EXP 00 093 679

RODOLFO RODRIGUEZ MADRID
Abogado

MARIA ANGELICA RODRIGUEZ B.
Abogada

CARLOS ENRIQUE TAMAYO S.
Ingeniero Industrial

SANDRA CARDENAS
Química Farmacéutica

Rodríguez Madrid & Asociados

NIT 830 038.010-1

PATENTES	PATENTS
MARCAS	TRADEMARKS
DERECHOS DE AUTOR	COPYRIGHTS
LICENCIAS DE USO	LICENSING
SOFTWARE	SOFTWARE PROTECTION
REGISTROS SANITARIOS	SANITARY PERMITS
NOMBRES DE DOMINIO	DOMAIN NAME

Nuevo E-mail rodriguezaso@cable.net.co

Señores
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
F S D

SUPERINTENDENCIA DE COMERCIO
Radicacion : 00093679 0000002 Folios: 3.7
Fecha (DMA): 2001-01-26 15:41:52
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO 349 CONCLE
Procedencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REF EXPEDIENTE No 000- 93679 de Diciembre 07 de 2000
PATENTE "INHIBIDORES DE AMINOTRANSFERASA DEPENDIENTE DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA"

Estimados señores

Damos alcance al expediente citado en la referencia, para reivindicar Prioridad de la Patente solicitada, con fundamento jurídico en lo establecido en el Artículo 12 de la Decisión 344 de la comisión del Acuerdo de Cartagena y el Artículo 4 Lit. F del Decreto 117/94 referente a la fuente normativa de reciprocidad, esta se basa en

a.- El artículo 4 del convenio de París, aprobado mediante Ley 178/94, declarado exequible por la Corte Constitucional en Sentencia del 18 de Enero/96

b.- Ley 170/94 en la cual Colombia aprobó el Acuerdo por el que se establece la Organización Mundial de Comercio (OMC) suscrito en Marrakech (Marruecos) el 15 de Abril de 1994, y sus Acuerdos multilaterales, los cuales incluyen los aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio; mejor conocido como el Trip' Dicha Ley 170 de 1997 fue declarada exequible por la Corte Constitucional el 28 de Marzo de 1995

El Artículo 2, Ord 1, del Trip's establece que la propiedad en el Mundo será reconocida, que los países miembros cumplirán los artículos1 a 12 y el Artículo 19 del convenio de paris. A su vez, el artículo 4 del Convenio de París (es decir, uno de los artículos de cumplimiento obligatorio bajo Trip's) establece que la prioridad sobre la primera solicitud en el mundo será reconocida.

Por lo tanto anexamos

Transversal 6a. No. 27-10 "Edificio Antares - Pent House * Telefax 283 09 42 * Tels. 334 72 84 - 341 7003
e-mail:rodrmcs@andinet.com * Santafé de Bogotá, D.C.

RODOLFO RODRIGUEZ MADRID
Abogado

MARIA ANGELICA RODRIGUEZ B.
Abogada

CARLOS ENRIQUE TAMAYO S.
Ingeniero Industrial

SANDRA CARDENAS
Química Farmacéutica

Rodríguez Madrid & Asociados
NIT 830 038 010-1

876 919

PATENTES	PATENTS
MARCAS	TRADEMARKS
DERECHOS DE AUTOR	COPYRIGHTS
LICENCIAS DE USO	LICENSING
SOFTWARE	SOFTWARE PROTECTION
REGISTROS SANITARIOS	SANITARY PERMITS
NOMBRES DE DOMINIO	DOMAIN NAME

Nuevo E-mail rodriguezmo[illegible]

1 - Copia de la Prioridad No 60/230.020 de Septiembre 05 de 2000 Debidamente Legalizada por el Ministerio de Relaciones Exteriores

2 - Traducciones de las reivindicaciones de la tercera solicitud de Patente efectuadas por Traductor Oficial avaladas por el Ministerio de Relaciones Exteriores

En consecuencia, ruego a ustedes una vez finquitada esta diligencia, ordenar lo pertinente para que el expediente siga su curso normal

Atentamente,

RODOLFO RODRIGUEZ MADRID
C C No 3'792 584-Cartagena
T.P No 59 363 del C S J

Anexo - Lo anunciado

Transversal 6a. No. 27-10 "Edificio Antares - Pent House " Teléfon. 283 09 62 " Tels. 334 72 84 - 341 00 33
e-mail: [illegible] "Santafé de Bogotá, D. C.

MIAMI

3

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

920

Miami, 10 Enero 2001 AUTENTICACION No 161

El Cónsul General CERTIFICA que el(la) señor(a) KATHERINE HARRIS ***
que autoriza el documento adjunto, ejercía legalmente en la fecha allí expresada
las funciones de SECRETARIO ESTADO y que la firma y sello que aparecen
en el documento como suyos son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales
El Consulado no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.

Por el Cónsul General,

OLGA LUCIA TAPIAS
Vice Cónsul

DERECHOS Timbre US$ 7 00
Fondo Rot US$ 15.00

CONSULADO GENERAL DE CO

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

102911

CUYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2001 JAN 24 A 8:57

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

A black and white copy of this document is not official

STATE OF FLORIDA
DEPARTMENT OF STATE

~~878~~ 921

Notary Commissions and Certification Section

I, Katherine Harris, Secretary of State, do hereby certify that

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

Araceli Matus-Silva

was commissioned as a Notary Public in and for the State of Florida

Commission number:	**CC973596**
Term beginning	**October 27, 2000**
Term expiring	**October 26, 2004**

as shown by the records of this office

Legal Qualifications and Authority of a Florida Notary Public

A Florida Notary Public is not licensed to practice law in the State of Florida, and may not give legal advice or accept fees for legal advice

Legal Qualifications of a Florida Notary Public A Florida Notary Public shall be at least 18 years of age and a legal resident of Florida. A Florida Notary Public must be able to read, write, and understand the English language

Legal Authority of a Florida Notary Public A Notary Public may administer an oath and make a certificate thereof when it is necessary for the execution of any writing or document to be published under the seal of a Notary Public A Notary Public is authorized to take the acknowledgments of deeds and other instruments of writing for record A Notary Public is authorized to solemnize the rites of matrimony A Notary Public may supervise the making of a photocopy of an original document and attest to the trueness of the copy

Given under my hand and the Great Seal of the State of Florida, at Tallahassee, the Capital, this the Second day of January, A D. 20

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA MIAMI

Katherine Harris

Secretary of State

DSDE 99 (1-99)

If photocopied or chemically altered, the word "VOID" will appear

"State of Florida" appears in small letters across the face of this 8½ X 11" document

This document contains an artificial watermark on REVERSE. Hold at 45° DO NOT ACCEPT UNLESS VIEWED

PA 340440

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

December 20, 2000

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111

APPLICATION NUMBER ***60/230,020***
FILING DATE ***September 05, 2000***

ARACELI MAGUIRE-SILVA
Notary Public - State of Florida
My Commission Expires Oct 26, 2004
Commission # CC973896

By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS

M. Lee

M. LEE
Certifying Officer

09-07-00 A/PROV

Docket Number: A0000151L3-01MJA

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Large Entity)

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT under 37 CFR 1.53 (c).

880 923

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)		
Given Name (first and middle (if any))	Family Name or Surname	Residence (City and either State or Foreign Country)
Justin Stephen	Bryans	Dean College 3 W. Wickman Road, Baldwin CB1 6DZ GREAT BRITAIN
Lain-Yen	Hu	4881 S. Ridgeside Circle, Ann Arbor, MI 48108
Susan M.	Hutson	1123 W. 4th Street, Winston-Salem, NC 27101

☒ Additional inventors are being named on page 2 attached hereto

TITLE OF THE INVENTION (280 characters max)

BRANCHED CHAIN AMINO ACID-DEPENDENT AMINOTRANSFERASE INHIBITORS AND THEIR USE IN THE TREATMENT OF DIABETIC RETINOPATHY

CORRESPONDENCE ADDRESS

Direct all correspondence to:

☐ Customer Number [ ] → Place Customer Number Bar Code Label here

OR

☒ Firm or Individual Name	Michael J. Atkins				
Address	Warner-Lambert Company				
Address	2800 Plymouth Road				
City	Ann Arbor	State	MI	ZIP	48105
Country	U.S.A.	Telephone	(734) 622-6218	Fax	(734) 622-1553

ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)

☒	Specification	Number of Pages	111		
☒	Drawing(s)	Number of Sheets	4	☒ Other (specify)	14 Claims on 18 Pages, Abstract on 1 Page

METHOD OF PAYMENT OF FILING FEES FOR THIS PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT (check one)

		FILING FEE AMOUNT ($)
☐	A check or money order is enclosed to cover the filing fees	
☒	The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees or credit any overpayment to Deposit Account Number: 23-0455	$150.00

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

☐ No.

☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are: _____

Respectfully submitted,

SIGNATURE Michael J Atkins DATE 9/5/00

TYPED or PRINTED NAME Michael J Atkins REGISTRATION NO. (if appropriate) 38,431

TELEPHONE (734) 622-6218

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

SEND TO: Box Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231

PTO/SB/16 (8-98)

09/05/00 60230020 09050500

Express Mail No. EK651207218US FD-A0000151L3-01MJA

Docket Number	A0699151L3-618MJA

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Large Entity)

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)		
Given Name (first and middle [if any])	Family Name or Surname	Residence (city and either State or Foreign Country)
Kathryn Foley	LaNoue	417 Hilltop, Hummelstown, PA 17036
Erich	Lleth	1426 Bradley Avenue, Hummelstown, PA 17036
Michael Francis	Rafferty	3711 Rolling Ridge Court, Ann Arbor, MI 48108
Todd Robert	Ryder	621 N. Ashley Street, Ann Arbor MI 48103
Ti-Zhi	Su	2519 Meade, Ann Arbor, MI 48105
Devin Franklin	Welty	2213 Placid Way, Ann Arbor, MI 48105
David Juergen	Westrow	6191 John Holmes Road, Ann Arbor, MI 48103

602300020 - 090500

Certificate of Mailing by Express Mail

I certify that this application and enclosed fee is being deposited on 9/5/00 with the U.S. Postal Service "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 C.F.R. § 1.10 and is addressed to the Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231

Signature of Person Mailing Correspondence

Linda A. Zerby

Typed or Printed Name of Person Mailing Correspondence

EK651207218US

"Express Mail" Mailing Label Number

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

SEND TO: Box Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231

887 0
925

A0000151L3-01MJA

0050 0.02003209

Express Mail No. EK651307721US
FD-A0000151L3-01MJA

BRANCHED CHAIN AMINO ACID-DEPENDENT AMINOTRANSFERASE INHIBITORS AND THEIR USE IN THE TREATMENT OF DIABETIC RETINOPATHY

DM_FILE/FD A0000151L3

BRANCHED CHAIN AMINO ACID-DEPENDENT AMINOTRANSFERASE INHIBITORS AND THEIR USE IN THE TREATMENT OF DIABETIC RETINOPATHY

BACKGROUND OF THE INVENTION

More than 14 million people in the United States have diabetes. All people with diabetes are at risk of retinal complications. However, people with type I, i.e., insulin-dependent diabetes, face a greater risk of severe vision loss than people with type II, i.e., non-insulin dependent diabetes.

Retinopathy is any non-inflammatory disease of the retina. Diabetic retinopathy is any retinopathy associated with any form of diabetes mellitus.

Initially, the high blood glucose level in diabetic people causes an increase in growth factors in their eyes. This condition is known as the "pre-diabetic retinopathy stage" and can lead to full diabetic retinopathy, if not prophylactically treated.

Retinopathy will affect the majority of diabetic people to some extent during their lifetimes. It is the leading cause of blindness in Americans of age 20 to 74 today, and is expected to impair vision in approximately one-third of diabetic people in the United States. Each year in the United States, as many as 40,000 new cases of blindness occur among diabetic people (CDC, unpublished data, 1993). Diabetic people are 25 times more likely than the general population to become blind due to retinopathy

Diabetic retinopathy has two stages-a nonproliferative stage, which typically occurs first, and a proliferative stage. The nonproliferative stage, which is also referred to as "background diabetic retinopathy," is characterized by thickening of the basement membrane, loss of retinal pericytes, microvascular abnormalities, intraretinal microaneurysms, retinal hemorrhages (also known as "dot blot" hemorrhages), retinal edema, in particular diabetic macular edema, capillary closure associated with retinal ischemia or poor retinal perfusion (i.e., poor vessel development) and soft and hard exudates. The proliferative stage, which affects an estimated 700,000 Americans (Chen et al., J Miss. State Med Assoc. 36(7) 201-208 (1995)), is characterized by neovascularization and fibrovascular growth (i.e., scarring involving glial and fibrous elements) from the retina or optic nerve over the inner surface of the retina or disc or into the vitreous cavity

5002002 · 090500

884 927 10

The proliferative stage can lead to rubeotic or neovascular glaucoma. Macular edema can occur in either stage and it, along with complications from retinal neovascularization, are the two major retinal problems that cause the diabetes-related vision loss.

While the pathological stages of diabetic retinopathy are well-described, the molecular events underlying diabetic retinopathy are poorly understood This is due, in part, to the fact that the disease progresses over ten to thirty years, depending on a given individual.

Tight control of glycemia and hypertension and ophthalmic screening of diabetics appears beneficial in preventing the disease. Current treatment consists of regular observation by an ophthalmologist, laser photocoagulation and vitrectomy

Macular edema threatening or involving the macular center is treated with focal macular photocoagulation. Small (50 mu m diameter), mild-intensity laser burns are targeted at areas of leakage in the macula (Murphy, Amer Family Physician 51(4) 785-796 (1995)). If the macular edema persists, retreatment may be necessary

Patients with severe to very severe nonproliferative retinopathy and patients, who are at high risk for proliferative retinopathy or who already have early or advanced proliferative retinopathy, are treated with scatter or panretinal photocoagulation. Panretinal photocoagulation involves 1,500-2,000 laser burns, which are 500 mu m diameter, in the midperipheral and peripheral portion of the retina (Murphy (1995), supra).

The best-documented biochemical mechanism for the development of microvascular complications of diabetes is the sorbitol pathway In the sorbitol pathway, the enzyme aldose reductase catalyzes the conversion of glucose to sorbitol, and of galactose to galactitol Aldose reductase has a low substrate affinity for glucose. Accordingly, when glucose concentrations are normal, the pathway is inactive. During hyperglycemia, the sorbitol pathway becomes active. Activation of the sorbitol pathway is important for retinal pericytes, for example, which do not require insulin for glucose penetration. Similarly, retinal capillary cells appear to contain substantial amounts of aldose reductase (Ferris, Hospital Practice: 79-89 (May 15, 1993))

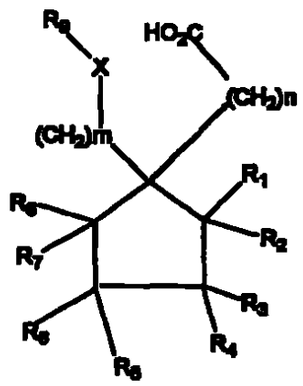
WO 96/30020 PCT/US96/05009

885 928 H

Given the prevalence of diabetic retinopathy, there remains a need for an effective prophylactic and therapeutic treatment of the disease. Accordingly, it is a principal object of the present invention to provide a method of prophylactically and therapeutically treating diabetic retinopathy, including treatment at the pre-diabetic retinopathy stage, the nonproliferative diabetic retinopathy stage, and the proliferative diabetic retinopathy stage. This and other objects of the present invention will become apparent from the detailed description provided herein.

SUMMARY OF THE INVENTION

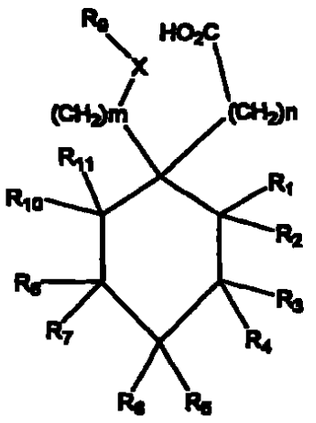
The present invention is directed to a method for the prophylactic and therapeutic treatment of diabetic retinopathy, including treatment at the pre-diabetic retinopathy stage, the nonproliferative diabetic retinopathy stage, and the proliferative diabetic retinopathy stage. The method comprises the administration of an inhibitor of the branched chain amino acid-dependent aminotransferase pathway. Preferably, the inhibitor of the branched chain amino acid-dependent aminotransferase pathway (BCAT) is a compound of Formulas I, II, and/or III.



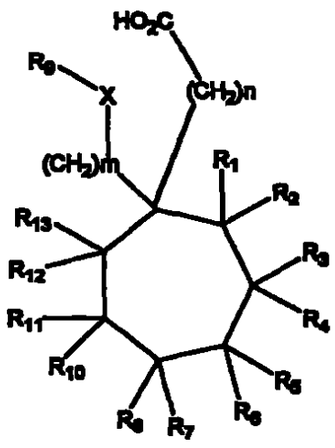
I

005060-02003209

886 929 TQ



II



III

wherein

R9 is H, alkyl, cycloalkyl, substituted alkyl containing halogen, amine, alkoxy, cycloalkyl, or hydroxy; allyl, alkynyl, alkanoyl, alkoxyalkanoyl, sulfonyl, phenyl, benzyl, or arylalkyl,

m and n are independently an integer of 1-3,

005060 • 02003209

$R_1 - R_8$ and $R_{10} - R_{14}$ are independently H, alkyl, or substituted alkyl, and

$X = NR_{14}$, O, or S,

or a pharmaceutically acceptable salt, ester, prodrug, or amide thereof

The compounds can have one or more asymmetric carbon atoms and each asymmetric center can be racemic (R & S) or chiral (R or S)

Preferred compounds are those of Formula I, II, or III wherein m and n are 1, X is N_{R14}, R_9 is H, R_4 is methyl, R_4 and R_5 are methyl, R_6 is methyl, R_{10} is methyl, R_7 and R_8 are methyl, R_4 and R_6 are methyl, R_1-R_8 and R_{10}-R_{13} are H, R_9 is alkyl, R_9 is benzyl, R_{14} is alkyl, R_9 is arylalkyl, R9 is cycloalkyl, R_1-R_8 are H, R_1-R_8 and R_{10}-R_{11} are H, R_1-R_2 and R_7-R_8 are H, or R_2 is methyl.

More preferred compounds are those of Formula II wherein R_8 is alkyl, R_1-R_2 and R_4-R_{11} and R_{14} are hydrogen, and m and n are 1, and X is NR_{14}, R_8 and R_{11} are alkyl, R_1-R_2 and R_4-R_{10} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, and X is NR_{14}, R_8 and R_{11} are alkyl, R_1-R_2 and R_4-R_{10} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, R_9 is alkyl, and X is NR_{14}; and R_1-R_{11} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, and X is O

Especially preferred compounds are selected from.

(1-Allylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

(1-Prop-2-ynylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

{1-[(2,2,2-Trifluoro-ethylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

{1-[(3,3,3-Trifluoro-propylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β- (1-Allylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

trans-((1R,3R)-1-Allylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

0023002D • 090500

trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Ethylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid;
trans-((1R,3R)-1-Butylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Hydroxymethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-diethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
trans-(1R,3R)(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(1-Aminomethyl-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(1-Aminomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(±)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;
(cis/trans)-(3R)-(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

(+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

(+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(1-Benzylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

002300209 090500

1α,3β,5β-(1-Dimethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Butylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-[1-(Acetylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid,

1α,3β,5β-(1-(Isobutylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-[3,5-Dimethyl-1-(phenethylammo-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3-phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Cyclobutylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-(Isopropylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1-Ammomethyl-1-cyclohexane-acetic acid,

1-Aminomethyl-1-cyclopentane-acetic acid,

1-Aminomenthyl-1-cyclopentane-acetic acid, sodium salt;

1-(hydroxymethyl)cyclohexane-acetic acid, sodium salt;

{1-[(2-Methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(4,4,4-Trifluoro-butylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

(1-Ethylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

[1-(Isobutylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,

(1-Propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

[1-(Isopropylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Cyclohexylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

[1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

005060 • 02002209

890 933 46

((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt,
{1-{(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
[1-(*tert*-Butoxycarbonylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
[1-(Acetylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
((3R, 5S)-1-Cyclobutylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
{(3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-[(2-methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R,5S)-1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
((3R, 5S)-1-Cyclohexylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
((3R,5S)-1-Carboxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt;
cis-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Dimethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Butylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
[1-(Phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[(3-Phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, sodium salt;
((3R, 5S)-1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Aminomethyl-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt,

005060-02003209

(1-Ammomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt;

((3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

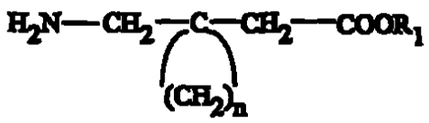
[(1R, 3R)-1-(Benzylamino-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,

{(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

and

((1R, 3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

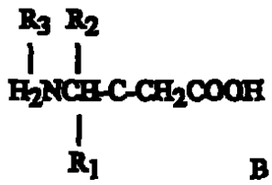
Several of the compounds described by Formulas I, II, and III are known. Compounds of Formula A.



A

wherein R_1 is hydrogen or a lower alkyl radical and n is 4, 5, or 6 are known in United States Patent Number 4,024,175 and its divisional United States Patent Number 4,087,544 The uses disclosed are: protective effect against cramp induced by thiosemicarbazide; protective action against cardiazole cramp, the cerebral diseases, epilepsy, faintness attacks, hypokinesia, and cranial traumas; and improvement in cerebral functions. The compounds are useful in geriatric patients. The patents are hereby incorporated by reference.

Compounds of Formula B



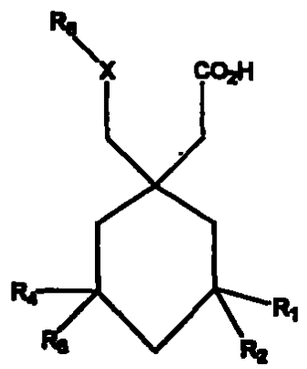
B

or a pharmaceutically acceptable salt thereof wherein R_1 is a straight or branched alkyl group having from 1 to 6 carbon atoms, phenyl or cycloalkyl having from 3 to 6 carbon atoms, R_2 is hydrogen or methyl, and R_3 is hydrogen, or carboxyl are known in United

0050 0.020203

States Patent Number 5,563,175 and its various divisionals. These patents are hereby incorporated by reference.

The present invention also discloses novel compounds of the Formula IV



IV

R_1-R_4 are hydrogen or alkyl,

X is NR_5 or O;

R_5 is hydrogen or alkyl,

R_6 is hydrogen, alkyl, benzyl, alkanoyl, alkoxyalkanoyl, arylalkyl, alkoxy, cycloalkyl, allyl, alkylcycloalkyl, alkoxy, cycloalkyl, alkylcycloalkyl, trisubstituted halogenalkyl, and wherein R1-R4 are each hydrogen then R_6 is not hydrogen or methyl, or a pharmaceutically acceptable salt, ester, prodrug, or amide thereof Like the compounds of Formulas I, II, and III, the compounds are useful for the prophylactic and therapeutic treatment of diabetic retinopathy, including treatment at the pre-diabetic retinopathy stage, the nonproliferative diabetic retinopathy stage, and the proliferative diabetic retinopathy stage.

Preferred compounds are those of Formula IV wherein R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are alkyl, R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are methyl, R_1-R_4 are hydrogen, R_1 is alkyl and R_2-R_4 are hydrogen, R_1 is methyl and R_2-R_4 are hydrogen; R_5 is hydrogen, X is NR_6; X is O; R_6 is alkyl, R_6 is benzyl, R_6 is acetyl, R_6 is phenylalkyl, R_6 is cycloalkyl, R_6 is trifluoroalkyl, R_6 is alkylcycloalkyl, R_6 is alkoxy; and R_6 is allyl.

Other preferred compounds are those of Formula IV wherein R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are methyl, R_1-R_4 are hydrogen, R_1 is methyl and R_2-R_4 are hydrogen, R_5 is hydrogen, X is NR_6; R_6 is alkyl, R_6 is benzyl, R_6 is acetyl; R_6 is

005060-0200209

phenylalkyl, R_6 is cycloalkyl, R_6 is trifluoroalkyl, R_6 is alkylcycloalkyl, R_6 is alkoxy; and R_6 is allyl

Especially preferred compounds are selected from.

(1-Allylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

(1-Prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

{1-[(2,2,2-Trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

{1-[(3,3,3-Trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β- (1-Allylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

trans-((1R,3R)-1-Allylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β-{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,

trans-{(1R,3R)-1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid,

trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((1R,3R)-1-Ethylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((1R,3R)-1-Butylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((1R,3R)-1-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-{1-[(Hydroxymethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,

005060-020209

894
937-20

1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-diethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride,
1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(1-Benzylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
1α,3β,5β-(1-Dimethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
1α,3β,5β-(1-Butylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
1α,3β,5β-{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-[1-(Acetylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid,
1α,3β,5β-[1-(Isobutylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-[3,5-Dimethyl-1-(phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3-phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Cyclobutylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-[1-(Isopropylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(2-Methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(4,4,4-Trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
(1-Ethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
[1-(Isobutylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
(1-Propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Isopropylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

DE 2300020 · 09050D

895
938 24

(1-Cyclohexylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
[1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt,
{1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt,
[1-(*tert*-Butoxycarbonylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
[1-(Acetylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
((3R, 5S)-1-Cyclobutylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-[(2-methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic
acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
hydrochloride salt;
{(3R,5S)-1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
hydrochloride salt,
((3R, 5S)-1-Cyclohexylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
hydrochloride salt,
((3R,5S)-1-Carboxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid;
trans-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride
salt;
cis-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Dimethylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Butylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-methylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
[1-(Phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[(3-Phenyl-propylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, sodium salt,

0050050-02002209

896 939 22

((3R, 5S)-1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Aminomethyl-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt,
(1-Aminomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt;
((3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[(1R, 3R)-1-(Benzylamino-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
{(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
and
((1R, 3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

The present invention is also a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of one or more compounds of Formula IV and a pharmaceutically acceptable carrier

Compounds of Formula II, such as gabapentin, are useful for treating various conditions such as neurodegenerative disorder (US 5,084,479), depression (US 5,025,035), anxiety/panic (US 5,792,796), mania/bipolar disorders (US 5,510,381), anti-inflammatory diseases (WO 98 158641), gastrointestinal damage (WO 99 108670), glaucoma, and pain. Because the compounds of Formula II and Formula IV both operate to affect the BCAT pathway and affect the synthesis of glutamate, which is involved in each of the aforementioned indications, the compounds of Formula IV will also be useful for treating the indications. Thus, the present invention is also directed to the use of the compounds of Formula IV to treat each or more than one of neurodegenerative disorders (including but not limited to ALS, Parkinson's disease and Alzheimer's disease), depression, anxiety/panic, mania/bipolar disorders, anti-inflammatory diseases, glaucoma pain, or gastrointestinal damage.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figure 1. Scheme showing the BCAT shuttle in the retina. The shuttle proper is highlighted and shows how branched chain amino acids in the glia can transaminate α-ketoglutarate to form glutamate. The BCKA product diffuses across the interstitium

005060-020EP209

(shown as grey) to the neurons where it is converted back to the branched chain amino acid by transamination with glutamate via BCATc. Abbreviations are as follows. BCAA=branched chain amino acid, GLU=glutamate; GLN=glutamine; Gln'ase=glutaminase, pyr=pyruvate; PC=pyruvate carboxylase, αKG=α-ketoglutarate, BCATm=mitochondrial branched chain aminotransferase, BCATc=cytosolic branched chain aminotransferase; BCKA=branched chain keto acid, GDH=glutamate dehydrogenase.

Figure 2. Effect of pyruvate concentration on incorporation of $H^{14}CO_3$ into glutamate plus glutamine (A) and pyruvate plus lactate (B) by *ex vivo* retinas. Hemi-retinas were incubated at 37°C under standard conditions with 25 mM $H^{14}CO_3$ for 20 minutes. Pyruvate in the medium was either 0.2 or 5 mM. Values shown are mean ± SEM (n=4, * p<0 05) Abrevs. gln+glu = sum of labeled glutamine plus glutamate; pyr+lact = sum of labeled pyruvate plus lactate.

Figure 3. Expression of BCAT isoenzymes in rat retina. Tissue extraction, SDS-PAGE, and immunoblotting were performed as described using the ECL detection kit. Immunoaffinity purified rat anti-BCATc peptide antibody (1 1000) and human anti-BCATm antibody (1 1000) were used.

Figure 4. The influence of gabapentin (GBP) and branched chain amino acids on incorporation of $H^{14}CO_3$ into glutamate plus glutamine by *ex vivo* retinas. Half retinas were incubated at 37° C under standard conditions with 25 mM $H^{14}CO_3$ and 0.2 mM pyruvate for 20 minutes. In some instances gabapentin (1 mM) was included in the incubation medium and in others GBP (1 mM) plus all three branched amino acids (0.2 mM) each were included. Values shown are means ± SEM of HCO_3 incorporated into glutamate plus glutamine in 20 minutes (n=4, * p<0 001, ** p<0.01). Abrevs gln+glu = sum of labeled glutamine plus glutamate.

Figure 5. Influence of gabapentin (GBP) concentration on incorporation of $H^{14}CO_3$ into glutamate and glutamine in *ex vivo* retinas. Conditions were similar to those of Figure 4 except for the concentration of GBP Values shown are means ± SEM (n=6-7, * p<0 05).

602002020 090500

Abrevs GLN+GLU = sum of glutamine plus glutamate; LACT + TCA = sum of lactate plus TCA cycle intermediates.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention is predicated on the discovery that intraocular glutamate injection causes ganglion cell loss which is related to the early stages of diabetic retinopathy (Vorwerk et al. IOVS 37 1618-1624 (1996)) and that an inhibitor of the branched chain amino acid-dependent aminotransferase pathway, such as gabapentin for example, is effective in inhibiting the synthesis of glutamate, thus preventing diabetic retinopathy. Accordingly, the present invention provides a method for the prophylactic and therapeutic treatment of diabetic retinopathy, including treatment at the pre-diabetic retinopathy stage, the nonproliferative diabetic retinopathy stage, and the proliferative diabetic retinopathy stage. By "prophylactic" is meant the protection, in whole or in part, against diabetic retinopathy, in particular diabetic macular edema. By "therapeutic" is meant the amelioration of diabetic retinopathy, itself, and the protection, in whole or in part, against further diabetic retinopathy, in particular diabetic macular edema.

The method comprises the administration of an inhibitor of the branched chain amino acid-dependent aminotransferase pathway in an amount sufficient to treat the retina for retinopathy prophylactically or therapeutically. Any inhibitor of the branched chain amino acid-dependent aminotransferase pathway can be used in the method of the present invention as long as it is safe and efficacious. Herein, "branch chain amino acid-dependent aminotransferase (BCAT) inhibitor" will be used to refer to such compounds and is intended to encompass all compounds that effect the branch chain amino acid-dependent aminotransferase pathway at any and all points in the pathway.

Preferably, the BCAT inhibitor is a compound of Formulas I, II, and/or III, as described above, or a pharmaceutically acceptable BCAT pathway-inhibiting analogue or prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, ester, or amide of any of the foregoing.

Unless otherwise expressly stated, the following definitions are adhered to throughout this disclosure.

0050 0-020E209

"Alkyl" means a straight or branched hydrocarbon radical having from 1 to 10 carbon atoms (unless stated otherwise) and includes, for example, methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl, isobutyl, tert-butyl, n-pentyl, iso-pentyl, n-hexyl, and the like.

"Halogen" includes fluoro, chloro, bromo, and iodo.

"Alkenyl" means straight and branched hydrocarbon radicals having from 2 to 6 carbon atoms and one double bond and includes ethenyl, 3-buten-1-yl, 2-ethenylbutyl, 3-hexen-1-yl, and the like.

"Alkynyl" means straight and branched hydrocarbon radicals having from 2 to 6 carbon atoms and one triple bond and includes ethynyl, 3-butyn-1-yl, propynyl, 2-butyn-1-yl, 3-pentyn-1-yl, and the like.

"Cycloalkyl" means a monocyclic or polycyclic hydrocarbyl group such as cyclopropyl, cycloheptyl, cyclooctyl, cyclodecyl, cyclobutyl, adamantyl, norpinanyl, decalinyl, norbornyl, cyclohexyl, and cyclopentyl. Such groups can be substituted with groups such as hydroxy, keto, and the like. Also included are rings in which 1 to 3 heteroatoms replace carbons. Such groups are termed "heterocyclyl", which means a cycloalkyl group also bearing at least one heteroatom selected from O, S, or NR_2, examples being substituted or unsubstituted oxiranyl, pyrrolidinyl, piperidyl, tetrahydropyran, piperazinyl, acylpiperazinyl, pyrrolidinyl, and morpholine.

"Alkoxy" refers to the alkyl groups mentioned above bound through oxygen, examples of which include methoxy, ethoxy, isopropoxy, tert-butoxy, and the like. In addition, alkoxy refers to polyethers such as $-O-(CH_2)_2-O-CH_3$, and the like.

"Alkanoyl" groups are alkyl linked through a carbonyl, ie, $C_1-C_5-C(O)-$. Such groups include formyl, acetyl, propanoyl, butyryl, and isobutyryl.

"Acyl" means an alkyl or aryl (Ar) group bonded through a carbonyl group, ie, R-C(O)- For example, acyl includes a C_1-C_6 alkanoyl, including substituted alkanoyl, wherein the alkyl portion can be substituted by NR^4R^5 or a carboxylic or heterocyclic group. Typical acyl groups include acetyl, benzoyl, and the like.

The alkyl, alkenyl, alkoxy, and alkynyl groups described above are optionally substituted, preferably by 1 to 3 groups selected from NR^4R^5, phenyl, substituted phenyl, thio C_1-C_6 alkyl, C_1-C_6 alkoxy, hydroxy, carboxy, C_1-C_6 alkoxycarbonyl, halo, nitrile, cycloalkyl, and a 5- or 6-membered carbocyclic ring or heterocyclic ring having 1 or

005060'020030

943
900

2 heteroatoms selected from nitrogen, substituted nitrogen, oxygen, and sulfur "Substituted nitrogen" means nitrogen bearing C_1-C_6 alkyl or $(CH_2)_nPh$ where n is 1, 2, or 3 Perhalo and polyhalo substitution is also embraced.

Examples of substituted alkyl groups include 2-aminoethyl, pentachloroethyl, trifluoromethyl, 2-diethylaminoethyl, 2-dimethylaminopropyl, ethoxycarbonylmethyl, 3-phenylbutyl, methanylsulfanylmethyl, methoxymethyl, 3-hydroxypentyl, 2-carboxybutyl, 4-chlorobutyl, 3-cyclopropylpropyl, pentafluoroethyl, 3-morpholinopropyl, piperazinylmethyl, and 2-(4-methylpiperazinyl)ethyl

Examples of substituted alkynyl groups include 2-methoxyethynyl, 2-ethylsulfanylethynyl, 4-(1-piperazinyl)-3-(butynyl), 3-phenyl-5-hexynyl, 3-diethylamino-3-butynyl, 4-chloro-3-butynyl, 4-cyclobutyl-4-hexenyl, and the like.

Typical substituted alkoxy groups include aminomethoxy, trifluoromethoxy, 2-diethylaminoethoxy, 2-ethoxycarbonylethoxy, 3-hydroxypropoxy, 6-carboxhexyloxy, and the like.

Further, examples of substituted alkyl, alkenyl, and alkynyl groups include dimethylaminomethyl, carboxymethyl, 4-dimethylamino-3-buten-1-yl, 5-ethylmethylamino-3-pentyn-1-yl, 4-morpholinobutyl, 4-tetrahydropyrimidylbutyl, 3-imidazolidin-1-ylpropyl, 4-tetrahydrothiazol-3-yl-butyl, phenylmethyl, 3-chlorophenylmethyl, and the like.

The terms "Ar" and "aryl" refer to unsubstituted and substituted aromatic groups. Heteroaryl groups have from 4 to 9 ring atoms, from 1 to 4 of which are independently selected from the group consisting of O, S, and N Preferred heteroaryl groups have 1 or 2 heteroatoms in a 5- or 6-membered aromatic ring. Mono and bicyclic aromatic ring systems are included in the definition of aryl and heteroaryl. Typical aryl and heteroaryl groups include phenyl, 3-chlorophenyl, 2,6-dibromophenyl, pyridyl, 3-methylpyridyl, benzothienyl, 2,4,6-tribromophenyl, 4-ethylbenzothienyl, furanyl, 3,4-diethylfuranyl, naphthyl, 4,7-dichloronaphthyl, pyrrole, pyrazole, imidazole, thiazole, and the like.

Preferred Ar groups are phenyl and phenyl substituted by 1, 2, or 3 groups independently selected from the group consisting of alkyl, alkoxy, thio, thioalkyl, hydroxy, carbonyl groups, amino of the formula $-NR^4R^5$, and $T(CH_2)_mQR^4$ or $T(CH_2)_mCO_2R^4$ wherein m is 1 to 6, T is O, S, NR^4, $N(O)R^4$, NR^4R^6Y, or CR^4R^5, Q is O, S, NR^5, $N(O)R^5$, or NR^5R^6Y wherein R^4 and R^5 are as described above, and R^7 is

005060-02002209

alkyl or substituted alkyl, for example, methyl, trichloroethyl, diphenylmethyl, and the like. The alkyl and alkoxy groups can be substituted as defined above. For example, typical groups are carboxyalkyl, alkoxycarbonylalkyl, hydroxyalkyl, hydroxyalkoxy, and alkoxyalkyl.

The symbol "-" means a bond.

The term "patient" means all animals including humans. Examples of patients include humans, cows, dogs, cats, goats, sheep, and pigs.

The compounds of the present invention can exist in unsolvated forms as well as solvated forms, including hydrated forms. In general, the solvated forms, including hydrated forms, are equivalent to unsolvated forms and are intended to be encompassed within the scope of the present invention.

Certain of the compounds of the present invention possess one or more chiral centers and each center may exist in the R(D) or S(L) configuration. The present invention includes all enantiomeric and epimeric forms as well as the appropriate mixtures thereof.

The compounds of Formulas I, II, and III are capable of further forming both pharmaceutically acceptable analogs comprising salts, esters, amides, and prodrugs. As used herein, the term "pharmaceutically acceptable salts, esters, amides, and prodrugs" refers to those carboxylate salts, amino acid addition salts, esters, amides, and prodrugs of the compounds of the present invention which are, within the scope of sound medical judgment, suitable for use in contact with the tissues of patients without undue toxicity, irritation, allergic response, and the like, commensurate with a reasonable benefit/risk ratio, and effective for their intended use, as well as the zwitterionic forms, where possible, of the compounds of the invention. The term "salts" refers to the relatively non-toxic, inorganic and organic acid addition salts of compounds of the present invention. These salts can be prepared *in situ* during the final isolation and purification of the compounds or by separately reacting the purified compound in its free base form with a suitable organic or inorganic acid and isolating the salt thus formed and including, but not limited to, acid addition and/or base salts, solvents and N-oxides of a compound of Formulas I, II, and III. This invention also provides pharmaceutical formulations comprising a compound of Formulas I, II, or III together with a pharmaceutically acceptable carrier, diluent, or excipient therefor. All of these forms are within the present invention.

602300200 - 090500

Pharmaceutically acceptable acid addition salts of the compounds of Formulas I, II and III include salts derived form inorganic acids such as hydrochloric, nitric, phosphoric, sulfuric, hydrobromic, hydriodic, phosphorus, and the like, as well as the salts derived from organic acids, such as aliphatic mono- and dicarboxylic acids, phenyl-substituted alkanoic acids, hydroxy alkanoic acids, alkanedioic acids, aromatic acids, aliphatic and aromatic sulfonic acids, etc. Such salts thus include sulfate, pyrosulfate, bisulfate, sulfite, bisulfite, nitrate, phosphate, monohydrogenphosphate, dihydrogenphosphate, metaphosphate, pyrophosphate, chloride, bromide, iodide, acetate, propionate, caprylate, isobutyrate, oxalate, malonate, succinate, suberate, sebacate, fumarate, maleate, mandelate, benzoate, chlorobenzoate, methylbenzoate, dinitrobenzoate, phthalate, benzenesulfonate, toluenesulfonate, phenylacetate, citrate, lactate, maleate, tartrate, methanesulfonate, and the like. Also contemplated are the salts of amino acids such as arginate, gluconate, galacturonate, and the like; see, for example, Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," *J of Pharmaceutical Science*, 1977;66 1-19

The acid addition salts of the basic compounds are prepared by contacting the free base form with a sufficient amount of the desired acid to produce the salt in the conventional manner The free base form may be regenerated by contacting the salt form with a base and isolating the free base in the conventional manner The free base forms differ from their respective salt forms somewhat in certain physical properties such as solubility in polar solvents, but otherwise the salts are equivalent to their respective free base for purposes of the present invention.

Pharmaceutically acceptable base addition salts are formed with metals or amines, such as alkali and alkaline earth metal hydroxides, or of organic amines. Examples of metals used as cations are sodium, potassium, magnesium, calcium, and the like. Examples of suitable amines are N,N'-dibenzylethylenediamine, chloroprocaine, choline, diethanolamine, ethylenediamine, N-methylglucamine, and procaine; see, for example, Berge, et al., supra.

The base addition salts of acidic compounds are prepared by contacting the free acid form with a sufficient amount of the desired base to produce the salt in the conventional manner The free acid form may be regenerated by contacting the salt form with an acid and isolating the free acid in a conventional manner The free acid forms differ from their respective salt forms somewhat in certain physical properties such as

0050 0'020E209

solubility in polar solvents, but otherwise the salts are equivalent to their respective free acid for purposes of the present invention.

Examples of pharmaceutically acceptable, non-toxic esters of the compounds of this invention include C_1-C_6alkyl esters wherein the alkyl group is a straight or branched chain. Acceptable esters also include C_5-C_7cycloalkyl esters as well as arylalkyl esters such as, but not limited to benzyl C_1-C_4alkyl esters are preferred. Esters of the compounds of the present invention may be prepared according to conventional methods.

Examples of pharmaceutically acceptable, non-toxic amides of the compounds of this invention include amides derived from ammonia, primary C_1-C_6alkyl amines and secondary C_1-C_6dialkyl amines wherein the alkyl groups are straight or branched chain. In the case of secondary amines the amine may also be in the form of a 5- or 6-membered heterocycle containing one nitrogen atom. Amides derived from ammonia, C_1-C_3alkyl primary amines, and C_1-C_2dialkyl secondary amines are preferred. Amides of the compounds of the invention may be prepared according to conventional methods

The term "prodrug" refers to compounds that are rapidly transformed *in vivo* to yield the parent compound of the above Formulae, for example, by hydrolysis in blood. A thorough discussion is provided in T Higuchi and V Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol 14 of the A.C.S Symposium Series, and in *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, both of which are incorporated herein by reference. In general, a prodrug is a drug which has been chemically modified and may be biologically inactive at its site of action, but which may be degraded or modified by one or more enzymatic or other in vivo processes to the parent bioactive form.

A therapeutically effective amount is an amount of a compound of Formulas I, II, or III, that when administered to a patient, ameliorates a symptom of the disease.

The BCAT inhibitor, which is preferably a compound of Formulas I, II, and/or III, a BCAT pathway-inhibiting analogue of Formulas I, II, and/or III, a BCAT pathway-inhibiting prodrug of Formulas I, II, and/or III, or a pharmaceutically acceptable salt of any of the foregoing, can be administered in accordance with the present inventive method by any suitable route. Suitable routes of administration include systemic, such as orally or by injection; topical; intraocular; periocular (e.g., subTenon's), subconjunctival, subretinal, suprachoroidal and retrobulbar The manner in which the BCAT inhibitor is

602300200 - 090500

administered is dependent, in part, upon whether the treatment of retinopathy is prophylactic or therapeutic. The manner in which the BCAT inhibitor is administered for therapeutic treatment of retinopathy is dependent, in part, upon the cause of the retinopathy

For example, given that diabetes is the leading cause of retinopathy, the BCAT inhibitor can be administered prophylactically as soon as the pre-diabetic retinopathy state is detected. For the prophylactic treatment of retinopathy that can result from diabetes, the BCAT inhibitor is preferably administered systemically, e.g., orally or by injection. For the therapeutic treatment of nonproliferative diabetic retinopathy, the BCAT inhibitor can be administered systemically, e.g., orally or by injection, or intraocularly Proliferative diabetic retinopathy can be therapeutically treated by the administration of the BCAT inhibitor intraocularly, topically, subconjunctivally or periocularly (e.g., subTenon's), for example. The BCAT inhibitor is preferably administered intraocularly, topically, subconjunctivally or periocularly (e.g., subTenon's) for the prophylactic or therapeutic treatment of retinopathy before, during or after surgical removal from an eye of scar tissue generated during neovascularization during the proliferative diabetic stage.

