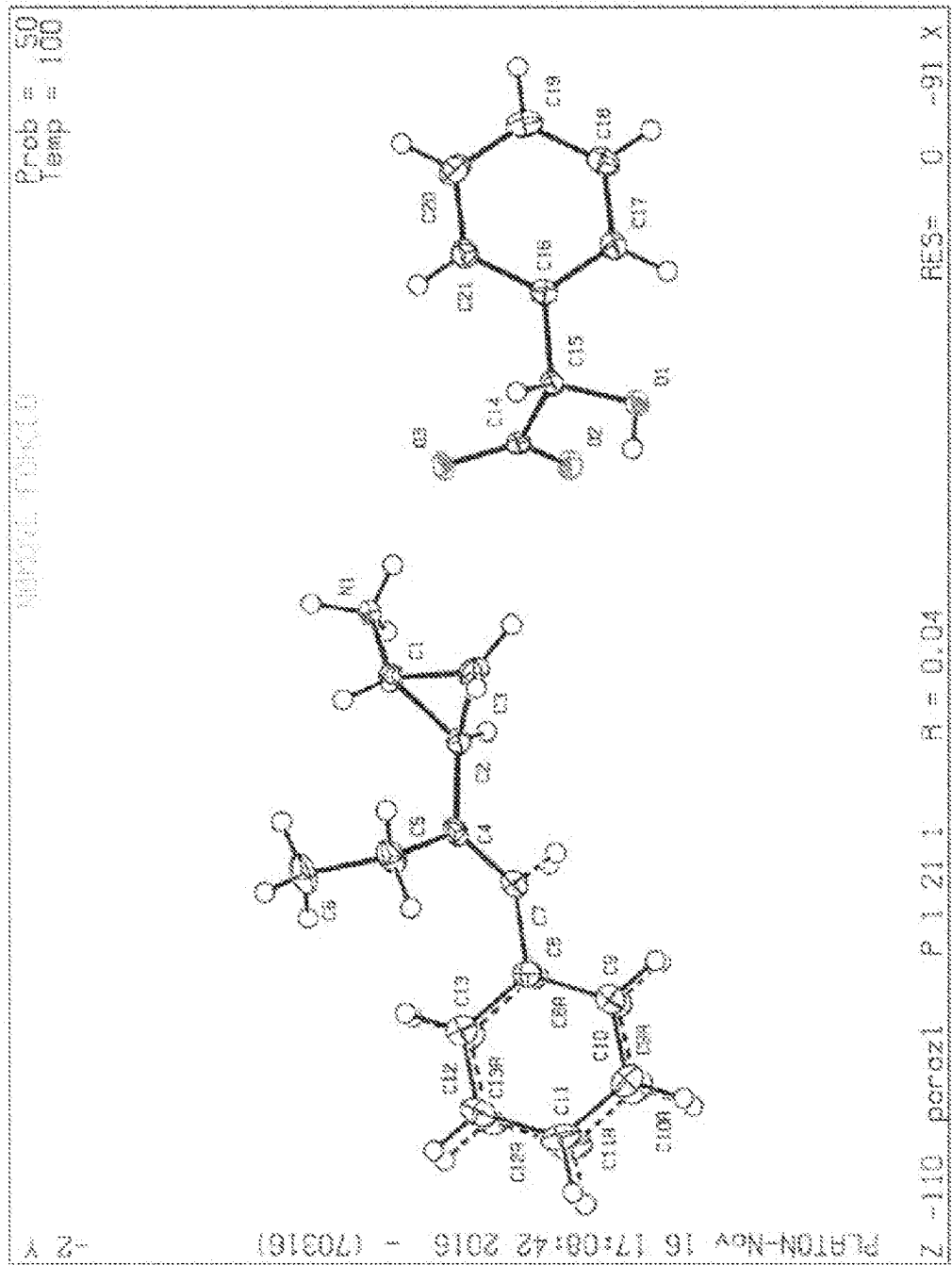
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

11. Compoziție farmaceutică care cuprinde o cantitate eficientă dintr-un compus conform cu oricare dintre Revendicările de la 1 până la 10, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia; și un purtător acceptabil farmaceutic.

12. Compusul conform cu oricare dintre Revendicările de la 1 până la 10, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau compoziția conform Revendicării 11 pentru utilizare în tratamentul unei boli sau afecțiuni alese dintre LMC (leucemie mielogenă cronică), T-ALL (leucemie limfoblastică T acută), neuroblastom, cancer de sân, cancer de prostată, reactivare a virusului herpes simplex și infecție cu HIV.

FIG. 1

Displacement per atom (DPA) - representative displacement



Downloaded from ascelibrary.org by Seattle University on 06/01/15. Copyright ASCE, For All Rights Reserved, No part of this document may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or by any information storage or retrieval system, without permission in writing from ASCE.