The BCAT inhibitor is preferably administered as soon as possible after it has been determined that an animal, such as a mammal, specifically a human, is at risk for retinopathy (prophylactic treatment) or has begun to develop retinopathy (therapeutic treatment) Treatment will depend, in part, upon the particular BCAT inhibitor used, the amount of the BCAT inhibitor administered, the route of administration, and the cause and extent, if any, of retinopathy realized.

One skilled in the art will appreciate that suitable methods of administering a BCAT inhibitor, which is useful in the present inventive method, are available. Although more than one route can be used to administer a particular BCAT inhibitor, a particular route can provide a more immediate and more effective reaction than another route. Accordingly, the described routes of administration are merely exemplary and are in no way limiting.

The dose administered to an animal, particularly a human, in accordance with the present invention should be sufficient to effect the desired response in the animal over a reasonable time frame. One skilled in the art will recognize that dosage will depend upon a variety of factors, including the strength of the particular BCAT inhibitor employed, the

005060-02003209

405 948 37

age, species, condition or disease state, and body weight of the animal, as well as the amount of the retina about to be affected or actually affected by retinopathy The size of the dose also will be determined by the route, timing and frequency of administration as well as the existence, nature, and extent of any adverse side effects that might accompany the administration of a particular BCAT inhibitor and the desired physiological effect. It will be appreciated by one of ordinary skill in the art that various conditions or disease states, in particular, chronic conditions or disease states, may require prolonged treatment involving multiple administrations.

Suitable doses and dosage regimens can be determined by conventional range-finding techniques known to those of ordinary skill in the art. Generally, treatment is initiated with smaller dosages, which are less than the optimum dose of the compound. Thereafter, the dosage is increased by small increments until the optimum effect under the circumstances is reached. The present inventive method will typically involve the administration of from about 1 mg/kg/day to about 100 mg/kg/day, preferably from about 15 mg/kg/day to about 50 mg/kg/day, if administered systemically Intraocular administration typically will involve the administration of from about 0 1 mg total to about 5 mg total, preferably from about 0 5 mg total to about I mg total. A preferred concentration for topical administration is 100 mu M.

Compositions for use in the present inventive method preferably comprise a pharmaceutically acceptable carrier and an amount of a BCAT inhibitor sufficient to treat retinopathy prophylactically or therapeutically The carrier can be any of those conventionally used and is limited only by chemico-physical considerations, such as solubility and lack of reactivity with the compound, and by the route of administration. It will be appreciated by one of ordinary skill in the art that, in addition to the following described pharmaceutical compositions, the BCAT inhibitor can be formulated as polymeric compositions, inclusion complexes, such as cyclodextrin inclusion complexes, liposomes, microspheres, microcapsules and the like (see, e.g., U S. Pat. Nos. *4,997,652*, *5,185,152* and *5,718,922*).

The BCAT inhibitor can be formulated as a pharmaceutically acceptable acid addition salt. Examples of pharmaceutically acceptable acid addition salts for use in the pharmaceutical composition include those derived from mineral acids, such as hydrochloric, hydrobromic, phosphoric, metaphosphoric, nitric and sulfuric acids, and

005060-020030209

organic acids, such as tartaric, acetic, citric, malic, lactic, fumaric, benzoic, glycolic, gluconic, succinic, and arylsulphonic, for example p-toluenesulphonic, acids.

The pharmaceutically acceptable excipients described herein, for example, vehicles, adjuvants, carriers or diluents, are well-known to those who are skilled in the art and are readily available to the public. It is preferred that the pharmaceutically acceptable carrier be one which is chemically inert to the BCAT inhibitor and one which has no detrimental side effects or toxicity under the conditions of use.

The choice of excipient will be determined in part by the particular BCAT inhibitor, as well as by the particular method used to administer the composition. Accordingly, there is a wide variety of suitable formulations of the pharmaceutical composition of the present invention. The following formulations are merely exemplary and are in no way limiting.

Injectable formulations are among those that are preferred in accordance with the present inventive method. The requirements for effective pharmaceutically carriers for injectable compositions are well-known to those of ordinary skill in the art (see Pharmaceutics and Pharmacy Practice, J B Lippincott Co., Philadelphia, Pa., Banker and Chalmers, eds., pages 238-250 (1982), and ASHP Handbook on Injectable Drugs, Toissel, 4th ed., pages 622-630 (1986)). It is preferred that such injectable compositions be administered intramuscularly, intravenously, or intraperitoneally

Topical formulations are well-known to those of skill in the art. Such formulations are suitable in the context of the present invention for application to the skin. The use of patches, corneal shields (see, e.g., U S. Pat. No. *5,185,152*), and ophthalmic solutions (see, e.g., U S. Pat. No. *5,710,182*) and ointments, e.g., eye drops, is also within the skill in the art.

Formulations suitable for oral administration can consist of (a) liquid solutions, such as an effective amount of the compound dissolved in diluents, such as water, saline, or orange juice; (b) capsules, sachets, tablets, lozenges, and troches, each containing a predetermined amount of the active ingredient, as solids or granules, (c) powders; (d) suspensions in an appropriate liquid, and (e) suitable emulsions. Liquid formulations may include diluents, such as water and alcohols, for example, ethanol, benzyl alcohol, and the polyethylene alcohols, either with or without the addition of a pharmaceutically acceptable surfactant, suspending agent, or emulsifying agent. Capsule forms can be of the ordinary hard- or soft-shelled gelatin type containing, for example, surfactants,

907 33
950

lubricants, and inert fillers, such as lactose, sucrose, calcium phosphate, and corn starch. Tablet forms can include one or more of lactose, sucrose, mannitol, corn starch, potato starch, alginic acid, microcrystalline cellulose, acacia, gelatin, guar gum, colloidal silicon dioxide, croscarmellose sodium, talc, magnesium stearate, calcium stearate, zinc stearate, stearic acid, and other excipients, colorants, diluents, buffering agents, disintegrating agents, moistening agents, preservatives, flavoring agents, and pharmacologically compatible excipients. Lozenge forms can comprise the active ingredient in a flavor, usually sucrose and acacia or tragacanth, as well as pastilles comprising the active ingredient in an inert base, such as gelatin and glycerin, or sucrose and acacia, emulsions, gels, and the like containing, in addition to the active ingredient, such excipients as are known in the art.

The effectiveness of an orally administered drug is dependent upon the drug's efficient transport across the mucosal epithelium and its stability in entero-hepatic circulation. Drugs that are effective after parenteral administration but less effective orally, or whose plasma half-life is considered too short, may be chemically modified into a prodrug form.

Formulations suitable for parenteral administration include aqueous and non-aqueous, isotonic sterile injection solutions, which can contain anti-oxidants, buffers, bacteriostats, and solutes that render the formulation isotonic with the blood of the intended recipient, and aqueous and non-aqueous sterile suspensions that can include suspending agents, solubilizers, thickening agents, stabilizers, and preservatives. The inhibitor can be administered in a physiologically acceptable diluent in a pharmaceutical carrier, such as a sterile liquid or mixture of liquids, including water, saline, aqueous dextrose and related sugar solutions, an alcohol, such as ethanol, isopropanol, or hexadecyl alcohol, glycols, such as propylene glycol or polyethylene glycol, dimethylsulfoxide, glycerol ketals, such as 2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4-methanol, ethers, such as poly(ethyleneglycol) 400, an oil, a fatty acid, a fatty acid ester or glyceride, or an acetylated fatty acid glyceride, with or without the addition of a pharmaceutically acceptable surfactant, such as a soap or a detergent, suspending agent, such as pectin, carbomers, methylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, or carboxymethylcellulose, or emulsifying agents and other pharmaceutical adjuvants. Oils, which can be used in parenteral formulations include petroleum, animal, vegetable, or

005060'020030E209

synthetic oils. Specific examples of oils include peanut, soybean, sesame, cottonseed, corn, olive, petrolatum, and mineral.

Suitable fatty acids for use in parenteral formulations include oleic acid, stearic acid, and isostearic acid. Ethyl oleate and isopropyl myristate are examples of suitable fatty acid esters.

Suitable soaps for use in parenteral formulations include fatty alkali metals, ammonium, and triethanolamine salts, and suitable detergents include (a) cationic detergents such as, for example, dimethyl dialkyl ammonium halides, and alkyl pyridinium halides, (b) anionic detergents such as, for example, alkyl, aryl, and olefin sulfonates, alkyl, olefin, ether, and monoglyceride sulfates, and sulfosuccinates, (c) nonionic detergents such as, for example, fatty amine oxides, fatty acid alkanolamides, and polyoxyethylenepolypropylene copolymers, (d) amphoteric detergents such as, for example, alkyl-p-aminopropionates, and 2-alkyl-imidazoline quaternary ammonium salts, and (e) mixtures thereof.

The parenteral formulations will typically contain from about 0.5 to about 25% by weight of the active ingredient in solution. Preservatives and buffers may be used. In order to minimize or eliminate irritation at the site of injection, such compositions may contain one or more nonionic surfactants having a hydrophile-lipophile balance (HLB) of from about 12 to about 17.

The quantity of surfactant in such formulations will typically range from about 5 to about 15% by weight. Suitable surfactants include polyethylene sorbitan fatty acid esters, such as sorbitan monooleate and the high molecular weight adducts of ethylene oxide with a hydrophobic base, formed by the condensation of propylene oxide with propylene glycol. The parenteral formulations can be presented in unit-dose or multi-dose sealed containers, such as ampules and vials, and can be stored in a freeze-dried (lyophilized) condition requiring only the addition of the sterile liquid excipient, for example, water, for injections, immediately prior to use. Extemporaneous injection solutions and suspensions can be prepared from sterile powders, granules, and tablets of the kind previously described.

Such compositions can be formulated as intraocular formulations, sustained-release formulations or devices (see, e.g., U.S. Pat. No. *5,378,475*). For example, gelatin, chondroitin sulfate, a polyphosphoester, such as bis-2-hydroxyethyl-terephthalate (BHET), or a polylactic-glycolic acid (in various proportions) can be used

602300200 090500

909 35
952

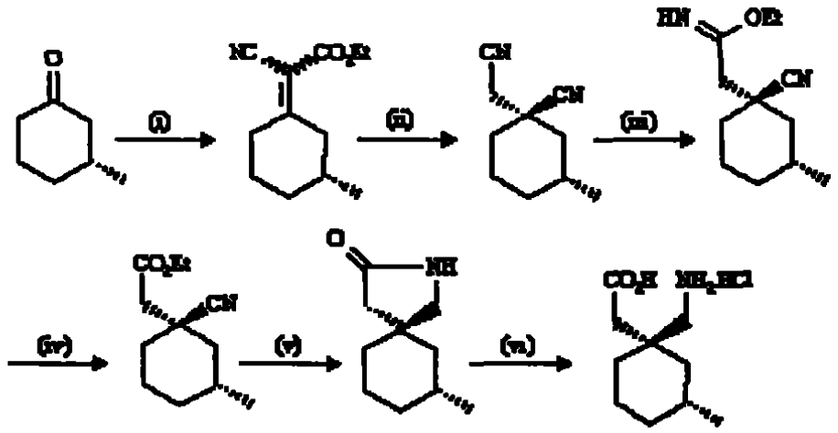
to formulate sustained-release formulations. Implants (see, e.g., U S Pat. Nos. *5,443,505*, *4,853,224* and *4,997,652*), devices (see, e.g., U S Pat. Nos. *5,554,187*, *4,863,457*, *5,098,443* and *5,725,493*), such as an implantable device, e.g., a mechanical reservoir, an intraocular device or an extraocular device with an intraocular conduit (e.g., 100 mu -1 mm in diameter), or an implant or a device comprised of a polymeric composition as described above, can be used.

The present inventive method also can involve the co-administration of other pharmaceutically active compounds. By "co-administration" is meant administration before, concurrently with, e.g., in combination with the BCAT inhibitor in the same formulation or in separate formulations, or after administration of a BCAT inhibitor as described above. For example, corticosteroids, e.g., prednisone, methylprednisolone, dexamethasone, or triamcinalone acetinide, or noncorticosteroid anti-inflammatory compounds, such as ibuprofen or fenbufroben, can be co-administered. Similarly, vitamins and minerals, e.g., zinc, anti-oxidants, e.g., carotenoids (such as a xanthophyll carotenoid like zeaxanthin or lutein), and micronutrients can be co-administered.

602300Z0 .090500

General synthetic schemes for preparing compounds of Formula I- IV

EXAMPLE 1 trans-(1R,3R)(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride



(i) EtO_2CCH_2CN, NH_4Ac, AcOH, Toluene, 120°C

(ii) a. NaCN, EtOH (95%), H_2O, 115°C, b. HCl (g)

(iii) EtOH, HCl (g), Toluene

(iv) HCl, H_2O

(v) H_2, EtOH/NH_3, Raney Ni_2, 50-50°C

(vi) HCl, H_2O, 140°C

Step i: 2-Cyano-((R)-3-methyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester

A mixture of 3-(R)-Methylcyclohexanone (125mmol), Ethyl cyanoacetate (124mmol), Ammonium acetate (12.5mmol) and glacial Acetic acid (24mmol) were refluxed with a Dean Stark trap for 24 Hours. The mixture was cooled and washed with H_2O. The H_2O washes were extracted with Toluene. The Toluene extracts were combined with the original organic layer, dried over $MgSO_4$ and the solvent evaporated. The crude oil was purified by Kugelrohr distillation to give an oil. (Bpt oven temp 150-160°C) Yield 86%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 1 01-1 05 (3H, m), 1 17-1 32 (1H, m), 1.35 (3H, t, J=7Hz), 1 42-2.30 (6H, m), 2.98 (1H, d, J=13Hz), 3 74 (1H, d, J=13Hz), 4 27 (2H, q, J=7Hz)

MS (CI) m/z: 208 (MH^+)

Analysis $C_{12}H_{17}NO_2$ Calc. C 69 54 H 8 27 N 6 76,
Found C 69 44 H 8 22 N 6 76

Step ii. trans-(1R,3R)-1-Cyanomethyl-3-methyl-cyclohexanecarbonitrile

To a solution of NaCN (40mmol) in 6mL H_2O and 160mL Ethanol (95%) was added 2-Cyano-((R)-3-methyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (40mmol). After 22 Hours at reflux the cooled solution was filtered, the filtrate acidified with gaseous HCl and filtered again. The solvent was removed and the crude oil was purified by column chromatography to give a pale yellow crystalline solid. Yield 88%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 0.90 (1H, m), 0 98 (3H, d, J=6Hz), 1 11 (1H, t, J=12Hz), 1.38 (1H, dt, J=4, 9Hz), 1 60-1 90 (4H, m), 2.07 (2H, m), 2.68 (2H, s)

MS (CI) m/z: 163 (MH^+)

Analysis: $C_{10}H_{14}N_2$ Calc: C 74 04 H 8 70 N 17.27
Found C 74 05 H 8 71 N 17.25

Step iii: trans-2-((1R,3R)-1-Cyano-3-methyl-cyclohexyl)-acetimidic acid ethyl ester

To a solution of trans-(1R,3R)-1-Cyanomethyl-3-methyl-cyclohexanecarbonitrile (6.2mmol) in 30mL Ethanol (absolute) was added 30 mL dried Toluene. The solution was chilled in ice whilst saturating with gaseous HCl. The stoppered solution was then left to stand at room temperature for 24 Hours. The solvent was removed and the solid residue was triturated with Diethyl Ether to obtain a ppt which was dried to give a white crystalline solid. Yield 50%.

Mp 118-120°C

005060 • 02003209

^{1}HNMR (DMSO) 400MHz δ 0 8-0 89 (1H, m), 0 91 (3H, d, J=6.3Hz), 1 06-1 12 (1H, m), 1.24-1 35 (1H, m), 1 37 (3H, t, J=7Hz), 1 41-1.95 (6H, m), 3 02 (2H, s), 4 49 (2H, q, J=7Hz) MS (CI) m/z: 195 (MH^+)

Analysis. $C_{12}H_{20}N_2O$ 1 08M HCl Calc: C 58 19 H 8.58 N 11.31

Found. C 58.25 H 8 59 N 11.59

Step iv: trans-((1R,3R)-1-Cyano-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester

trans-2-((1R,3R)-1-Cyano-3-methyl-cyclohexyl)-acetimidic acid ethyl ester (1 1mmol) was dissolved in ice cold H_2O (40mL) and the pH adjusted with 1N HCl to pH 1.5 The solution was stirred at room temperature for 20 Hours. Ethylacetate was added (30mL) and the organic layer was washed with H_2O, dried and the solvent removed to leave a clear oil. Yield 82%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 0 78-0 90 (1H, m), 0.93 (3H, d, J=6Hz), 0.97-1 00 (1H, m), 1.23-1 25 (1H, m), 1.29 (3H, t, J=7.2Hz), 1.59-1 80 (4H, m), 2.05-2.08 (2H, Br t), 2.54 (2H, s), 4.20 (2H, q, J=7.2Hz)

MS (CI) m/z: 210 (MH^+)

Analysis. $C_{12}H_{19}NO_2$ Calc: C 68.87 H 9 15 N 6 69

Found C 68.87 H 9 11 N 6.90

Step v: trans-(5R,7R)-7-Methyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one

trans-((1R,3R)-1-Cyano-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester (8.9mmol) was dissolved in NH_3/EtOH (7%, 40mL) along with prewashed Raney Nickel (H_2O followed by EtOH) in a 250mL Parr flask. The solution was hydrogenated at 30°C, 46psi for 24 Hours. The cooled solution was filtered through a pad of celite, washing with Ethyl acetate. The solvent was removed from the filtrate to leave a white solid Yield 30%.

Mp 92-98°C

005060-020020209

^{1}HNMR (DMSO) 400MHz δ· 0 75-0 82 (1H, m), 0 84 (3H, d, J=6.4Hz), 0.88-0.94 (1H, m), 1 14-1 19 (1H, m), 1.20-1.50 (2H, m), 1 50-1 63 (4H, m), 1 91 (2H, s), 3 03 (2H, s), 7 42 (1H, s)

MS (CI) m/z: 168 (MH^+)

Analysis. $C_{10}H_{17}NO$ Calc: C 71 81 H 10.25 N 8.37
Found. C 71 80 H 10.29 N 8 31

Step vi. trans-((1R,3R)-1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride

trans-(5R,7R)-7-Methyl-2-aza-spiro[4 5]decan-3-one (2.17mmol) was dissolved in a solution of 10M HCl (5mL) and H_2O (5mL) and the mixture was refluxed at approx 140°C for 5 Hours. The cooled solution was diluted with 10 mL H_2O and 10 mL DCM and the aqueous layer was further washed with 2x15 mL DCM. The aqueous layer was then reduced to dryness to leave a white solid. Yield 76%.

Mp 148-155°C. $[\alpha]_D$ = -2.5 (T=20°C, c=1, MeOH). One isomer (RR).

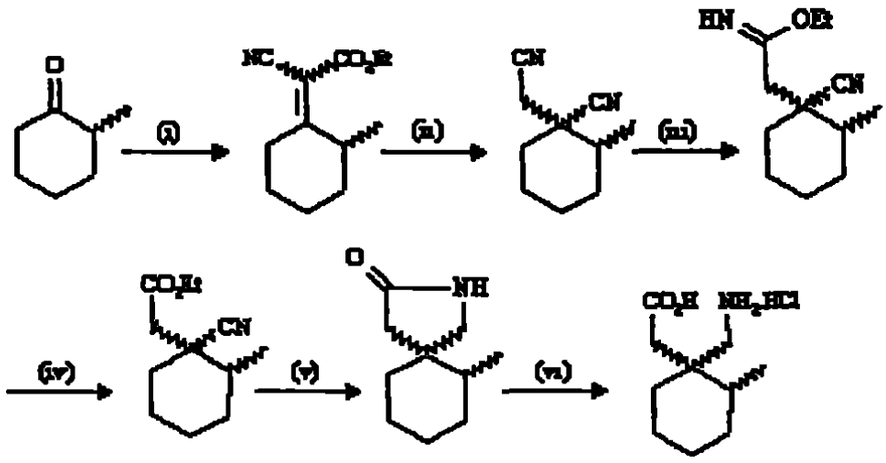
^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 0.69-0 79 (1H, m), 0 82 (3H, d, J=6Hz), 0 87-0.90 (1H, m), 1 12-1 20 (1H, dt, J=4 5, 13.3Hz), 1.34-1.50 (3H, m), 1 60-1 63 (3H, m), 2.30 (2H, s), 3 01 (2H, s), 7.93 (3H, Br s)

MS (CI) m/z: 186 (MH^+)

Analysis. $C_{10}H_{19}NO_2$ 1 1 HCl Calc: C 53.29 H 8.99 N 6.21
Found. C 53.23 H 8 99 N 6.45

EXAMPLE 2 (1-Aminomethyl-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride

002300209.090500



(i) EtO_2CCH_2CN, NH_4Ac, AcOH, Toluene, 120°C

(ii) a. NaCN, EtOH (95%), H_2O, 115°C, b HCl (g)

(iii) EtOH, HCl (g), Toluene

(iv) HCl, H_2O

(v) H_2 EtOH/NH_3 Raney Ni_2, 30-50°C

(vi) HCl, H_2O, 140°C

Step i. 2-Cyano-(2-methyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester

(+/-) 2-Methyl cyclohexanone (80mmol), Ethyl cyanoacetate (80mmol), Ammonium acetate (8mmol) and glacial Acetic acid (16mmol) were reacted as in the General method (Example 1) step i to give a clear oil. Yield 76%.

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 1.23 (3H, dd, J=7, 10Hz), 1.35 (3H, t, J=7Hz), 1.55-1.82 (5H, m), 1.93-2.05 (1H, m), 2.17 (1H, dt, J=5, 14Hz), 2.47 (1H, dt, J=5, 9Hz), 2.92-2.97 (1H, Br d, J=15Hz), 3.30-3.35 (1H, m), 3.81-3.86 (1H, Br d, J=15 Hz), 4.06-4.14 (1H, m), 4.23-4.30 (3H, dq, J=1, 6Hz)

MS (CI) m/z: 208 (MH+)

Analysis	$C_{12}H_{17}NO_2$	Calc:	C 69.54	H 8.27	N 6.76
		Found	C 69.26	H 8.26	N 6.66

005060-020300

Step ii: 1-Cyanomethyl-2-methyl-cyclohexanecarbonitrile

2-Cyano-(2-methyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (37mmol), NaCN (37mmol) were reacted as in the General method (Example 1) step ii. The crude solid was purified by column chromatography (3 1, Heptane Ethylacetate), to give a clear oil. Yield 76%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 1 06 (3H, d, J=6 8Hz), 1 11 (3H, d, J=6 8Hz), 1 20-2.20 (18H, m), 2 77 (2H, dd, J=16 8Hz), 2.63 (2H, dd, J=16 8Hz)

MS (CI) m/z: 163 (MH^+)

Analysis. $C_{10}H_{14}N_2$ 0.1 H_2O Calc: C 73 49 H 8.69 N 16.86

Found. C 73.24 H 8.73 N 17 08

Step iii. 2-(1-Cyano-2-methyl-cyclohexyl)-acetimidic acid ethyl ester

1-Cyanomethyl-2-methyl-cyclohexanecarbonitrile(7.3mmol) was reacted as in the General method (Example 1) Step (iii) to give a white solid. Yield 70%.

Mpt 107-114°C.

^{1}HNMR (DMSO) 400MHz δ 1 00-1.06 (3H, 2xt, J=6.4Hz), 1 10-1.38 (2H, m), 1.38 (3H, t, J=6.8Hz), 1 40-2.10 (7H, m), 2.86, 2.92, 3 10, 3.28 (2H, 4xd, J=14,14.4, 14.8, 14Hz resp.), 4 48 (2H, q, J=6 8Hz)

MS (CI) m/z: 209 (MH^+)

Analysis: $C_{12}H_{20}N_2O$ 1 06 HCl Calc: C 58.37 H 8.60 N 11.34

Found. C 58 15 H 8.63 N 11.60

Step iv: (1-Cyano-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester

2-(1-Cyano-2-methyl-cyclohexyl)-acetimidic acid ethyl ester (4.1mmol) was reacted as in the General method (Example 1) step (iv) to give a clear oil. Yield 82%

0050500 • 02003209

916 959 52

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ 1 03, 1 09 (3H, 2xd, J=7Hz), 1.27-1.30 (3H, m), 1.32-2.00 (8H, m) 2 10-2.20 (1H, m), 2 44, 2.82 (3H, 2xd, J=14 8Hz), 2.54 (1H, m), 4 16-4 22 (2H, m)

MS (CI) m/z: 210 (MH^+)

Analysis $C_{12}H_{19}NO_2$				
	Calc.	C 68 87	H 9 15	N 6 69
	Found	C 68 84	H 9 13	N 6 75

Step v- 6-Methyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one

(1-Cyano-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester (8.4mmol) was reacted as in the General method (Example 1) Step (v) for 24 Hours at 10°C, 50 psi. The crude oil was purified by column chromatography (Ethylacetate), to give a white solid. Yield 34%.

Mp 85-90 °C

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400MHz δ. 0.88-0.91 (3H, dd, J=4, 6.8Hz), 1 41-1 78 (9H, m), 2.00-2.30 (2H, m), 3 06-3.23 (2H, m), 7.27 (1H, Br s)

MS (CI) m/z: 168 (MH^+)

Analysis. $C_{10}H_{17}NO$				
	Calc.	C 71 81	H 10.24	N 8.37
	Found.	C 71 83	H 10.19	N 8.27

Step vi. (1-Aminomethyl-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride

6-Methyl-2-aza-spiro[4 5]decan-3-one (2.5mmol) was reacted as in the General method (Example 1) step vi to give a white solid. Yield 42%.

Mp 108-110° C.

$[\alpha]_D$ = 0 (T=20 5° C, C=1, MeOH) Two Diastereomers 3 1

005060-020020209

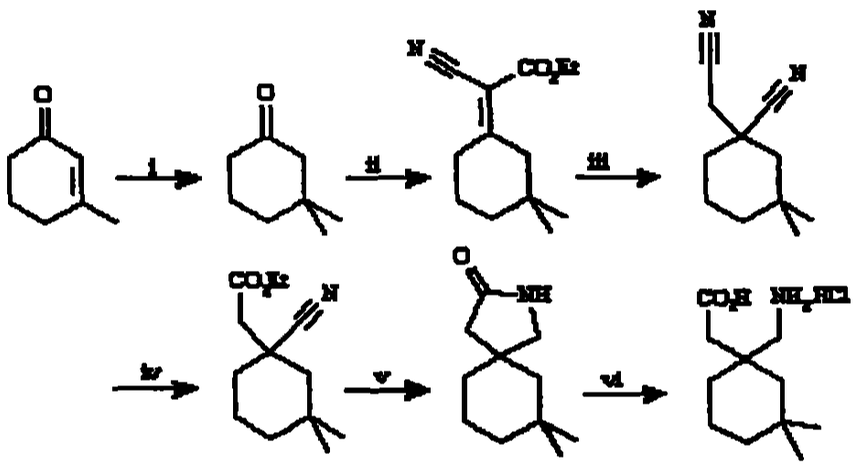
^{1}HNMR (DMSO + D_2O) 400MHz δ 0 79, 0 85 (3H, 2xd, J=6.8Hz), 1.21-1 65 (9H, m), 2.22, 2.43 (1H, 2xd, J=15Hz), 2.46, 2.49 (1H, 2xd, J=15Hz), 2.83-2.92 (1H, 2xd, J=13 6Hz), 3 05, 3 15 (1H, 2xd, J=13 6Hz)

MS (CI) m/z: 186 (MH^+)

Analysis. $C_{10}H_{19}NO_2$ 1 3 HCl Calc: C 51 64 H 8 79 N 6.02

Found. C 51 66 H 8.91 N 6.16

EXAMPLE 3 (1-Aminomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride



i) CsI, MeLi, NH_4Cl, NH_3, (52%)
ii) $NCCH_2CO_2Et$, NH_4OAc, AcOH, toluene, (83%)
iii) NaCN, EtOH, H_2O, (77%)
iv) HCl, EtOH, toluene, (58%)
v) H_2, Raney Ni, EtOH, NH_3, (94%)
vi) HCl, H_2O, (44%)

Step i: 3,3-Dimethyl-cyclohexanone:

Synthesised via the method outlined by Pelletier, S.W., Mody, N V., *J. Org. Chem.*, 1976, 41, 1069

005090 • 0200302

A solution of lithium dimethyl cuprate was prepared by the addition of methyl lithium (1 4M in ether, 77 25mL, 2.45mol) to copper (I) iodide (8 8g, 0 046mol) under argon. The solution was cooled to 0°C, and 3-methyl-cyclohexen-1-one (5mL, 0 044mol) was added dropwise, with stirring, and a deep yellow precipitate was formed. The suspension was stirred at room temperature for one hour before being poured into a solution of aqueous ammonia (100mL) and ammonium acetate (ca. 5g) The layers were separated and the aqueous layer washed with diethyl ether (3x 50mL) The combined organics were washed with saturated brine (3x 100mL), dried ($MgSO_4$), and the solvent removed in vacuo to leave a dark yellow liquid.

^{1}H NMR (400MHz. $CDCl_3$) 0 98 (6H, s), 1.59 (2H, m), 1 88 (2H, m), 2.14 (2H, m), 2.26 (2H, m).
IR (film) $\nu_{max}cm^{-1}$ 2956, 1711 (C=O), 1457, 1368, 1292, 1226, 1076.

Step h. 2-Cyano-5,5-dimethyl-3-propyl-hex-2-enoic acid ethyl ester

To a solution of 3,3-dimethylcyclohexanone (4g, 0.032mol) in toluene (25mL) was added ethyl cyanoacetate (3 37mL, 0 032mol, 1 eq), ammonium acetate (0.24g, 0.003mol, 0.1eq), and acetic acid (0.36mL, 0.006mol, 0.2eq.) The yellow solution was heated to reflux whilst attached to a Dean-Stark trap, and heating was continued until no more water condensed in the trap. After cooling, the now orange solution was washed with water (3x 25mL) and the organic layer dried ($MgSO_4$). Filtration and removal of the solvent *in vacuo* gave the crude product as a deep orange liquid. Purification was achieved by Kugelrohr distillation to leave the mixture of *cis* and *trans* products as a pale yellow liquid, bp 160-170°C, 4 mbar (5 83g, 83%)

^{1}H NMR (400MHz. $CDCl_3$) 0 96 (6H, s, 2x Me), 0.99 (6H, s, 2x Me),1.34 (6H, m, 2x Me of ester), 1 49 (4H, m), 1 75 (2H, quin, *J* 6.4), 1 82 (2H, quin, *J* 6.4), 2.46 (2H, s), 2.60 (2H, t, *J* = 6.4 Hz), 2.80 (2H, s), 2.93 (2H, t, *J* = 6.4 Hz), 4.27 (4H, m).
MS (CI) z/e 222 (M^++1)
IR (film) $\nu_{max}cm^{-1}$ 2958, 2870, 2224 (CN), 1731 (C=O), 1606 (C=C), 1277, 1223
Analysis. $C_{13}H_{19}O_2N$ Calc: C 70 56 H 8 65 N 6.32

0050600-0050800

919 962 45

Found. C 70 35 H 8 79 N 6.25

Step iii 1-Cyanomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexanecarbonitrile

To a solution of the 2-Cyano-5,5-dimethyl-3-propyl-hex-2-enoic acid ethyl ester (1.26g, 0 006mol) in ethanol (100ml) and water (4mL) was added sodium cyanide (0.28g, 0 006mol, 1 eq) The yellowish solution was heated to reflux for 8 hours and then cooled, during which time an off-white precipitate was formed.

The suspension was filtered under vacuum and the filtrate acidified with HCl gas until the pH was approximately 2. The mixture was then filtered a second time and then the solvent removed *in vacuo* to leave the crude product as a pale green solid.

Flash column chromatography, after adsorption of the crude product on to silica, eluting with 0-50% EtOAc in heptane gave the bisnitrile as a colourless solid (0.57g, 57%).

^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$) 0.99 (3H, s, Me), 1 13 (1H, td, *J* 13.2, 4.2), 1.21 (3H, s, Me), 1.32 (2H, m), 1.54 (1H, m), 1 82 (3H, m), 2.15 (1H, m), 2.65 (2H, s, CH_2CN).

^{13}C NMR (400MHz, $CDCl_3$) 19 61, 25 17, 30 79, 31 18, 33 77, 34 79, 35.37, 37 92, 46.26, 115 06, 122.19

MS (CI) *m/e* 177 (M^++1)

IR (film) ν_{max} cm^{-1} 2988, 2937, 2869, 2237 (2x CN), 1749, 1456, 1423, 1369, 1202, 1180, 1031, 972.

Analysis $C_{11}H_{16}N_2$ Calc: C 74 96 H 9 15 N 15 89

Found: C 75 08 H 9.32 N 15 80

Step iv (1-Cyano-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester:

1-Cyanomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexanecarbonitrile (0 50g, 2.84mmol) was dissolved in absolute ethanol (20mL) at room temperature and then cooled to 0^{0}C. Toluene (20mL) was added to the solution and then the reaction mixture was acidified by passing HCl gas through it at a gentle rate for *ca.* 45 mins. The flask was then stoppered and left to stand at room temperature for 24 hours.

005060-02003209

The yellow solution was partitioned between ethyl acetate and water and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3x 30mL), and the combined organics washed with aq sat. sodium hydrogen carbonate solution (3x 50mL), brine (3x 50mL), dried ($MgSO_4$), and the solvent removed under reduced pressure to leave a pale yellow liquid (0 59g, 93%)

^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$) 0 94 (3H, s, Me), 1 16 (3H,m), 1 21 (3H, s, Me), 1.29 (3H, t, *J* 7.2, CH_2CH_3), 1.50 (1H, m), 1 65 (1H, dt, *J* 14 4, 7.6), 1 84 (1H, qt, *J* 13 3, 3.2),1 96 (1H, dt, *J* 13 7, 2.2), 2.16 (1H, m), 2.48, (1H, d, *J* 15 6, C-2H), 2.54 (1H, d, *J* 15 6, C-2H), 4.20 (2H, q, *J* 7 2, CH_2CH_3)

^{13}C NMR (400MHz, $CDCl_3$) 14.21, 19 65, 25 42, 31 03, 34 04, 34 14, 36.08, 38.44, 46.14, 46.80, 61 02, 123 67, 169 00

MS (CI) *m/e* 224 (M^++1).

IR (film) ν_{max} cm^{-1} 2998, 2937, 2868, 2234 (CN), 1738 (C=O), 1457, 1372, 1217, 1181, 1154, 1026.

Analysis. $C_{12}H_{21}NO_2$ Calc: C 69 92 H 9 48 N 6.27
Found C 69 63 H 9 45 N 6.15

Step v 7,7-Dimethyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one:

(1-Cyano-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester (0.5g, 2.23mmol) was hydrogenated in ethanolic ammonia (60mL) with Raney nickel as catalyst (*ca.* 0.25g) at 50°C and 50psi for 48 hours.

The catalyst was then removed by filtration through Celite, and the solvent removed *in vacuo* to leave a greenish crystalline solid.

Flash column chromatography, eluting with 0-100% ethyl acetate in heptane, gave the pure lactam as a colourless solid (340 mg, 84%).

^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$) 0 89 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 1.25 (2H, m), 1 36 (2H, m), 1.51 (3H, m), 1 68 (1H, s), 2 18 (1H, d, *J* 16 4, CH_2NH), 2.24 (1H, d, *J* 16.8, CH_2NH), 3 15 (2H, s, CH_2CO).

002300209 • 09050D

^{13}C NMR (400MHz, $CDCl_3$) 19 16, 29 88, 30 36, 31.28, 36.57, 39 05, 39 61, 44.58, 49 54, 54 79, 177 72.

MS (CI) z/e 182 (M^++1).

IR (film) $\nu_{max}cm^{-1}$ 3203, 3100 (NH), 2914, 2860, 1698 (C=O), 1486, 1374, 1317, 1289, 1257, 1076

Analysis $C_{11}H_{19}NO$ Calc. C 72.88 H 10 56 N 7 73
Found. C 72.38 H 10 47 N 7 56

Step vi (1-Aminomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride:

7,7-Dimethyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one (0.3g, 1 66mmol) was dissolved in a mixture of HCl (conc., 5mL) and water (5mL), and the resultant colourless solution heated to reflux for 20 hours. The solution was cooled and then partitioned between water and dichloromethane, and the layers separated. The aqueous layer was washed with dichloromethane (3x 20mL) and the water/HCl removed by rotary evaporation to leave the crude product as an off-white solid. Trituration of this solid with ethyl acetate and filtration of the product gave (1-Aminomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt as a colourless solid (140mg, 42%, 64% based on recovered starting material).

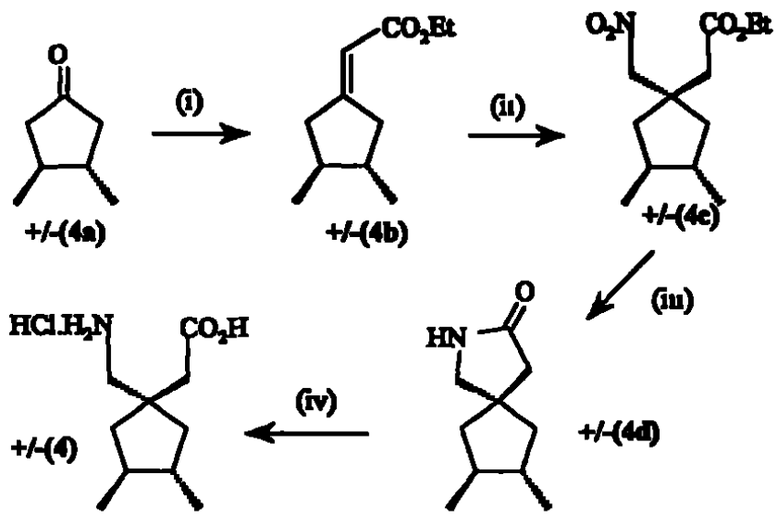
^{1}H NMR (400MHz, DMSO) 0.90 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 1 15-1.49 (8H, m), 2.45 (2H, s, CH_2CO_2H), 2.90 (2H, br.q, *J* 13.5, CH_2NH_3), 7.96 (3H, br s, NH_3), 12.36 (1H, br.s, OH).

IR (film) $\nu_{max}cm^{-1}$ 2930, 1728 (C=O), 1272, 1123

Analysis. $C_{11}H_{22}NO_2Cl$ Calc: C 56.04 H 9 41 N 5 94
Found C 55 79 H 9 61 N 6.23

EXAMPLE 4: (±)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride

005060-020003209



Reagents. (i) Triethylphosphonoacetate, NaH, (ii) $MeNO_2$,$Bu_4N^+F^-$; (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

Step i. synthesis of (±) (trans)-(3,4-Dimethyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (4b)

NaH (60% dispersion in oil, 737 mg, 18.42 mmol) was suspended in dry tetrahydrofuran (50 mL) and cooled to 0°C. Triethylphosphonoacetate (3 83 mL, 19.30 mmol) was added and the mixture stirred at 0°C for 15 minutes. The ketone (+/-)-(4a) (1 965 g, 17 54 mmol) in THF (10 mL) was then added and the mixture allowed to warm to room temperature. After 2 hours, the mixture was partitioned between diethyl ether (200 mL) and water (150 mL). The organic phase was separated, washed with brine, dried ($MgSO_4$) and the solvent removed in vacuo The residue was purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate:heptane 1 9) to give 3 01 g (94%) of (4b) as a colorless oil

^1H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 1 01 (3H, d, J = 6 Hz), 1 03 (3H, d, J = 6 Hz), 1.26 (3H, t, J = 7 Hz), 1 49 (2H, m), 2.07 (1H, m), 2.24 (1H, m), 2 61 (1H, m), 4 13 (2H, q, J = 7 Hz), 5 72 (1H, s)

MS (CI+) m/e 183 (M+1)

005060-02003209

Step ii: synthesis of (±)(trans)-(3,4-Dimethyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (4c)

(±)(trans)-(3,4-Dimethyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (4b) (2 95 g, 16 2 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (10 mL) and stirred at 70°C with nitromethane (1 9 mL, 35.2 mmol) and tetrabutylammonium fluoride (1 0 M in tetrahydrofuran, 22 mL, 22.0 mmol) After 6 hours, the mixture was cooled to room temperature, diluted with ethyl acetate (50 mL), and washed with 2N HCl (30 mL) followed by brine (50 mL). The organic phase was collected, dried ($MgSO_4$) and the solvent removed in vacuo The residue was purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate.heptane 1 9) to give 1 152 g (29%) of a clear oil.

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 0 98 (6H, d, J = 6 Hz), 1 10-1 39 (5H, m), 1 47 (2H, m), 1 87 (1H, m), 2.03 (1H, m), 2 57 (2H, ABq, J = 16, 38 Hz), 4 14 (2H, q, J = 7 Hz), 4 61 (2H, ABq, J = 12, 60 Hz).
MS (ES+) m/e. 244 (M+1)
IR (film) ν cm^{-1} 1186, 1376, 1549, 1732, 2956.

Step iii. Synthesis of (±)-(trans)-7,8-Dimethyl-spiro[4.4]nonan-2-one (4d)

(±)(trans)-(3,4-Dimethyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (4c) (1 14 g, 4 7 mmol) was dissolved in methanol (50 mL) and shaken over Raney nickel catalyst under an atmosphere of hydrogen (40 psi) at 30°C. After 5 hours, the catalyst was removed by filtration through celite. The solvent was removed in vacuo to give 746 mg (95%) of a pale yellow oil which solidified on standing.

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 0 98 (6H, d, J = 6 Hz), 1.32 (2H, m), 1 46 (2H, m), 1 97 (2H, m), 2.27 (2H, ABq, J = 16, 27 Hz), 3.23 (2H, s), 5 62 (1H, br s)
MS (ES+) m/e: 168 (M+1)
IR (film) ν cm^{-1} 1451, 1681, 1715, 2948, 3196

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MIAMI

602300020 · 09050500

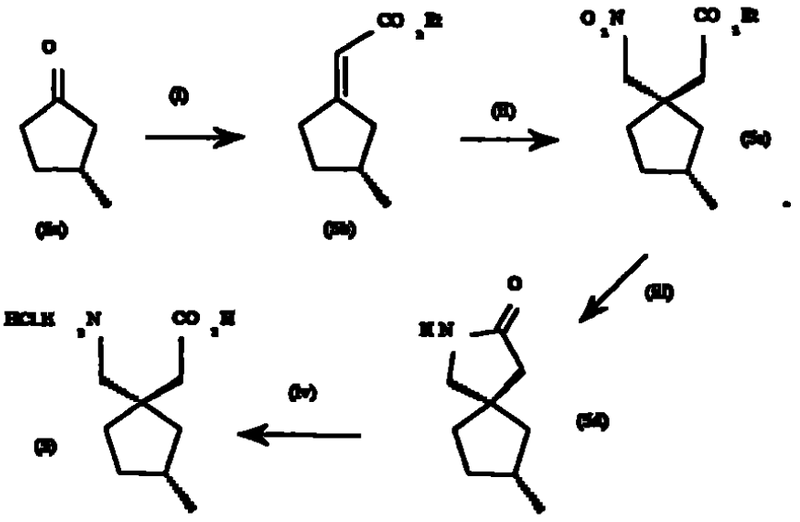
924 967

Step iv: Synthesis of (±)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride (4)

(±)-(trans)-7,8-Dimethyl-spiro[4.4]nonan-2-one (4d) (734 mg, 4.40 mmol) was heated to reflux in a mixture of 1,4-dioxan (5 mL) and 6N HCl (15 mL). After 4 hours, the mixture was cooled to room temperature, diluted with water (20 mL), and washed with dichloromethane (3 × 30 mL). The aqueous phase was collected and the solvent removed in vacuo. The residue was triturated with ethyl acetate to give 675 mg (69%) of a white solid after collection and drying.

^{1}H NMR 400 MHz (d_6-DMSO): δ 0.91 (6H, d, J = 6 Hz), 1.18 (2H, m), 1.42 (2H, m), 1.72 (1H, m), 1.87 (1H, m), 2.42 (2H, ABq, J = 16, 24Hz), 2.90 (2H, ABq, J = 12, 34 Hz), 8.00 (3H, br s), 12.34 (1H, br s).
MS (ES+) m/e 186 (M+1 for the free base).

EXAMPLE 5 (cis/trans)-(3R)-(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride (5)



Reagents. (i) Triethylphosphonoacetate, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$, (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

Step c: Synthesis of (R)-(3-Methyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (5b)

NaH (60% dispersion in oil, 1 86 g, 46.5 mmol) was suspended in dry tetrahydrofuran (40 mL) and cooled to 0°C Triethylphosphonoacetate (9 69 mL, 48 8 mmol) was added and the mixture stirred at 0°C for 15 minutes. (R)-3-Methyl-cyclopentanone (5a) (5 ml, 46 5 mmol) in THF (10 mL) was then added and the mixture allowed to warm to room temperature. After 2 hours, the mixture was partitioned between diethyl ether (200 mL) and water (150 mL) The organic phase was separated, washed with brine, dried ($MgSO_4$) and the solvent removed in vacuo The residue was purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate:heptane 1-9) to give 5 45 g (70%) of (2) as a colorless oil.

^1H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 1 04 (3H, m), 1 27 (3H, t, J = 7 Hz), 1 80-2.74 (7H, m), 2.90-3 15 (1H, m), 4 13 (2H, q, J = 7 Hz), 5 76 (1H, s).
MS (CI+) m/e: 169 (M+1)
IR (film) ν cm^{-1} 1205, 1371, 1653, 1716, 2955

Step ii. Synthesis of (cis/trans)-(3R)-(3-Methyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (5c)

(R)-(3-Methyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (5b) (3 0 g, 17 8 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (20 mL) and stirred at 70°C with nitromethane (1 92 mL, 35 6 mmol) and tetrabutylammonium fluoride (1 0 M in tetrahydrofuran, 25 mL, 25 0 mmol). After 18 hours, the mixture was cooled to room temperature, diluted with ethyl acetate (50 mL), and washed with 2N HCl (30 mL) followed by brine (50 mL) The organic phase was collected, dried ($MgSO_4$), and the solvent removed in vacuo. The residue was purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate:heptane 1 9) to give 2.00 g (49%) of a clear oil.

^1H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 1 02 (3H, d, J = 6 Hz), 1 08-1.37 (5H, m), 1 59-2.17 (5H, m), 2.64 (2H, m), 4 15 (2H, q, J = 7 Hz), 4 64 (2H, m)
MS (ES+) m/e: 230 (M+1)
IR (film) ν cm^{-1} 1183, 1377, 1548, 1732, 2956.

002300209 - 09005D

Step iii. Synthesis of (cis/trans)-(7R)-7-Methyl-spiro[4.4]nonan-2-one (5d)

(cis/trans)-(3R)-(3-Methyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (5c) (1 98 g, 8 66 mmol) was dissolved in methanol (50 mL) and shaken over Raney nickel catalyst under an atmosphere of hydrogen (40 psi) at 30°C After 18 hours, the catalyst was removed by filtration through celite. The solvent was removed in vacuo and the residue purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate:heptane 1 1) to give 1 05 g (79%) of a white solid.

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 1 03 (3H, m), 1 22 (2H, m), 1 60-2.15 (5H, m), 2 22 (2H, m), 3 20 and 3 27 (2H total, 2 × s, cis, and trans), 6.18 (1H, br s)

MS (ES+) m/e 154 (M+1)

IR (film) ν cm^{-1} 1695, 2949, 3231

Step iv. Synthesis of (cis/trans)-(3R)-(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride (5)

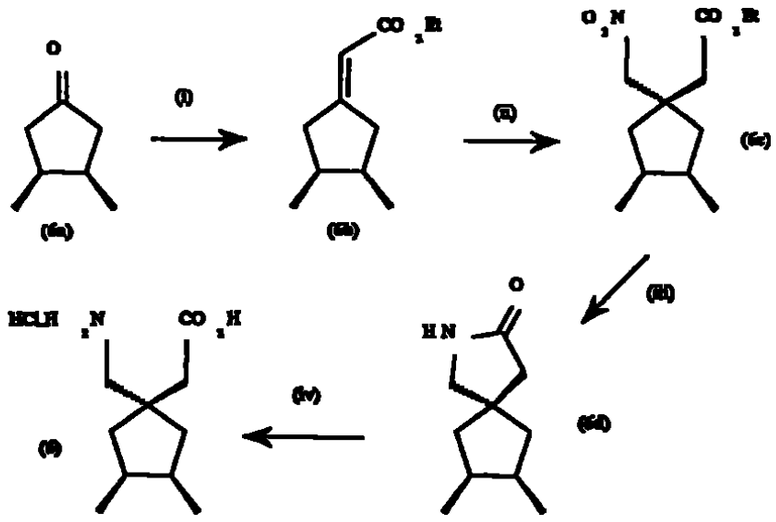
(cis/trans)-(7R)-7-Methyl-spiro[4 4]nonan-2-one (5d) (746 mg, 4 88 mmol) was heated to reflux in a mixture of 1,4-dioxan (5 mL) and 6N HCl (15 mL) After 4 hours, the mixture was cooled to room temperature, diluted with water (20 mL), and washed with dichloromethane (3 × 30 mL). The aqueous phase was collected and the solvent removed in vacuo. The residue was triturated with ethyl acetate to give a white solid which was collected and dried. This was recrystallized from ethyl acetate/methanol to give 656 mg (65%) of (5) after collection and drying.

^{1}H NMR 400 MHz (d_6-DMSO) δ 0 96 (3H, m), 1 01-1.24 (2H, m), 1 42-2.10 (5H, m), 2.41 and 2 44 (2H total, 2 × s, cis/trans), 2.94 (2H, m), 7 96 (3H, br s), 12.35 (1H, br s)

MS (ES+) m/e 172 (M+1 for the free base)

002300 · 090500

EXAMPLE 6. (+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride



Reagents. (i) Triethylphosphonoacetate, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$; (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

Step i. Synthesis of (cis)-(3,4-Dimethyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (6b)

NaH (60% dispersion in oil, 519 mg, 12.96 mmol) was suspended in dry tetrahydrofuran (30 mL) and cooled to 0°C. Triethylphosphonoacetate (2.68 mL, 13.5 mmol) was added and the mixture stirred at 0°C for 15 minutes. (3S,4R)-3,4-Dimethyl-cyclopentanone (6a) (1.21 g, 10.80 mmol) in THF (10 mL) was then added and the mixture allowed to warm to room temperature. After 2 hours, the mixture was partitioned between diethyl ether (200 mL) and water (150 mL). The organic phase was separated, washed with brine, dried ($MgSO_4$) and the solvent removed in vacuo. The residue was purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate:heptane 5:95) to give 1.40 g (71%) of (Z) as a colorless oil.

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 0.84 (3H, d, J = 6 Hz), 0.91 (3H, d, J = 6 Hz), 1.26 (3H, t, J = 7 Hz), 2.01-2.95 (6H, m), 4.13 (2H, q, J = 7 Hz), 5.76 (1H, s).

0023002D • 090500

MS (CI+) m/e. 183 (M+1)

IR (film) ν cm^{-1} 1043, 1125, 1200, 1658, 1715, 2959

Step ii. Synthesis of (trans)-(3,4-Dimethyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (6c)

(cis)-(3,4-Dimethyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (6b) (1.384 g, 7 60 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (10 mL) and stirred at 70°C with nitromethane (0 82 mL, 15 2 mmol) and tetrabutylammonium fluoride (1 0M in tetrahydrofuran, 11 4 mL, 11 4 mmol). After 6 hours, the mixture was cooled to room temperature, diluted with ethyl acetate (50 mL) and washed with 2N HCl (30 mL) followed by brine (50 mL) The organic phase was collected, dried ($MgSO_4$), and the solvent removed in vacuo The residue was purified by flash chromatography (silica, ethyl acetate:heptane 5 95) to give 0 837 g (45%) of a clear oil

^1H NMR 400 MHz ($CDCl_3$)· δ 0 91 (6H, d, J = 6 Hz), 1.21-1 39 (5H, m), 1 98 (2H, m), 2 18 (2H, m), 2.64 (2H, s), 4 15 (2H, q, J = 7 Hz), 4 61 (2H, s).

MS (ES+) m/e: 244 (M+1)

IR (film) ν cm^{-1} 1184, 1377, 1548, 1732, 2961

Step iii. Synthesis of (trans)-7,8-Dimethyl-spiro[4.4]nonan-2-one (6d)

(trans)-(3,4-Dimethyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (6c) (0 83 g, 3 4 mmol) was dissolved in methanol (30 mL) and shaken over Raney nickel catalyst under an atmosphere of hydrogen (40 psi) at 30°C. After 4 hours, the catalyst was removed by filtration through celite. The solvent was removed in vacuo to give 567 mg (99%) of a pale yellow oil which solidified on standing.

^1H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 0 89 (6H, d, J = 6 Hz), 1 38 (2H, m), 1 91 (2H, m), 2.10 (2H, m), 2.32 (2H,s), 3 18 (2H, s), 5 61 (1H, br s).

MS (ES+) m/e 168 (M+1)

IR (film) ν cm^{-1} 1304, 1450, 1699, 2871, 3186

005060 • 09005002

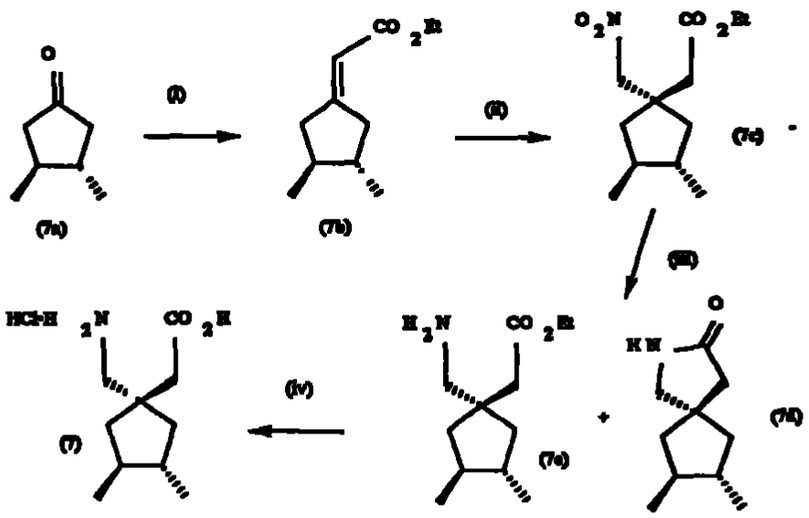
929 972

Step iv: Synthesis of (trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride (6)

(trans)-7,8-Dimethyl-spiro[4.4]nonan-2-one (6d) (563 mg, 4.40 mmol) was heated to reflux in a mixture of 1,4-dioxan (5 mL) and 6N HCl (15 mL). After 4 hours, the mixture was cooled to room temperature, diluted with water (20 mL), and washed with dichloromethane (3 x 30 mL). The aqueous phase was collected and the solvent removed in vacuo. The residue was triturated with ethyl acetate to give a white solid which was collected and dried. This was recrystallized from ethyl acetate/methanol to give 440 mg (59%) of (6) after collection and drying.

^{1}H NMR 400 MHz (d_6-DMSO) δ 0.84 (6H, d, J = 6 Hz), 1.21 (2H, m), 1.81 (2H, m), 2.06 (2H, m), 2.47 (2H, s), 2.89 (2H, s), 7.94 (3H, br s), 12.30 (1H, br s).
MS (ES+) m/e. 186 (M+1 for the free base)

EXAMPLE 7 (+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride



0050 0' 2002209

Reagents (i) Triethylphosphonoacetate, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$; (iii) H_2, Ni, (iv) Hcl.

(3S,4S)-3,4-Dimethyl-cyclopentanone (7a) is known in the literature and can be synthesized by the methods outlined therein. Y Kato, *Chem. Pharm. Bull.*, 1966,14 1438-1439 and related references W C. M C Kokke, F A. Varkevisser, *J Org Chem*, 1974,39 1535, R. Baker, D C. Billington, N Eranayake, *JCS Chem. Comm*, 1981 1234, K. Furuta, K. Iwanaga, H. Yamamoto, *Tet. Lett*, 1986;27 4507, G Solladie, O Lohse, *Tet. Asymm.*, 1993,4 1547, A. Rosenquist, I. Kvarnstrom, S C. T Svensson, B Classon, B Samuelsson, *Acta Chem. Scand.*, 1992,46 1127, E. J Corey, W Su, *Tet. Lett.*, 1988,29 3423, D W Knight, B Ojhara, *Tet. Lett*, 1981;22 5101

Step i. Synthesis of (trans)-(3,4-Dimethyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (7b)

To a suspension of sodium hydride (1.3 g, 32.5 mmol) in THF (60 mL) under nitrogen at 0°C was added triethylphosphonoacetate (6.5 mL, 32.7 mmol) over 5 minutes. After stirring for a further 10 minutes, a solution of (3S,4S)-3,4-Dimethyl-cyclopentanone (7a) (approx. 2.68 g, approx. 30 mmol) in THF (2 x 10 mL) was added to the now clear solution and the ice bath removed. After 4 hours the reaction was quenched by pouring into water (100 mL) and the mixture extracted with ether (400 mL) The organic phase was washed with saturated brine (100 mL), dried and concentrated in vacuo Column chromatography (10:1 heptane/ethyl acetate) gave the product as an oil (4 53 g) (approx. 91% yield)

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 1 01 (3H, d, J = 6 Hz), 1 03 (3H, d, J = 6 Hz), 1.26 (3H, t, J = 7 Hz), 1 49 (2H, m), 2 07 (1H, m), 2.24 (1H, m), 2.61 (1H, m), 4 13 (2H, q, J = 7 Hz), 5 72 (1H, s).
MS (CI+) m/e 183 (M+1)

WO 96/05200 PCT/US95/09500

Step ii. Synthesis of (trans)-(3,4-Dimethyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (7c)

To a solution of (trans)-(3,4-Dimethyl-cyclopentylidene)-acetic acid ethyl ester (7b) (4.24 g, 23 3 mmol) in THF (15 mL) was added TBAF (32 mL of a 1 M solution in THF, 32 mmol) followed by nitromethane (3 mL) and the reaction heated at 60°C for 8 hours. After cooling, the reaction mixture was diluted with ethyl acetate (150 mL) and washed with 2N HCl (40 mL) then saturated brine (50 mL) Column chromatography (10 1 heptane/ethyl acetate) gave the product as an oil (2.24 g). (40% yield)

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 0 98 (6H, d, J = 6 Hz), 1 10-1 39 (5H, m), 1 47 (2H, m), 1 87 (1H, m), 2.03 (1H, m), 2.57 (2H, ABq, J = 16, 38 Hz), 4 14 (2H, q, J = 7 Hz), 4 61 (2H, ABq, J = 12, 60 Hz).
MS (ES+) m/e: 244 (M+1)
IR (film) ν cm^{-1} 1186, 1376, 1549, 1732, 2956

Step iii: Synthesis of (+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid hydrochloride (7)

A solution of (trans)-(3,4-Dimethyl-1-nitromethyl-cyclopentyl)-acetic acid ethyl ester (7c) (3 5 g, 14 4 mmol) in methanol (100 mL) in the presence of Ni sponge was hydrogenated at 30°C and 50 psi for 4 hours. Filtering off the catalyst and concentrating in vacuo gave a 2.1 mixture of lactam and aminoester, 2.53 g, calculated as 96%, which was used without purification. This mixture (2.53 g, 13.8 mmol) in dioxane (15 mL) and 6N HCl (45 mL) was heated under reflux (oil bath = 110°C) for 4 hours. After cooling and diluting with water (60 mL), the mixture was washed with dichloromethane (3 x 50 mL) and then concentrated in vacuo The resulting oil was washed with ethyl acetate then dichloromethane to give a sticky foam which was dried to give the product as a white powder (2.32 g). (76% yield)

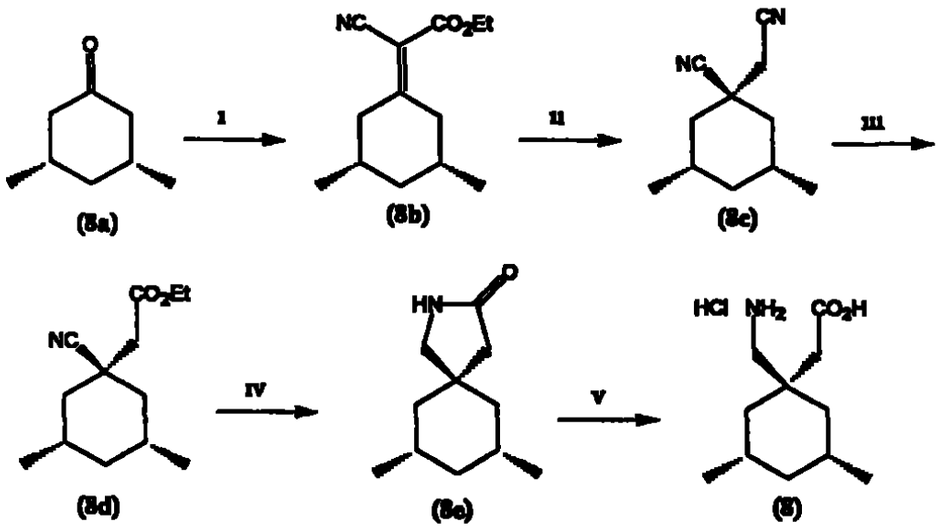
α_D (23°C) (H_2O) (c = 1 002) = +28 2°

WO 00/50020 PCT/US00/05050

^{1}H NMR 400 MHz (d_6-DMSO) δ 0 91 (6H, d, J = 6 Hz), 1 18 (2H, m), 1 42 (2H, m), 1 72 (1H, m), 1 87 (1H, m), 2.42 (2H, ABq, J = 16, 24 Hz), 2.90 (2H, ABq, J = 12, 34 Hz), 8 00 (3H, br s), 12.34 (1H, br s).

MS (ES+) m/e 186 (M+1 for the free base)

EXAMPLE 8 **1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride**



Step I: Synthesis of 2-Cyano-((3R,5S)-3,5-dimethyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (8b) Cis-3,5-dimethylcyclohexanone (8a, 15 78 g, 125 0 mmol) was dissolved in toluene (150 mL), and treated with ammonium acetate (0 96 g, 0 099 mmol), acetic acid (1 4 mL, 0 195 mmol), and ethyl cyanoacetate (14 04 g, 99.2 mmol) The reaction was heated to reflux overnight with a Dean-Stark trap, then cooled to room temperature and washed with H_2O (3 x 50 mL). The aqueous layer was backwashed with toluene (2 x 50 mL) The organic layers were combined, dried over Na_2SO_4, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel eluting with 5 % EtOAc/hexane to give 22.0 g (80%) of the desired product as a clear oil.

005060 · 02003209

MS 222.1 (M+1 for $C_{13}H_{19}N_1O_2$); an oil, TLC. SiO_2, R_f 0 40 (9 1 hexane/EtOAc), Analysis ($C_{13}H_{19}N_1O_2$) (Cal) C 70 56, H 8.68, N 6 33 (found) C 70 74, H 8 68, N 6 33 ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0 83-0 95 (m, 1 H), 1 01 (t, 6 H, J = 6 1 Hz), 1 32 (t, 3 H, J = 7.3 Hz), 1 48-1 85 (m, 5 H), 2.97-3 02 (m, 1 H), 3 92 (dd, 1 H, J = 12.2, 2.2 Hz), 4.24 (q, 2 H, J = 7 1 Hz)

Step h. Synthesis of 1α,3β,5β-1-Cyanomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexanecarbonitrile (8c): The 2-Cyano-((3R,5S)-3,5-dimethyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (8b, 6 64 g, 30.0 mmol) was dissolved in EtOH (60 mL) and added to a suspension of NaCN (1 47 g, 30 0 mmol) in EtOH / H_2O (100 mL / 8 mL). The reaction was heated to reflux overnight, then cooled to room temperature, filtered, and concentrated in vacuo to give a clear oil which solidified under vacuum. The residue was chromatographed on silica gel eluting with 4 1 hexane/EtOAc to give 4 05 g (77%) of the desired product as a white, sticky solid.

MS no M+1 ion observed ($C_{11}H_{16}N_2$); an oil, TLC SiO_2, R_f 0 31 (4 1 hexane/EtOAc); Analysis ($C_{11}H_{16}N_2$) (Cal.) C 74 96, H 9 15, N 15 89 (found) C: 74 81, H 9.25, N 15 65 ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0 58 (dd, 1 H, J = 24 9, 12.2 Hz), 0 96 (d, 6 H, J = 6.6 Hz), 1 03 (t, 2 H, J = 12.9 Hz), 1 75-1 90 (m, 3 H), 2 01 (d, 2 H, J = 11 5 Hz), 2.65 (s, 2 H).

Step iii: Synthesis of 1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride (8d) 1α,3β,5β-1-Cyanomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexanecarbonitrile (8c, 5 51 g, 31.26 mmol) was dissolved in EtOH (80 mL) and toluene (80 mL), cooled to 0 °C, and saturated with HCl gas. The solution was stoppered and stirred overnight at room temperature, then concentrated in vacuo to give the crude imino ester as a white solid This crude material was triturated with Et_2O (150 mL) and dried under vacuum, then treated with H_2O (100 mL) and 1 N HCl (4 mL) The reaction was stirred overnight at room temperature, then extracted with EtOAc (3 x 100 mL) The organic layers were

0023020 · 090500

combined, washed with brine, dried over Na_2SO_4, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel eluting with 6 1 hexane/EtOAc to give 5 78 g (83%) of the desired product as a clear oil.

MS 224 1 (M+1 for $C_{13}H_{21}N_1O_2$), an oil, TLC SiO_2, R_f 0 32 (6 1 hexane/EtOAc), Analysis ($C_{13}H_{21}N_1O_2$) (Cal.) C 69 92, H. 9 48, N 6 27 (found) C 70 03, H. 9 45, N 6.30 ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0 53 (dd, 1 H, J = 24 9, 12.0 Hz), 0.91 (d, 6 H, J = 6.6 Hz), 1 27 (t, 3 H, J = 7 1 Hz), 1 70-1 76 (m, 1 H), 1 80-1 90 (m, 2 H), 2.02 (d, 2 H, J = 12 9 Hz), 2.51 (s, 2 H), 4 18 (q, 2 H, J = 7 1 Hz)

Step iv: Synthesis of 5α,7β,9β-7,9-Dimethyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one (8e): 1α,3β,5β-(1-Cyano-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester (8d, 5 82 g, 26 1 mmol) was dissolved in MeOH (150 mL), treated with 10% Rh / 2% Pd/C (1 0 g), and shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 28 h. The reaction was filtered and concentrated in vacuo The residue was chromatographed on silica gel eluting with a gradient of 2 3 hexane/EtOAc, EtOAc, 5% MeOH/EtOAc to give 2.21 g (47%) of the desired product.

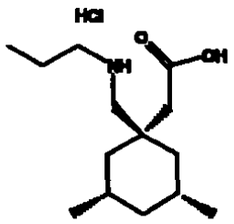
MS 182 0 (M+1 for $C_{11}H_{19}N_1O_1$); mp 116-118 °C; TLC SiO_2, R_f 0 36 (6% MeOH/CH_2Cl_2), Analysis ($C_{11}H_{19}N_1O_1$) (Cal.) C 72.88, H. 10 56, N 7 73 (found) C 72.84, H. 10 67, N 7 63 ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0 49 (dd, 1 H, J = 24 4, 12.0 Hz), 0 86-0.93 (m, 8 H), 1 38-1 48 (m, 2 H), 1 60-1 71 (m, 3 H), 2.09 (s, 2 H), 3 16 (s, 2 H), 5 79 (br, 1 H)

Step v: Synthesis of 1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid; hydrochloride salt (8): 5α,7β,9β-7,9-Dimethyl-2-aza-spiro[4 5]decan-3-one (8e, 0 52 g, 2 87 mmol) was treated with 6 N HCl (19 mL) and heated to reflux overnight. The reaction was cooled to room temperature, upon which a white precipitate formed. The solid was filtered away, and the filtrate was cooled to 0 °C to afford a second crop of crystals, then filtered again. The solids were combined and dried under vacuum to give 0 46 g (68%) of the desired product.

002300209.090500

MS 200 1 (M+1 for $C_{11}H_{21}N_1O_2$), mp 179-180 °C, Analysis ($C_{11}H_{21}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 56 04, H. 9 41, N 5 94 (found) C 56 16, H. 9 42, N 5 73 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 46-0 53 (m, 1 H), 0 77 (t, 1 H, J = 12.5 Hz), 0 85-0 91 (m, 7 H), 1 55-1 67 (m, 5 H), 2 11 (d, 2 H, J = 13 4 Hz), 2.36 (s, 2 H), 2.44 (s, 1 H), 3 14 (s, 2 H).

EXAMPLE 9 1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt:



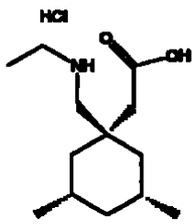
1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (8, 1 0 g, 4 2 mmol) was dissolved in EtOH (100 mL), treated with sodium hydroxide solution (1 N, 5 mL), propionaldehyde (0 9 mL, 12 6 mmol), and 10 % Pd/C (0.3 g), and shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was filtered, treated with HCl/Et_2O (1 M, 10 mL), and concentrated in vacuo The residue was treated with hot isopropanol (100 mL), the NaCl was filtered away, and the clear solution was concentrated in vacuo. The crude product was recrystallized from i-PrOH/acetone/hexane (14 200 225 mL) and dried under vacuum to give 0 136 g (12%) of the desired product.

MS 242.1 (M+1 for $C_{14}H_{27}N_1O_2$), mp 178-180 °C, Analysis ($C_{14}H_{27}N_1O_2$.HCl.0 27 H_2O) (Cal.) C 59 48, H. 10 18, N 4 95 (found) C 59 53, H. 10.21, N 4 78. ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 52 (dd, 1 H, J = 24 2, 12.0 Hz), 0 83-0 90 (m, 8 H), 1 00 (t, 3 H, J = 7 6 Hz), 1 61-1 80 (m, 7 H), 2.43 (s, 2 H), 2 98 (t, 2 H, J = 7 8 Hz), 3.20 (s, 2 H).

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MIAMI

005060-02003209

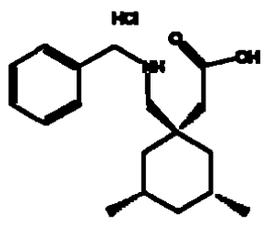
EXAMPLE 10 1α,3β,5β-(1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride salt



Example 10 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except that acetaldehyde was used instead of propionaldehyde and ethyl acetate/heptane was used for the recrystallization (30% yield).

MS 228 (M+1 for $C_{13}H_{25}N_1O_2$); mp 188-190 °C, ^{1}H NMR (DMSO) δ 0 83 (8H, br d), 1 24 (3 H, t, J = 7 1 Hz), 1 60 (6 H, m), 2.38 (d, s), 2.98 (2 H, m), 3 10 (2 H, br s), 8.33 (2 H, br s), 12.42 (1 H, br s).

EXAMPLE 11 1α,3β,5β-(1-Benzylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt:

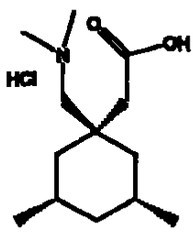


002300020 • 090500

Example 11 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except that benzaldehyde was used instead of propionaldehyde and Et_2O was used for the recrystallization (30% yield)

MS 290 1 (M+1 for $C_{18}H_{27}N_1O_2$); mp 162-163 °C, Analysis ($C_{18}H_{27}N_1O_2$.HCl.0 20H_2O) (Cal.) C 65 62, H. 8 69, N 4 25 (found) C 65 60, H. 8 71, N 4 31 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 48 (dd, 1 H, J = 12.5 Hz), 0 79-0 90 (m, 8 H), 1 46 (br, 2 H), 1 64 (d, 3 H, J = 13 4 Hz), 2.42 (s, 2 H) 3 19 (s, 2 H), 4.23 (s, 2 H), 7 43-7 50 (m, 5 H).

EXAMPLE 12 1α,3β,5β-(1-Dimethylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt:



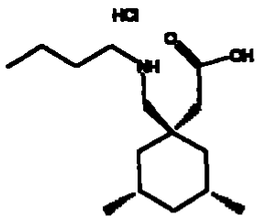
A solution of 1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (E, 0.20 g, 0.59 mmol) in EtOH (15 mL), sodium hydroxide solution (1 N, 0 59 mmol), and H_2O (1 mL) was treated with 20% Pd/C (50 mg) and shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 15 hours. The reaction was filtered, treated with 1 N HCl/Et_2O (1 mL), and concentrated in vacuo. The residue was dissolved in hot i-PrOH (4 mL), diluted with acetone (100 mL) and Et_2O (350 mL) and cooled to 0 °C. The solid was filtered and dried under vacuum to give 103 mg (70% yield) of the desired product.

MS 228 1 (M+1 for $C_{13}H_{25}N_1O_2$); mp 195-196 °C; Analysis ($C_{13}H_{25}N_1O_2$.HCl.0 41H_2O) (Cal.) C 57 58, H. 9.97, N 5 16 (found) C. 57 73, H. 9 71, N 4 91 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ

005060 • 02003209

0 56 (dd, 1 H, J = 24 4, 12.0 Hz), 0 89-0 92 (m, 8 H), 1 59-1 75 (m, 8 H), 2.51 (s, 2 H), 2.95 (s, 6 H), 3 44 (s, 2 H)

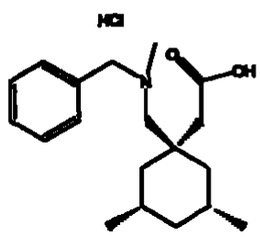
EXAMPLE 13 1α,3β,5β-(1-Butylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt.



Example 13 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except butyraldehyde was used instead of propionaldehyde (48% yield).

MS 256 1 (M+1 for $C_{15}H_{29}N_1O_2$); mp 184-185 °C, Analysis ($C_{15}H_{29}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 61 73, H. 10.36, N 4 80 (found) C. 61 71, H. 10.21, N 4 72. ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0.53 (dd, 1 H, J = 24 4, 12 0 Hz), 0 86-0 99 (m, 11 H), 1 37-1 47 (m, 2 H), 1 60-1 75 (m, 7 H), 2 43 (s, 2 H), 3 02 (t, 2 H, J = 8 1 Hz), 3 20 (s, 2 H).

EXAMPLE 14 1α,3β,5β-{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt:

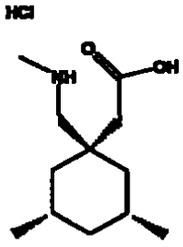


005060-020003209

Example 14 was prepared in accordance with the method of Example 9, except that the N-benzyl analog (11) and formaldehyde were used as the starting material and PtO_2 was used as the catalyst instead of Pd/C (70% yield)

MS 304 1 (M+1 for $C_{19}H_{29}N_1O_2$), mp 209-210 °C, Analysis ($C_{19}H_{29}N_1O_2$.HCl.0 21H_2O) (Cal) C 66 40, H. 8 92, N 4 08 (found) C 66 40, H 9 05, N 4 06 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 51 (dd, 1 H, J = 24 4, 12 2 Hz), 0 79-0 92 (m, 9 H), 1 29 (br, 1 H), 1 56-1 82 (m, 4 H), 2 51 (dd, 2 H, J = 18 8, 16 3 Hz) 2.85 (s, 2 H), 3 23-3 49 (m, 2 H), 4 37 (dd, 2 H, J = 31 7, 12 7 Hz), 7 45-7 54 (m, 5 H)

EXAMPLE 15 1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt:



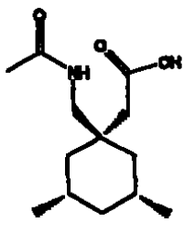
Example 14 (0 14 g, 1.21 mmol) was dissolved in 95% EtOH (50 mL), treated with sodium hydroxide solution (1 N, 1.21 mmol) as well as 20% Pd/C (0 1 g), and shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 45 minutes. The reaction was filtered, treated with HCl/Et_2O (1 M, 1 mL), and concentrated in vacuo The residue was treated with hot iPrOH, the NaCl was filtered away, and the solution was concentrated in vacuo. The crude product was recrystallized from iPrOH/acetone/hexane (7 150- 110 mL) and dried under vacuum to give 0 189 (63%) of the desired product.

MS 214 1 (M+1 for $C_{12}H_{23}N_1O_2$); mp 182-183 °C; Analysis ($C_{12}H_{23}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 57 70, H 9 68, N 5 61 (found) C 57 47, H. 9 58, N 5 35 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 52 (dd,

005060 • 02003209

1 H, J = 24 4, 12.2 Hz), 0 84-0.98 (m, 8 H), 1 57-1 72 (m, 5 H), 2 38 (s, 2 H), 2.72 (s, 3 H), 3 21 (s, 2 H)

EXAMPLE 16 1α,3β,5β-[1-(Acetylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid

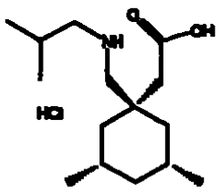


Example 8 (0 5 g, 2.1 mmol) was treated with H_2O (10 mL) and NaOH (0 56 g, 14 0 mmol), cooled to 0 °C, and treated with acetic anhydride. The reaction was stirred overnight at room temperature, then diluted with EtOAc (100 mL) and washed with 1 N HCl (100 mL) The organic layer was dried over Na_2SO_4 and concentrated in vacuo. The crude material was chromatographed on silica gel eluting with 4% MeOH/CH_2Cl_2 to give 0 138 g (27%) of the desired product as an oil which solidified under vacuum.

MS 242.1 (M+1 for $C_{13}H_{23}N_1O_3$); mp 122-124 °C; Analysis ($C_{13}H_{23}N_1O_3$) (Cal.) C. 64 70, H. 9 61, N 5 80 (found) C· 64 65, H. 9 59, N 5 63 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0.46 (dd, 1 H, J = 23 7, 11 7 Hz), 0 81-0 87 (m, 9 H), 1 56 (d, 2 H, J = 13 4 Hz), 1 65-1 76 (m, 3 H), 1 98 (s, 3 H), 2.18 (s, 2 H), 3.30 (s, 3 H)

EXAMPLE 17 1α,3β,5β-(1-(Isobutylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid hydrochloride salt

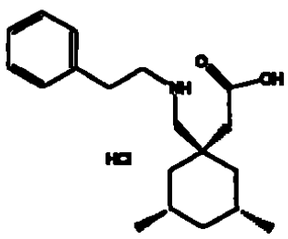
005060 • 02003209



Example 17 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except isobutyraldehyde was used instead of propionaldehyde (53% yield)

MS 256 (M+1 for $C_{15}H_{29}N_1O_2$), mp 193-194 °C, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 53 (dd, 1 H, J = 24 3, 12 5 Hz), 0 81-0 90 (m, 2 H), 0 89 (d, 6H, J = 6.4 Hz), 1 03 (d, 6H, J = 6 8 Hz), 1 57-1 71 (m, 5H), 2.09 (m, 1H), 2.49 (s, 2 H), 2.88 (d, 2H, J = 7 1 Hz), 3 19 (s, 2 H).

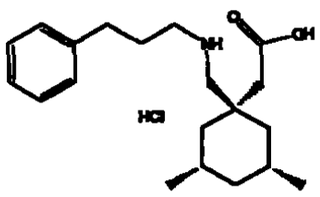
EXAMPLE 18 **1α,3β,5β-[3,5-Dimethyl-1-(phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid hydrochloride salt:**



Example 18 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except phenylacetaldehyde was used instead of propionaldehyde (16% yield).

MS 304 (M+1 for $C_{19}H_{29}N_1O_2$); mp 188-189 °C; Analysis ($C_{19}H_{29}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 67 14, H. 8 90, N 4 12 (found) C 66 94, H. 8.91, N 3 98. ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 46 (dd, 1 H, J = 24 6, 12.3 Hz), 0 81-0 91 (m, 8 H), 1 58-1 72 (m, 5 H), 2.50 (s, 2H), 3 04-3 08 (m, 2H), 3 26-3 30 (m, 4H), 7.23-7 75 (m, 5H)

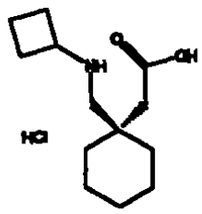
EXAMPLE 19 1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3-phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid hydrochloride salt:



Example 19 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except hydrocinnamaldehyde was used instead of propionaldehyde (50% yield).

MS 318 (M+1 for $C_{20}H_{31}N_1O_2$); mp 171-172 °C; Analysis ($C_{20}H_{31}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C 67 87, H 9 11, N 3 96 (found) C· 67 83, H. 9 13, N 3 78 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 53 (dd, 1 H, J = 24 6, 12.1 Hz), 0 80-0 90 (m, 2 H), 0 90 (d, 6H, J = 6.0 Hz), 1 60-1 72 (m, 5 H), 2.03-2.11 (m, 2H), 2.45 (s, 2H), 2.73 (t, 2H, J = 7 5 Hz), 3 06 (t, 2H, J = 7 7 Hz), 3.3 (s, 2H), 7 20-7 18 (m, 5H)

EXAMPLE 20 {1-[(Cyclobutylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid hydrochloride salt:

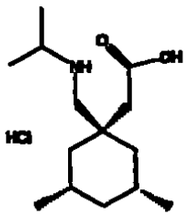


Example 20 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except cyclobutanone was used instead of 2-methylbutyraldehyde (70% yield)

005060-02003209

MS 226 (M+1 for $C_{13}H_{23}N_1O_2$), mp 176-177 °C, Analysis ($C_{13}H_{23}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 59 64, H. 9 24, N 5 35 (found) C 59 88, H 9 18, N 5 19 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 16-1 60 (br., 10 H), 1 80-1 96 (m, 2 H), 2.21-2.40 (m, 4 H), 2.53 (s, 2H), 2.97 (s, 2H), 3 73 (m, 1H)

EXAMPLE 21 1α,3β,5β-(1-(Isopropylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid hydrochloride salt:



Example 21 was synthesized in accordance with the method of Example 9, except acetone was used instead of propionaldehyde (50% yield)

MS 242 (M+1 for $C_{14}H_{27}N_1O_2$); mp 206-207 °C; ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 53 (dd, 1 H, J = 24 8, 12 5 Hz), 0 80-0.90 (m, 2 H), 0.99 (d, 6H, J = 6.1 Hz), 1.35 (d, 6H, J = 6.6 Hz), 1.55-1 78 (m, 5H), 2.45 (s, 2H), 3 18 (s, 2 H), 3.41 (m, 1H)

EXAMPLE 22 1-Aminomethyl-1-cyclohexane-acetic acid was previously reported in Satzinger et al. US 4087544, May 2, 1978

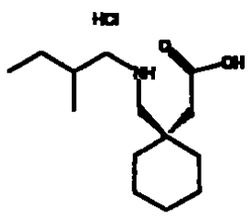
EXAMPLE 23 1-Aminomethyl-1-cyclopentane-acetic acid was previously reported in Satzinger et al. US 4087544, May 2, 1978

005060-020E209

EXAMPLE 24 Sodium salt of 1-aminomethyl-1-cyclopentane-acetic acid was previously reported in Satzinger et al. US 4087544, May 2, 1978

EXAMPLE 25 Sodium salt of 1-(hydroxymethyl)cyclohexane-acetic acid was previously reported in Satzinger et al. US 2960441, 1960

EXAMPLE 26 Synthesis of {1-[(2-Methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt



A solution of (1-aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (Example 22, 2.0 g, 11 7 mmol) in EtOH (100 mL) was treated with 2-methyl-butyraldehyde (4 mL, 35 1 mmol) and PtO_2 (0 5 g), and shaken under at atmosphere of H_2 (50 psi) for 2 h. The reaction was filtered, treated with 1 N HCl/Et_2O (12 mL), concentrated in vacuo, dissolved in hot i-PrOH (10 mL), diluted with acetone (600 mL), cooled to 0 °C, and filtered to give 1.58 g (49%) of the desired product.

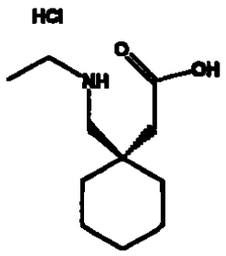
MS 242 1 (M+1 for $C_{14}H_{27}N_1O_2$), mp 162-163 °C; Analysis ($C_{14}H_{27}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 60 52, H. 10 16, N 5 04 (found) C. 60 41, H. 10.26, N 4 95 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 95 (t, 3 H, J = 7 3 Hz), 1 02 (d, 3 H, J = 6.6 Hz), 1.20-1 31 (m, 1 H), 1 42-1 56 (m, 11 H), 1 81-1 89 (m, 1 H), 2.63 (dd, 2 H, J = 18.3, 16 1 Hz), 2.82 (dd, 1 H, J = 12.5, 8.3 Hz), 2 99 (12.5, 6 1 Hz), 3 07 (dd, 2 H, J = 25 6, 12.9 Hz)

005060 • 02003209

EXAMPLE 27 {1-[(4,4,4-Trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that 4-trifluorobutyraldehyde was used instead of 2-methylbutyraldehyde (19% yield)

MS 282 1 (M+1 for $C_{13}H_{22}N_1O_2F_3$), mp 163-164 °C, Analysis ($C_{13}H_{22}N_1O_2F_3$ HCl 0 05H_2O) (Cal.) C 49 00, H. 7 31, N 4 40 (found) C 48 60, H. 7 29, N 4 19 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 40-1 54 (m, 11 H), 1 96-2.04 (m, 2 H), 2.26-2.38 (m, 2 H), 2.57 (s, 2H), 3 09-3 13 (m, 4 H)

EXAMPLE 28 (1-Ethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride salt



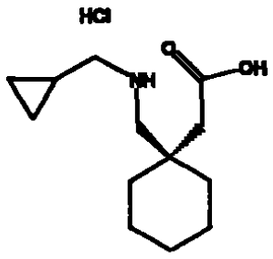
Example 28 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that acetaldehyde was used instead of 2-methylbutyraldehyde (30% yield)

MS 200 1 (M+1 for $C_{11}H_{21}N_1O_2$); mp 160-166 °C, Analysis ($C_{11}H_{21}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C 56 04, H. 9 41, N 5 94 (found) C 55 98, H. 9.36, N 5 79 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 31-1 54 (m, 13 H), 2.54-2.56 (m, 2 H), 3 06-3 13 (m, 4 H)

EXAMPLE 29 {1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid hydrochloride salt:

0023009 · 0900500

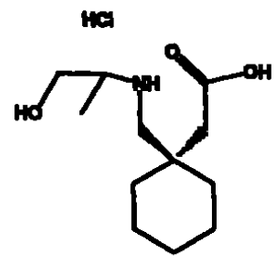
946989



Example 29 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that cyclopropanecarboxaldehyde was used instead of 2-methylbutyraldehyde (62% yield)

MS 226 (M+1 for $C_{13}H_{23}N_1O_2$); mp 177-178 °C; Analysis ($C_{13}H_{23}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C. 59 64, H. 9.24, N 5 35 (found) C: 59 72, H. 9 15, N 5.27 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 50-0 56 (m, 2 H), 0.71-0.74 (m, 2H), 1 05-1 30 (m, 1H), 1 42-1 54 (m, 10H), 2.52 (s, 2H), 2.94 (d, 2H, J = 7 3 Hz), 3 10 (s, 2H)

EXAMPLE 30 {1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid hydrochloride salt:

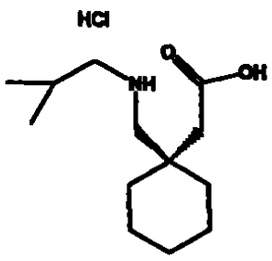


Example 30 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that 1-hydroxy-2-propanone was used instead of 2-methylbutyraldehyde (60% yield)

005060-020034209

MS 230 (M+1 for $C_{12}H_{23}N_1O_3$); mp 164-165 °C, Analysis ($C_{12}H_{23}N_1O_3$.HCl) (Cal.) C 54 23, H. 9 10, N 5.27 (found) C- 54 23, H. 9 01, N 5 18 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 30-1 32 (m, 3 H), 1 44-1 55 (m, 10H), 2 60 (s, 2H), 3 11 (m, 2H), 3.28 (br , 2H), 3 37 (br., 1H), 3 57-3 61 (m, 1H), 3 78-3 81 (m, 1H)

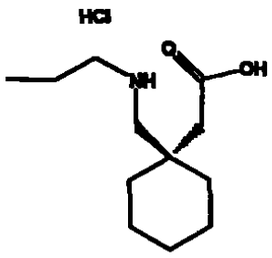
EXAMPLE 31 [1-(Isobutylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid hydrochloride salt



Example 31 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that cyclopropanecarboxaldehyde was used instead of 2-methylbutyraldehyde (35% yield)

MS 228 (M+1 for $C_{13}H_{25}N_1O_2$); mp 175-176 °C; Analysis ($C_{13}H_{25}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C: 59 19, H. 9 93, N 5 51, (found) C- 59.28, H. 9 98, N 5.24 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 03 (d, 6H, J = 6 9 Hz), 1 37-1 60 (m, 10H), 2 10-2.17 (m, 1H), 2.63 (s, 2H), 2.87 (d, 2H, J = 7 4 Hz), 3 07 (s, 2H).

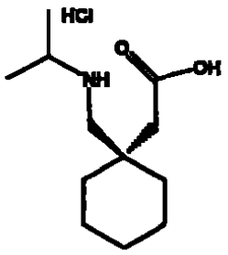
EXAMPLE 32 (1-Propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride salt:



Example 32 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that propionaldehyde was used instead of 2-methylbutyraldehyde.

MS 214.1 (M+1 for $C_{12}H_{23}N_1O_2$), mp 174-177 °C; Analysis ($C_{12}H_{23}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C 57.70, H 9.69, N 5.61 (found) C 57.55, H 9.77, N 5.48 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0.93 (t, 1 H, J = 6.3 Hz), 0.99-1.03 (m, 4 H), 1.40-1.54 (m, 13 H), 1.72-1.78 (m, 2 H), 2.96-3.29 (m, 2 H).

EXAMPLE 33 [1-(Isopropylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid hydrochloride salt:

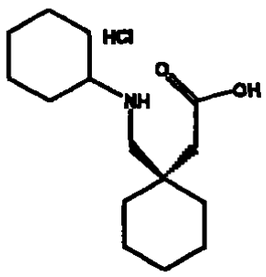


Example 33 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that acetone was used instead of 2-methylbutyraldehyde.

MS 214.1 (M+1 for $C_{12}H_{23}N_1O_2$), mp: 193-194 °C, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1.29-1.57 (m, 18 H), 2.59 (s, 2 H), 3.07 (s, 2 H), 3.38-3.42 (m, 1 H).

005060-020300209

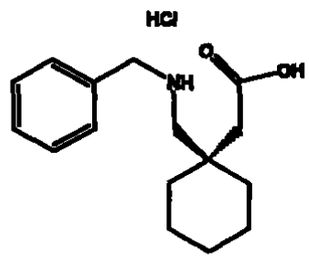
EXAMPLE 34 (1-Cyclohexylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid hydrochloride salt:



Example 34 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that cyclohexanone was used instead of 2-methylbutyraldehyde (48% yield)

MS 254 (M+1 for $C_{15}H_{27}N_1O_2$), mp 198-199 °C, Analysis ($C_{15}H_{27}N_1O_2$.HCl) (Cal.) C 62.12, H. 9 74, N 4.83 (found) C. 62.18, H. 9 84, N 4 75 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 20-1 60 (m, 16 H), 1 63-1 76 (m, 1H), 1 88 (br., 2H), 2.13 (br , 2H), 2.60 (m., 2H), 3 09 (m., 3H).

EXAMPLE 35 [1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid hydrochloride salt:



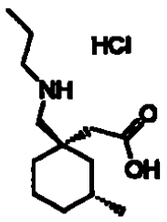
005060 • 02003209

950 993

Example 35 was synthesized in accordance with the method of Example 26, except that benzaldehyde was used instead of 2-methylbutyraldehyde.

MS 262.0 (M+1 for $C_{16}H_{23}N_1O_2$), mp 125-135 °C, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1.38-1 49 (m, 11 H), 2 55 (s, 2 H), 3 07 (s, 2 H), 4 23 (s, 2 H), 7 43-7 49 (m, 5 H)

EXAMPLE 36. ((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt

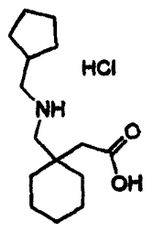


((1R, 3R)-1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (Example 1, 1 1 g, 4.9 mmol) was dissolved in ethanol (95 mL) and treated with 1 N NaOH (5 mL). Propionaldehyde (4 9 mL) was added followed by10% Pd/C (0.5 g), and the reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 15 75 h. The reaction was filtered, 1 M HCl (20 mL) in ether was added, and the solution was concentrated in vacuo The residue was then dissolved in hot isopropanol (100 mL), filtered, and concentrated in vacuo The residue was then dissolved in isopropanol (10 mL) and recrystallized from acetone. The solid was filtered and the filtrate was cooled overnight to yield a second crop of crystals. The solids were combined to give the desired product (0 78 g, 66%).

MS 228 1 (M+1 for $C_{13}H_{25}NO_2$); mp 179-179 5 °C; Analysis ($C_{13}H_{25}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 59 19, H. 9 93, N 5 31, (found) C. 59.27, H. 9 97, N 5 07 IR (KBr, cm^{-1}) 2929 (br), 1717, 1188 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 84-1 03 (m, 8H), 1 12-1 17 (m, 1H) 1 46-1 79 (m, 8H), 2.43 (s, 2H), 3 00 (t, 2H, J = 7 8 Hz) 3.22 (s, 2H)

602300200 - 090500

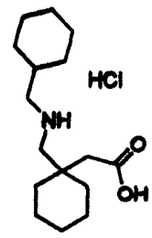
EXAMPLE 37. {1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid; hydrochloric salt



(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (3.0 g, 17.5 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL). Cyclopentanecarbaldehyde (5 mL, 3 eq) was added and the reaction was treated with PtO_2 (0.25 g). The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 16.5 h. The reaction was filtered, 1N HCl (20 mL) in ether was added, and the reaction was concentrated in vacuo. The residue was recrystallized from hot isopropanol and acetone to give the desired product (2.32 g, 52%).

MS: 254.1 (M+1 for $C_{15}H_{27}NO_2$); mp 172-173 °C; Analysis ($C_{15}H_{27}NO_2$.HCl) (Cal.) C: 62.16, H: 9.74, N: 4.83; (found) C: 61.92, H: 9.88, N: 4.86. IR (KBr, cm^{-1}): 2930, 2854, 2509, 1689, 1455, 1211. ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.23-1.32 (m, 2H), 1.41-1.73 (m, 16H), 1.90 (m, 1H), 2.63 (s, 2H), 3.01 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 3.09 (s, 2H).

EXAMPLE 38. {1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid; hydrochloric salt



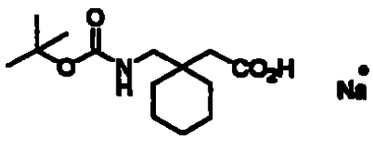
005060-020030209

995

(1-Ammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (3 0 g, 17.5 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) Cyclohexanecarbaldehyde (5 mL, 3 eq) were added and the reaction was treated with PtO_2 (0 25 g). The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 16 5 h. The reaction was filtered, 1N HCl (20 mL) in ether was added, and the reaction was concentrated in vacuo The residue was recrystallized from hot isopropanol and ether to give the desired product (3 57 g, 67%).

MS 268 1 (M+1 for $C_{16}H_{29}NO_2$); mp 167 5-168 °C, Analysis ($C_{16}H_{29}NO_2$.HCl) (Cal.) C 63 24, H 9 95, N 4 61, (found) C 63 14, H 10.01, N 4 45 IR (KBr, cm^{-1}) 2926, 2851, 1718, 1684 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1 03 (m, 1H), 1 20-1 85 (m, 20H), 2.63 (s, 2H), 2.88 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 3 07 (s, 2H)

EXAMPLE 39. [1-(*tert*-Butoxycarbonylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid;



(1-Ammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (10 0 g, 58.4 mmol) was dissolved in THF (280 mL), and it was treated with 1 N NaOH (128.5 mL) The reaction was cooled to 0 °C and 14 0 g (1 1 eq) of di-tert-butyldicarbonate were added portionwise with vigorous stirring. The reaction was allowed to warm to room temperature and stir overnight. The THF was then evaporated, and the aqueous layer was washed with ethyl acetate (3x50 mL). The aqueous layer was acidified with KH_2PO_4 (44 g) and foam was observed. Gradually the foam was replaced with a white ppt. The mixture was stirred for 2h while of KH_2PO_4 (1 g) was added slowly over time. The precipitate was filtered off and washed with water to yield the desired product (15 2 g, 96%)

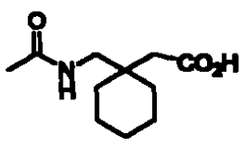
CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MIAMI

005060 • 0200E209

953,96

MS 272.1 (M+1 for $C_{14}H_{25}NO_4$), mp 181 °C (dec), Analysis ($C_{14}H_{25}NO_4$) (Cal.) C 59 52, H. 9 36, N 4 76, (found) C 59 51, H. 9 03, N 4 87 IR (KBr, cm^{-1}) 3413, 3054, 2933 (br), 1709, 1666, 1531, 1248, ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 1 27-1 58 (m, 19H), 2.29 (s, 2H), 3 12 (d, 2H, J = 6 8 Hz), 4 97 (br, 1 H)

EXAMPLE 40 [1-(Acetylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid



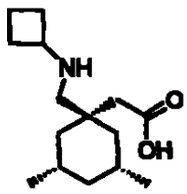
(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (2.0 g, 11 7 mmol) was dissolved in H_2O (20 mL), then NaOH (3 1 g, 77.5 mmol, 6 6 eq) and acetic anhydride (1 8 mL, 19.3 mmol, 1 7 eq) were added. The reaction was allowed to stir at room temperature for 2 days. 1N HCl (125 mL) was added and the reaction extracted with EtOAc (125 mL) The organic layer was separated, dried over Na_2SO_4, and concentrated in vacuo The residue was dissolved in H_2O (100 mL), treated with NaOH (0 12 g), and concentrated in vacuo The sample was then flash chromatographed with 6% MeOH/ CH_2Cl_2 to give the desired product (0 31 g, 12 %).

MS 214 1 (M+1 $C_{11}H_{19}NO_3$), mp: 107-108°C, Analysis ($C_{11}H_{19}NO_3$) (cal) C 61 95 H. 8.98 N 6.57 (found) C 61 96 H. 9 03 N 6.54, TLC 0 31 6% MeOH/ CH_2Cl_2, IR (KBr, cm^{-1}) 3286, 3120, 2932, 24401714, 1576, 1419, 1313, 1208 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 1 25-1 51 (m, 10 H), 2 06 (s, 3H), 2 28 (s, 2H), 3 26-3 29 (m, 2H), 6.32 (br, 1 H)

EXAMPLE 41 ((3R, 5S)-1-Cyclobutylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt

005060 • 02003209

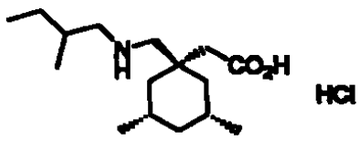
954 997



((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (0 76 g, 3 2 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (3 2 mL) Cyclobutanone (1 mL, 6 eq) was added followed by PtO_2 (0 2 g). The reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 16 h. The reaction was then filtered, 1N HCl in ether (35 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo The residue was dissolved in hot isopropanol (150 mL) and filtered. Then acetone (100 mL) and ether (600 mL) that had been cooled to 0 °C were added to the solution. The solution was allowed to sit at 0 °C for 2 h at which time crystals were observed. The crystals were collected and washed with ether and acetone (0.38 g, 41%).

MS 254 1 (M+1 for $C_{15}H_{27}NO_2$); mp 200-201 °C, Analysis ($C_{15}H_{27}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 62.16, H. 9 74, N 4 83, (found) C. 62.09, H. 9 72, N 4 68 IR (KBr, cm^{-1}) 2926, 1720, 1189 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0.48-0 57 (m, 1H), 0 85-0 92 (m, 8H), 1 60-1 73 (m, 5H), 1 78-1 93 (m, 2H), 2.22-2.38 (m, 4H), 2.42 (s, 2H), 3 11 (s, 2H), 3 72-3 78 (m, 1H)

EXAMPLE 42: {(3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-[(2-methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt



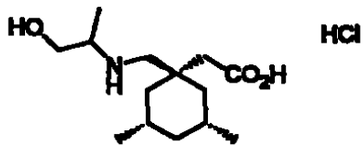
((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (1 0 g, 4 4 mmol) was dissolved in ethanol (47 mL) and treated with 1N NaOH (4 4 mL) Isobutyraldehyde (1 mL, 3 eq) was added followed by PtO_2 (0 17 g). Reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was then filtered, 1N HCl (10 mL) in ether was added, and the reaction was concentrated in vacuo The

WO 00/50020 PCT/US00/05009

residue was dissolved in hot isopropanol (100 mL) and filtered. Then it was concentrated in vacuo and recrystallized from acetone and hexane. The crystals were collected and washed with hexane to yield the desired product (0 89 g, 75%)

MS 270 1 (M+1 for $C_{16}H_{31}NO_2$); mp 171-173 °C, Analysis ($C_{16}H_{31}NO_2$.HCl) (Cal.) C 62 82, H. 10 54, N 4 58, (found) C. 62.59, H. 10 43, N 4 52. IR (KBr, cm^{-1}) 2964 (br), 1721, 1485, 1186, 840 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 48-0 57 (m, 1H), 0 81-1 07 (m, 12H), 1 23-1.27 (m, 1H), 1 45 -1 72 (m, 6H), 1 83-1 91 (m, 1H), 2 50 (s, 2H), 2.83 (dd, 1H, J = 8 3, 12 5 Hz), 3 00 (dd, 1H, J = 6.1, 12.5 Hz), 3 13-3 29 (m, 4H)

EXAMPLE 43· {(3R, 5S)-1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid; hydrochloride salt



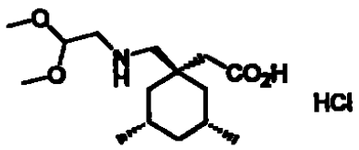
((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (1 0 g, 4 3 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (4.3 mL) 1-Hydroxy-propan-2-one (1 mL, 3 eq) was added followed by PtO_2 (0 15 g) Reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 82 h. PtO_2 (0 1 g) and 1-Hydroxy-propan-2-one was added (1 mL), and the reaction was shaken under an H_2 atmosphere for another 24h. The reaction was then filtered, 1N HCl in ether (35 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo. The residue was dissolved in hot isopropanol (150 mL) and filtered. Then it was concentrated in vacuo and recrystallized from hot isopropanol, acetone, and ether The crystals were collected, washed with ether as well as acetone, and dried. (0 30 g, 1 04 mmol, 24%)

MS 258 1 (M+1 for $C_{14}H_{27}NO_3$); mp 178-179 °C; Analysis ($C_{14}H_{27}NO_3$.HCl) (Cal.) C. 57.23, H. 9 60, N 4 77, (found) C. 56.77, H. 9 39, N 4 45 IR (KBr, cm^{-1}). 3349, 2897, 1704, 1419, 1194 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0.48-0 57 (m, 1H), 0 82-0 90 (m, 8H), 1.25-1.32

0050 0.0200209

(m, 4H), 1 60-1 75 (m, 5H), 2.47 (s, 2H), 3 23 (d, 2H, J = 5 1 Hz), 3 38 (m, 1H), 3 58 (dd, 1H, J = 12.0, 7 1 Hz), 3 79 (dd, 1H, J = 12.0, 4.2 Hz)

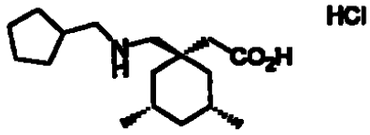
EXAMPLE 44 {(3R, 5S)-1-[(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid; hydrochloride salt



((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (1 0 g, 4 3 mmol) was dissolved in ethanol (47 mL). Glyoxal 1,1-dimethyl acetal (3 7 mL, 3 0 eq) was added and the reaction was treated with PtO_2 (0.17 g). The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was filtered, 1N HCl in ether (10 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo The residue was dissolved in hot isopropanol (100 mL) and filtered. Then, the filtrate was concentrated, and the residue was recrystallized from acetone and hexanes to give the desired product (0 92 g, 75 %).

MS 288 1 (M+1 for $C_{15}H_{29}NO_4$), mp 125 °C (dec); Analysis ($C_{15}H_{29}NO_4$.HCl) (Cal.) C 55 63, H. 9.34, N 4.32, (found) C 55 29, H. 9 48, N 4 18 IR (KBr, cm^{-1}) 2949, 1715, 1457, 1191, 1134, 1077 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0.47-0 56 (m, 1H), 0.81-0 90 (m, 8H), 1 59-1 71 (m, 5H), 2.46 (s, 2H), 3 18 (d, 2H, J = 5.1 Hz), 3.26-3 29 (m, 2H), 3 45-3 47 (m, 6H), 4 73 (t, 1H, J = 5 1 Hz)

EXAMPLE 45: {(3R, 5S)-1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt



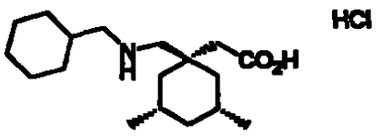
((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (1 0 g, 4 1 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (4 2 mL)

002020-090500

Cyclopentanecarbaldehyde (1 5 mL, 3 eq) were added followed by PtO_2 (0.2 g) Reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 12 h. The reaction was then filtered, 1N HCl in ether (35 mL) were added, and the reaction was concentrated in vacuo The residue was dissolved in hot isopropanol (150 mL) and filtered. Then the solution was concentrated in vacuo and recrystallized from hot isopropanol, acetone, and ether The crystals were collected and washed with ether and acetone. (0 40 g, 27%)

MS 282 1 (M+1 for $C_{17}H_{31}NO_2$), mp 187-188 °C, Analysis ($C_{17}H_{31}NO_2$.HCl) (Cal) C 64 23, H. 10 15, N 4 41, (found) C 64 11, H. 10 04, N 4 34 IR (KBr, cm^{-1}) 2952, 1720, 1452, 1185 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 48-0 57 (m, 1H), 0 81-0 90 (m, 8H), 1.25-1 32 (m, 2H) 1 60-1 71 (m, 9H), 1 89-1 93 (m, 2H), 2.25-2.29 (m, 1H), 2.49 (s, 2H), 3 01 (d, 2H, J = 7 6 Hz), 3.20 (s, 2H)

EXAMPLE 46: {(3R, 5S)-1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt

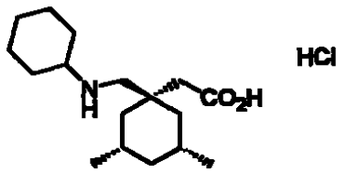


((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (1 0 g, 4.2 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (4 3 mL). Cyclohexanecarbaldehyde (1 5 mL, 3 eq) were added followed by PtO_2 (0 15 g) Reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 17 h. The reaction was then filtered, 1N HCl in ether (35 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo. The residue was dissolved in hot isopropanol (150 mL) and filtered. Then the solution was concentrated in vacuo and recrystallized from hot isopropanol, acetone, and ether The crystals were collected and washed with ether and acetone. (0 46 g, 34%)

MS 296.2 (M+1 for $C_{18}H_{33}NO_2$); mp 176-177 °C, Analysis ($C_{18}H_{33}NO_2$.HCl) (Cal.) C 65 13, H. 10.32, N 4 22, (found) C 64 89, H. 10 36, N 4 09 IR (KBr, cm^{-1}): 2919,

2851 1721, 1453, 1192. ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 48-0 57 (m, 1H), 0 81-0 90 (m, 8H), 1 00-1 36 (m, 5H), 1 60-1 71 (m, 11H), 2.49 (s, 2H), 2.88 (d, 2H, J = 6.8 Hz), 3 18 (s, 2H).

EXAMPLE 47 ((3R, 5S)-1-Cyclohexylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt

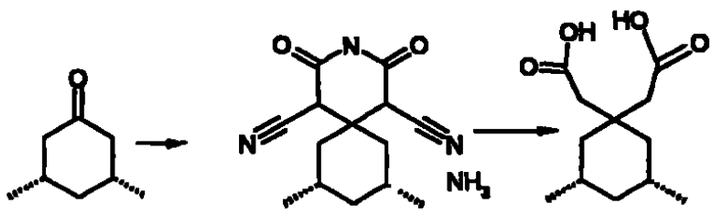


((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (0 99 g, 4.2 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (4 2 mL). Cyclohexanone (1 5 mL, 3 eq) was added followed by PtO_2 (0.2 g). Reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 17 h. The reaction was then filtered, 1N HCl in ether (35 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo The residue was dissolved in hot isopropanol (150 mL) and filtered Then the solution was concentrated in vacuo and recrystallized from hot isopropanol, acetone, and ether The crystals were collected and washed with ether and acetone. (0 33 g, 25%)

MS 282 1 (M+1 for $C_{17}H_{31}NO_2$); mp 210 °C; Analysis ($C_{17}H_{31}NO_2$.HCl) (Cal.) C: 64.23, H. 10 15, N 4 41, (found) C 63 89, H. 9 98, N 4 33 IR (KBr, cm^{-1}) 2921, 1691, 1452, 1216 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 47-0 57 (m, 1H), 0 82-0 90 (m, 8H), 1.30-1 46 (m, 5H), 1 57-1 63 (m, 2H), 1 69 (d, 4H, J = 12.9 Hz), 1 86 (d, 2H, J = 12.5 Hz) 2.13 (d, 2H, J = 10 3 Hz), 2.46 (s, 2H), 3 04-3 10 (m 1H), 3 21 (s, 2H).

EXAMPLE 48 ((3R,5S)-1-Carboxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid

959 1062



48a Example 48

Step 1 Synthesis of (8R,10S)-8,10-Dimethyl-2,4-dioxo-3-aza-spiro[5.5]undecane-1,5-dicarbonitrile; ammonium salt (48a) A solution of absolute ethanol (40 mL) was cooled to 0 °C and saturated with NH_3 gas, then treated with cis-3,5-dimethyl-cyclohexanone (5 0 g, 39 62 mmol) and ethyl cyanoacetate (8 43 mL, 79.24 mmol) The flask was stoppered, allowed to warm to room temperature, and stirred overnight. The precipitate was filtered, rinsed with Et_2O and dried under vacuum to give 6 04 g (59%) of the desired product as a pale solid

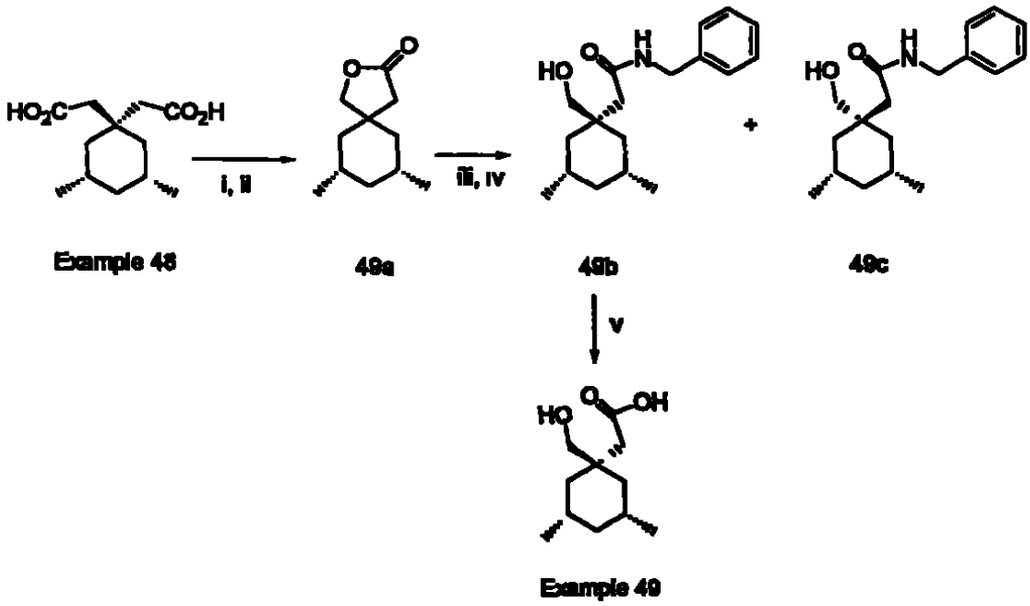
MS 260 1 (M+1 for $C_{14}H_{17}N_3O_2$), Analysis ($C_{14}H_{17}N_3O_2.NH_3.0$ 88 H_2O) (Cal.) C 57 55, H. 7 51, N 19 17 (found) C 57 67, H. 7 45, N 19 06, IR (KBr, cm^{-1}) 3298, 2954, 2172, 1700, 1575 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 46-0 50 (m, 1 H), 0 82-1 17 (m, 11 H), 1 65-1 98 (m, 3 H), 3 58 (dd, 2 H, J = 13 9, 6 8 Hz)

Step 2. Synthesis of Example 48. (8S, 10R)-8,10-Dimethyl-2,4-dioxo-3-aza-spiro[5 5]undecane-1,5-dicarbonitrile (48a, 25 36 g, 97 8 mmol) was treated with concentrated H_2SO_4 (102 mL) and water (30 mL) The reaction was heated to 150 °C for 5 h, then allowed to cool to room temperature and stir overnight. The reaction was filtered and the solid was collected and dissolved in 1 N NaOH. This solution was filtered, then the filtrate was acidified with concentrated HCl (40 mL) The precipitate was collected and dried overnight under high vacuum. The compound was then dissolved in hot isopropanol (100 mL) and recrystallized from water yielding the desired product (13 21 g, 59%).

MS 229 1 (M+1 for $C_{12}H_{20}O_4$), Analysis ($C_{12}H_{20}O_4$) (Cal.) C 63 14, H. 8.83, (found) C 63 36, H. 8 92 IR (KBr, cm^{-1}) 2950, 2913, 1698 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0.40-0 48 (m, 1H), 0 77-0 85 (m, 8H) 1 57-1 77 (m, 5H) 2.41 (s, 2H), 2.56 (s, 2H) -

005600 · 0200209

EXAMPLE 49 *trans*-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt



Example 48 49a 49b 49c

Example 49

005060-02003209

Step i & ii. Synthesis of (cis/trans)-(7S,9R)-7,9-Dimethyl-2-oxa-spiro[4.5]decan-3-one (49a).

(i). The di-acid (48, 6 36 g, 27 9 mmol) was suspended in H_2O (93 mL), treated with ammonium hydroxide (3 5 mL) and silver nitrate (4 73 g, 27 9 mmol), and stirred for 20 minutes at room temperature. The reaction was filtered and the solid re-slurried three times with H_2O, then dried under vacuum in the dark for two days at 50 °C to give 6.41 g of the silver di-salt, which was carried on immediately (ii). The silver di-salt (1.24 g, 2 81 mmol) was placed in an amber flask, treated with CCl_4 (50 mL) and iodine (0 72 g, 2 81 mmol), and heated to 75 °C overnight. The reaction was filtered, concentrated in vacuo, and chromatographed on silica gel eluting with 4 1 hexanes/EtOAc to give 0.37 g (72%) of the desired product as a pale oil (49a)

MS 183 0 (M+1 for $C_{11}H_{18}O_2$), Analysis ($C_{11}H_{18}O_2$.0.05H_2O) (Cal.) C 72 13, H. 9 96 (found) C 71 77, H. 9 69; IR (KBr, cm^{-1}) 3298, 2954, 2172, 1700, 1575, 1450, 1337 ^1H

96t 1004

NMR ($CDCl_3$, ~1 1 mixture of cis/trans diastereomers) δ 0 49-0 59 (m, 1 H), 0 82-1 02 (m, 10 H), 1 42-1 53 (m, 2 H), 1 58-1 72 (m, 3 H), 2.30 (s, 1 H, for one isomer), 2.39 (s, 1 H, for the other isomer 2), 3 96 (s, 1 H, for one isomer), 4 10 (s, 1 H, for the other isomer)

Step iii. Synthesis of (cis/trans)-*N*-Benzyl-2-((3R,5S)-1-hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetamide (49b and 49c) The lactone (49a, 0 85 g, 4 66 mmol) was dissolved in THF (18 mL), treated with benzylamine (0 61 mL, 5 60 mmol), and heated to reflux for two days. The reaction was cooled to room temperature, diluted with EtOAc, washed with saturated sodium bicarbonate solution and brine, dried over Na_2SO_4, and concentrated in vacuo The residue was chromatographed on silica gel eluting with 1 1 hexane/EtOAc to give 0 79 g (59%) of the desired product as a clear oil (mixture of cis and trans isomers, 49b and 49c)

MS 290 1 (M+1 for $C_{18}H_{27}N_1O_2$), an oil, TLC SiO_2, R_f 0 16 (2.1 hexane/EtOAc), Analysis ($C_{18}H_{27}N_1O_2$) (Cal.) C. 74 70, H. 9 40, N 4 84 (found) C 74 41, H. 9 35, N 4 57

Step iv Separation of 49b and 49c. The mixture of cis- and trans-isomers (49b and 49c) was separated by preparative HPLC (C18 column eluting with a gradient of 60% CH_3CN / 40% H_2O for 5 minutes, then 45% CH_3CN / 55% H_2O for 35 minutes, all mobile phases with 0 05% TFA)

The trans-isomer (49b) RT = 23 600 min, 54 mg yield. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 36-0 62 (m, 3 H), 0 82 (d, 6 H, J = 6 3 Hz), 1 39-1 70 (m, 5 H), 2.14 (s, 2 H), 2 58 (br, 1 H), 3 60 (s, 2 H), 4 43 (d, 2 H, J = 5 9 Hz), 5 97 (br, 1 H), 7.26-7 37 (m, 5 H)

The cis-isomer (49c) RT = 25 828 min, 87 mg yield. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 47-0.56 (m, 1 H), 0 65 (t, 2 H, J = 13.2 Hz), 0 85 (d, 6 H, J = 6 3 Hz), 1 47-1 68 (m, 5 H), 2.38 (s, 2 H), 2 58 (br, 1 H), 3 40 (s, 2 H), 4 45 (d, 2 H, J = 5 9 Hz), 6.03 (br, 1 H), 7 28-7 36 (m, 5 H).

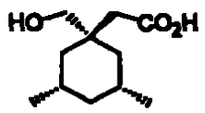
005060-09030020

Step v The synthesis of Example 49. The trans isomer of *N*-Benzyl-2-(1-hydroxymethyl-cyclohexyl)-acetamide (49b, 87 mg, 0.303 mmol) was taken from HPLC, dissolved in 5 mL of water, and treated with 24 mg of NaOH. The reaction was heated to reflux for 3 d. Then it was cooled to room temperature, diluted with 1 N NaOH, and extracted with EtOAc. The aqueous layer was acidified with conc. HCl (5 mL), and then diluted with 1 N HCl, and the product was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and dried over Na_2SO_4. The solution was concentrated to yield 23 mg (61%) of the desired product.

002300020 · 090500

MS 201 (M+1 for $C_{11}H_{20}O_3$), ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0.48-0.57 (m, 1 H), 0.88-1.00 (m, 8H), 1.40-1.49 (m, 2H), 1.68-1.70 (m, 3H), 2.28 (s, 2H), 4.11 (s, 2H)

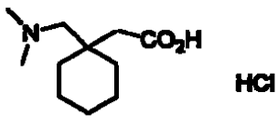
EXAMPLE 50 ***cis*-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt**



The cis isomer of *N*-Benzyl-2-(1-hydroxymethyl-cyclohexyl)-acetamide (49c, 87 mg, 0.303 mmol) was taken from HPLC, dissolved in 5 mL of water, and treated with 24 mg of NaOH. The reaction was heated to reflux for 3 d, then cooled to room temperature, diluted with 1 N NaOH, and extracted with EtOAc. The aqueous layer was acidified with concentrated HCl (5 mL), and then diluted with 1 N HCl, and the product was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and dried over Na_2SO_4. The solution was concentrated to yield 43 mg (71%) of the desired product.

MS 201 1 (M+1 for $C_{11}H_{20}O_3$), ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 48-0 57 (m, 1H), 0.88-0 96 (m, 8H), 1 42-1 50 (m, 2H), 1 59-1 69 (m, 3H), 2.37 (s, 2H), 3 94 (s, 2H)

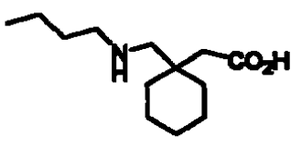
EXAMPLE 51 (1-Dimethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid; hydrochloride salt



(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (0 51 g, 3 0 mmol) was dissolved in ethanol, and formaldehyde (3 mL, 2 eq) was added. 10% Pd/C (1 6 g) was added and the reaction was shaken at room temperature under a hydrogen atmosphere of 760 Torr for 12 h. Then the reaction was treated with HCl until the pH was about 2, and it was recrystallized from acetone and ether to give 1 62 g (87%) of the desired product.

MS 200 1 (M+1 for $C_{11}H_{21}NO_2$), mp 140-142°C, Analysis ($C_{11}H_{21}NO_2$.HCl) (Cal.) C 54 99, H 9 44 N 5 83, (found) C 54 90, H. 9 36, N 6.22. ^1H NMR (CD_3OD) δ 1 42-1 59 (m, 10H), 2.63 (s, 2H), 2.96 (s, 6H), 3.26-3 29 (m, 2H)

EXAMPLE 52 (1-Butylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid; hydrochloride salt



(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (0 86 g, 5 0 mmol) was dissolved in ethanol (100 mL), then Pd/C (10%, 0 86 g) and butyraldehyde (1 44 g, 3 eq) were added. The reaction was placed under 760 Torr of hydrogen at room temperature until the reaction was complete. It was then filtered, acidified, and concentrated. The residue was

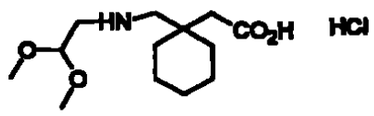
005060-020209

dissolved in isopropanol, filtered, and recrystallized from acetone and ether to yield the final product.

MS 228 1 (M+1 for $C_{13}H_{25}NO_2$); mp 142-154°C, Analysis ($C_{13}H_{25}NO_2$.HCl) (Cal.) C 59 19, H. 9 93, N 5 31, (found) C 58.85, H. 9 86, N 5 05 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 98 (t, 3H, J = 7 3 Hz), 1 39-1 54 (m, 12H), 1 66-1 72 (m, 2H), 2.57 (s, 2H), 3 01 (t, 2H, J = 9 3 Hz), 3 09 (s, 2H).

005060 • 02002209

EXAMPLE 53 {1-[2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid; hydrochloride salt

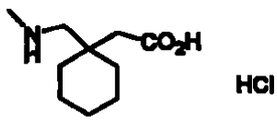


(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (2.0 g, 11 7 mmol) was dissolved in ethanol (100 mL) Glyoxal 1,1-dimethyl acetal (3 7 mL, 3 eq) were added and the reaction was treated with PtO_2 (0 5 g) The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 4 h. The reaction was filtered, 1N HCl in ether (15 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo. The residue was recrystallized from hot isopropanol (25 mL) and acetone (700 mL) to give 0 44 g (52%) of the desired product.

MS 260 1 (M+1 for $C_{13}H_{25}NO_4$); mp 128-129 °C, Analysis ($C_{13}H_{25}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 52 79, H. 8 86, N 4 74, (found) C. 52.84, H. 8 94, N 4 67 IR (KBr, cm^{-1}) 2926, 1693,1457, 1208, 1087 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 40-1 55 (m, 10H), 2.60 (s, 2H), 3 13 (s, 2H), 3 17 (d, 2H, J = 4 9 Hz), 3 45 (s, 6H), 4 72 (t, 1H, J = 5 1 Hz)

965
1008

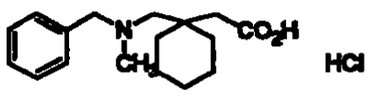
EXAMPLE 54 (1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt



{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt (Example 55, 4 1 g, 13.2 mmol) was dissolved in 95% ethanol (250 mL) 10% Pd/C (1 g) was added and the reaction was shaken at room temperature under a hydrogen atmosphere of 760 Torr for 1 h. The reaction was filtered and concentrated, then recrystallized from acetone and ether to yield 2.69 g (92%) of desired product.

MS 186 0 (M+1 for $C_{10}H_{19}NO_2$); mp 158-162°C; Analysis ($C_{10}H_{19}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 53 09, H. 9 13, N 6.19, (found) C 53 14, H. 8.96, N 6.34, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1 42-1 54 (m, 10H), 2 50-2 53 (m, 2H), 2.71-2.74 (m, 3H), 3 09-3 11 (m, 2H)

EXAMPLE 55· {1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt



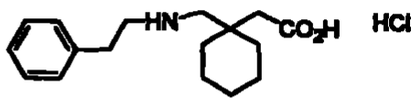
[1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt (0 49 g, 1 7 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (1 8 mL). Formaldehyde (1 mL, 5 eq) was added and the reaction was treated with PtO_2 (0.2 g) The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 30 h. The reaction was filtered, 1N HCl in ether (10 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo. To give 0 31 g (1 14 mmol, 67%) of the desired product.

002300020 · 090500

966
1009

MS 274.1 (M-1 for $C_{17}H_{25}NO_2$), an oil, IR (KBr, cm^{-1}) 3205, 2930, 2261, 1684, 1451, 1198. HRMS (calc) 276.1963 (found) 276.1973 (M+1 for $C_{17}H_{25}NO_2$), ^1H NMR (CD_3OD) δ 1 33-1 63 (m, 13H), 2.28 (s, 2H), 3 06 (s, 2H), 4 40 (s, 2H), 7.21-7 34 (m, 5H)

EXAMPLE 56 [1-(Phenethylammo-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt



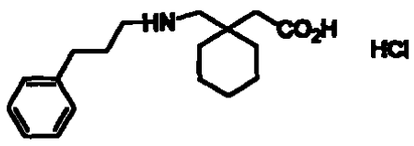
(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (2.0 g, 11 7 mmol) was dissolved in ethanol (100 mL) Phenyl-acetaldehyde (4 mL, 3 eq) was added and the reaction was treated with 10% Pd/C (0 5 g) The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was filtered, 1N HCl in ether (20 mL) was added, and the reaction was concentrated in vacuo. The residue was recrystallized from hot isopropanol and ether to give 0 15 g (4 1%) of the desired product.

MS 276.1 (M+1 for $C_{17}H_{25}NO_2$), mp 182-183 °C, Analysis ($C_{17}H_{25}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 64 54, H. 8 46, N 4 43, (found) C: 64.54, H. 8.35, N 4.34 IR (KBr, cm^{-1}) 2929, 2855, 2813, 1693, 1455, 1220. ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.38-1 58 (m, 10H), 2 56 (s, 2H), 3 01-3 06 (m, 2H), 3 14 (s, 2H), 3 23-3.29 (m, 2H), 7.21-7 34 (m, 5H)

EXAMPLE 57: [1-[(3-Phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MIAMI

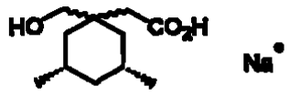
0050500 • 0200200



(1-Aminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid (2 00 g, 11 7 mmol) was dissolved in ethanol (100 mL) 3-Phenyl-propionaldehyde (4 6 mL, 3 eq) were added and the reaction was treated with 10% Pd/C (0 5 g) The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was filtered, 1N HCl (20 mL) in ether was added, and the reaction was concentrated in vacuo The residue was recrystallized from hot isopropanol and ether to give 0 46 g (12%) of the desired product.

MS 290 1 (M+1 for $C_{18}H_{27}NO_2$), mp 168-169 °C, Analysis ($C_{18}H_{27}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 66 34, H. 8 66, N 4 40; (found) C. 66 48, H. 8.65, N 4 17 IR (KBr, cm^{-1}) 2932, 2854, 1686, 1454, 1217 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1 38-1 58 (m, 10H), 2 00-2 04 (m, 2H), 2.56 (s, 2H), 2 71 (t, 2H, J = 7 6 Hz) 3 01-3 08 (m, 4H), 7 21-7 34 (m, 5H)

EXAMPLE 58 ((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, sodium salt

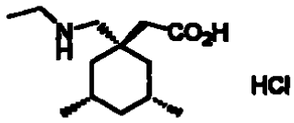


(7S, 9R)-7,9-Dimethyl-2-oxa-spiro[4.5]decan-3-one (49a, 1 04 g, 5 71 mmol) was dissolved in water (25 mL) and treated with NaOH (2.5 g). The reaction was heated to reflux (115°C) for 4h. The solution was then cooled to room temperature, washed with Et_2O, and the aqueous layer was concentrated in vacuo to give a solid (8 g) The residue was washed with 1N acetic acid, and it was extracted with EtOAc, which was then concentrated The residue was then recrystallized from EtOH, MeOH, and hexanes to yield 0 75 g (3 75 mmol, 66%)

968
1011

MS 199 0 (M-1 for $C_{11}H_{20}O_3$), HRMS (calc) 199 1334 (found) 199 1333 (M-1 for $C_{11}H_{20}O_3$); mp >250 °C, IR (KBr, cm^{-1}): 2953, 2910, 1777, 1706, 1458, 1168, 1012

EXAMPLE 59 ((3R, 5S)-1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt

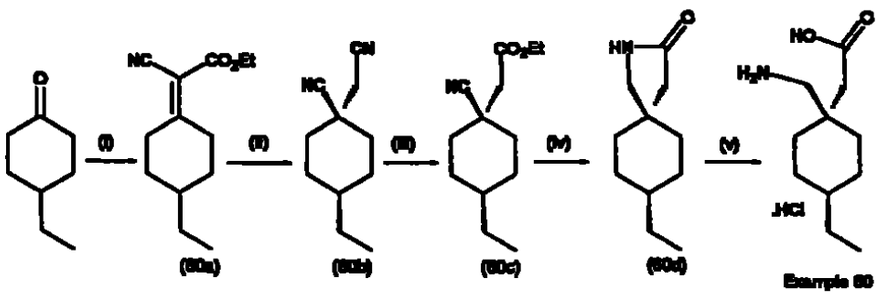


((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (59a, 0 418 g, 1 8 mmol, Compound 59a was prepared according to the literature procedure: Bryans, J Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1997, 7(19), 2481) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1N NaOH (1 8 mL). Acetaldehyde (0 5 mL, 3 eq) was added and the reaction was treated with PtO_2 (0.2 g) The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was filtered, 1N HCl (2 mL) in ether was added, and the reaction was concentrated in vacuo. The residue was dissolved in hot isopropanol (100 mL) and filtered. Hexanes (100 mL) was added to the filtrate at 0 °C, and the precipitate was collected to give 31 mg (0 14 mmol, 8%) of the desired product.

MS 228 1 (M+1 for $C_{13}H_{25}NO_2$), mp 167-168 °C, IR (KBr, cm^{-1}). 2954 (br), 2502, 1685, 1459, 1223 Analysis ($C_{13}H_{25}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 56.60, H. 9 98, N 5 11, (found) C 56 60, H. 9 85, N 4 77 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 47-0 56 (m, 1H), 0.78-0 89 (m, 8H), 1.30-1 36 (m, 3H), 1 61-1 79 (m, 5H), 2.58 (s, 2H), 2.99-3 10 (m, 4H)

EXAMPLE 60 (1-Aminomethyl-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt

002300200 · 090500



Example 60

Step i. Synthesis of 2-Cyano-(4-ethyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (60a) 4-Ethylcyclohexanone (13 0 g, 103 0 mmol) was dissolved in toluene (150 mL), and treated with ammonium acetate (0 79 g, 10 3 mmol), glacial acetic acid (1 2 mL), and ethyl cyanoacetate (11 65 g, 103 0 mmol). The reaction was heated to reflux for 56 h with a Dean-Stark trap, then it was cooled room temperature and washed with H_2O (2x100mL) The aqueous layer was backwashed with toluene (2x150mL) The organic layers were combined and dried over Na_2SO_4, and concentrated in vacuo The residue was chromatographed on silica gel eluting with 5 1 hexanes/ethyl acetate to give 19 81 g (87%) of the desired product as a clear yellow oil (60a)

MS 222 1 (M+1 for $C_{13}H_{19}N_1O_2$); an oil, TLC SiO_2, R_f 0 93 (1 1 hexane/ EtOAc), IR (KBr, cm^{-1}) 2931, 2225, 1728, 1602, 1233 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 82 (t, 3H, J = 7 4 Hz), 1 11-1 38 (m, 7H), 1 39-1 45 (m, 1H), 1 90-2.09 (m, 3H), 2.20-2.28 (m, 1H), 2.91-2.98 (m, 1H), 3 75-3 79 (m, 1 H)) 4 15-4 20 (m, 2H)

Step ii: Synthesis of *cis*-1-Cyanomethyl-4-ethyl-cyclohexanecarbonitrile: (60b) 2-Cyano-(4-ethyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (60a, 16.57 g, 74 86 mmol) was dissolved in EtOH (100 mL) and added to a suspension of NaCN (3 67 g, 74 86 mmol) in EtOH / H_2O (300 mL / 16 mL). The reaction was heated to reflux overnight, then cooled to room temperature and filtered to remove salt that had precipitated (4 58 g). The filtrate was concentrated in vacuo to yield a clear, highly viscous, yellow oil. The residue was flash chromatographed on silica gel eluting with 16 1 hexanes/EtOAc to give 11 82 g (77%) (a mixture of 81% of cis- and 19% of trans-isomers) of product as a yellow oil (60c)

602300200 - 090500

MS no M+1 ion observed ($C_{11}H_{16}N_2$); an oil, TLC. SiO_2, R_f 0 55 (2 1 hexane/EtOAc), Analysis ($C_{11}H_{16}N_2$) (Cal.) C 74 96, H. 9 15, N 15 89 (found) C. 74 84, H 8.97, N 15 74 IR (KBr, cm^{-1}): 2934, 2240,1453 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 90 (t, 3H, J = 7 6 Hz), 1 18-1 47 (m, 7H) 1 83-1 87 (m, 2H) 2.07-2.10 (m, 2H), 2.85 (s, 2H)

Step iii. Synthesis of *cis*-(1-Cyano-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester ((60c) *cis*-1-Cyanomethyl-4-ethyl-cyclohexanecarbonitrile (60b, 6 16 g, 34 95 mmol) was dissolved in EtOH (92 mL) and toluene (92 mL), cooled to 0 °C, and saturated with HCl gas. The solution was stoppered and allowed to stir overnight at room temperature. It was then concentrated in vacuo to give a yellowish white solid. The residue was triturated with ethyl ether (200 mL) and dried under vacuum, then treated with H_2O (90 mL) and 1 N HCl (4 mL) was added. The reaction was allowed to stir overnight at room temperature and yellow oil droplets were observed in solution after 18 h. The compound was extracted with EtOAc (3 x 100 mL); the organic layers were combined, washed with brine, dried over Na_2SO_4, and concentrated. The residue was flash chromatographed with 16 1 hexanes/EtOAc to give 4 40 g (56%) of the desired product (60c).

MS 224 1 (M+1 for $C_{13}H_{21}NO_2$), oil, TLC: SiO_2, R_f 0.38 (CH_2Cl_2), Analysis ($C_{13}H_{21}NO_2$) (Cal.) C· 69 92, H. 9 48, N 6.27 (found) C. 69 97, H. 9 49, N 6 17 IR (KBr, cm^{-1}) 2930, 2236, 1736, 1187 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0.87-0.90 (m, 3H), 1.18-1 46 (m, 10H), 1 77-1 80 (m, 2H), 2.05-2.09 (m, 2H), 2.59 (s, 2H), 4 13-4 15 (m, 2H).

Step iv: Synthesis of 8-Ethyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one: (60d)· *cis*-(1-Cyano-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester (60c,2.7 g, 12.1 mmol) was dissolved in MeOH (250 mL) and treated with 10% Rh/ 2% Pd/C (0 5 g) and shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was then filtered, concentrated in vacuo, and chromatographed on silica gel eluting with 3% MeOH/CH_2Cl_2 to give 1 13 g (52%) of the desired product as a white solid (60d).

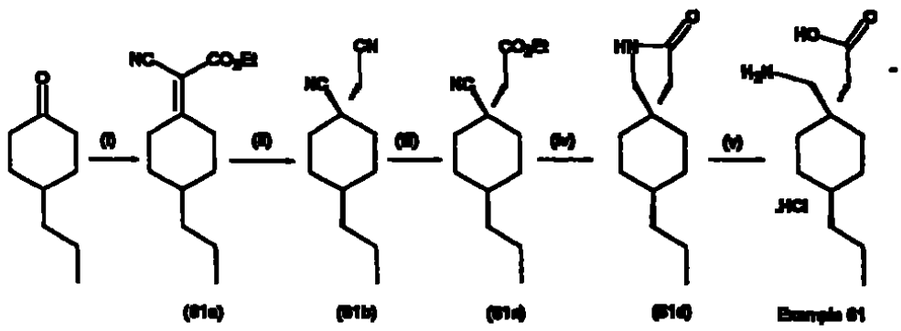
0050 0.0200209

MS 181 0 (M+1 for $C_{11}H_{19}N_1O_1$); mp 131-133 °C; TLC. SiO_2, R_f 0.22 (4% MeOH/CH_2Cl_2), Analysis ($C_{11}H_{19}N_1O_1$) (Cal.) C. 72.28, H. 10 08, N 7 66 (found) C 72.66, H. 10 45, N 7 26 IR (KBr, cm^{-1}) 3197, 2918, 1680 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 83-0 97 (m, 5 H), 1 06-1 23 (m, 3 H), 1 31-1 39 (m, 2 H), 1 63-1 67 (m, 4 H), 2.09-2.11 (m, 2 H), 3 15-3 17 (m, 2 H), 5 73 (br, 1 H)

Step v- Synthesis of Example 60 8-Ethyl-2-aza-spiro[4 5]decan-3-one (60d, 3 8 g, 21 1 mmol) was treated with concentrated HCl (141 mL) and heated to 110 °C for 24 h. The reaction was then concentrated, and recrystallized from hot isopropanol (20 mL) and acetone to yield 3 3 g (16.6 mmol, 79%) of the product.

MS 200 1 (M+1 for $C_{11}H_{21}NO_2$); Analysis ($C_{11}H_{21}NO_2$.HCl) (Cal.) C. 56.04, H. 9 41, N 5 94, (found) C. 56.06, H. 9 46, N 5 88 IR (KBr, cm^{-1}) 2916 (br), 1698, 1526, 1281 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 89 (t, 3H, J = 7 3 Hz), 1 02-1 40 (m, 8H), 1 68 (t, 4H, J = 16.1 Hz), 2 38 (s, 2H), 3 13 (s, 2H)

EXAMPLE 61 (1-Ammomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt



Step i. Synthesis of 2-Cyano-(4-propyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester; (61a): 4-*n*-Propyl-cyclohexanone (14.0 g, 99.8 mmol) was dissolved in toluene (145 mL), and treated with ammonium acetate (0.77 g, 9.98 mmol), glacial acetic acid (1.1

mL), and ethyl cyanoacetate (11.3 g, 99.8 mmol). The reaction was heated to reflux overnight with a Dean-Stark trap, then it was cooled room temperature and washed with H_2O (2 x 200 mL). The aqueous layer was backwashed with toluene (3 x 200 mL). The organic layers were combined and dried over Na_2SO_4, and concentrated in vacuo. The residue was chromatographed on silica gel eluting with 8:1 hexane/ethyl acetate to give 21.58 g (92%) of the desired product as a clear yellow oil (61a).

MS 236.1 (M+1 for $C_{14}H_{21}NO_2$), an oil, TLC SiO_2, R_f 0.57 (8:1 hexane/ EtOAc), Analysis ($C_{14}H_{21}NO_2$) (Cal.) C, 71.46; H, 8.99; N, 5.95 (found) C, 71.38; H, 8.92; N, 6.10. IR (KBr, cm^{-1}) 2929, 2225, 1728, 1603, 1227. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.83 (t, 3H, J = 7.3 Hz), 1.07-1.30 (m, 9H), 1.51-1.56 (m, 1H), 1.91-2.00 (m, 2H), 2.04-2.12 (m, 1H), 2.23-2.30 (m, 1H), 2.95-3.01 (m, 1H), 3.77-3.83 (m, 1H), 4.20 (q, 2H, J = 7.1 Hz).

Step ii. Synthesis of *cis*-1-Cyanomethyl-4-propyl-cyclohexanecarbonitrile: (61b). 2-Cyano-(4-*n*-propyl-cyclohexylidene)-acetic acid ethyl ester (61a, 19.46 g, 82.70 mmol) was dissolved in EtOH (100 mL) and added to a suspension of NaCN (4.053 g, 82.70 mmol) in EtOH / H_2O (340 mL / 20 mL). The reaction was heated to reflux overnight, then cooled to room temperature and filtered to remove salt that had precipitated. The filtrate was concentrated in vacuo to yield a clear, highly viscous, yellow oil. This oil was redissolved in EtOAc and washed with brine (2 x 150 mL), dried over Na_2SO_4, and concentrated. The residue was flash chromatographed on silica gel eluting with 19:1 hexane/EtOAc to give 4.69 g of 61b. (74% yield)

MS no M+1 ion observed ($C_{12}H_{18}N_2$); an oil, TLC SiO_2, R_f 0.38 (3:1 hexane/EtOAc); Analysis ($C_{12}H_{18}N_2$) (Cal.) C, 75.74; H, 9.53; N, 14.72 (found) C: 76.05, H, 9.58; N, 14.90. IR (KBr, cm^{-1}) 2931, 2239, 1453, 758. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.86 (t, 3H, J = 7.1 Hz), 1.18-1.34 (m, 7H), 1.42-1.61 (m, 2H), 1.81-1.83 (m, 2H), 2.06-2.09 (m, 2H), 2.65 (s, 2H)

Step iii. Synthesis of *cis*-(1-Cyano-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl (61c): *cis*-1-Cyanomethyl-4-*n*-propyl-cyclohexanecarbonitrile (61b, 3.87 g, 20.34 mmol) was

dissolved in EtOH (50 mL) and toluene (50 mL), cooled to 0 °C, and saturated with HCl gas over 20 minutes. The solution was stoppered and allowed to stir overnight at room temperature. It was then concentrated in vacuo to give a yellowish white solid The residue was triturated with ethyl ether (200 mL) and dried under vacuum, then dissolved in H_2O (80 mL) 1 N HCl (4 mL) was added The reaction became clear after 4 hours of stirring and it was allowed to continue to stir overnight at room temperature Yellow oil droplets were observed in solution after 18 h. The compound was extracted with EtOAc (4 x 200 mL); the organic layers were combined, washed with brine (2 x 200 mL), dried over Na_2SO_4, and concentrated. The residue was flash chromatographed with 19 1 hexanes/EtOAc and 3.27 g of product (61c, 68%) was obtained.

005060 • 02002209

MS 238 1 (M+1 for $C_{15}H_{21}NO_2$); oil, TLC SiO_2, R_f 0 38 (CH_2Cl_2); Analysis ($C_{15}H_{21}NO_2$) (Cal.) C 70 85, H. 9 77, N 5 90 (found) C. 70 65, H. 9 72, N 5 84 IR (KBr, cm^{-1}) 2929, 2236, 1736, 1185 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 85 (t, 3H, J = 7 1 Hz), 1 19-1 55 (m, 10H), 1 71-1 74 (m, 2H), 2.08-2.10 (m, 2H), 2 59 (s, 2H), 4 16 (q, 2H, J = 7 1 Hz)

Step iv Synthesis of *cis*-8-propyl-2-aza-spiro[4.5]decan-3-one (61d)- *cis*-(1-Cyano-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid ethyl ester (61c, 8.27 g, 34 8 mmol) was dissolved in methanol (90 mL), treated with triethylamine and 10% Rh / 2% Pd/C, and shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 55 h. The reaction was filtered and concentrated in vacuo The residue was chromatographed on silica gel eluting with 5 1 hexanes/EtOAc to give 6.41 g (61d, 94%) of the desired product.

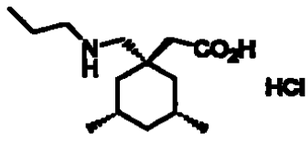
MS 196 1 (M+1 for $C_{12}H_{21}NO$), an oil, TLC SiO_2, R_f 0 38 (hexane/EtOAc), Analysis ($C_{12}H_{21}NO$) (Cal.) C 73 80, H. 10.84, N 7 17; (found) C 73 86, H. 10 76, N 7 11 IR

(KBr, cm^{-1}) 3192, 2924, 1704, 1678. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0 83-1 17 (m, 5H), 1 18-1 39 (m, 7H), 1 61-1 65 (m, 2H), 1 71-1 74 (m, 2H) 2.11 (s, 2H), 3 16 (s, 2H), 5 85 (br, 1H)

Step v Synthesis of Example 61 (1-Aminomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt 8-Propyl-2-aza-spiro[4 5]decan-3-one (61d, 5 8 g, 29 75 mmol) was treated with concentrated HCl (150 mL) and heated to 115°C overnight. The reaction was then allowed to cool to room temperature and precipitate was observed. This was filtered to obtain 3 47 g of a white solid, and the filtrate was cooled and re-filtered to give a total of 6.24 g (99%) of the desired product.

MS 214 1 (M+1 for $C_{12}H_{23}NO_2$); mp 142-144°C; Analysis ($C_{12}H_{23}NO_2.HCl.0\ 86H_2O$) (Cal.) C 58 91, H. 9 83, N 5 72, (found) C: 59.27, H. 9 60, N 5 71 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 86-0 90 (m, 3H), 0 97-1 41 (m, 10H), 1 61-1 75 (m, 4H), 2.37 (s, 2H), 3 13 (s, 2H) IR (KBr, cm^{-1}) 2919, 1702, 1525, 1461, 1188.

EXAMPLE 62: ((3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid; hydrochloride salt



((3R, 5S)-1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (59a, 0 50 g, 2.12 mmol) was dissolved in ethanol (45 mL) and treated with 1 8 mL of 1N NaOH. Propionaldehyde (0 5 mL, 3 eq) was added and the reaction was treated with PtO_2 (0 2 g) The reaction was then shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 3 h. The reaction was filtered, 1N HCl in ether (5 mL) was added, and the reaction was

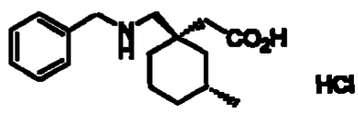
005060-0200E209

995
1018

concentrated in vacuo. The residue was dissolved in hot isopropanol (100 mL) and filtered. The filtrate was concentrated and recrystallized from hot isopropanol (4 mL), Et_2O (225 mL), and hexanes (150 mL) to give 200 mg (0 83 mmol, 39%) of product.

MS 242.1 (M+1 for $C_{14}H_{27}NO_2$), IR (KBr, cm^{-1}) 2952 (br), 1686, 1457, 1218 Analysis ($C_{14}H_{27}NO_2$·HCl·0 24H_2O) (Cal.) C 59 60, H. 10 17, N 4 96, (found) C 59 68, H. 10 09, N 4 64 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 48-0 57 (m, 1H), 0 78-1 05 (m, 11H), 1 61-1 78 (m, 7H), 2.60 (s, 2H), 2.93-3 00 (m, 4H).

EXAMPLE 63. [(1R, 3R)-1-(Benzylamino-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt



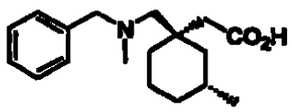
((1R, 3R)-1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt (Example 1, 3 0 g, 13 5 mmol) was dissolved in ethanol (80 mL) and treated with 1 N NaOH (14 mL, 1+ equivalents) Benzaldehyde (4 5 mL) was added followed by 10% Pd/C (1 0 g), and the reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 2.75 h. The reaction was filtered, 1 M HCl in ether (20 mL) was added, and the solution was concentrated in vacuo The residue was then dissolved in hot isopropanol (100 mL), filtered, and concentrated in vacuo The residue was then dissolved in the minimum amount of hot isopropanol necessary and recrystallized from ether The solid was filtered and the filtrate was cooled overnight to yield a second crop of crystals. The solids were combined to give 1 35 g (36%) of the desired product.

MS 276 1 (M+1 for $C_{17}H_{25}NO_2$); HRMS (calc) 276 1963 (found) 276 1962 (M+1 for $C_{17}H_{25}NO_2$), mp 157-158 °C, IR (KBr, cm^{-1}): 2932 (br), 1691, 1450, 1201, Analysis ($C_{17}H_{25}NO_2$·HCl 0.24H_2O) (Cal.) C. 64 58, H. 8.44, N 4 43, (found) C. 64 57, H. 8.44,

005060-02003209

N 4.28 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 77-1 69 (m, 12H), 2.42 (s, 2H), 3 21 (s, 2H), 4.25 (s, 2H), 7 43-7 52 (m, 5H).

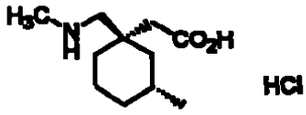
EXAMPLE 64. {(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt



[(1R, 3R)-1-(Benzylamino-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt (Example 63, 1 02 g, 3.27 mmol) was dissolved in ethanol (40 mL) and treated with 1 N NaOH (3 3 mL, 1+ eq). Formaldehyde (2.5 mL) was added followed by PtO_2 (0 1 g), and the reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 8 h. The reaction was filtered, 1 M HCl in ether (10 mL) was added, and the solution was concentrated in vacuo. The residue was then dissolved in hot isopropanol (100 mL), filtered, and concentrated in vacuo The residue was then dissolved in the minimum amount of hot isopropanol necessary and recrystallized from ether and hexane. The solid was collected to give 0 704 g (2.16 mmol, 66%) of the desired product.

MS 290 1 ($C_{18}H_{27}NO_2$); HRMS 290.2128 ($C_{18}H_{27}NO_2$); mp 204-205 °C; IR (KBr, cm^{-1}) 2926 (br), 1720, 1457, 1387, 1203, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0 82-0.98 (m, 5H), 1 24-1 91 (m, 7H), 2.38-2.58 (m, 2H), 2.91 (d, 3H, J = 11.2 Hz), 3 43-3 54 (m, 2H), 4.33-4 49 (m, 2H), 7 50-7 56 (m, 5H).

EXAMPLE 65: ((1R, 3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt



602030020 090500

1020

{(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt (Example 64, 0 60 g, 1 84 mmol) was dissolved in ethanol (50 mL). 20% Pd/C (0 1 g), and the reaction was shaken under an atmosphere of H_2 (50 psi) for 7 mm. The reaction was filtered, 1 M HCl in ether (5 mL) was added, and the solution was concentrated in vacuo The residue was then dissolved in hot isopropanol (100 mL), filtered, and concentrated in vacuo The residue was then dissolved in the minimum amount of hot isopropanol necessary and recrystallized from ether and hexane. The crystals were to give 0 15 g (35%) of the desired product.

MS 200 1 (M+1 for $C_{11}H_{21}NO_2$); HRMS (calc) 200 1650, (found) 200 1646 (M+1 for $C_{11}H_{21}NO_2$), mp 160-161 °C; IR (KBr, cm^{-1}) 2925 (br), 1719, 1457, Analysis ($C_{11}H_{21}NO_2$·HCl·0 40 H_2O) (Cal.) C 54.38, H. 9 46, N 5 77; (found) C. 54.27, H. 9.36, N 5 65 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0 83-0 97 (m, 5H), 1 20-1.28 (m, 1H) 1 42-1 74 (m, 6H) 2.38 (s, 2H), 2.73 (s, 3H), 3 23 (s, 2H)

EXAMPLE 66 Summary

Using an *ex vivo* model of freshly dissected rat retinas, the mechanisms by which brain glutamate levels are maintained within normal limits in neural tissue was investigated. Anaplerotic glutamate synthesis may be important to replenish glutamate oxidized in the gba following neurotransmission. Points of rate control through this *de novo* pathway were identified as pyruvate carboxylation and branched chain amino transamination To test the relationship between glutamate synthesis and pyruvate carboxylase activity, synthesis of ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine from $H^{14}CO_3$ was measured as a function of medium pyruvate. Increasing pyruvate from 0 2 to 5 mM

WO 00/50020 PCT/US00/05009

increased the ^{14}C-amino acid synthesis by 66 ± 15%. The specific radioactivity of glutamine relative to that of $H^{14}CO_3$ after 20 minutes of incubation indicated that ≈30% of glutamine in the retina is derived from bicarbonate fixation. To test the dependence of glutamate synthesis on availability of branched chain amino acids (BCAA) as a source of nitrogen, the effect of inhibiting the neuronal branched chain aminotransferase (BCATc) was measured. Gabapentin (GBP) (1 mM), a selective inhibitor of BCATc in neurons, inhibited synthesis of ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine from $H^{14}CO_3$ by 31% without slowing $H^{14}CO_3$ incorporation into lactate and citric acid cycle intermediates. Inhibition of *de novo* glutamate synthesis was reversed by addition of 0.6 mM BCAA. The data indicated that pyruvate carboxylase and branched chain aminotransferase share rate control of *de novo* glutamate synthesis in the retina, and that *de novo* glutamate synthesis is quantitatively important for maintenance of retinal glutamate levels.

Methods

Experimental animals

Sprague Dawley rats (200-400g) were used for all experiments. Rats were housed under a 12 hour light/dark cycle, and fed and watered *ad libidum*. After anaesthetizing the rats with pentobutal (IP), eyes were enucleated and retinas dissected in ice-cold buffer.

CO_2 fixation

Freshly isolated half-retinas were preincubated at 37°C for 3 minutes in buffer A (pH 7.4) containing 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM CaCl, 1.2 mM KH_2PO_4, 1.17 mM $MgSO_4$, 20 mM HEPES, 5 mM glucose, 0.05 mM NH_4Cl and 25 mM $NaH^{14}CO_3$. Pyruvate (either 0.2 or 5mM) was also included in the buffer. 1 ml buffer as well as the gas phase within 20 ml vials were equilibrated with 95% O_2, 5% CO_2. Incubations were initiated by addition of 10 µCi/ml $H^{14}CO_3$. The vessels were then immediately closed to

the atmosphere. Most incubations continued for 20 minutes, although in some preliminary studies, times were varied from 10-60 minutes. Reactions were stopped by removing the half retinas from the buffer and placing them in 2% perchloric acid The buffer was separately acidified with perchloric acid (final concentration 2%) and unreacted $^{14}CO_2$ was allowed to diffuse out of the acidified samples.

The total amount of product (non-volatile carbon 14 metabolites) was determined by measuring the radioactivity in aliquots of the medium and tissue samples. Metabolites in the extracts were separated by Dowex-1 acetate chromatography as previously described. Williamson, J.R., and Corkey, B (1969) "Methods in Enzymology", Vol. 13, ed. Lowenstein, J.M. *(Academic Press)* pp 434-513, and quantified by scintillation counting. In most instances, individual metabolite carbon 14 data is reported as the sum of the radioactivity in the medium plus tissue extracts. Complete quantification of ^{14}C-metabolite amounts in both the retina and in the medium can be found below in Tables I and II.

005060-020209

Data not shown in the results and discussion sections where collected in the course of carrying out the evaluation of the influences of pyruvate on $H^{14}CO_3$ fixation in the retina. Figure 2 shows only the effect of pyruvate on the sum glutamate plus glutamine and the sum pyruvate plus lactate. Table I provides values for all metabolites that became labeled with $H^{14}CO_3$ and their compartmentation.

Likewise additional data, not shown in the results and discussion sections, were collected in evaluating the influence of gabapentin. Thus Table II is an expansion of the data shown in Figure 4, and provides values for all metabolites labeled with $H^{14}CO_3$ and their compartmentation.

Table I

Condition	Compartment	Gln	Glu	Asp	Lact	TCA cycle	Total
Control (0 2 Pyr)	in	0 59 ± 0 05	1 47 ± 0 29	0 85 ± 0 06	0 16 ± 0 06	1 02 ± 0.26	4 08 ± 0 41
	out	0 61 ± 0 08	0 04 ± 0 01	0 08 ± 0 01	0 55 ± 0 03	0	1 19 ± 0 13
	sum	1 20 ± 0 09	1 51 ± 0.29	0 93 ± 0 08	0 71 ± 0 06	1 02 ± 0 26	5 27 ± 0 45
+5 0 Pyr	in	0 91 ± 0 13	2 67 ± 0 29	1 08 ± 0 12	0.29 ± 0 04	2 31 ± 0 13	7.26 ± 0 61
	out	0 96 ± 0 14	0 06 ± 0 01	0 08 ± 0 01	1 18 ± 0 11	0	2.24 ± 0 21
	sum	1 87 ± 0 23	2.73 ± 0 28	1 16 ± 0 12	1 47 ± 0 13	2 31 ± 0 13	9 50 ± 0 74

Table II

Condition	Compartment	Gln	Glu	Asp	Lact	TCA cycle	Total
Control	in	0 440 ± 0 032	1 477 ± 0 097	0.634 ± 0 038	0 080 ± 0 008	1 096 ± 0 105	3 715 ± 0.266
	out	0 551 ± 0 036	0 008 ± 0.001	0 070 ± 0 003	0 478 ± 0 030	0	1 117 ± 0 075
	sum	0 991 ± 0 054	1 485 ± 0 096	0 704 ± 0 040	0 558 ± 0 031	1 096 ± 0 105	4 832 ± 0 303
+GBP	in	0 389 ± 0 026	1 324 ± 0 025	0 549 ± 0 019	0 089 ± 0 006	1 514 ± 0 103	3 902 ± 0 122
	out	0 545 ± 0 024	0 008 ± 0 002	0 035 ± 0 003	0 516 ± 0 030	0	1 066 ± 0 028
	sum	0 934 ± 0 036	1 332 ± 0.025	0.584 ± 0 022	0 605 ± 0 028	1 514 ± 0 103	4 968 ± 0 028
+GBP +BCAA	in	0 480 ± 0 011	1 549 ± 0.070	0 609 ± 0.021	0 086 ± 0 008	1.220 ± 0 116	3.989 ± 0.043
	out	0 806 ± 0 086	0 009 ± 0.001	0 093 ± 0 008	0 458 ± 0 048	0	1 322 ± 0 076
	sum	1.286 ± 0 082	1 558 ± 0 070	0 702 ± 0 016	0 5445 ± 0 040	1.220 ± 0 116	5 311 ± 0 119

005090-020300

The chromatographic procedure employed in this example separates glutamine, glutamate, aspartate, and lactic acid. The citric acid cycle intermediates remain on the Dowex columns and are estimated as the difference between the total counts in the sample and the counts that are eluted. Evidence of the validity of this procedure has been reported previously Before subjecting samples to chromatography, ^{14}C-pyruvic acid in the samples was converted stoichiometrically to lactate by treating the samples with excess NADH and lactate dehydrogenase. Therefore the single lactate peak reported

contains all carbon 14 in both lactate and pyruvate. To determine specific activity of glutamate and glutamine in the retinal samples, the mass amount of the glutamate was measured fluorometrically using a standard enzymatic procedure Patel, M.S. (1989) in Neuromethods Carbohydrate and Energy Metabolism, Vol II, eds. Boulton, A.A and Baker G.D *(The Humana Press, Inc.)* pp 309-340 The mass amount of glutamine was measured after chromatographic separation from glutamate followed by a luminometric determination previously described ATP and creatine phosphate were measured fluorometrically using an enzymatic assay

Retinal protein was determined using the DC protein assay (Bio-Rad, Richmond, CA, USA). Each half retina contained about 0 4 mg protein.

Pyruvate Carboxylase Assay

Pyruvate carboxylase activity was assayed in fresh samples of whole brain and excised retinas. The method described by Patel Patel, M.S (1989) in *Neuromethods. Carbohydrate and Energy Metabolism*, Vol II, eds. Boulton, A.A and Baker G.D (The Humana Press, Inc.) pp 309-340, was used and involves measuring $^{14}CO_2$ fixation under optimal conditions in sonicated tissue.

Western Blot

SDS-PAGE was performed as described Patel, M.S (1989) in *Neuromethods. Carbohydrate and Energy Metabolism*, Vol II, eds. Boulton, A.A and Baker G.D (The Humana Press, Inc.) pp 309-340, using 10% gels. For immunoblotting, protein were transferred to Immobilon P membranes. Membranes were blocked with 5% BSA and incubated with immunoaffinity purified rabbit anti-rat BCATc peptide antibody (1 1000 dilution) or immunoaffinity purified rabbit anti-human BCATm peptide antibody (1 1000 dilution). The immunoreactive protein bands were visualized using the ECL system according to manufacturer's instructions (Amersham, Arlington Heights, IL, USA).

602300200 090500

982
1025

Calculations and Statistics

Data are reported in text and figures by determining the dpm/mg in a particular metabolite and dividing by the specific activity of medium HCO_3. Therefore all data are reported as nmoles of $H^{14}CO_3$/mg protein for any given metabolite.

Results are reported as the mean ± standard error of the mean. Statistical significance was judged by paired t-test and a $p<0.05$. Numbers of independent determinations (n) are provided in figure and table legends.

RESULTS

Pyruvate carboxylase levels are similar in retina and whole brain

Patel demonstrated that pyruvate carboxylase is the major CO_2 fixing enzyme in the adult rodent brain. To judge whether this might also be true in the retina, the activity of pyruvate carboxylase at 37°C in sonicates from neocortex was compared with those from the retina. The neocortex levels (2.9 ± 0.1 nmoles $H^{14}CO_3$ fixed/min/mg) were similar to those found in sonicated retinal tissues (3.4 ± 0.4 nmoles $H^{14}CO_3$ fixed/min/mg), indicating that pyruvate carboxylase was just as active in retina as whole brain.

Rates of both $^{14}CO_2$ fixation and ^{14}C-glutamate appearance are a function of pyruvate levels in the retina

In preliminary experiments retinas were incubated with 0.2 mM pyruvate as described in methods for 10, 20, 40 and 60 minute periods. Total $^{14}CO_2$ was monitored as well as ATP and creatine phosphate levels. ATP and creatine phosphate levels remained constant as a function of time, demonstrating that oxygenation and pH control were adequate throughout. Total CO_2 fixation (5.50 ± 0.14 nmoles/mg protein) peaked

602300200 · 090500

between 20 and 40 minutes, but was already 76% of maximal (4.2 ± 0 1 nmoles/mg) at 10 minutes. Since ATP (20 ± 0 2 nmoles/mg) and creatine phosphate (16 ± 1 1 nmoles/mg) levels were high and did not change with time, this peak indicated that the rate of CO_2 fixation was constant, but that continuous breakdown of non-volatile carbon 14 products to $CO_2 + H_2O$ produced a near steady state level of glutamate and glutamine specific radioactivity by 20 minutes.

To assess the control of pyruvate carboxylation over glutamate synthesis, retinas were incubated with either 0 2 or 5 mM pyruvate in the medium and intracellular and extracellular metabolites analyzed. The total $^{14}CO_2$ fixed in 20 minutes in the presence of 0.2 mM pyruvate was 5.27 ± 0 45 nmoles $H^{14}CO_3$/mg, whereas that fixed in the presence of 5 mM pyruvate was 9 50 ± 0 74 nmoles $H^{14}CO_3$/mg. Figure 2 shows that increasing unlabelled pyruvate from 0 2 to 5 mM increases the sum ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine (from 1 74 ± 0 19 to2.90 ± 0 31 nmoles/mg, $p<0$ 005). Figure 2 also shows that the higher pyruvate incubation increases the ^{14}C-lactate plus ^{14}C-pyruvate values. Thus, at steady state, an increase in pyruvate concentration from 0 2 to 5 mM increased incorporation of $H^{14}CO_3$ into glutamate and glutamine by 66% whereas the increase in pyruvate increased $H^{14}CO_3$ incorporation into pyruvate and lactate by 111%. The carbon 14 cycled into pyruvate and lactate represents glial recycling through pyruvate carboxylase, malic enzyme and phosphoenolpyruvate carboxykinase and for the first time demonstrates active citric acid cycle decarboxylation in intact neural tissue.

These data show that an increase in flux through pyruvate carboxylase induces an increase in *de novo* synthesis of retinal glutamate. A somewhat larger increase in pyruvate recycling occurs simultaneously

5023020 - 090500

A large fraction of total glutamine synthesis is derived from pyruvate carboxylation

The importance of pyruvate carboxylation as a source for replenishing the glutamate released from retinal nerve endings during neuronal transmission was assessed by determining the specific radioactivity of glutamine in retinal tissue incubated with medium containing $H^{14}CO_3$. A fixed proportion of glutamine synthesis in retina derives from unlabelled glutamate released by neurons and taken up by Müller glia. The remainder comes from glial α-ketoglutarate synthesized anaplerotically from pyruvate and $^{14}CO_2$. Therefore, the specific radioactivity of glutamine relative to the specific activity of $H^{14}CO_3$ provides a minimal value for the proportion of glutamine derived from anaplerosis. The product of pyruvate carboxylase in the glia is [1,4-^{14}C]-oxaloacetate. Both the 1 and 4 positions are labelled because the carbon 14 initially incorporated into the 4-C position of oxaloacetate is randomized between the 1 and 4 positions by equilibration of oxalacetate with symmetrical fumarate. The labelled oxaloacetate condenses with pyruvate to form citrate, which is then isomerized to isocitrate. [1,4-^{14}C]-isocitrate is oxidized and decarboxylated to [5-^{14}C] α-ketoglutarate by isocitrate dehydrogenase. Therefore the α-ketoglutarate synthesized anaplerotically has approximately half of the specific radioactivity of the original substrate $H^{14}CO_3$, depending on the degree of randomization of the label in oxaloacetate. This is also true of the glutamine synthesized from the [5-^{14}C] α-ketoglutarate.

The specific activity of glutamine was measured in the retinal tissue extracts incubated with 0.2 mM pyruvate and $H^{14}CO_3$ for 10, 20, 40 and 60 minutes. Only the tissue glutamine (not medium) is reported. Specific radioactivity of glutamine in the tissue was constant between 10 and 60 minutes. After 20 minutes of incubation the mass

6023020 090500

amount of glutamine in the tissue was 4 50 ± 0 44 nmoles/mg, and its specific radioactivity was 1970 ± 115 dpm/nmol or 0 158 ± 0 009 dpm/nmol of the bicarbonate specific activity This indicates that about 32% of the glutamine was produced by anaplerosis and pyruvate carboxylase

The specific radioactivity of retinal glutamate (269 ± 8 dpm/nmol) was lower than that of glutamine and also constant as a function of time from 10-60 min. It was only 14% of the specific activity of glutamine. This suggests that glutamate metabolic turnover in the neurons is rapid with respect to anaplerotic synthesis. However, since neuronal glutamate turnover cannot replenish the glutamate carbon skeleton lost during neurotransmission, the anaplerotic pathway is of prime importance in maintaining neuronal glutamate levels. The present data show unequivocally that the anaplerotic pathway provides a large (≈32%) proportion of the glutamine required for glutamate replenishment.

Synthesis of retinal glutamate and glutamine is partially dependent on branched chain amino acid transamination

Recent studies of glutamate synthesis in cultured astrocytes suggested that the conversion of α-ketoglutarate to glutamate could act as a rate-controlling step in anaplerotic synthesis of glutamate. Several groups have indicated that the α-amino group of glutamate cannot be supplied as ammonia and must therefore be supplied by transamination of α-ketoglutarate with another amino acid. Kanamori, K., Ross, B.D., and Kondrat, R.W (1998) *J Neurochem.* 70, 1304-1315, Laemmli, U.K. (1970) *Nature* 227, 680-685, including our own Haberg, A., Qu, H., Bakken, I.J., Sande, L.M., White, L.R., Haraldseth, O , Unsgard, G., Assley, J , Sonnewald, U (1998) *Dev. Neurosci.* 20, 389-398 Branched chain amino acids are likely nitrogen contributors since they can cross the blood-brain and blood-retinal barriers efficiently Hutson and coworkers have proposed that a nitrogen shuttle between neurons and glia which involves branched chain-

0023000 · 090500

amino acids and two BCAT isoenzymes, one in neuronal cytosol (BCATc) and one in glial mitochondria (BCATm) can also provide the needed nitrogen. Hutson, S M., Berkich, D , Down, P , Xu, B , Aschner, M., and LaNoue, K.F (1998) *J. Neurochem.* 71, 863-874 According to this hypothetical shuttle, neuronal BCATc facilitates glial BCATm conversion of α-ketoglutarate to glutamate by providing BCAA regenerated in the neurons (cf Figure 1)

As a first step toward investigating the role of the BCAT isoenzymes in *de novo* glutamate synthesis in the retina, immunoblotting with BCATm and BCATc specific antibodies was used to determine whether the BCAT isoenzymes are expressed in rat retina. As shown in Figure 3, both BCATc and BCATm are expressed in the retina at levels that are comparable to those found in whole brain homogenates. Therefore, freshly dissected rat retina is an appropriate intact neural system in which to test the concept of nitrogen shuttling between neurons and glia.

The leucine analog gabapentin (GBP) is a neuroactive drug which inhibits BCATc, but not BCATm. Su, T -Z., Lunney, E., Campbell, G., Oxender, D.L. (1995) *J Neurochem.* 64, 2125-2131 It was confirmed that GBP inhibits the synthesis of leucine in freshly dissected rat retinas (data not shown). The effect of GBP on the synthesis of ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine from $H^{14}CO_3$ in *ex vivo* rat retinas was then measured. As shown in Figure 4, 1 mM GBP reduced formation of ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine to 71% of control values (2.26 ± 0 05 versus 3 18 ± 0 12 nmol/mg, $p<0.001$). Addition of 200 μM each of leucine, isoleucine and valine reversed the inhibition to 89% of control (2.84±1 15 nmol/mg, $p<0$ 01 versus GBP alone) There was no effect of GBP on either ATP or creatine phosphate indicating that the GBP did not impair retinal bioenergetic processes. The small increase in incorporation of carbon 14 into lactate and citric acid cycle intermediates (from 1 93 ± .06 to 2.12 ± 0 13) due to the presence of 1

60230020 - 0 05DD

987
1030

mM GBP was not significant. Incorporation of the label into all of the metabolites is shown in Table II

Further experiments were carried out to investigate dose/response properties of GBP Freshly dissected retinas were incubated for 20 minutes in buffer A containing either 0, 0 2, 1, or 5 mM GBP As shown in Figure 5, increasing the concentration of GBP over 1 mM did not significantly increase the extent of its inhibition of the synthesis of ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine from $H^{14}CO_3$ Again GBP has no influence on formation of citric acid cycle intermediates, lactate and pyruvate (Figure 5) Thus supports the proposal that the site of GBP inhibition of glutamate synthesis is the BCAT mediated conversion of α-ketoglutarate to glutamate.

Discussion

The studies described evaluated mechanisms for maintenance of CNS glutamate levels. Previous studies showed that glutamine synthetase is required in retinas and hippocampal slices to maintain levels of neuronal glutamate: Su, T -Z., Lunney, E., Campbell, G., Oxender, D.L. (1995) *J Neurochem.* 64, 2125-2131 Immunocytochemical measurements indicate that 90% or more of retinal and whole brain glutamate is neuronal and that inhibition of glutamine synthetase for 90 minutes depletes the neuronal glutamate pool to negligible levels: Ottersen, O.P , Zhang, N , and Walberg, F (1992) *Neurosci.* 46, 519-534 This demonstrated that glutamine synthetase is required for maintenance of neuronal glutamate. Although glutamate can be synthesized in neurons from α-ketoglutarate, lack of pyruvate carboxylase or another anaplerotic enzyme prevents replenishment of α-ketoglutarate, and thus, precludes net glutamate synthesis within the neurons except from glutamine via glutaminase.

005060-02002209

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MIAMI

In this example the sources and control of glutamine synthesis was investigated by incubating excised retinas with $H^{14}CO_3$ and measuring the appearance and specific radioactivity of ^{14}C-glutamine and ^{14}C-glutamate. More ^{14}C-glutamine is synthesized in the presence of 5 mM pyruvate than in the presence of 0.2 mM. This indicates that pyruvate carboxylase activity influences the rate of glutamine synthesis. However, lack of sensitivity of this control is demonstrated by the observation that when pyruvate is increased from 0 2 mM to 5 mM the magnitude of the increase in pyruvate carboxylase flux (80 3%) is not directly translated into an equivalent increase in ^{14}C-glutamate plus ^{14}C-glutamine (69 0%) Flexibility of the control is provided by the potential for citric acid cycle decarboxylation and pyruvate recycling. The pyruvate dependence of total $H^{14}CO_3$ fixation in retinal tissue was similar to that seen in cultured isolated astrocytes. Gamberino, W C., Berkich, D.A., Lynch, C.J., Xu, B., and LaNoue, K.F (1997) *J. Neurochem.* 69, 2312-2325 However, in astrocytes, which have no way to regenerate endogenous BCAA used to transaminate α-ketoglutarate, the pyruvate-induced increases in CO_2 fixation were not translated into increases in ^{14}C-glutamate and ^{14}C-glutamine levels. Instead, the carbon 14 accumulated solely in citric acid cycle intermediates and into "recycled" pyruvate.

In the retinal studies reported here, the specific radioactivity of glutamine at steady state was 0 158 of the bicarbonate specific activity Since, approximately half of the ^{14}C incorporated into oxalacetate is retained in α-ketoglutarate, the results show that ≈ 32% of the glutamine is derived from $H^{14}CO_3$ This is the first direct estimate of the contribution of anaplerosis to glutamine synthesis in a neuronal tissue. Previous estimates have been indirect, and involved isotopomer analysis of NMR spectra following infusion of ^{13}C glucose (3-5, 11-13) into intact brains. Estimates of the contribution of pyruvate carboxylation to glutamine synthesis using these NMR methods have been lower than the present one, and range from less than 1% (3) to 5-10% (4,5) to 20-25%. Shank, R.P., Bennet, G S., Freytag, S O , and Campbell, G.L. (1985) *Brain Res.* 329, 364-367,

005060-02002209

Griffen, J L., Rae, C., Radda, G.K., and Matthews, P.M. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* 1450, 297-307, depending largely on initial assumptions of the mathematical models employed. The present results suggest that glial pyruvate carboxylation and the conversion of citric acid cycle intermediates to glutamate and glutamine are likely to be quantitiatively important for retinal function and possibly for whole brain function.

The observation that GBP slows the conversion of citric acid cycle intermediates to glutamine and glutamate strongly suggests that neuronal synthesis of BCAA by BCATc is necessary for optimal rates of amination of α-ketoglutarate to glutamate. A reasonable scheme for their involvement in this process is shown in Figure 1

The results, which demonstrate inhibition of ^{14}C-glutamate and ^{14}C-glutamine synthesis from $H^{14}CO_3$ by GBP and reversal of the inhibition by BCAA, are consistent with the described shuttle. The hypothesis also provides a possible explanation for the anti-epileptic action of GBP Taylor, C.P , Gee, N S., Su, T.Z., Kocsis, J.D., Welty, D.F , Brown, J.P., Dooley, D.J , Boden, P , Singh, L. (1998) *Epilepsy Res.* 29, 233-249 Indeed, decreased glutamate synthesis is a common action of GBP and the anti-epileptic carbonic anhydrase inhibitors. Hazen, S.A., Waheed, A., Sly, W S , LaNoue, K.F , Lynch, C.J (1997) *Dev. Neurosci.* 19, 162-171 Also, Maple Syrup Urine Disease, the hereditary ailment caused by a mutation of the gene for branched chain keto acid dehydrogenase, if untreated induces high serum BCAA in patients and subsequent neurological abnormalities: Chuang, D.I. and Shih, V.E. (1995) *in The Metabolic Basis of Inherited Disease*, eds. Schriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, S., and Vaile, D (McGraw-Hill) pp 1239-1277, which may be related to abnormal regulation of glutamate synthesis. Finally, the implications of nitrogen shuttling during glutamate synthesis must be studied further in light of the efficacy of GBP in the treatment of neuropathic pain Ottersen, O P , Zhang, N , and Walberg, F (1992) *Neurosci* 46, 519-534 and neurodegeneration, Chuang, D.I. and Shih, V.E. (1995) in *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, eds.

60230020 090500

Schriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, S., and Valle, D (McGraw-Hill) pp. 1239-1277,

Rothstein, J.D and Kuncl, R.W (1995) *J. Neurochem.* 65, 643-651

EXAMPLE 67

Enzyme preparation Frozen rat brains were thawed on ice and minced into fine pieces For each brain 5 ml of isotonic buffer [225 mM mannitol, 75 mM sucrose, 5 mM MOPS (pH 7 1), 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM DTT containing leupeptin, pepstatin and PMSF] was added. The samples were homogenized in Potters homogenizer (B Bran Biotech International) at 500 rpm for ten strokes, followed by additional ten strokes at 800 rpm. The homogenates were centrifuged in Beckman J2-M1 centrifuge with rotor JA-20 at 19, 000 rpm for 1 hr The supernatant was dialyzed with at least three changes of dialysis buffer (225 mM mannitol, 75 mM sucrose, 5 mM MOPS pH 7 1, 1mM EDTA, 1 mM EGTA, and 1 mM DTT) for 24 hrs. The resulting enzyme was stored at –80 °C for further assays.

Assay of BCAT- The reaction was done in 1 5 ml Eppendorf tubes in a volume of 100 µl containing 50 mM Tris-HCL (pH 8.3), 25 µM [^{14}C] L-leucine, 10 mM 2-oxoglutarate, 15 µM pyridoxal phosphate, 1 mM DTT, and enzyme. The solutions for the reaction mixture were made in 10-fold concentrations. After 10 min incubation at room temperature (22 °C), the reaction was stopped by adding 100 µl of 15 mM p-nitrophenyl hydrazine in 2 M HCL. After a few minutes, 1 mL of a toluene-based scintillation liquid (4 5 g of PPO and 0 5 g of bis-MSB in 1 liter of toluene) was added, the tube was capped and mixed thoroughly with a Vortex mixer Then the tubes were centrifuged at 13, 500 rpm (Eppendorf centrifuge 5415C) for 10 min. Six hundreds µl of organic layer from each tube was placed into scintillation vials, followed by adding 10 ml of scintillation cocktail for counting.

Example #	rBCATc IC50 (uM)
1	146
2	1136
3	1660
4	2515

005060-020030209

5	2934
6	2620
7	2165
8	74
9	120
10	121
11	1387
12	1490
13	>10,000
14	8592
15	82
16	1319
17	>10,000
18	—
19	—
20	469
21	169
22	389
23	2121
24	942
25	170
26	8592
27	1553
28	181
29	391
30	2250
31	908
32	243
33	1018
34	3218
35	1768

005050-02002209

997
1034

997
1035

36	—
37	1193
38	2618
39	933
40	3800
41	363
42	669
43	2079
44	2728
45	1331
46	1129
47	15580
48	8530
49	84
50	842
51	>10,000
52	2516
53	3340
54	217
55	9242
56	—
57	—
58	179
59	3370
60	11530
61	114
62	4216
63	—
64	—
65	—

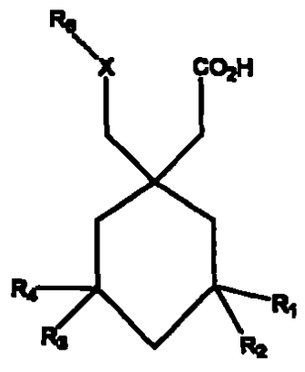
005060-02003209

993
1036

CLAIMS

What is claimed is.

1 A compound of Formula IV



IV

R1-R4 are hydrogen or alkyl,
X is NR5 or O;
R5 is hydrogen or alkyl,

R6 is hydrogen, alkyl, benzyl, alkanoyl, alkoxyalkanoyl, arylalkyl, alkoxy, cycloalkyl, allyl, alkylcycloalkyl, alkoxy, cycloalkyl, alkylcycloalkyl, trisubstituted halogenalkyl, and wherein R_1-R_4 are each hydrogen the R_6 is not hydrogen or methyl, or a pharmaceutically acceptable salt, ester, prodrug, or amide thereof.

2. A compound according to Claim 1 wherein R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are alkyl, R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are methyl, R_1-R_4 are hydrogen, R_1 is alkyl and R_2-R_4 are hydrogen, R_1 is methyl and R_2-R_4 are hydrogen, R_5 is hydrogen; X is NR_6; X is O, R_6 is alkyl, R_6 is benzyl, R_6 is acetyl, R_6 is phenylalkyl, R_6 is cycloalkyl, R_6 is trifluoroalkyl, R_6 is alkylcycloalkyl, R_6 is alkoxy, and R_6 is allyl.

3 A compound according to Claim 1 wherein R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are methyl, R_1-R_4 are hydrogen, R_1 is methyl and R_2-R4 are hydrogen, R_5 is

005060-020020209

hydrogen, X is NR_6, R_6 is alkyl, R_6 is benzyl, R_6 is acetyl, R_6 is phenylalkyl, R_6 is cycloalkyl, R_6 is trifluoroalkyl, R_6 is alkylcycloalkyl, R_6 is alkoxy; and R_6 is allyl

4 A compound according to Claim 1 wherein R_2 and R_4 are hydrogen and R_1 and R_3 are methyl, R_1-R_4 are hydrogen.

5 A compound according to Claim 1 and selected from the group consisting of

(1-Allylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
(1-Prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
{1-[(2,2,2-Trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
{1-[(3,3,3-Trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β- (1-Allylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Allylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid,

002300209 • 090500

trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-methylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Ethylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Butylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Hydroxymethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-diethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(1-Benzylammo-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(1-Dimethylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
1α,3β,5β-(1-Butylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-[1-(Acetylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid,
1α,3β,5β-[1-(Isobutylammo-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
1α,3β,5β-[3,5-Dimethyl-1-(phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3-phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Cyclobutylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

0050020-090500

1α,3β,5β-[1-(Isopropylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[(2-Methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(4,4,4-Trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
(1-Ethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Isobutylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
(1-Propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
[1-(Isopropylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,
(1-Cyclohexylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
{1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
[1-(*tert*-Butoxycarbonylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
[1-(Acetylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
((3R, 5S)-1-Cyclobutylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-[(2-methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
{(3R, 5S)-1-[(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

002300209 · 090500

{(3R, 5S)-1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

{(3R,5S)-1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

((3R, 5S)-1-Cyclohexylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

((3R,5S)-1-Carboxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt,

cis-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt,

(1-Dimethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

(1-Butylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

{1-[2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

[1-(Phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(3-Phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, sodium salt;

((3R, 5S)-1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Aminomethyl-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt,

(1-Aminomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt,

((3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

[(1R, 3R)-1-(Benzylamino-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,

{(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

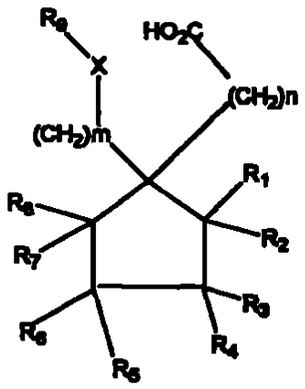
or

((1R, 3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

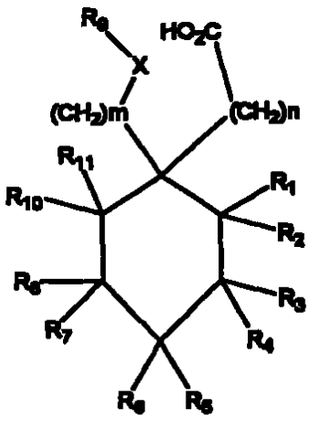
005060-020030209

998
1041

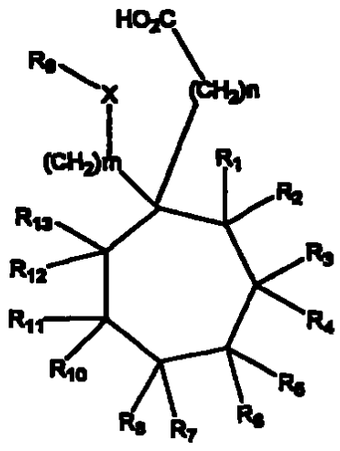
6 A method for treating diabetic retinopathy comprising the step of administering a therapeutically effective amount of a compound of Formulas I, II, and/or III to a patient in need thereof



I



II



III

0023002020 · 090500

999
1042

wherein

R_9 is H, alkyl, cycloalkyl, substituted alkyl containing halogen, amine, alkoxy, cycloalkyl, or hydroxy; allyl, alkynyl, alkanoyl, alkoxyalkanoyl, sulfonyl, phenyl, benzyl, or arylalkyl,

m and n are independently an integer of 1-3,

$R_1 - R_8$ and $R_{10} - R_{14}$ are independently H, alkyl, or substituted alkyl, and

$X = NR_{14}$, O, or S

where there is more than one stereoisomer, each chiral center may be independently R or S, or a pharmaceutically acceptable salt, ester, prodrug, or amide thereof.

005050-020020-090500

7 The method of Claim 6 wherein m and n are 1, X is NR_{14}, R_9 is H, R_4 is methyl, R_4 and R_5 are methyl, R_8 is methyl, R_{10} is methyl, R_7 and R_8 are methyl, R_4 and R_8 are methyl, R_1-R_8 and R_{10}-R_{13} are H, R_9 is alkyl, R_9 is benzyl, R_{14} is alkyl, R_9 is arylalkyl, R_9 is cycloalkyl, R_1-R_8 are H, R_1-R_8 and R_{10}-R_{11} are H, R_1-R_2 and R_7-R_8 are H, or R_2 is methyl.

8. The method of Claim 6 wherein R_9 is alkyl, R_1-R_2 and R_4-R_{11} and R_{14} are hydrogen, and m and n are 1, and X is NR_{14}, R_3 and R_{11} are alkyl, R_1-R_2 and R_4-R_{10} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, and X is NR_{14}, R_3 and R_{11} are alkyl, R_1-R_2 and R_4-R_{10} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, R_9 is alkyl, and X is NR_{14}, and R_1-R_{11} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, and X is O

9 The method of Claim 6 wherein the compound is selected from the group consisting of:

(1-Allylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

(1-Prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

{1-[(2,2,2-Trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

{1-[(3,3,3-Trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

1α,3β,5β- (1-Allylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Allylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid;
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Ethylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Butylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Hydroxymethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-diethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
trans-(1R,3R)(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(1-Aminomethyl-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(1-Aminomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(±)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;
(cis/trans)-(3R)-(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

005060-020030209

(+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

(+)-(trans)-(1-Ammomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride,

1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride,

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-(1-Benzylammo-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Dimethylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Butylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-methylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-[1-(Acetylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid,

1α,3β,5β-(1-(Isobutylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-[3,5-Dimethyl-1-(phenethylammo-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3-phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Cyclobutylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-(Isopropylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

602002O.090500

1-Aminomethyl-1-cyclohexane-acetic acid,
1-Aminomethyl-1-cyclopentane-acetic acid,
1-Aminomenthyl-1-cyclopentane-acetic acid, sodium salt,
1-(hydroxymethyl)cyclohexane-acetic acid, sodium salt;
{1-[(2-Methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(4,4,4-Trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Ethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Isobutylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Isopropylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Cyclohexylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
{1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
[1-(*tert*-Butoxycarbonylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
[1-(Acetylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
((3R, 5S)-1-Cyclobutylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-[(2-methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
MIAMI

005060-02003209

{(3R, 5S)-1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

{(3R,5S)-1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

((3R, 5S)-1-Cyclohexylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

((3R,5S)-1-Carboxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt,

cis-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Dimethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Butylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

[1-(Phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(3-Phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, sodium salt,

((3R, 5S)-1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Aminomethyl-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt;

(1-Aminomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt;

((3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

[(1R, 3R)-1-(Benzylamino-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

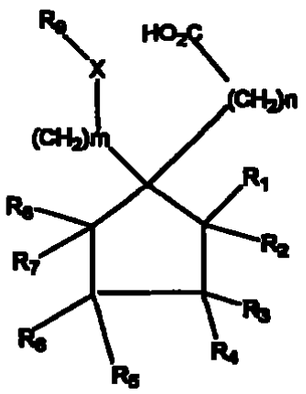
{(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

or

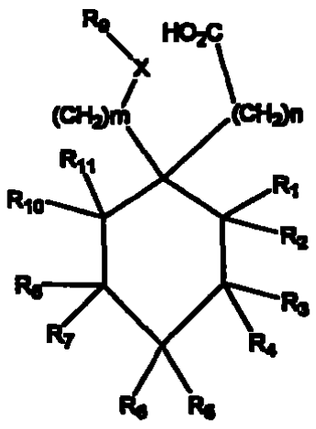
((1R, 3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

WO 02/00209 PCT/US01/09500

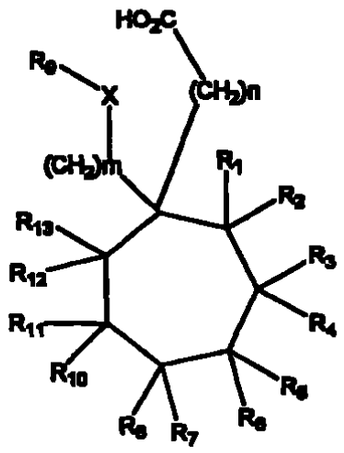
A method for inhibiting the branch chain amino acid-dependent aminotransferase in a patient in need thereof comprising the step of administering a therapeutically effective amount of a compound of Formulas I, II, and/or III



I



II



III

WO 00/23090 PCT/US99/24209

wherein,

R_9 is H, alkyl, cycloalkyl, substituted alkyl containing halogen, amine, alkoxy, cycloalkyl, or hydroxy; allyl, alkynyl, alkanoyl, alkoxyalkanoyl, sulfonyl, phenyl, benzyl, or arylalkyl,

m and n are independently an integer of 1-3,

$R_1 - R_8$ and $R_{10} - R_{14}$ are independently H, alkyl, or substituted alkyl, and

$X = NR_{14}$, O, or S

where there is more than one stereoisomer, each chiral center may be independently R or S, or a pharmaceutically acceptable salt, ester, prodrug, or amide thereof

11 The method of Claim 10 wherein wherein m and n are 1, X is NR_{14}, R_9 is H, R_4 is methyl, R_4 and R_5 are methyl, R_9 is methyl, R_{10} is methyl, R_7 and R_8 are methyl, R_4 and R_8 are methyl, R_1-R_8 and R_{10}-R_{13} are H, R_9 is alkyl, R_9 is benzyl, R_{14} is alkyl, R_9 is arylalkyl, R_9 is cycloalkyl, R_1-R_8 are H, R_1-R_8 and R_{10}-R_{11} are H, R_1-R_8 and R_7-R_8 are H, or R_9 is methyl.

12. The method of Claim 10 wherein R_9 is alkyl, R_1-R_8 and R_4-R_{11} and R_{14} are hydrogen, and m and n are 1, and X is NR_{14}, R_9 and R_{11} are alkyl, R_1-R_8 and R_4-R_{10} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, and X is NR_{14}, R_9 and R_{11} are alkyl, R_1-R_8 and R_4-R_{10} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, R_9 is alkyl, and X is NR_{14}, and R_1-R_{11} and R_{14} are hydrogen, m and n are 1, and X is O

13 The method of Claim 10 wherein the compound is selected from.
(1-Allylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
(1-Prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
{1-[(2,2,2-Trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
{1-[(3,3,3-Trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β- (1-Allylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,

WO 02/30020 PCT/US01/30500

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Allylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-prop-2-ynylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(2,2,2-trifluoro-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(3,3,3-trifluoro-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-3-Methyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(4,4,4-trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-{(1R,3R)-1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Ethylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Butylaminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
trans-((1R,3R)-1-Hydroxymethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid,
1α,3β,5β-{1-[(Hydroxymethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid,
1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-diethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
trans-(1R,3R)(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(1-Aminomethyl-2-methyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(1-Aminomethyl-3,3-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride;
(±)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;
(cis/trans)-(3R)-(1-Aminomethyl-3-methyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

(+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride,

WO 02/00209 PCT/EP01/05090

(+)-(trans)-(1-Aminomethyl-3,4-dimethyl-cyclopentyl)-acetic acid, hydrochloride;

1α,3β,5β-(1-Aminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride,

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-(1-Ethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Benzylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-Dimethylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-(1-Butylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(3,5-Dimethyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

1α,3β,5β-[1-(Acetylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid,

1α,3β,5β-(1-(Isobutylamino-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-[3,5-Dimethyl-1-(phenethylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-{3,5-Dimethyl-1-[(3-phenyl-propylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Cyclobutylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

1α,3β,5β-(1-(Isopropylammo-methyl)-3,5-dimethyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

1-Aminomethyl-1-cyclohexane-acetic acid,

1-Aminomethyl-1-cyclopentane-acetic acid,

005090-020309

1008
1051

1-Ammomethyl-1-cyclopentane-acetic acid, sodium salt;
1-(hydroxymethyl)cyclohexane-acetic acid, sodium salt;
{1-[(2-Methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[(4,4,4-Trifluoro-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Ethylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[(Cyclopropylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
{1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Isobutylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Propylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Isopropylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
(1-Cyclohexylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
[1-(Benzylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;
((1R,3R)-3-Methyl-1-propylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{1-[Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
{1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloric salt;
[1-(*tert*-Butoxycarbonylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
[1-(Acetylamino-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid,
((3R, 5S)-1-Cyclobutylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-[(2-methyl-butylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(2-Hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,
{(3R, 5S)-1-[(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;
{(3R, 5S)-1-[(Cyclopentylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

0050600 · 02003209

{(3R,5S)-1-[(Cyclohexylmethyl-amino)-methyl]-3,5-dimethyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt,

((3R, 5S)-1-Cyclohexylaminomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

((3R,5S)-1-Carboxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid,

trans-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl-acetic acid, hydrochloride salt;

cis-((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt,

(1-Dimethylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Butylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[2,2-Dimethoxy-ethylamino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-methylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

{1-[(Benzyl-methyl-amino)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

[1-(Phenethylammo-methyl)-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt,

{1-[(3-Phenyl-propylammo)-methyl]-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

((3R, 5S)-1-Hydroxymethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, sodium salt,

((3R, 5S)-1-Ethylammomethyl-3,5-dimethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

(1-Ammomethyl-4-ethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt;

(1-Ammomethyl-4-propyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloric salt,

((3R, 5S)-3,5-Dimethyl-1-propylammomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

[(1R, 3R)-1-(Benzylammo-methyl)-3-methyl-cyclohexyl]-acetic acid, hydrochloride salt;

{(1R, 3R)-1-[(Benzyl-methyl-ammo)-methyl]-3-methyl-cyclohexyl}-acetic acid, hydrochloride salt;

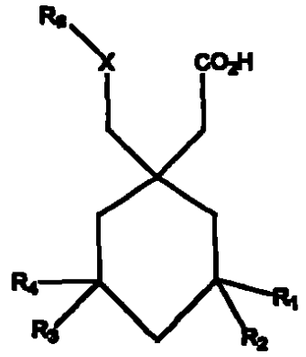
or

((1R, 3R)-3-Methyl-1-methylaminomethyl-cyclohexyl)-acetic acid, hydrochloride salt;

005060 • 0200E209

2010
1053

14 A method for treating neurological disorders, depression, anxiety, panic, mania, bipolar disorders, antiflammatory diseases, glaucoma, pain or gastrointestinal damage comprising the step of administering a therapeutically effective amount of a compound of Formula IV to patient in need thereof.



IV

R1-R4 are hydrogen or alkyl,

X is NR5 or O;

R5 is hydrogen or alkyl,

R6 is hydrogen, alkyl, benzyl, alkanoyl, alkoxyalkanoyl, arylalkyl, alkoxy, cycloalkyl, alkyl, alkylcycloalkyl, alkoxy, cycloalkyl, alkylcycloalkyl, trisubstituted halogenalkyl, and wherein R_1-R_4 are each hydrogen the R_6 is not hydrogen or methyl, or a pharmaceutically acceptable salt, ester, prodrug, or amide thereof.

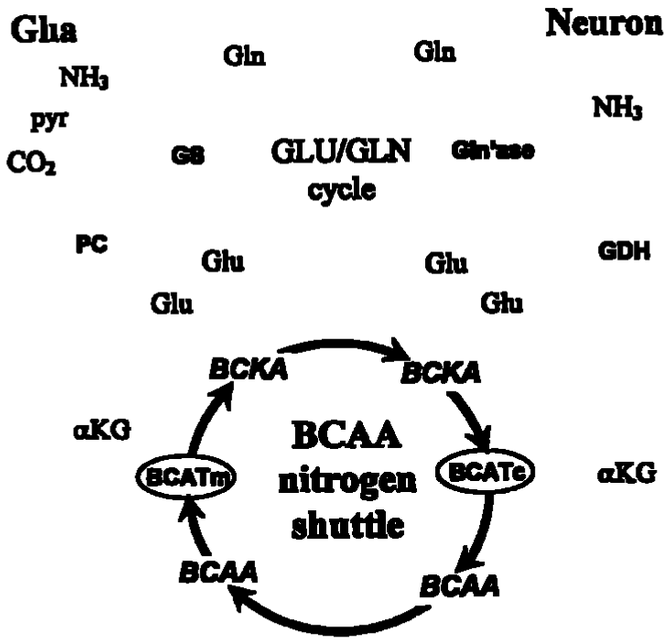
WO 2005/020909 PCT/US2004/027500

ABSTRACT

The present invention is directed to a method for the prophylactic and therapeutic treatment of diabetic retinopathy The method involves the administration of an inhibitor of the branch chain amino acid-dependent aminotransferase (BCAT) pathway to an animal, such as a mammal, in particular a human, in an amount sufficient to treat the retina for diabetic retinopathy prophylactically or therapeutically The present invention is also directed to several novel inhibitors of the BCAT pathway

005060 · 02003209

Figure 1



Express Mail No. EK651207218US
PD-A000015IL3-01MIA

602300200 090500

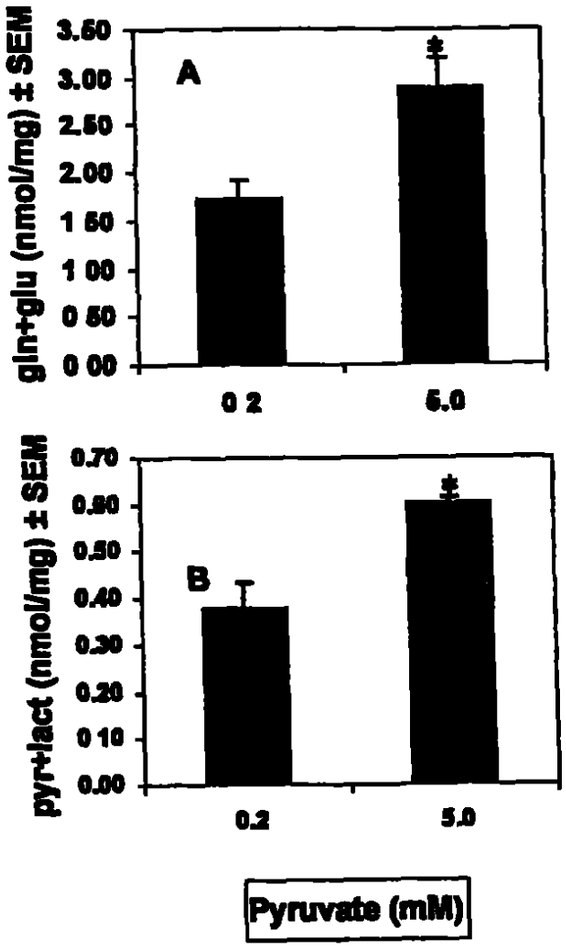
005060 · 02003209

Express Mail No. EK631207215US
PD-A00001515-01MA

1055 139

Figure 2

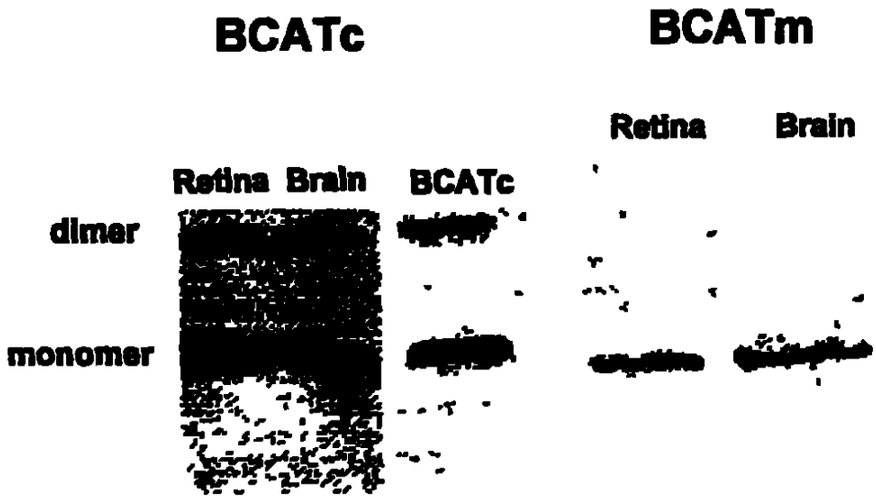
1050



1044 140

Figure 3

1057



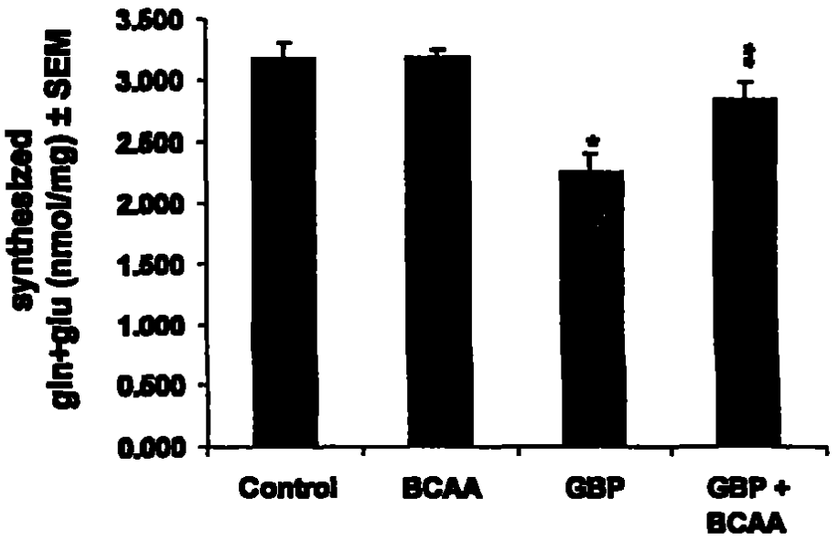
Express Mail No. EK651207218US
PD-A00001511.3-01M1A

60230020 · 090500

1015 14/

Figure 4

1058



Express Mail No. EK651207218US
PD-A000015113-01MJA

005060 - 020030209

1059

TRADUCCION----------

ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA ----------

A quien corresponda DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS Oficina de Marcas y Patentes de Estados Unidos ----------

----------20 de diciembre de 2000-

Se certifica por el presente que el documento adjunto es una copia fiel de los registros que obran en la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos de los papeles de la solicitud de patente que se detalla más abajo, la cual ha cumplido con los requisitos para otorgarse una fecha de registro segun 35 USC 111 ----------

---

NUMERO DE SOLICITUD 60/230 020----------

FECHA DE REGISTRO 5 de septiembre de 2000----------

Por autoridad del Comisionado de Patentes y Marcas [Hay una firma ilegible] M LEE, Funcionario de certificaciones ----------

[Hay un sello al agua de color dorado que dice] Oficina de Patentes y Marcas, Estados Unidos de Norteamérica----------

---

Caso Numero A0000151L3-01MJA----------

CARATULA DE SOLICITUD PROVISIONAL PARA PATENTES----------

1

1018

1066

(Gran Empresa) ----------

[Sobre el margen izquierdo aparece un código de barras y los siguientes datos] jc 694 U S PTO 09/05/00----------

[Sobre el margen derecho aparece un código de barras y los siguientes datos] jc 694 U S PTO 60/230020 09/05/00-------

La presente es una solicitud para presentar una SOLICITUD PROVISIONAL según CFR 37 1 53 (b)(2) ----------

Tipee un signo más (+) en este casillero + ----------

INVENTOR(ES) SOLICITANTE(S) ----------

NOMBRE DE PILA Justin Stephen----------

APELLIDO Bryans----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) Dean Cottage 3 W, Wickman Road, Balsham CB 1 6DZ GRAN BRETAÑA----------

---

NOMBRE DE PILA Lian-Yen----------

APELLIDO Hu----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 4881 S Ridgeside Circle, Ann Arborm UN 48105----------

---

NOMBRE DE PILA Susan M ----------

APELLIDO Hutson----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 1123 W 4th Street, Winston-Salem, NC 27101----------

1019, A5
1061

[X] Los inventores adicionales se nombran en la página 2 adjunta a esta ----------

---

TITULO DE LA INVENCION (Máximo 280 caracteres)----------

INHIBIDORES DE AMINOTRANSFERASA DEPENDIENTE DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA----------

DOMICILIO POSTAL ----------

X Empresa o Nombre individual Michael J Atkins----------

Domicilio Warner Lambert Company----------

Domicilio 2800 Plymouth Road----------

Ciudad Ann Arbor----------

Estado Michigan, **Código postal** 48105, **País** Estados Unidos de Norteamérica----------

Teléfono (734) 622-5218, Fax (734) 622-1553----------

PARTES DE LA SOLICITUD QUE SE ADJUNTAN (tildar todas las que se presentan)----------

(X) Memoria descriptiva, Número de páginas 111----------

(X) Dibujos, Número de páginas 4----------

(X) Otros (especificar) 14 reivindicaciones en 18 paginas, Resumen en 1 página ----------

FORMA DE PAGO (tildar una)----------

(-)Se adjunta un cheque u orden de dinero para cubrir el arancel de presentacion----------

1020 / 46
1062

(X) El comisionado está autorizado por la presente a cambiar los aranceles y credito de presentación y el Numero de Cuenta de Depósito 23-0455----------

MONTO DEL ARANCEL DE PRESENTACION PROVISIONAL ($) 150 00---

La invención fue realizada por una oficina del Gobierno de los Estados Unidos o según un contrato con una oficina del Gobierno de los Estados Unidos (-) No, (-) Si, el nombre de la agencia del Gobierno de los Estados Unidos y el número del contrato del Gobierno son (en blanco) ---------

Saluda atentamente,----------

FIRMA (hay una firma ilegible) Fecha 5 de septiembre de 2000----------

Nombre impreso o a máquina Michael J Atkins----------

Número de matrícula (si corresponde) 35 431----------

SOLAMENTE PRESENTACION DE SOLICITUD PROVISORIA----------

ENVIAR A Casilla de Solicitud de Patentes Provisorias, Comisionado Asistente para Patentes, Washington, D C 20231----------

[Pagina 1 de 2] P19LARGE/REV04----------

Caso Numero A0000151L3-01MJA----------

CARATULA DE SOLICITUD PROVISIONAL PARA PATENTES----------

(Gran Empresa) ----------

INVENTOR(ES) SOLICITANTE(S) ----------

1021

1063

NOMBRE DE PILA Kathryn Foley----------

APELLIDO LaNoue----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 417 Hilltop, Hummelstown, PA 17036----------

---

NOMBRE DE PILA Erich----------

APELLIDO Leith----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 1425 Bradley Avenue, Hummelstown, PA 17036----------

---

NOMBRE DE PILA Michael Francis----------

APELLIDO Rafferty----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 3711 Rolling Ridge Court, Ann Arbor, MI 48105----------

---

NOMBRE DE PILA Todd Robert----------

APELLIDO Ryder----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 521 N Ashley Street, Ann Arbor, MI 48105----------

---

NOMBRE DE PILA Ti-Zhi----------

APELLIDO Su----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 2519 Meade, Ann Arbor, MI 48105----------

---

1022
1064

NOMBRE DE PILA Devin Franklin----------

APELLIDO Welty----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 2213 Placid Way, Ann Arbor, MI 48105----------

---

NOMBRE DE PILA David Juergen----------

APELLIDO Wustrow----------

DOMICILIO (Ciudad y estado o país extranjero) 5101 John Holmes Road, Ann Arbor, MI 48103----------

---

Certificado de envío por correo expreso----------

Certifico que esta solicitud y el arancel adjunto se deposita el 5 de septiembre en el Servicio Postal de los Estados Unidos como "Oficina Postal de Envío Expreso al Destinatario" según 37 C F R 1,10 y está destinado al Comisionado Asistente de Patentes, Washington, D C 20231-

---

Firma de la persona que envía la correspondencia [Aparece una firma ilegible]----------

---

Nombre impreso o a máquina de la persona que envía la correspondencia Linda A Zerby----------

---

Número de la Etiqueta de "Correo Expreso" EK651207218US---

SOLAMENTE PRESENTACION DE SOLICITUD PROVISORIA----------

10023
1065 1 4 9

ENVIAR A Casilla de Solicitud de Patentes Provisorias, Comisionado Asistente para Patentes, Washington, D C 20231----------

[Pagina 2 de 2] P19LARGE/REV04----------

A0000151L3-01MJA----------

[Sobre el margen derecho de todas las hojas dice lo siguiente] Numero de la Etiqueta de "Correo Expreso" EK651207218US, PD- A0000151L3-01MJA----------

---

INHIBIDORES DE AMINOTRANSFERASA DEPENDIENTE DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABÉTICA----------

DM_FILE/PD A0000151L3----------

1024
1066 50

INHIBIDORES DE AMINOTRANSFERASA DEPENDIENTE DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE LA RETINOPATÍA DIABETICA

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Más de 14 000 000 de personas en los Estados Unidos padecen diabetes Todas las personas con diabetes están en riesgo de complicaciones retinales Sin embargo, las personas que sufren la diabetes de tipo I, es decir insulino dependiente, se enfrentan a un mayor riesgo de pérdida de la visión severa que las personas que sufren la diabetes de tipo II, es decir no insulino dependiente

La retinopatia es una enfermedad no inflamatoria de la retina La retinopatia diabética es cualquier retinopatia asociada con cualquier forma de diabetes mellitus

Inicialmente, el nivel alto de glucosa en sangre en las personas diabéticas produce un aumento en los factores crecimiento en sus ojos Esta condición se denomina "etapa de retinopatia pre-diabética" y puede conducir a la retinopatia diabética total, si no se la trata profilácticamente

1025/1067-S)

La retinopatía afecta a la mayor parte de las personas diabéticas en alguna medida durante sus vidas Es la causa principal de la ceguera en los estadounidenses de 20 a 74 años en la actualidad, y se espera que deteriore la visión en aproximadamente un tercio de las personas diabéticas en los Estados Unidos Cada año en los Estados Unidos, ocurren tantos como 40 000 nuevos casos de ceguera entre las personas diabéticas (CDC, datos no publicados, 1993) Las personas diabéticas son 25 veces más propensas que la población general a quedar ciegas debido a la retinopatía

La retinopatía diabética tiene dos etapas una etapa no proliferativa, que típicamente ocurre primero, y una etapa proliferativa La etapa no proliferativa, que también se denomina "retinopatía diabética de fondo", se caracteriza por el engrosamiento de la membrana de base, la pérdida de pericitos retinales, las anormalidades microvasculares, los microaneurismas intraretinales, y las hemorragias retinales (también llamadas hemorragias de "mancha de punto"), edema retinal, en particular el edema macular diabético, el cierre de vasos capilares asociado con la isquemia retinal o la mala perfusión retinal (es decir el mal desarrollo de vasos) y exudados blandos y duros La etapa proliferativa, que afecta a aproximadamente 700 000 estadounidenses (Chen et al, J Miss State Med Assoc 36(7) 201-208 (1995)), se caracteriza por

1026
1068/5

la neovascularización y el crecimiento fibrovascular (es decir, la cicatrización que involucra a elementos gliales y fibrosos) desde la retina o el nervio óptico sobre la superficie interior de la retina o el disco o la cavidad vítrea

La etapa proliferativa puede conducir al glaucoma rubeótico o neovascular El edema macular puede ocurrir en cualquier etapa y, junto con las complicaciones surgidas de la neovascularización retinal, son los dos principales problemas retinales que causan la pérdida de la visión relacionada con la diabetes

Si bien las etapas patológicas de la retinopatía diabética se han descripto bien, los eventos moleculares que subyacen a la retinopatía diabética son pobremente comprendidos Esto se debe, en parte al hecho de que la enfermedad avanza durante diez a treinta años, según cada individuo

el control estricto de la glucemia y la hipertensión y el examen oftálmico de la diabetes parece beneficioso para prevenir la enfermedad El tratamiento actual consiste en la observación regular por un oftalmólogo, la fotocoagulación por láser y la vitrectomía

El edema macular que amenaza o involucra al centro macular se trata con la fotocoagulación macular focal Las cauterizaciones por láser de intensidad moderada, pequeñas (de 50 mu de diámetro), son apuntadas a las áreas de pérdidas en la mácula (Murphy, Amer Family Physician 51(4) 785-796 (1995)) Si el edema macular persiste, puede ser necesario volver a tratarlo

Los pacientes con retinopatía no proliferativa severa a muy severa y los pacientes que están en riesgo de sufrir retinopatía proliferativa o que ya sufren retinopatía temprana o avanzada, son tratados con fotocoagulación difusa o panretinal La fotocoagulación panretinal consiste en 1 500-2 000 cauterizaciones con láser, que tienen 500 mu de diámetr, en la porción periférica media y periférica de la retina (Murphy (1995), citada arriba)

El mecanismo bioquímico mejor documentado para el desarrollo de las complicaciones microvasculares de la diabetes es la vía del sorbitol En la vía del sorbitol, la enzima de reductasa de aldosa cataliza la conversión de la glucosa en sorbitol y de la galactosa en galactitol La reductasa de aldosa tiene baja afinidad con la glucosa Por consiguiente, cuando las concentraciones de glucosa son normales, la vía está inactiva Durante la hiperglucemia, la vía del sorbitol se activa La

1028
1070 54

activación de la vía del sorbitol es importante para los pericitos retinales, por ejemplo, que no requieren insulina para la penetración de la glucosa En forma similar, las células capilares retinales parecen contener cantidades sustanciales de reductasa de aldosa (Ferris, Hospital Practice 79-89 (15 de mayo de 1993)

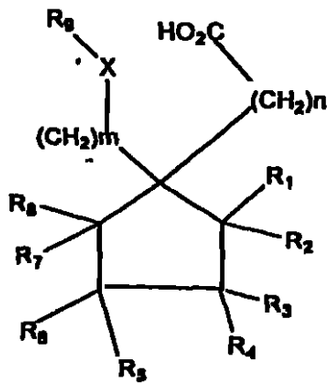
Dada la prevalencia del a retinopatía diabética, aún existe una necesidad de un tratamiento profiláctico y terapéutico efectivo de la enfermedad Por consiguiente, el principal objetivo de la presente invención es proporcionar un método para tratar profiláctica y terapéuticamente la retinopatía diabética, incluyendo el tratamiento en la etapa de la retinopatía prediabética, en la etapa de la retinopatía no proliferativa, y en la etapa de la retinopatía diabética proliferativa Éste y otros objetivos de la presente invención se harán evidentes a partir de la descripción detallada que se ofrece en la presente invención

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

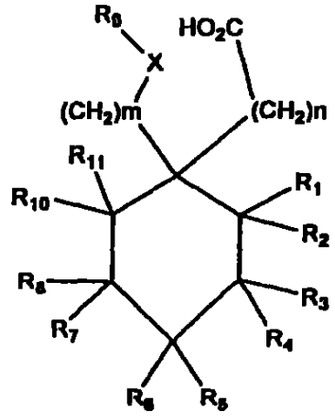
La presente invención se refiere a un método para el tratamiento profiláctico y terapéutico de la retinopatía diabética, que incluye el tratamiento en la etapa de la retinopatía prediabética, en la etapa de la retinopatía

1029
1071
55

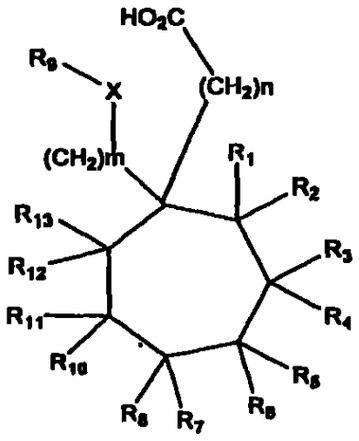
diabética no proliferativa y en la etapa de la retinopatica diabética proliferativa El método comprende la administración de un inhibidor de la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada Preferentemente, el inhibidor de la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada (BCAT) es un compuesto de las Fórmulas I, II y/o III



I



II



III

en donde

R_9 es H, alquilo, cicloalquilo, alquilo sustituido que contiene halógeno, amina, alcoxi, cicloalquilo, o hidroxi, alilo, alquinilo, alcanoilo, alcoxialcanoilo, sulfonilo, fenilo, bencilo, o arilalquilo,

m y n son independientemente un numero entero de 1 a 3,

R_1-R_4 y R_{10}-R_{14} son independientemente H, alquilo, o alquilo sustituido, y

X = NR_{14}, O, o S,

1031
1093/57

o una sal, éster, prodrogra, o amida farmacéuticamente aceptable de él

Los compuestos pueden tener uno o más átomos de carbono asimétricos y cada centro asimétrico puede ser racémico (R y S) o quiral (R o S)

Los compuestos preferidos son aquellos de la Fórmula I, II o III en donde m y n son 1, X es NR_{14}, R_9 es H, R_4 es metilo, R_4 y R_5 son metilo, R_8 es metilo, R_{10} es metilo, R_7 y R_8 son metilo, R_4 y R_8 son metilo, R_1-R_8 y R_{10}-R_{13} son H, R_9 es alquilo, R_9 es bencilo, R_{14} es alquilo, R_9 es arilalquilo, R_9 es cicloalquilo, R_1-R_8 son H, R_1-R_8 y R_{10}-R_{11} son H, R_1-R_2 y R_7-R_8 son H, o R_2 es metilo

Compuestos más preferidos son aquellos de la Fórmula II en donde R_3 es alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{11} y R_{14} son hidrógeno, y m y n son 1, y X es NR_{14}, R_3 y R_{11} son alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{10} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, y X es NR_{14}, R_3 y R_{11} son alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{10} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, R_9 es alquilo, y X es NR_{14}, y R_1-R_{11} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, y X es O

Compuestos especialmente preferidos se seleccionan de

Ácido (1-alilaminometil-ciclohexil)-acético,

1032
1074 59

Ácido (1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido {1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido {1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-alilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-alilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(2,2,2-trifuoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

1033
1075 159

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-etilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-butilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-hidroximetil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-[(hidroximetil-1-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dietil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido trans-(1R,3R)(1-Aminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (1-aminometil-2-metil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (L)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (cis/trans)-(3R)-(1-aminometil-3-metil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-bencilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-dimetilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-butilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acetico,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-metilaminoetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-[1-(acetilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isobutilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclobutil-amino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isopropilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Ácido 1-aminometil-1-ciclohexano-acético,

Ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético;

Sal de sodio del ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético,

Sal de sodio del ácido 1-(hidroximetil)ciclohexano-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-etilaminometil-ciclohexil)-acético,

1036
1078

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isobutilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isopropilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-ciclohexilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[ciclopentilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del açido [1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido [1-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Ácido [1-(acetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (3R,5S)-1-ciclobutilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del açido ((3R,5S)-1-[(2-hidroxi-metil-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(ciclopentilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclohexilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido ((3R,5S)-carboximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético;

Sal de clorhidrato del ácido *trans*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *cis*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-dimetilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-butilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-(2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

1038
1080

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de sodio del ácido ((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-etil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético,

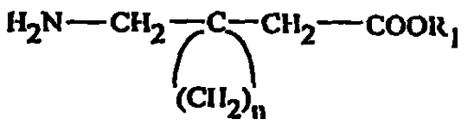
Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil]-acético, y

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

Varios de los compuestos descriptos por las Fórmulas I, II y III son conocidos

1039
1081

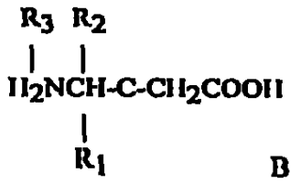
Los compuestos de la Fórmula A



A

en donde R_1 es hidrógeno o un radical de alquilo inferior y n es 4, 5 o 6 son conocidos en la Patente Estadounidense Número 4 024 175 y la Patente Estadounidense divisional Número 4 087 544 Los usos revelados son efecto protector contra el calambre inducido por la tiosemicarbazida, acción protectora contra el calambre de cardiazol, las enfermedades cerebrales, la epilepsia, los ataques de desvanecimiento, la hipocinesia, y los traumas craneales, y el mejoramiento de las funciones cerebrales Los compuestos son útiles en pacientes geriátricos Las patentes se incorporan en la presente invención como referencia

Los compuestos de la Fórmula B

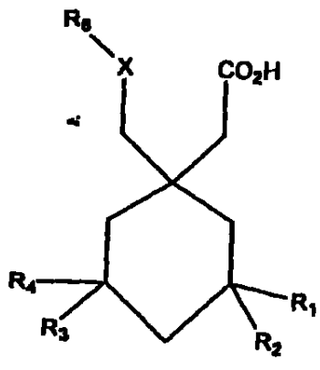


B

o una sal farmacéuticamente aceptable de ellos, en donde R_1 es un grupo alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a

6 átomos de carbono, fenilo o cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, R_2 es hidrógeno o metilo, y R_3 es hidrógeno, o carboxilo son conocidos en la Patente Estadounidense Número 5 563 175 y sus diversas divisionales Estas patentes se incorporan en la presente invención como referencia

La presente invención también revela compuestos novedosos de la Fórmula IV



IV

R_1-R_4 son hidrógeno o alquilo,

X es NR_5 u O,

R_5 es hidrógeno o alquilo,

R_6 es hidrógeno, alquilo, bencilo, alcanoilo, alcoxialcanoilo, arilalquilo, alcoxi, cicloalquilo, alilo, alquilcicloalquilo, halogenalquilo trisustituido y en donde R_1-R_4 son cada uno hidrógeno, entonces R_6 no es hidrógeno o metilo, o una sal, éster, prodroga o amida farmacéuticamente aceptable de él Al igual que los compuestos de las Fórmulas I, II y III, los

compuestos son utiles para el tratamiento profiláctico y terapéutico de la retinopatia diabética, incluyendo el tratamiento en la etapa de la retinopatia prediabética, en la etapa de la retinopatia diabética no proliferativa y en la etapa de la retinopatia diabética proliferativa

Los compuestos preferidos son aquellos de la Fórmula IV en donde R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son alquilo, R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son metilo, R_1-R_4 son hidrógeno; R_1 es alquilo y R_2-R_4 son hidrógeno, R_1 es metilo y R_2-R_4 son hidrógeno, R_5 es hidrógeno, X es NR_6, X es O, R_6 es alquilo, R_6 es bencilo, R_6 es acetilo, R_6 es fenialquilo, R_6 es cicloalquilo, R_6 es trifluoroalquilo, R_6 alquilcicloalquilo, R_6 es alcoxi, y R_6 es alilo

Otros compuestos preferidos son aquellos de la Fórmula IV en donde R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son metilo, R_1-R_4 son hidrógeno, R_1 es metilo y R_2-R_4 son hidrógeno, R_5 es hidrógeno, X es NR_6, R_6 es alquilo, R_6 es bencilo, R_6 es acetilo, R_6 es fenilalquilo, R_6 es cicloalquilo, R_6 es trifluoroalquilo, R_6 alquilcicloalquilo, R_6 es alcoxi, y R_6 es alilo

Compuestos especialmente preferidos se seleccionan de

Ácido (1-alilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido (1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido {1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido {1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-alilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

ácidotrans-((1R,3R)-1-alilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

ácido trans{(1R,3R)-3-metil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans{(1R,3R)-3-metil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

1093
1085

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético;

Ácido trans-((1R,3R)-1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-etilaminometil-3-metil-cilohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-butilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-hidroximetil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-[(hidroximetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dietil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-bencilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-dimetilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-butilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-[1-(acetilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[1-(isobutilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclobutilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[1-(isopropilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-etilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isobutilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isopropilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-ciclohexilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal clorhídrica del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[ciclopentilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético

Sal clorhídrica del açido (1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido [1-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Ácido [1-(acetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclobutilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-3,5-dimetil-1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético;

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(ciclopentil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclohexilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido ((3R,5S)-1-carboxi etil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *trans*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *cis*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-dimetilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-butilaminometil-ciclohexil)-acético,

1079
1089

Sal de clorhidrato del ácido (1-[2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de sodio del ácido ((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-aminometil-4-etil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil)-acético, y

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

La presente invención es también una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos de la Fórmula IV y un portador farmacéuticamente aceptable

Los compuestos de la Fórmula II, tales como la gabapentina, son útiles para tratar diversas condiciones tales como un trastorno neurodegenerativo (US 5 084 479), la depresión (US 5 025 035), la ansiedad/pánico (US 5 792 796), la mania/trastornos bipolares (US 5 510 381), las enfermedades antiinflamatorias (WO 98 158641), la lesión gastrointestinal (WO 99 108670), el glaucoma y el dolor Como los compuestos de la Fórmula II y de la Fórmula IV funcionan ambos para afectar la via del BCAT y afectar la síntesis del glutamato, que está involucrada en cada una de las condiciones mencionadas anteriormente, los compuestos de la Fórmula IV son utiles para tratar las condiciones Por lo tanto, la presente invención también se refiere al uso de los compuestos de la Fórmula IV para tratar cada uno o más de uno de los trastornos neurodegenerativos (que incluyen en forma no taxativa ALS, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer), la depresión la ansiedad/pánico, la mania/trastornos bipolares,

1079
1091

las enfermedades antiinflamatorias, el glaucoma, el dolor o la lesión gastrointestinal

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1 Esquema que muestra la lanzadera de BCAT en la retina La característica de lanzadera está resaltada y muestra cómo los aminoácidos de cadena ramificada en la glia pueden transaminar un α-cetoglutarato para formar un glutamato El producto de BCKA se difunde en el intersticio (mostrado en gris) hacia las neuronas donde es convertido nuevamente en el aminoácido de cadena ramificada mediante la transaminación con glutamato a través del BCATc Las abreviaturas son las siguientes BCAA = aminoácido de cadena ramificada, GLU = glutamato, GLN = glutamina, Gln'asa = glutaminasa, pyr = piruvato, PC = carboxilato de piruvato, αKG = α-cetoglutarato, BCATm = aminotransferasa de cadena ramificada de la mitocondria, BCATc = aminotransferasa de cadena ramificada citosólica, BCKA = cetoácido de cadena ramificada, GDH = deshidrogenasa de glutamato

Figura 2 Efecto de la concentración de piruvato en la incorporación de $H^{14}CO_3$ en glutamato más glutamina (A) y en el piruvato más lactato (B) por retinas ex vivo Se incubaron

1050
1092

hemi-retinas a 37°C en condiciones estándar con $H^{14}CO_3$ a 25 mM durante 20 minutos El piruvato en el medio estaba a 0,2 o 5 mM Los valores mostrados son medio ± SEM (n= 4, * p<0,05) Abreviaturas gln+glu = suma de glutamina más glutamato, pyr+lact = suma de piruvato etiquetado más lactato

Figura 3 Expresión de las isoenzimas de BCAT en retinas de ratas La extracción de tejidos, SDS-PAGE, e inmunotransferencia se realizaron como se describió usando el conjunto de detección de ECL Se usaron el anticuerpo de péptido anti-BCATc de rata purificado por inmunoafinidad (1 1 000) y el anticuerpo anti-BCATm humano

Figura 4 La influencia de la gabapentina (GBP) y los aminoácidos de cadena ramificada sobre la incorporación de $H^{14}CO_3$ en el glutamato más glutamina por retinas *ex vivo* Se incubaron semiretinas a 37°C en condiciones estándar con $H^{14}CO_3$ a 25 mM y piruvato a 0,2 mM durante 20 minutos En algunos casos la gabapentina (a 1 mM) se incluyó en el medio de incubación y en otros se incluyó GBP (a 1 mM) más los tres aminoácidos de cadena ramificada (a 0,2 mM) Los valores mostrados son medios ± SEM de HCO_3 incorporado en glutamato más glutamina en 20 minutos (n=4, * p<0,001, ** p<0,01)

1051
1093

Abreviaturas gln+glu = suma de glutamina etiquetada más glutamato

Figura 5 Influencia de la concentración de la gabapentina (GBP) en la incorporación de $H^{14}CO_3$ en glutamato y glutamina en retinas ex vivo Las condiciones fueron similares a aquellas de la Figura 4, salvo por la concentración de la GBP Los valores mostrados son medios ± SEM (n=6-7, * $p<0,05$) Abreviaturas GLN+GLU = suma de glutamina más glutamato, LACT+TCA = suma de lactato más intermedios del ciclo de TCA

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere al descubrimiento de que la inyección intraocular de glutamato produce la pérdida de células ganglionares que está relacionada con las primeras etapas de la retinopatía diabética (Vorwerk et al, IOVS 37 1618-1624 (1996)) y de que un inhibidor de la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada, tal como la gabapentina por ejemplo, es efectivo en la inhibición de la síntesis del glutamato, previniendo así la retinopatía diabética Por consiguiente, la presente invención proporciona un método para el tratamiento profiláctico y terapéutico de la retinopatía diabética, que incluye el tratamiento de la etapa de retinopatía

1052
1044

prediabética, la etapa de la retinopatía diabética no proliferativa y la etapa de la retinopatía diabética proliferativa Por "profiláctico" se entiende la protección, total o parcial, de la retinopatía diabética, en particular el edema macular diabétic Por "terapéutico" se entiende el mejoramiento de la retinopatía diabética, propiamente dicha, y la protección, total o parcial, de otra retinopatía diabética, en particular el edema macular diabético

El método comprende la administración de un inhibidor de la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada, en una cantidad suficiente para tratar la retinopatía en forma profiláctica o terapéutica Cualquier inhibidor de la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada puede ser usado en el método de la presente invención en la medida en que sea seguro y eficaz En la presente invención, "inhibidor de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada (BCAT)" se usa para referirse a tales compuestos y ha de abarcar todos los compuestos que afectan la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada en alguno o todos los puntos en la vía

Preferentemente, el inhibidor de la BCAT es un compuesto de las fórmulas I, II y/o III, descriptas anteriormente, o un

análogo que inhibe la vía de la BCAT o una prodroga de él, o una sal, éster, o amida farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los precedentes

A menos que se indique lo contrario, nos adherimos a las siguientes definiciones en toda la invención

"Alquilo" significa un radical de hidrocarburo recto o ramificado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono (a menos que se indique lo contrario) e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, n-hexilo, y similares
"Halógeno" incluye flúor, cloro, bromo y yodo
"Alquenilo" significa radicales de hidrocarburo recto y ramificado que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y una unión doble e incluye etenilo, 3-buten-1-ilo, 2-etenilbutilo, 3-hexen-1-ilo y similares

"Alquinilo" significa radicales de hidrocarburo recto y ramificado que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y una unión triple e incluye etinilo, 3-butin-1-ilo, propinilo, 2-butin-1-ilo, 3-pentin-1-ilo y similares

"Cicloalquilo" significa un grupo hidrocarbilo monocíclico o policíclico tal como ciclopropilo, cicloheptilo, ciclooctilo,

ciclodecilo, ciclobutilo, adamantilo, norpinanilo, decalinilo, norbonilo, ciclohexilo, y ciclopentilo Tales grupos pueden ser sustituidos con grupos tales como hidroxi, ceto y similares También están incluidos los anillos en los cuales 1 a 3 heteroátomos reemplazan carbonos Tales grupos se denominan "heterociclo", que significa un grupo cicloalquilo que también lleva al menos un heteroátomo selecionado de O, S, o NR_2, cuyos ejemplos son oxiranilo, pirrolidinilo, piperidilo, tetrahidropirano, piperazinilo, acilpiperazinilo, pirrolidinilo y morfolina, sustituidos o no sustituidos

"Alcoxi" se refiere a los grupos alquilo mencionados anteriormente unidos a través de oxigeno, cuyos ejemplos incluyen metoxi, etoxi, isopropoxi, terc-butoxi y similares Además, alcoxi se refiere a poliéteres tales como $-O-(CH_2)_2-O-CH_3$ y similares

Los grupos "alcanoilo" son alquilo unidos a través de un carbonilo, es decir $C_1-C_5-C(O)-$ Tales grupos incluyen formilo, acetilo, propionilo, butirilo e isobutirilo

"Acilo" significa un grupo alquilo o arilo (Ar) unido a través de un gtupo carbonilo, es decir, R-C(O)- Por ejemplo, acilo incluye un alcanoilo de C_1-C_6, que incluye alcanoilo sustituido, en donde la porción de alquilo puede ser

sustituida por NR^4R^5 o un grupo carboxílico o heterocíclico Los grupos acilo típicos incluyen acetilo, benzoilo y similares

Los grupos alquilo, alquenilo, alcoxi, y alquinilo descriptos anteriormente son opcionalmente sustituidos, preferentemente por 1 a 3 grupos seleccionados de NR^4R^5, fenilo, fenilo sustituido, tio alquilo de C_1-C_6, alcoxi de C_1-C_6, hidroxi, carboxi, alcoxicarbonilo de C_1-C_6, halo, nitrilo, cicloalquilo, y un anillo carbocíclico de 5 ó 6 miembros que tiene 1 ó 2 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, nitrógeno sustituido, oxígeno y azufre "Nitrógeno sustituido" significa un nitrógeno que lleva alquilo de C_1-C_6 o $(CH_2)_nPh$ en donde n es 1, 2 ó 3 La sustitución con perhalo y polihalo también está contemplada

Ejemplos de grupos alquilo sustituidos incluyen 2-aminoetilo, pentacloroetilo, trifluorometilo, 2-dietilaminoetilo, 2-dimetilaminopropilo, etoxicarbonilmetilo, 3-fenilbutilo, metanilsulfanilmetilo, metoximetilo, 3-hidroxipentilo, 2-carboxibutilo, 4-clorobutilo, 3-ciclopropilpropilo, pentafluoroetilo, 3-morfolinopropilo, piperazinilmetilo, y 2-(4-metilpiperazinil)etilo

Ejemplos de grupos alquinilo sustituidos incluyen 2-metoxietinilo, 2-etilsulfaniletinilo, 4-(1-piperazinil)-3-(butinilo), 3-fenil-5-hexinilo, 3-dietilamino-3-butinilo, 4-cloro-3-butinilo, 4-ciclobutil-4-hexenilo, y similares

Los grupos alcoxi sustituidos típicos incluyen aminometoxi, trifluorometoxi, 2-dietilaminoetoxi, 2-etoxicarboniletoxi, 3-hidroxipropoxi, 6-carboxihexiloxi, y similares

Además, los ejemplos de grupos alquilo, alquenilo y alquinilo sustituidos incluyen dimetilaminometilo, carboximetilo, 4-dimetilamino-3-buten-1-ilo, 5-etilmetilamino-3-pentin-1-ilo, 4-morfolinobutilo, 4-tetrahidropirinidilbutilo, 3-imidazolidin-1-ilpropilo, 4-tetrahidrotiazol-3-il-butilo, fenilmetilo, 3-clorofenilmetilo y similares

Los términos "Ar" y "arilo" se refieren a grupos aromáticos no sustituidos y sustituidos Los grupos heteroarilo tienen de 4 a 9 átomos de carbono, de 1 a 4 de los cuales se seleccionan independientemente del grupo formado por O, S y N Los grupos heteroarilo tienen 1 o 2 heteroátomos en un anillo aromático de 5 o 6 miembros Los sistemas de anillos aromáticos mono y biciclicos están incluidos en la definición de arilo y heteroarilo Los grupos arilo y heteroarilo típicos incluyen fenilo, 3-clorofenilo, 2,6-dibromofenilo, piridilo, 3-

metilpiridilo, benzotienilo, 2,4,6-tribromofenilo, 4-etilbenzotienilo, furanilo, 3,4-dietilfuranilo, naftilo, 4,7-dicloronaftilo, pirrol, pirazol, imidazol, tiazol, y similares

Los grupos Ar preferidos son fenilo y fenilo sustituido por 1, 2, o 3 grupos seleccionados independientemente del grupo formado por grupos alquilo, alcoxi, tio, tioalquilo, hidroxi, carbonilo, amino de la fórmula $-NR^4R^5$, y $T(CH_2)_mQR^4$ o $T(CH_2)_mCO_2R^4$ en donde m es de 1 a 6, T es O, S, NR^4, $N(O)R^4$, NR^4R^6Y, o CR^4R^5, Q es O, S, NR^5, $N(O)R^5$, o NR^5R^6Y en donde R^4 y R^5 son los descriptos anteriormente, y R^7 es alquilo o alquilo sustituido, por ejemplo, metilo, tricloroetilo, difenilmetilo, y similares Los grupos alquilo y alcoxi pueden ser sustituidos como se definió anteriormente Por ejemplo, los grupos típicos son carboxialquilo, alcoxicarbonilalquilo, hidroxialquilo, hidroxialcoxi, y alcoxialquilo

El símbolo "-" significa una unión

El término "paciente" significa todos los animales incluyendo los humanos Ejemplos de pacientes incluyen humanos, vacas, perros, gatos, cabras, ovejas y cerdos

Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, que incluyen las formas hidratadas En general, las formas solvatadas, que incluyen las formas hidratadas, son equivalentes a las formas no solvatadas y han de ser abarcados dentro del alcance de la presente invención

Ciertos compuestos de la presente invención poseen uno o más centros quirales y cada centro puede existir en la configuración R(D) o S(L) La presente invención incluye todas las formas enantioméricas así como las mezclas apropiadas de ellas

Los compuestos de las fórmulas I, II y III son capaces de formar además análogos farmacéuticamente aceptables que comprenden sales, ésteres, amidas y prodrogas Como se usa en la presente invención, el término "sales, ésteres, amidas y prodrogas farmacéuticamente aceptables' se refiere a aquellas sales de carboxilato, sales de adición de aminoácidos, ésteres, amidas y prodrogas de los compuestos de la presente invención que son, a juicio del médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica indebida, y similares, conmensurable con una relación riesgo/beneficio razonable y efectivos para el uso para el cual están destinados, así como

las formas zwiteriónicas, cuando son posibles, de los compuestos de la invención El término sales' se refiere a las sales de adicion ácidas inorgánicas y orgánicas, relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención Estas ales pueden prepararse en el lugar durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos o mediante la reacción por separado del compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y el aislamiento de la sal así formada y que incluye, en forma no taxativa, las sales de adición ácidas y/o básicas, solventes, N-óxidos de un compuesto de las Fórmulas I, II y III " Esta invención también proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de las Fórmulas I, II o III junto con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable de ellos La totalidad de stas formas están dentro de la presente invención

Las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables de los compuestos de las Fórmulas I, II y III incluyen sal s derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfurico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso, y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos, tales como los ácidos mono o dicarboxílicos alifáticos, ácidos alcanoicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxi alcanoicos, ácidos alcanodioicos, ácidos aromáticos,

1102

ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc Tales sales entonces incluyen sulfato, pirosulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, nitrato, fosfato, monhidrogenfosfato, dihidrogenfosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, caprilato, isobutirato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, mandelato, benzoato, clorobenzoato, metilb nzoato, dinitrobenzoato, ftalato, bencensulfonato, toluensulfonato, fenilacetato, citrato, lactato, maleato, tartrato, metanosulfonato, y similares También están contempladas las sales de aminoácidos tales como arginato, gluconato, galacturonato, y similares, ver, por ejemplo, Berge et al, "Sales Farmacéuticas", *J of Pharmaceutical Sci nce*, 1977,66 1-19

Las sales de adicion ácidas de los compuestos básicos se preparan poniendo a la forma de base libre en contacto con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir la sal en la forma convencional La forma de base libre puede ser regenerada poniendo a la forma de sal en contacto con una base y aislando a la base libre en la forma convencional Las formas de base libre difieren algo de sus respectivas formas de sal en ciertas propiedades físicas tales como la solubilidad en solventes polares, pero de lo contrario las

/DG/
1103

sales son equivalentes a su respectiva base libre para los propósitos de la presente invención

Las sales de adición básicas farmacéuticamente aceptables se forman con metales o aminas, tales como hidróxidos de metales alcalinos y alcalinotérreos, o aminas orgánicas Ejemplos de los metales usados como cationes son sodio, potasio, magnesio, calcio y similares Los ejemplos de aminas adecuadas son N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metilglucamina, y procaína, ver, por ejemplo, Berge et al, mencionado anteriormente

Las sales de adición básicas de compuestos ácidos, se preperan poniendo en contacto la forma ácida libre con una cantidad suficiente de la base deseada para producir la sal en la forma convencional La forma ácida libre puede regenerarse poniendo a la forma de sal en contacto con un ácido y aislando el ácido libre en una forma convencional Las formas ácidas libres difieren algo de sus respectivas formas de sal en ciertas propiedades físicas tales como la solubilidad en solventes polares, pero de lo contrario las sales son equivalentes a sus respectivo ácido libre para los propósitos de la presente invención

Los ejemplos de ésteres no tóxicos, farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen los ésteres de alquilo de C_1-C_6 en donde el grupo alquilo es una cadena recta o ramificada Los ésteres aceptables también incluyen los ésteres de cicloalquilo de C_1-C_5 así como los ésteres de arilalquilo tales como, en forma no taxativa, bencilo Los ésteres de alquilo de C_1-C_4 son preferidos Los ésteres de los compuestos de la presente invención pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales

Los ejemplos de amidas no tóxicas, farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen amidas derivadas de amoníaco, aminas primarias de alquilo de C_1-C_6 y dialquilaminas de C_1-C_6 secundarias en donde los grupos alquilo son cadenas rectas o ramificadas En el caso de las aminas secundarias, la amina también puede estar en la forma de un heterociclo de 5 o 6 miembros que contiene un átomo de nitrógeno Las amidas derivadas de amoníaco, áminas primarias de alquilo de C_1-C_3 y aminas secundarias de dialquilo de C_1-C_2 son preferidas Las amidas de los compuestos de la invención pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales

El término "prodroga" se refiere a compuestos que seon transformados rápidamente en vivo para dar el compuesto parental de las fórmulas precedentes, por ejemplo, por

1063
1105

hidrólisis en sangre Se proporciona una discusión completa en T Higuchi y V Stella, "Prodrogas como Sistemas de Suministro Novedosos', Vol 14 de la A C S Symposium Series, y en Portadores Bioreversibles en el Diseño de Drogas, ed Edward B Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, ambas incorporadas en la presente invención como referencia En general, una prodroga es una droga que ha sido modificada químicamente y puede ser biológicamente inactiva en su lugar de acción, pero que puede ser degradada o modificada por uno o más procesos enzimáticos u otros procesos en vivo hacia la forma bioactiva parental en vivo

Una cantidad terapéuticamente efectiva es una cantidad de un compuesto de las Fórmulas I, II o III, que cuando se administra a un paciente, mejora un síntoma de la enfermedad

El inhibidor de la BCAT, que es preferentemente un compuesto de las Fórmulas I, II y/o III, un análogo que inhibe la vía de la BCAT de las Fórmulas I, II y/o III, una prodroga que inhibe la vía de la BCAT de las Fórmulas I, II y/o III, o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los precedentes, puede administrarse de acuerdo con el método de la presente invención mediante cualquier vía Las vías de administración adecuadas incluyen la vía sistémica, tal como oral o de inyección , tópica, intraocular, periocular (por ejemplo,

subTenon's), subconjuntiva, subretinal, supracoroidal y retrobulbar La forma en que se administra el inhibidor de la BCAT depende, en parte, de si el tratamiento de la retinopatía es profiláctico o terapéutico La forma en que se administra el inhibidor de la BCAT para el tratamiento terapéutico de la retinopatía depende, en parte, de la causa de la retinopatía

Por ejemplo, dado que la diabetes es la principal causa de la retinopatía, el inhibidor de la BCAT puede administrarse profilácticamente tan pronto como se detecta el estado de retinopatía prediabética Para el tratamiento profiláctico de la retinopatía que puede derivar de la diabetes, el inhibidor de la BCAT preferentemente se administra en forma sistémica, por ejemplo, por vía oral o de inyección Para el tratamiento terapéutico de la retinopatía diabética no proliferativa, el inhibidor de la BCAT puede administrarse en forma sistémica, por ejemplo por vía oral o de inyección, o intraocular La retinopatía diabética proliferativa puede ser tratada terapéuticamente mediante la administración del inhibidor de la BCAT por vía intraocular, tópica, subconjuntiva o periocular (por ejemplo subTen's), por ejemplo Preferentemente, el inhibidor de la BCAT se administra por vía intraocular, tópica, subconjuntiva o periocular (por ejemplo, subTenon's) para el tratamiento profiláctivo, o terapéutico de la retinopatía, antes, durante o después de la

extracción quirurgica de un tejido cicatrizado de un ojo, generado durante la neovascularización durante la etapa diabética proliferativa

El inhibidor de la BCAT preferentemente se administra tan pronto como es posible después de que se ha determinado que un animal, tal como un mamifero, especificamente un humano, está en riesgo de retinopatia (tratamiento profiláctico) o ha comenzado a desarrollar retinopatia (tratamiento terapéutico) El tratamiento depende, en parte, del inhibidor de la BCAT particular que se use, de la cantidad del inhibidor de la BCAT administrada, de la vía de administración, y de la causa y medida, si hubiera, de la retinopatia desarrollada

Un conocedor del arte apreciará que los métodos adecuados para administrar un inhibidor de la BCAT, que es útil en el método de la presente invención, están disponibles Aunque se puede utilizar más de una vía para administrar un inhibidor de la BCAT particular, una vía particular puede proporcionar una reacción más inmediata y más efectiva que otra vía Por consiguiente las vías de administración descriptas son simplemente ejemplos y no son de ningun modo taxativas

La dosis administrada a un animal, particularmente un humano, de acuerdo con la presente invención, debe ser suficiente para

producir la respuesta deseada en el animal en un marco de tiempo razonable Un experto en el arte reconocerá que la dosificación depende de una variedad de factores, que incluyen la resistencia del inhibidor de la BCAT particular empleado, la edad, la especie, la condición y el estado de la enfermedad, y el peso corporal del animal, así como la cantidad de la retina que está a punto de ser afectada o que está afectada realmente por la retinopatía El tamaño de la dosis también será determinado por la vía, el ritmo y la frecuencia de la administración así como la existencia, naturaleza y nivel de cualquier efecto colateral adverso que pueda acompañar a la administración de un inhibidor de la BCAT particular y el efecto fisiológico deseado Un experto en el arte apreciará que diversas condiciones o estados de enfermedad, en particular, condiciones o estados de enfermedad crónicos, pueden requerir un tratamiento prolongado que consiste en múltiples administraciones

Las dosis y los regímenes de dosificación pueden ser determinados por técnicas convencionales que hallan la gama conocidas para los expertos en el arte En general, el tratamiento se inicia con dosificaciones más pequeñas, que son inferiores a la dosis óptima del compuesto Luego, la dosificación es aumentada en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo según las circunstancias El método

de la presente invención típicamente consiste en la administración de 1 mg/kg/día a 100 mg/kg/día, preferentemente de 15 mg/kg/día a 50 mg/kg/día , si se administra en forma sistémica La administración intraocular típicamente consiste en la administración de 0,1 mg a 5 mg en total, preferentemente de 0,5 mg en total a 1 mg en total Una concentración preferida para la administración tópica es de 100 mu M

Las composiciones para su uso en el método de la presente invención preferentemente comprenden un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad de un inhibidor de la BCAT suficiente para tratar la retinopatía en forma profiláctica o terapéutica El portador puede ser cualquiera de aquellos que se usan convencionalmente y está limitado solamente por consideraciones fisicoquímicas, tales como la solubilidad y la falta de reactividad con el compuesto, y por la vía de administración Un conocedor ordinario del arte apreciará que, además de las siguientes composiciones farmacéuticas descriptas, el inhibidor de la BCAT puede formularse como composiciones poliméricas, complejos de inclusión, tales como complejos de inclusión de ciclodextrina, liposomas, microesferas, microcápsulas y similares (ver, por ejemplo, las Patentes Estadounidenses Nos 4 997 652, 5 185 152 y 5 718 922)

El inhibidor de la BCAT puede formularse como una sal de adición farmacéuticamente aceptable Los ejemplos de sales de adición farmacéuticamente aceptables para su uso en la cmp farmacéutica incluyen aquellas derivadas de ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico, y sulfúrico, y de los ácidos orgánicos, tales como ácido tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, arilsulfónico, por ejemplo, ácido p-toluensulfónico

Los excipientes farmacéuticamente aceptables descriptos en la presente invención, por ejemplo, vehículos, coadyuvantes, portadores o diluyentes, son conocidos para los expertos en el arte y el público puede conseguirlos fácilmente Se prefiere que el portador farmacéuticamente aceptable sea uno que sea químicamente inerte para el inhibidor de la BCAT y uno que no tenga efectos colaterales perjudiciales o toxicidad en las condiciones de uso

La elección del excipiente será determinada en parte por el inhibidor de la BCAT particular, así como por el método particular usado para administrar la composición Por consiguiente, existe una amplia variedad de formulaciones adecuadas de la composición farmacéutica de la presente

invención Las siguientes formulaciones son simplemente ejemplos y de ninguna manera son taxativas

Las formulaciones inyectables están entre aquellas preferidas de acuerdo con el método de la presente invención Los requerimientos para los portadores farmacéuticamente efectivos para las composiciones inyectables son conocidos por los expertos en el arte (ver Pharmaceutics and Pharmacy Practice, J B Lippincott Co , Philadelphia, Pa , Banker and Chalmers, eds , páginas 238-250 (1982), y Manual de la ASHP sobre Drogas Inyectables, Toissel, 4ª ed , páginas 622-630 (1986)) Se prefiere que tales composiciones inyectables se administren por vía intramuscular, intravenosa o intraperitoneal

Las formulaciones tópicas son conocidas para los expertos en el arte Tales formulaciones son adecuadas en el contexto de la presente invención para la aplicación a la piel El uso de parches, protectores corneales (ver, por ejemplo, la Patente Estadounidense No 5 185 152) y de soluciones oftálmicas (ver, por ejemplo, la Patente Estadounidense No 5 7210 182) y de ungüentos, por ejemplo, gotas oculares, está también dentro de la pericia del arte

Las formulaciones adecuadas para la administración oral comprenden (a) soluciones líquidas, tales como una cantidad

efectiva del compuesto disuelto en diluyentes, tales como agua, solución salina, o jugo de naranja, (b) cápsulas, tabletas, grageas, que contienen cada una cantidad predeterminada del ingrediente activo, como sólidos o gránulos, (c) polvos, (d) suspensiones en un líquido apropiado, y (e) emulsiones adecuadas Las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes, tales como agua y alcoholes, por ejemplo, etanol, alcohol bencílico y los alcoholes de polietileno, con o sin el agregado de un agente tensoactivo, agente de suspensión, o agente emulsionador farmacéuticamente aceptable Las formas de cápsulas pueden ser del tipo ordinario de gelatina con recubrimiento duro o blando que contienen, por ejemplo, agentes tensoactivos, lubricantes, rellenos inertes, tales como lactosa, sucrosa, fosfato de calcio, y almidón de maíz Las formas de tabletas pueden incluir uno o más de lactosa, sucrosa, manitol, almidón de maíz, almidón de papa, ácido algínico, celulosa microcristalina, acacia, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, sodio de croscomelosa, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, ácido estárico, y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes tampones, agentes desintegrantes, agentes humectantes, conservantes, agentes saborizantes, y excipientes farmacéuticamente compatibles Las formas de grageas pueden comprender el ingrediente activo en un sabor, generalmente

sucrosa y acacia o tragacanto así como pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sucrosa y acacia, emulsiones, geles, y similares que contienen, además del ingrediente activo, aquellos excipientes que con conocidos en el arte

La efectividad de una droga administrada oralmente depende del transporte eficinete de la droga a través del epitelio de la mucosa y de su estabilidad en la circulación enterohepática Las drogas que son efectivas después de la administración parenteral pero menos efectivas por la vía oral, o cuya semivida en el plasma se considera demasiado corta, pueden ser químicamente modificadas en una forma de prodroga

La formulación adecuada para la administración parenteral incluye soluciones de inyección estériles isotónicas, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos, y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor al cual está destinada, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizadores, agentes espesantes, estabilizadores, y conservantes El inhibidor puede administrarse en un diluyente fisiológicamente aceptable en un portador farmacéutico, tal como un líquido estéril o una mezcla de líquidos, que incluyen agua, solución salina,

dextrosa acuosa y soluciones de azucares relacionados, un alcohol, tal como etanol, isopropanol, o alcohol hexadecílico, glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicol, sulfóxido de dimetilo, cetales de glicerol, tales como 2,2,-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, éteres, tales como poli(etilenglicol) 400, un aceite, un ácido graso, un éster o glicérido de ácido graso, o un glicérido de ácido graso acetilado, con o sin el agregado de un agente tensoactivo farmacéuticamente aceptable, tal como un jabón o un detergente, un agente de suspensión, tal como pectina, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, o carboximetilcelulosa, o agentes emulsionadores y otros coadyuvantes farmacéuticos Los aceites, que pueden usarse en formulaciones parenterales incluyen petróleo, aceites animales, vegetales o sintéticas Ejemplos específicos de aceites incluyen aceite de maní, de soja, de sésamo, de semilla de algodón, de maíz, de oliva, de petrolato y mineral

Los ácidos grasos adecuados para su uso en formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico, y ácido isoesteárico El oleato de etilo y el miristato de isopropilo son ejemplos de ésteres de ácidos grasos

Los jabones adecuados para su uso en formulaciones parenterales incluyen sales de metales alcalinos grasos,

amonio, y trietanolamonio, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetil dialquil amonio, y haluros de alquil piperidinio, (b) detergentes aniónicos tales como, por ejemplo, sulfonatos de alquilo, arilo y olefina, sulfatos de alquilo, olefina, éter y monoglicérido, y sulfosuccinatos, (c) detergentes no iónicos tales como, por ejemplo, óxidos de amina grasos, alcanolamidas de ácidos grasos, y copolímeros de polioxietileno polioxipropileno, (d) detergentes anfóteros tales como, por ejemplo, alquil-p-aminopropionatos, y sales de amonio cuaternario de 2-alquil-imidazolina, y (e) mezclas de ellos

Las formulaciones parenterales típicamente contienen un 0,5% a 25% en peso del ingrediente activo en solución Se pueden usar conservantes y tampones Para minimizar o eliminar la irritación en el sitio de la infección, tales composiciones pueden contener uno o más agentes tensoactivos no iónicos que tienen un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) de 12 a 17

La cantidad del agente tensoactivo en tales formulaciones típicamente está en la gama del 5% al 15% en peso Los agentes tensoactivos adecuados incluyen los ésteres de ácido graso de polietilen sorbitan, tales como monooleato de sorbitan y los agregados de peso molecular alto de óxido de etileno con una

base hidrófoba, formados mediante la condensación de óxido de propileno con propilenglicol Las formulaciones parenterales pueden presentarse en recipientes sellados de dosis unitarias o de dosis multiples, tales como ampollas y tubos, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solamente el agregado del excipiente liquido estéril, por ejemplo, agua, para las inyecciones, inmediatamente antes del uso Las soluciones y suspensiones para inyecciones extemporáneas pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles de la clase descripta anteriormente

Tales composiciones pueden formularse como formulaciones intraoculares, formulaciones de liberación sostenida o dispositivos (ver, por ejemplo, la Patente Estadounidense No 5 378 475) Por ejemplo, se puede usar gelatina, sulfato de condroitina, un polifosfoéster, tal como bis-2-hidroxietil-tereftalato (BHET), o un ácido polilácticо-glicólico (en diversas proporciones), para formular formulaciones de liberación sostenida Los implantes (ver, por ejemplo las Patentes Estadounidenses Nos 5 443 505 5 853 224 y 4 997 652), dispositivos (ver, por ejemplo, las Patentes Estadounidenses Nos 5 554 187, 4 863 457, 5 098 443 y 5 725 493), tales como un dispositivo implantable, por ejemplo, un depósito mecánico, un dispositivo intraocular o un

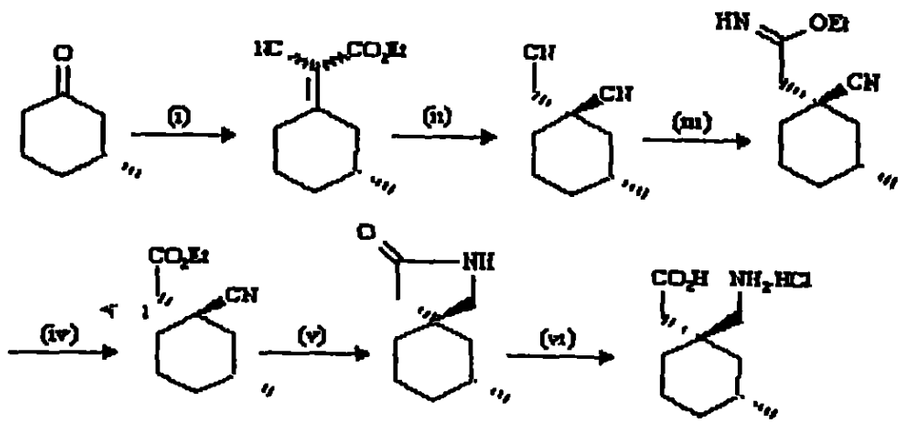
dispositivo extraocular con un conducto intraocular (por ejemplo, de 100 mu a 1 mm de diámetro), o un implante o un dispositivo compuesto por una composición polimérica como las descriptas anteriormente

El método de la presente invención puede también consistir en la co-administración de otros compuestos farmacéuticamente activos Por "co-administración" se entiende la administración antes, simultáneamente con, por ejemplo en combinación con el inhibidor de la BCAT en la misma formulación o en formulaciones separadas, o después de la administración de un inhibidor de la BCAT como los descriptos anteriormente Por ejemplo, los corticosteroides, por ejemplo, prednisona, metilprednisolona, dexametasona, o triamcinalona acetinida, o compuestos antiinflamatorios que no continen corticosteroides, tales como ibuprofeno o flubiprobeno, pueden ser así co-administrados En forma similar, las vitaminas y minerales, por ejemplo, zinc, antioxidantes, por ejemplo carotenoides (tales como zeaxantina o luteína) y los micronutrientes pueden ser co-administrados

~~1076~~
1118

Esquemas sintéticos generales para preparar compuestos de las Fórmulas I-IV

EJEMPLO 1 Clorhidrato del ácido trans-(1R,3R)(1-aminometil-3-metil-ciclohexil)-acetico



(i) EtO_2CCH_2CN, NH_4Ac, AcOH, Tolueno, 120°C

(ii) a NaCN, EtH (95%), H_2O, 115°C,b HCl(g)

(iii) EtOH, HCl(g), Tolueno

(iv) HCl, H_2O

(v) H_2, EtOH/NH_3, Ni Raney, 30°C-35°C

(vi) HCl, H_2O, 140°C

Paso i Etil éster del ácido 2-ciano-((R)-3-metil-ciclohexilideno)-acético

~~1097~~
1119

Una mezcla de 3-(R)-metilciclohexanona (125 mmol), cianoacetato de etilo (124 mmol), acetato de amonio (12,5 mmol) y ácido acético glacial (24 mmol) se refluyeron con una trampa de Dean Stark durante 24 horas La mezcla se enfrió y se lavó con H_2O Los lavados con H_2O se extrajeron con tolueno Los extractos de tolueno se combinaron con la capa orgánica original, se secaron sobre $MgSO_4$ y se evaporaron con un solvente El aceite crudo se purificó mediante destilación de Kugelrohr para dar un aceite (Temperatura del horno de punto de ebullición 150°C-160°C) Rendimiento del 86%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 1,01-1,05 (3H, m), 1,17-1,32 (1H, m), 1,35 (3H, t, J=7 Hz), 1,42-2,30 (6H, m), 2,98 (1H, d, J=13 Hz), 3,74 (1H, d, J=13 Hz), 4,27 (2H, q, J=7 Hz)

MS (CI) m/z 208 (MH^+)

Análisis $C_{12}H_{17}NO_2$ Calculado C 69,54 H 8,27 N 6,76

Hallado C 69,44 H 8,22 N 6,76

Paso ii trans-(1R,3R)-1-Cianometil-3-metil-ciclohexanocarbonitrilo

A una solución de NaCN (40 mmol) en 6 ml de H_2 y 160 ml de etanol (95%), se agregó el éster del ácido 2-ciano((R)-3-metil-cicloehxilideno)-acético (40 mmol) Pasadas 22 horas en reflujo la solución enfriada se filtró, el filtrado se acidificó con HCl gaseoso y se filtró nuevamente El solvente

y el aceite crudo se purificó mediante cromatografía de columna para dar un sólido cristalino de color amarillo pálido Rendimiento del 88%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 0,90 (1H, m), 0,98 (3H, d, J=6 Hz), 1,11 (1H, t, J=12 Hz), 1,38 (1H, dt, J=4, 9 Hz), 1,60-1,90 (4H, m), 2,07 (2H, m), 2,68 (2H, s)

MS (CI) m/z 163 (MH^+)

Análisis $C_{10}H_{14}N_2$ Calculado C 74,04 H 8,70 N 17,27

Hallado C 69,44 H 8,71 N 17,25

Paso iii Etil éster del ácido trans-2-((1R,3R)-1-ciano-3-metil-ciclohexil)-acetimídico

A una solución de trans-(1R,3R)-1-cianometil-3-metil-ciclohexanocarbonitrilo (6,2 mmol) en 30 ml, etanol (absoluto) se agregaron 30 ml de tolueno seco La solución se enfrió en hielo mientras se la saturaba con HCl gaseoso La solución detenida fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante 24 horas El solvente se removió y el residuo sólido se trituró con dietil éter para obtener un precipitado que se secó para dar un sólido cristalino Rendimiento 50%

Punto de fusión 118°C-120°C

^{1}HNMR (DMSO) 400 MHz δ 0,8-0,89 (1H, m), 0,91 (3H, d, J=6,3 Hz), 1,06-1,12 (1H, m), 1,24-1,35 (1H, m), 1,37 (3H, t, J=7 Hz), 1,41-1,95 (6H, m), 3,02 (2H, s), 4,49 (2H, q, J=7 Hz)

MS (CI) m/z 195 (MH^+)

Análisis $C_{12}H_{20}N_2O$ 1,08M HCl Calculado C 58,19 H 8,58 N 11,31

Hallado 58,25 H 8,59 N 11,59

Paso iv Etil éster del acido trans-((1R,3R)-1-ciano-3-metil-ciclohexil)-acético

Etil éster del ácido trans-2-((1R,3R)-1-ciano-3-metil-ciclohexil)-acetimídico (1,1 mmol) se disolvió en H_2O helada (40 ml) y el pH se ajustó con HCl 1 N a pH 1,5 La solución se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas Se agregó acetato de etilo (30 ml) y la capa orgánica se lavó con H_2O, se secó y el solvente se removió para dejar un aceite claro Rendimiento 82%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 0,78-0,90 (1H, m), 0,93 (3H, d, J=6 Hz), 0,97-1,0 (1H, m), 1,23-1,25 (1H, m), 1,29 (3H, t, 7,2 Hz), 1,57-1,80 (4H, m), 2,05-2,08 (2H, Br t), 2,54 (2H, s), 4,20 (2H, q, J=7,2 Hz)

MS (CI) m/z 210 (MH^+)

Análisis $C_{12}H_{19}NO_2$ Calculado C 68,87 H 9,15 N 6,69

Hallado C 68,87 H 9,11 N 6,90

Paso v trans-(5R,7R)-7-Metil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona

Etil éster del ácido trans-((1R,3R)-1-ciano-3-metil-ciclohexil)-acético (8,9 mmol) se disolvió en NH_3/EtOH (7%, 40 ml) junto con Níquel Raney prelavado (con H_2O seguida por EtOH) en un matraz de Parr de 250 ml La solución se hidrogenó a 30°C, 46 psi durante 24 horas La solución enfriada se filtró a través de un tapón de celita, lavando acetato de etilo El solvente se removió del filtrado para dejar un sólido blanco
Rendimiento 30%
Punto de fusión 92°C-98°C
^{1}HNMR (DMSO) 400 MHz δ 0,75-0,82 (1H, m), 0,84 (3H, d, J=6,4 Hz), 0,88-0,94 (1H, m), 1,14-1,19 (1H, m), 1,20-1,50 (2H, m), 1,50-1,63 (4H, m), 1,91 (2H, s), 3,03 (2H, s), 7,42 (1H, s) .
MS (CI) m/z 168 (MH^+)
Análisis $C_{10}H_{17}NO$ Calculado C 71,81 H 10,25 N 8,37
Hallado C 71,80 H 10,29 N 8,31

Paso vi Clorhidrato del ácido trans-((1R,3R)-1-aminometil-3-metil-ciclohexil)-acético

trans-(5R,7R)-7-Metil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (2,17 mmol) se disolvió en una solución de HCl a 10 M (5 ml) y H_2O (5 ml) y la mezcla se refluyó a aproximadamente 140°C durante 5 horas La solución enfriada se diluyó con 10 ml de H_2O y 10 ml de DCM

y la capa acuosa se lavó nuevamente con 2x15 ml de DCM La capa acuosa se redujo luego hasta secarse para dejar un sólido blanco Rendimiento 76%

Punto de fusión 148°C-155°C $[\alpha]_D$ = -2,5 (T=20°C, c=1, MeOH)

Un isómero (RR)

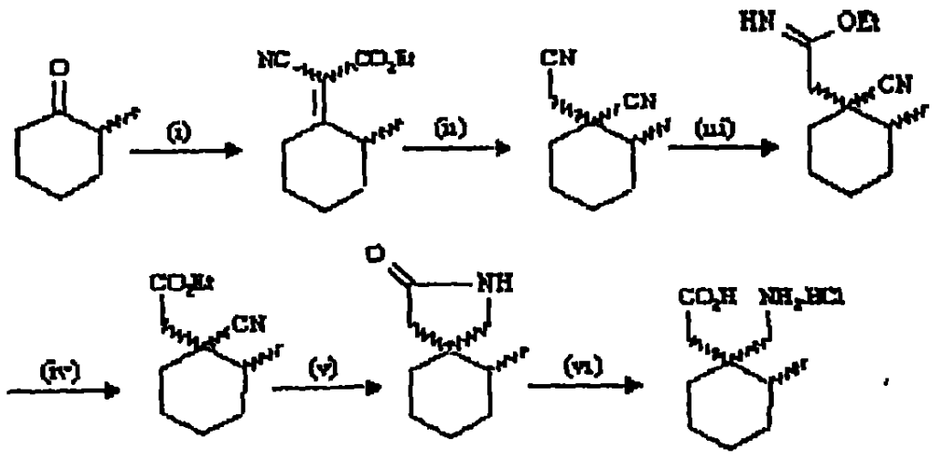
^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 0,69-0,79 (1H, m), 0,82 (3H, d, J=6 Hz), 0,87-0,90 (1H, m), 1,12-1,20 (1H, dt, J=4,5, 13,3 Hz), 1,34-1,50 (3H, m), 1,60-1,63 (3H, m), 2,30 (2H, s), 3,01 (2H, s), 7,93 (3H, Br s)

MS (CI) m/z 186 (MH^+)

Análisis $C_{10}H_{19}NO_2$ 1,1 HCl Calculado C 53,29 H 8,99 N 6,21

Hallado . C 53,23 H 8,99 N 6,45

EJEMPLO 2 Clorhidrato del ácido (1-aminometil-2-metil-ciclohexil)-acetico



1082

1124

(i) EtO_2OCH_2CN, NH_4Ac, AcOH, Tolueno, 120°C

(ii) a NaCN, EtOH (95%), H_2O, 115°C, b HCl(g)

(iii) EtOH, HCl(g), Tolueno

(iv) HCl, H_2O

(v) H_2, EtOH/NH_3, Níquel Raney, 30°C-50°C

(vi) HCl, H_2O, 140°C

Paso i Etil éster del ácido 2-ciano-(2-metil-ciclohexilideno)-acético

(+/-)2-Metil ciclohexanona (80 mmol), etil cianoacetato (80 mmol), acetato de amonio (8 mmol) y ácido acético glacial (16 mmol) reaccionaron como en el método general (Ejemplo 1) paso 1 para dar un aceite claro Rendimiento del 76%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 1,23 (3H, dd, J=7, 10 Hz), 1,35 (3H, t, J=7 Hz), 1,55-1,82 (5H, m), 1,93-2,05 (1H, m), 2,17 (1H, dt, J=5, 14 Hz), 2,47 (1H, dt, J= 5, 9 Hz), 2,92-2,97 (1H, Br d, J= 15 Hz), 3,30-3,35 (1H m), 3,81-3,86 (1H, Br d, J=15 Hz), 4,06-4,14 (1H, m), 4,23-4,30 (3H, dq, J= 1, 6 Hz)

MS (CI) m/z 208 (MH^+)

Análisis $C_{12}H_{17}NO_2$ Calculado C 69,54 H 8,27 N 6,76

Hallado C 69,26 H 8,26 N 6,66

Paso ii 1-Cianometil-2-metil-ciclohexanocarbonitrilo

1083
1175

Etil éster del ácido 2-ciano-(2-metil-ciclohexilideno)-acético (37 mmol), NaCN (37 mmol), reaccionaron como en el método general (Ejemplo 1), paso ii El sólido crudo se purificó mediante cromatografía de columna (3 1, heptano acetato de etilo), para dar un aceite claro Rendimeinto 76%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 1,06 (3H, d, J=6,8 Hz), 1,11 (1H, d, J=6,8 Hz), 1,20-2,20 (18H, m), 2,77 (2H, dd, J=16,8 Hz), 2,63 (2H, dd, J=16,8 Hz)

MS (CI) m/z 163 (MH^+)

Análisis $C_{10}H_{14}N_2$ Calculado C 73,49 H 8,69 N 16,86

Hallado C 73,24 H 8,73 N 17,08

Paso iii Etil éster del ácido 2-(1-ciano-2-metil-ciclohexil)-acetimídico

1-Cianometil-2-metil-ciclohexanocarbonitrilo (7,3 mmol) reaccionó como en el método general (Ejemplo 1), Paso iii para dar un sólido blanco Rendimiento 70%

Punto de fusión 107°C-114°C

^{1}HNMR (DMSO) 400 MHz δ 1,00-1,06 (3H, 2xt, J=6,4 Hz), 1,10-1,38 (2H, m), 1,38 (3H, t, J=6,8 Hz), 1,40-2,10 (7H, m), 2,86, 2,92, 3,10, 3,28 (2H, 4xd, J=14, 14,4 Hz resp), 4,48 (2H, q, J=6,8 Hz)

MS (CI) m/z 209 (MH^+)

1084
1126

Análisis $C_{12}H_{20}N_2O$ 1,06 HCl Calculado C 58,37 H 8,60 N 11,347

Hallado C 58,15 H 8,63 N 11,60

Paso iv Etil éster del ácido (1-ciano-2-metil-ciclohexil)-acético

Etil éster del ácido 2-(1-ciano-2-metil-ciclohexil)-acetimídico (4,1 mmol) reaccionó como en el método general (Ejemplo 1) paso (iv) para dar un aceite claro Rendimiento 82%

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 1,03, 1,090 (3H, 2xd, J=7 Hz), 1,27-1,30 (3H, m), 1,32-2,00 (8H, m), 2,10-2,20 (1H, m), 2,44, 2,82 (3H, 2xd, J=14,8 Hz), 2,54 (1H, m), 4,16-4,22 (2H, m)

MS (CI) m/z 210 (MH^+)

Análisis $C_{12}H_{19}NO_2$ Calculado C 68,87 H 9,15 N 6,69

Hallado C 68,84 H 9,13 N 6,75

Paso v 6-Metil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona

Etil éster del ácido (1-ciano-2-metil-ciclohexil)-acético (8,4 mmol) reaccionó como en el método general (Ejemplo 1) Paso (v) durante 24 horas a 10°C, 50 psi El aceite crudo se purificó mediante cromatografía de columna (acetato de etilo), para dar un sólido blanco Rendimiento 34%

Punto de fusión 85°C-90°C

1085
1127

^{1}HNMR ($CDCl_3$) 400 MHz δ 0,88-0,91 (3H, dd, J=6,8 Hz), 1,41-1,78 (9H, m), 2,00-2,30 (2H, m), 3,06-3,23 (2H, m), 7,07 (1H, Br, s)

MS (CI) m/z 168 (MH^+)

Análisis $C_{10}H_{17}NO$ Calculado C 71,81 H 10,24 N 8,37

Hallado C 71,83 H 10,19 N 8,27

Paso vi Clorhidrato del ácido (1-aminometil-2-metil-ciclohexil)-acético

6-Metil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (2,5 mmol) reaccionó como en el método general (Ejemplo 1) paso vi para dar un sólido blanco Rendimiento 42%

Punto de fusión 108°C-110°C

$[\alpha]_D$= 0(T=20,5°C, C=1, MeOH) Dos diastereómeros 3 1

^{1}HNMR (DMSO = D_2O) 400 MHz δ 0,79, 0,85 (3H, 2xd, J=6,8 Hz), 1,21-1,65 (9H, m), 2,22, 2,43 (1H, 2xd, J=15 Hz), 2,46, 2,49 (1H, 2xd, J=15 Hz), 2,83-2,92 (1H, 2xd, J=3,6 Hz), 3,05, 3,15 (1H, 2xd, J=13,6 Hz)

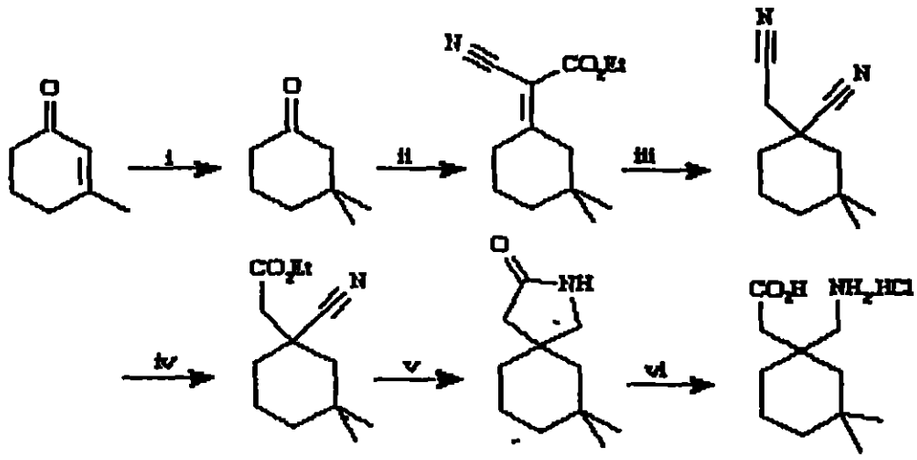
MS (CI) m/z 186 (MH^+)

Análisis $C_{10}H_{19}NO_2$1,3HCl Calculado C 51,64 H 8,79 N 6,02

Hallado C 51,66 H 8,91 N 16,16

1086
1128

EJEMPLO 3 Clorhidrato del ácido (1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético



i) CuI, MeLi, NH_4Cl, NH_3 (92%)

ii) $NCCH_2CO_2Et$, NH_4OAc, tolueno (83%)

iii) NaCN, EtOH, H_2O (57%)

iv) HCl, EtOH, tolueno (93%)

v) H_2, Ni Raney, EtOH NH_3 (84%)

vi) HCl, H_2O (64%)

Paso i 3,3-Dimetil-ciclohexanona

Sintetizada a través del método descripto por Pelletier, S W , Mody, N V , *J Org Chem* , 1976, 41, 1069

1087
1129

Una solución de dimetil cuprato de litio se preparó agregando metil litio (1,4 M en éter 77,25 ml, 2,45 mol) a yoduro de cobre (I) (8,8 g, 0,046 mol) bajo argón La solución se enfrió a 0°C, y se agregó 3-metil-ciclohexen-1-ona (5 ml, 0,044 mol) gota a gota, con agitación, y se formó un precipitado de color amarillo profundo La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una hora antes de ser vertida en una solución de amoníaco acuoso (100 ml) y acetato de amonio (ca 5 g) Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con éter dietílico (3 x 50 ml) Los orgánicos combinados se lavaron con solución salina saturada (3 x 100 ml), se secaron ($MgSO_4$) y el solvente se removió en vacío para dejar un líquido de color amarillo oscuro

^{1}HNMR (400 MHz, $CDCl_3$) 0,98 (6H, s), 1,59 (2H, m), 1,88 (2H, m), 2,14 (2H, m), 2,26 (2H, m)
IR (película) $\nu_{máx}cm^{-1}$ 2956, 1711 (C=O), 1457, 1368, 1292, 1226, 1076

Paso ii Etil éster del ácido 2-ciano-5,5-dimetil-3-propil-hex-2-enoico

A una solución de 3,3-dimetilciclohexanona (4 g, 0,032 mol) en tolueno (25 ml), se agregó cianoacetato de etilo (3,37 ml, 0,032 mol, 1 eq), acetato de amonio (0,24 g, 0,003 mol, 0,1

1088
1130

eq), y ácido acético (0,36 ml, 0,006 mol, 0,2 eq) La solución de color amarillo se calentó a reflujo mientras se la unía a una trampa de Dean-Stark, y se continuó calentando hasta que ya no hubo agua condensada en la trampa Después d enfriar, la solución de color naranja se lavó con agua (3 x 25 ml) y la capa orgánica se secó ($MgSO_4$) La filtración y la remoción del solvente en vacío dieron el producto crudo como un líquido de color naranja profundo La purificación se logró mediante destilación de Kugelrohr para dejar la mezcla de productos *cis* y *trans* como un liquido de color amarillo pálido, punto de ebullición 160°C-170°C, 4 mbar (5,83 g, 83%)

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 0,96, (6H, s, 2x Me), 1,34 (6H, m, 2x Me de éster), 1,49 (4H, m), 1,75 (2H, quin , J 6,4), 2,46 (2H, s), 2,60 (2H, t, J = 6,4 Hz), 2,80 (2H, s), 2,93 (2H, t, J=6,4 Hz), 4,27 (4H, m)

MS (CI) z/e 222 (M^++1)

IR (pelicula) $\nu_{máx}cm^{-1}$ 2958, 2870, 2224 (CN), 1731 (C=O), 1606 (C=C), 1277, 1223

Análisis $C_{13}H_{19}O_2N$ Calculado C 70,56 H 8,65 N 6,32

Hallado C 70,35 H 8,79 N 6,25

Paso iii 1-Cianometil-3,3-dimetil-ciclohexanocarbonitrilo

1089
1131

A una solución del etil éster del ácido 2-ciano-5,5-dimetil-3-propil-hex-2-enoico (1,26 g, 0,006 mol) en etanol (100 ml) y agua (4 ml) se agregó cianuro de sodio (0,28 g, 0,006 mol, 1 eq) La solución amarillenta se calentó a reflujo durante 8 horas y luego se enfrió, durante cuyo tiempo se formó un precipitado blancuzco

La suspensión se filtró bajo vacio y el filtrado se acidificó con gas de HCl hasta que el pH fue de aproximadamente 2 La mezcla luego se filtró una segunda vez y luego el solvente se removió en vacio para dejar el producto crudo como un sólido de color verde pálido

La cromatografia de columna rápida, después de la adsorción del producto crudo sobre silice, eluyendo con 0%-50% de EtOAc en heptano, dio el binitrilo como un sólido incoloro (0,57 g, 57%)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 0,99, (3H, s, Me), 1,13 (1H, td, J 13,2, 4,2), 1,21 (3H, s, Me), 1,32 (2H, m), 1,54 (1H, m), 1,82 (3H, m), 2,15 (1H, m), 2,65 (2H, s, CH_2CN)

^{13}C NMR (400 MHZ, $CDCl_3$) 19,61, 25,17, 30,79, 31,18, 33,77 34,79, 35,37, 37,92, 46,26, 115,06, 122,19

MS (CI) z/e 177 (M^++1)

IR (película) $\nu_{máx}$ cm^{-1} 2988, 2937, 2237 (2x CN), 1749, 1456, 1423, 1369, 1202, 1180, 1031, 972

Análisis $C_{11}H_{16}N_2$ Calculado C 74,96 H 9,15 N 15,89

Hallado C 75,08 H 9,32 N 15,80

1090
1132

Paso iv, Etil éster del ácido (1-ciano-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético

1-Cianometil-3,3-dimetil-ciclohexanocarbonitrilo (0,50 g, 2,84 mmol) se disolvió en etanol absoluto (20 ml) a temperatura ambiente y luego se enfrió a 0°C Se agregó tolueno (20 ml) a la solución y luego la mezcla de la reacción se acidificó pasando gas de HCl a través de ella a una velocidad suave durante ca 45 minutos El matraz fue detenido luego y se lo dejó en reposo a temperatura ambiente durante 24 horas

La solución de color amarillo fue dividida entre el acetato de etilo y el agua y las capas se separaron La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3x 30 ml) y los orgánicos combinados se lavaron con una solución de carbonato de hidrógeno de sodio saturado acuoso (3x 50 ml), solución salina (3x 50 ml), se secaron ($MgSO_4$) y el solvente se removió bajo presión reducida para dejar un liquido de color amarillo pálido (0,59 g, 93%)

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 0,94, (3H, s, Me), 1,16 (3H, m), 1,21 (3H, s, Me), 1,29 (3H, t, J 7,2, CH_2CH_3), 1,50 (1H, m), 1,65 (1H, dt, J 14,4, 7,6), 1,84 (1H, qt, J 13,3, 3,2), 1,96 (1H, dt, J 13,7, 2,2), 2,16 (1H, m), 2,48 (1H, d, J 15,6, C-2H), 2,54 (1H, d, J 15,6, C-2H), 4,20 (2H, q, J 7,2, CH_2CH_3)

^{13}C NMR (400 MHZ, $CDCl_3$) 14,21, 19,65, 25,42, 31,03, 34,04, 34,14, 36,08, 38,44, 46,14, 46,80, 61,02, 123,67, 169,00

MS (CI) z/e 224 (M^+H)

1097
1133

IR (película) $\nu_{max}cm^{-1}$ 2998, 2937, 2868, 2234 (C=O), 1457, 1372, 1217, 1181, 1154, 1026

Análisis $C_{13}H_{21}NO_2$ Calculado C 69,92 H 9,48 N 6,27

Hallado C 69,63 H 9,45 N 6,15

Paso v 7,7-Dimetil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona,

Etil éster del ácido (1-ciano-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético (0,5 g, 2,23 mmol) se hidrogenó en amoníaco etanólico (60 ml) con níquel Raney como catalizador (ca 0,25 g) a 50°C y 50 psi durante 48 horas

El catalizador luego fue removido por filtración a través de Celita, y el solvente fue removido en vacío para dejar un sólido cristalino de color verdoso

La cromatografía de columna rápida, eluyendo con 0%-100% de acetato de etilo en heptano, dio la lactama pura como un sólido incoloro (340 mg, 84%)

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 0,89, (3H, s, Me), 0,92 (3H, s, Me), 1,25 (2H, m), 1,36 (2H, m), 1,51 (3H, m), 1,68 (1H, s), 2,18 (1H, d, J 16,4, CH_2NH), 2,24 (1H, d, J 16,8, CH_2NH), 3,15 (2H, s, CH_2CO)

^{13}C NMR (400 MHZ, $CDCl_3$) 19,16, 29,88, 30,36, 31,28, 36,57, 39,05, 39,61, 44,58, 49,54, 54,79, 17,72

MS (CI) z/e 182 (M^++1)

1092
1134

IR (película) $\nu_{máx}cm^{-1}$ 3203, 3100 (NH), 2914, 2860, 1698 (C=O), 1486, 1374, 1317, 1289, 1257, 1076

Análisis $C_{11}H_{19}NO$ Calculado C 72,88 H 10,56 N 7,73

Hallado C 72,38 H 10,47 N 6,7,56

Paso vi Clorhidrato del ácido (1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético

7,7-Dimetil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (0,3 g, 1,66 mmol) se disolvió en una mezcla de HCl (concentrado, 5 ml) y agua (5 ml), y la solución incolora resultante se calentó a reflujo durante 20 horas La solución se enfrió y luego fue dividida entre agua y diclorometano y las capas separaron La capa acuosa se lavó con diclorometano (3x 20 ml) y el agua/HCl se removió mediante evaporación rotativa para dejar el producto crudo como un sólido blancuzco La trituración de este sólido con acetato de etilo y la filtración del producto dio la sal de clorhidrato del ácido (1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético como un sólido incoloro (140 mg, 42%, 64% basado en el material inicial recuperado)

^1H NMR (400 MHz, DMSO) 0,90, (3H, s, Me), 0,92 (3H, s, Me), 1,15-1,49 (8H, m), 2,45 (2H, s, CH_2CO_2H), 2,90 (2H, br q, J 13,5, CH_2NH_3), 7,96 (3H, br s, NH_3), 12,36 (1H, br s, OH)

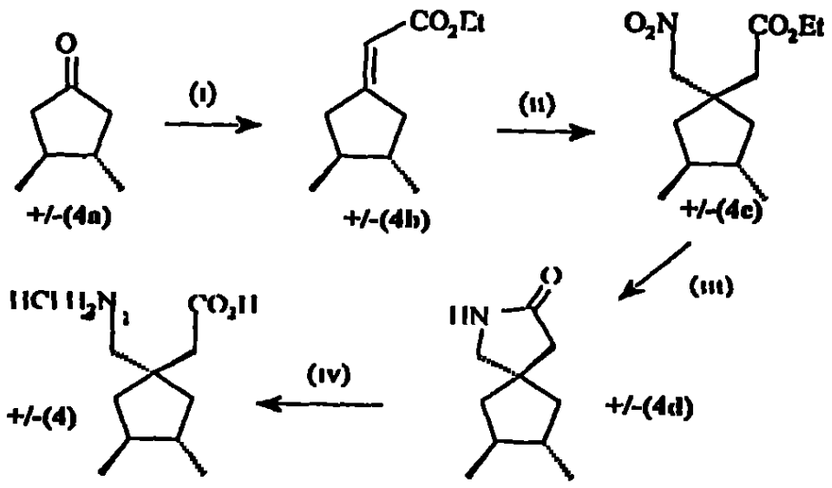
IR (película) $\nu_{máx}cm^{-1}$ 2930, 1728 (C=O), 1272, 1123

1093
1135

Análisis $C_{11}H_{22}NO_2Cl$ Calculado C 56,04 H 9,41 N 5,94

Hallado C 55,79 H 9,61 N 6,23

EJEMPLO 4 Clorhidrato del ácido (±)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético



Reactivos (i) Trietilfosfonoacetato, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$, (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

Paso 1 Síntesis del Etil éster del ácido (±)(trans)-(3,4-dimetil-ciclopentilideno)-acético (4b)

Se suspendió NaH (dispersión al 60% en aceite, 737 mg, 18,42 mmol), tetrahidrofurano seco (50 ml) y se enfrió a 0°C Se agregó trietilfosfonoacetato (3,83 ml, 19,30 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C durante 15 minutos Se agregó luego la cetona

L094
1136

(+/-)-(4a) (1,965 g, 17,54 mmol) en THF (10 ml) y se dejó calentar la mezcla a la temperatura ambiente Pasadas 2 horas, la mezcla fue dividida entre éter dietílico (200 ml) y agua (150 ml) La fase orgánica se separó, se lavó con solución salina, se secó ($MgSO_4$) y el solvente se removió en vacío El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (sílice, acetato de etilo heptano 1 9) para dar 3,01 g (94%) de (4b) como un aceite incoloro

^1H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 1,01, (3H, d, J=6 Hz), 1,03 (3H, d, J=6 Hz), 1,26 (3H, t, J=7 Hz), 1,49 (2H, m), 2,07 (1H, m), 2,24 (1H, m), 4,13 (2H, q, J= 7 Hz), 5,72 (1H, s)
MS (CI^+) m/e 183 (M+1)

Paso ii Síntesis del Etil éster del ácido (±)(trans)-(3,4-dimetil-1-nitrometil-ciclopentil)-acético (4c)

Etil éster del ácido (±)(trans)-(3,4-dimetil-ciclopentilideno)-acético (4b) (2,95 g, 16,2 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml) y se agitó a 70°C con nitrometano (1,9 ml, 35,2 mmol) y fluoruro de tetrabutilamonio (1,0 M en tetrahidrofurano, 22 ml, 22,0 mmol) Pasadas 6 horas, lamezla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con HCl 2N (30 ml) y luego con

1095
1137

solución salina (50 ml) La fase orgánica se recogió, se secó ($MgSO_4$) y el solvente se removió en vacio El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (silice, acetato de etilo, heptano 1,9) para dar 1,152 g (29%) de un aceite claro

^1H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,98, (6H, d, J=6 Hz), 1,10-1,39 (5H, m), 1,47 (2H, m), 1,87 (1H, m), 2,03 (1H, m), 2,57 (2H, ABq, J = 16,38 Hz), 4,14 (2H, q, J= 7 Hz), 4,61 (2H, ABq, J = 12,60 Hz)

MS (ES^+) m/e 244 (M+1)

IR (película) ν cm^{-1} 1186, 1376, 1549, 1732, 2956

Paso iii Síntesis de la (±)-(trans)-7,8-Dimetil-espiro[4 5]nonan-2-ona (4d)

El etil éster del ácido (±)-(trans)-(3,4-dimetil-1-nitrilometil-ciclopentil)-acético (4c) (1,14 g, 4,7 mmol) se disolvió en metanol (50 ml) y se agitó sobre catalizador de níquel Raney bajo una atmósfera de hidrógeno (40 psi) a 30°C Pasadas 5 horas, el catalizador se removió por filtración a través de celita El solvente se removió en vacio para dar 746 mg (95%) de un aceite de color amarillo pálido que se solidificó en reposo

1096
1138

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,98, (6H, d, J=6 Hz), 1,32 (2H, m), 1,46 (2H, m), 1,97 (2H, m), 2,27 (2H, ABq, J = 16,27 Hz), 3,23 (2H, s), 5,62 (1H, br s)

MS (ES^+) m/e 168 (M+1)

IR (película) ν cm^{-1} 1451, 1681, 1715, 2948, 3196

Paso iv, Síntesis del clorhidrato del ácido (±)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético

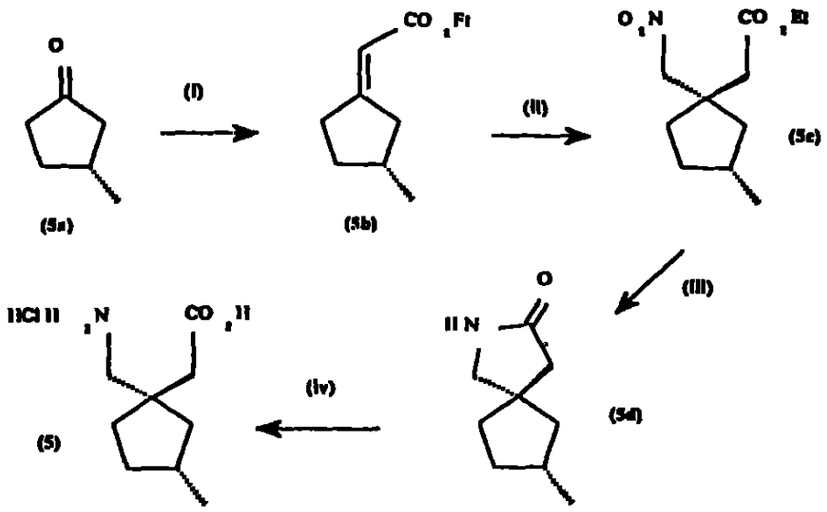
La (±)-(trans)-7,8-dimetil-espiro[4 4]nonan-2-on (**4d**) (734 mg, 4,40 mmol) se calentó a reflujo en una mezcla de 1,4-dioxano (5 ml) y HCl a 6N (15 ml) Pasadas 4 horas, la mezcla se enfrió a la temperatura ambiente, se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con diclorometano (3 x 30 ml) La fase acuosa se recogió y el solvente se removió en vacío El residuo se trituró con acetato de etilo para dar 675 mg (69%) de un sólido blanco después de la recolección y el secado

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,91, (6H, d, J=6 Hz), 1,18 (2H, m), 1,42 (2H, m), 1,72 (1H, m), 2,42 (2H, ABq, J = 16,24 Hz), 2,90 (2H, ABq, J= 12,34 Hz), 12,34 (1H, br s)

MS (ES^+) m/e 186 (M+1 para la base libre)

EJEMPLO 5 Clorhidrato del acido (cis/trans)-(3R)-(1-aminometil-3-metil-ciclopentil)-acético (5)

1097
1139



Reactivos (i) Trietilfosfonoacetato, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$, (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

Paso i Síntesis del Etil éster del ácido (R)-(3-metil-ciclopentilideno)-acético

NaH (dispersión al 60% en aceite, 1,86 g, 46,5 mmol) se suspendió en tetrahidrofurano seco (40 ml) y se enfrió a 0°C Se agregó trietilfosfonoacetato (9,69 ml, 48,8 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C durante 15 minutos Luego se agregó(R)-3-metil-ciclopentanona (5a) (5 ml, 46,5 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla fue dejada calentar a la temperatura ambiente Pasadas 2 horas, la mezcla fue dividida entre éter dietílico (200 ml) y agua (150 ml) La fase orgánica se separó, se lavó con solución salina, se secó ($MgSO_4$) y el solvente se removió

1078
1140

en vacío El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (sílice, acetato de etilo heptano 1 9) para dar 5,45 g (70%) de (2) como un aceite incoloro

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 1,04, (3H, m), 1,27 (3H, t, J= 7 Hz), 1,80-2,74 (7H, m), 2,90-3,15 (1H, m), 4,13 (2H, q, J = 7 Hz), 5,76 (1H, s)

MS (CI^+) m/e 169 (M+1)

IR (película) ν cm^{-1} 1205, 1371, 1653, 1716, 2955

Paso ii Síntesis del Etil éster del ácido (cis/trans)-(3R)-(3-metil-1-ciclopentil)-acético (5c)

Etil éster de ácido (R)-(3-metil-ciclopentilideno)-acético (5b) (3,0 g, 17,8 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (20 ml) y se agitó a 70°C con nitrometano (1,92 ml, 35,6 mmol) y fluoruro de tetrabutilamonio (1,0 M en tetrahidrofurano, 25 ml, 25,0 mmol) Pasadas 18 horas, la mezcla se enfrió a la temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con HCl 2N (30 ml) y luego con solución salina (50 ml) La fase orgánica se recogió, se secó ($MgSO_4$) y el solvente se removió en vacío El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (sílice, acetato de etilo heptano 1 9) para dar 2,00 g (49%) de un aceite claro

1099
1141

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 1,02, (3H, d, J= 6 Hz), 1,08-1,37 (5H, m), 1,59-2,17 (5H, m), 2,69 (2H, m), 4,15 (2H, q, J = 7 Hz), 4,64 (2H, s)

MS (ES^+) m/e 230 (M+1)

IR (película) v cm^{-1} 1183, 1377, 1548, 1732, 2956

Paso iii Síntesis de la (cis/trans)-(7R)-7-Metil-espiro[4 4]nonan-2-ona (5d)

Etil éster del ácido (cis/trans)-(3R)-(3-metil-1-nitrometil-ciclopentil)-acético (5c) (1,98 g, 8,66 mmol) se disuelve en metanol (50 ml) y se agita sobre catalizador de níquel Raney bajo una atmósfera de hidrógeno (40 psi) a 30°C Pasadas 18 horas, el catalizador se remueve mediante filtración a través de celita El solvente se remueve en vacío y el residuo se purifica mediante cromatografía rápida (sílice, acetato de etilo heptano 1 1) para dar 1,05 g (79%) de un sólido blanco

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 1,03, (3H, m), 1,22 (2H, m), 1,60-2,15 (5H, m), 2,22 (2H, m), 3,20 y 3,27 (2H total, 2 x s, cis y trans), 6,18 (1H, br s)

MS (ES^+) m/e 154 (M+1)

IR (película) v cm^{-1} 1695, 2949, 3231

1100
1142

Paso iv Síntesis del Clorhidrato del ácido (cis/trans)-(3R)-(1-aminometil-3-metil-ciclopentil)-acético (5)

La (cis/trans)-(7R)-7-metil-espiro[4 4]nonan-2-ona (5d) (746 mg, 4,88 mmol) se calentó a reflujo en una mezcla de 1,4-dioxano (5 ml) y HCl a 6N (15 ml) Pasadas 4 horas, la mezcla se enfría a la temperatura ambiente, se diluye con agua (20 ml) y se lava con diclorometano (3 x 30 ml). La fase acuosa se recoge y el solvente se remueve en vacío El residuo se tritura con acetato de etilo para dar un sólido blanco que se recoge y se seca Esto se cristaliza desde acetato de etilo/metanol para dar 656 mg (65%) de (5) después de la recolección y el secado

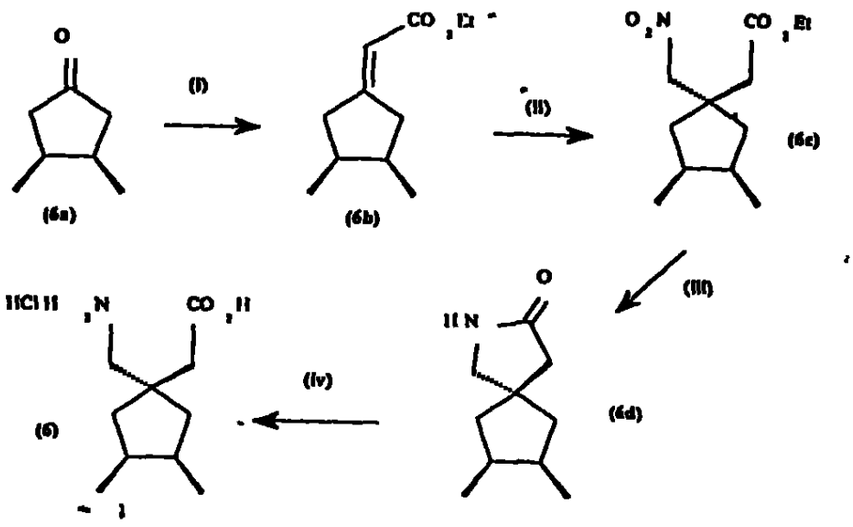
^{1}H NMR 400 MHz, (d_6-DMSO) δ 0,96, (3H, m), 1,01-1,24 (2H, m), 1,42-2,10 (5H, m), 2,41 y 2,44 (2H total, 2 x s, cis/trans), 2,94 (2H, m), 7,96 (3H, br s), 12,35 (1H, br s)

MS (ES^+) m/e 172 (M+1 para la base libre)

1101

1143

EJEMPLO 6 Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3',4-dimetil-ciclopentil)-acético



Reactivos (i) Trietilfosfonoacetato, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$; (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

Paso i Síntesis del Etil éster del ácido (cis)-(3,4-dimetil-ciclopentilideno)-acético (6b)

NaH (dispersión al 60% en aceite, 519 mg, 12,96 mmol) se suspendió en tetrahidrofurano seco (30 ml) y se enfrió a 0°C Se agregó trietilfosfonoacetato (2,68 ml, 13,5 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C durante 15 minutos Luego se agregó (3S,4R)-3,4-dimetil-ciclopentanona (6a) (1,21 g, 10,80 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla se dejó calentar a la temperatura

1144

ambiente Pasadas 2 horas, la mezcla fue dividida entre éter dietílico (200 ml) y agua (150 ml) La fase orgánica se separó, se lavó con solución salina, se secó ($MgSO_4$) y el solvente se removió en vacío El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (sílice, acetato de etilo heptano 5 95) para dar 1,40 g (71%) de (2) como un aceite incoloro

^1H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,84, (3H, d, J = 6 Hz), 0,91 (3H, d, J= 6 Hz), 1,26 (3H, t, J = 7 Hz), 2,01-2,95 (6H, m), 4,13 (2H, q, J = 7 Hz), 5,76 (1H, s)

MS (CI^+) m/e 183 (M+1)

IR (película) ν cm^{-1} 1043, 1125, 1200, 1658, 1715, 2959

Paso ii Síntesis del Etil éster del ácido (trans)-(3,4-dimetil-1-nitrometil-ciclopentil)-acético

Etil éster del ácido (cis)-(3,4-dimetil-ciclopentilideno)-acético (6b) (1,384 g, 7,60 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml) y se agitó a 70°C con nitrometano (0,82 ml, 15,2 mmol) y fluoruro de tetrabutilamonio (1,0 M en tetrahidrofurano, 11,4 ml, 11,4 mmol) Pasadas 6 horas, la mezcla se enfrió a la temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con HCl a 2N (30 ml) y luego con solución salina (50 ml) La fase orgánica se recogió, se secó ($MgSO_4$) y el solvente se removió en vacío El residuo se purificó mediante cromatografía rápida (sílice,

1103
1145

acetato de etilo heptano 5 95) para dar 0,837 g (45%) de un aceite claro

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,91, (6H, d, J = 6 Hz), 1,21-1,39 (5H, m), 1,98 (2H, m), 2,18 (2H, m), 2,64 (2H s), 4,15 (2H, q, J = 7 Hz), 4,61 (2H, s)

MS (ES^+) m/e 244 (M+1)

IR (pelicula) ν cm^{-1} 1184, 1377, 1548, 1732, 2961

Paso iii Síntesis de la (trans)-7,8-Dimetil-espiro[4 4]nonan-2-ona (6d)

Etil éster del ácido (trans)-(3,4-dimetil-1-nitrometil-ciclopentil)-acético (6c) (0,83 g, 3,4 mmol) se disolvió en metanol (30 ml) y se agitó sobre catalizador de níquel Raney bajo una atmósfera de hidrógeno (40 psi) a 30°C Pasadas 4 horas, el catalizador se removió mediante filtración a través de celita El solvente se removió en vacío para dar 567 mg (99%) de un aceite de color amarillo pálido que solidificó en reposo

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,91, (6H, d, J = 6 Hz), 1,91 (2H, m), 2,10 (2H, m), 2,32 (2H, s), 3,18 (2H, s), 5,61 (1H, br s)

MS (ES^+) m/e 168 (M+1)

IR (pelicula) ν cm^{-1} , 1304, 1450, 1699, 2871, 3186

1146

Paso iv Síntesis del Clorhidrato del ácido (trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético (6)

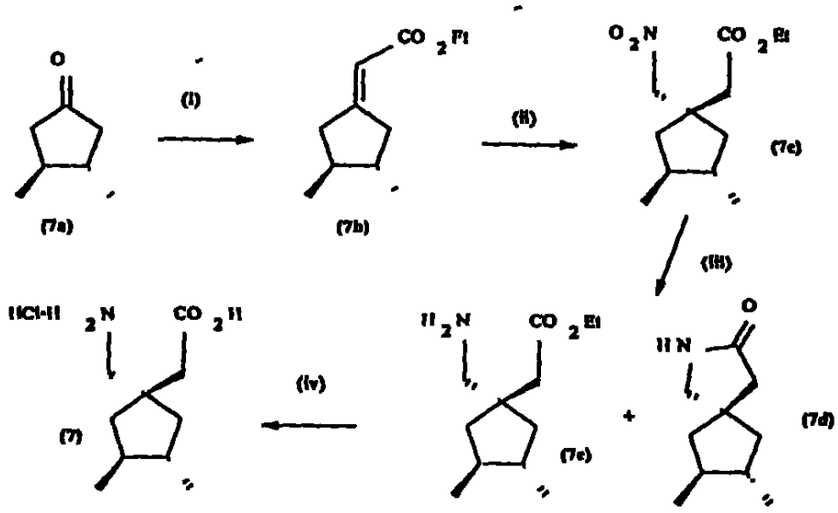
La (trans)-7,8-Dimetil-espiro[4 4]nonan-2-ona (6d) (563 mg, 4,40 mmol) se calentó a reflujo en una mezcla de 1,4-dioxano (5 ml) y HCl a 6N (15 ml) Pasadas 4 horas, la mezcla se enfrió a la temperatura ambiente, se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con diclorometano (3 x 30 ml) La fase acuosa se recogió y el solvente se removió en vacío El residuo se trituró con acetato de etilo para dar un sólido blanco que se recogió y se secó Esto se recristalizó desde acetato de etilo/metanol para dar 440 mg (59%) de (6) después de la recolección y el secado

^{1}H NMR 400 MHz, (d_6-DMSO) δ 0,84, (6H, d, J = 6 Hz), 1,21 (2H, m), 1,81 (2H, m), 2,06 (2H, m), 2,47 (2H, s), 2,89 (2H, s), 7,94 (3H, br s), 12,30 (1H, br s)

MS (ES^+) m/e 186 (M+1 para la base libre)

EJEMPLO 7 Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético

1105
1147



Reactivos (i) Trietilfosfonoacetato, NaH, (ii) $MeNO_2$, $Bu_4N^+F^-$, (iii) H_2, Ni, (iv) HCl

La (3S,4S)-3,4-Dimetil-ciclopentanona (7a) es conocida en la bibliografía y puede ser sintetizada mediante los métodos descriptos en ella Y Kato, *Chem Pharm Bull*, 1966,14 1438-1439 y referencias relacionadas W C M C Kokke, F A Varkevisser, J *Org Chem* , 1974,39 1535, R Baker, D C Billington, Iwanaga, H Yamamoto, *Tet Lett* , 1986,27 4507, G Solladie, O Lohse, *Tet Asymm* , 1993,4 1547, A Rosenquist, I Kvarnstrorn, S C T Svensson, B Classon, B Samuelsson, *Acta Chem Scand* , 1992,46 1127, E J Corey, W Su, *Tet Lett* , 1988,29 3423, D W Knight, B Ojhara, *Tet Lett* , 1981,22 5101

1106
1149

Paso i Síntesis del Etil éster del ácido (trans)-(3,4-dimetil-ciclopentilideno)-acético (7b)

A una suspensión de hidruro de sodio (1,3 g, 32,5 mmol) en THF (60 ml) bajo nitrógeno a 0°C, se agregó trietilfosfonoacetato (6,5 ml, 32,7 mmol) durante 5 minutos Después de agitar durante otros 10 minutos, se agregó una solución de (3S,4S)-3,4-dimetil-ciclopentanona (7a) (aproximadamente 2,68 g, 30 mmol) en THF) (2 x 10 ml), a la solución que ahora es clara y se removió el baño de hielo Pasadas 4 hora, se extinguió la reacción vertiendo en agua (100 ml) y la mezcla se extrajo con éter (400 ml) La fase orgánica se enfrió con solución salina saturada (100 ml), se secó y se concentró en vacío La cromatografía de columna (10 1 heptano/acetato de etilo) dio el producto como un aceite (4,53 g) (aproximadamente 91% de rendimiento)

^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 1,01 (3H, d, J = 6 Hz), 1,03 (3H, d, J = 6 Hz), 1,26 (3H, t, J = 7 Hz), 1,49 (2H, m), 2,07 (1H, m), 2,24 (1 H, m), 2,61 (1H, m), 4,13 (2H, q, J = 7 Hz), 5,72 (1H, s)

MS (CI^+) m/c 183 (M+1)

Paso ii Etil éster del ácido (trans)-(3,4-dimetil-1-nitrometil-ciclopentil)-acético (7c)

1107
1149

A una solución del etil éster del ácido (trans)-(3,4-dimetil-ciclopentilideno)-acético (7b) (4,24 g 23,3 mmol) en THF (15 ml), se agregó TBAF (32 ml, de una solución a 1 M en THF, 32 mmol) y luego nitrometano (3 ml) y la reacción se calentó a 60°C durante 8 horas Después de enfriar, la mezcla de la reacción se diluyó con acetato de etilo (150 ml) y se lavó con HCl 2N (40 ml) y luego con solución salina saturada (50 ml) La cromatografía de columna (10 1 heptano/acetato de etilo) dio el producto como un aceite (2,24 g) (40% de rendimiento)

^{1}H NMR 400 MHz, ($CDCl_3$) δ 0,98, (6H, d, J = 6 Hz), 1,10-1,39 (5H, m), 1,47 (2H, m), 1,87 (1H, s), 2,03 (1H, s), 2,57 (2H, ABq, J= 16,38 Hz), 4,14 (2H, q, J= 7 Hz), 4,61 (2H, ABq, J= 12,60 Hz)

MS (ES^+) m/e 244 (M+1)

IR (película) ν cm^{-1} , 1186, 1376, 1549, 1732, 2956

Paso iii Síntesis del Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético (7)

Una solución de etil éster del ácido (trans)-(3,4-dimetil-1-nitrometil-ciclopentil)-acético (7c) (3,5 g, 14,4 mmol) en metanol (100 ml) en la presencia de una esponja de Ni se hidrogenó a 30°C y a 50 psi durante 4 horas El filtrado del catalizador y la concentración en vacío dio una mezcla de 2 1 de lactama y aminoéster, 2,53 g, calculado como 96%, que se

1408
1150

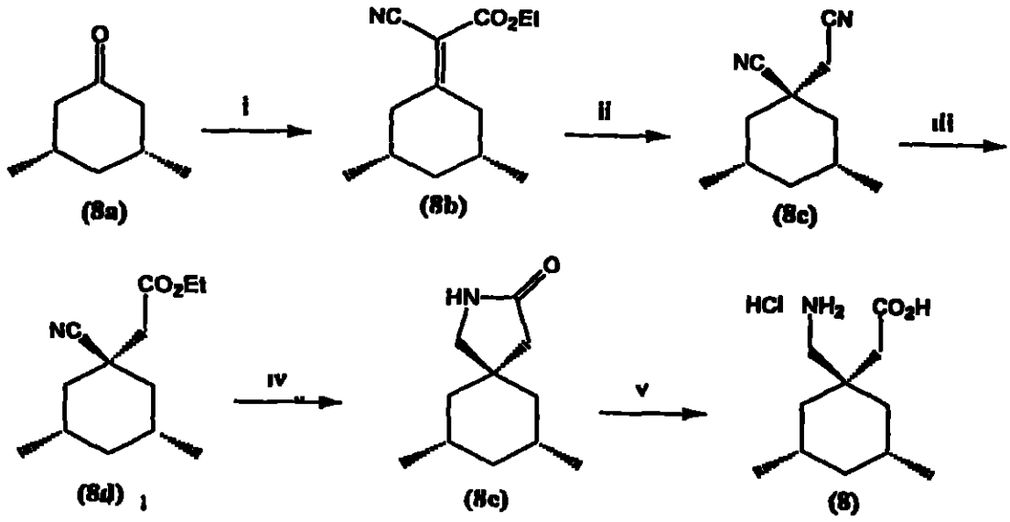
usó sin purificación Esta mezcla (2,53 g, 13,8 mmol) en dioxano (15 ml) y HCl a 6N (45 ml) se calentó bajo reflujo (baño de aceite = 110°C) durante 24horas Después de enfriar y diluir con agua (60 ml), la mezcla se lavó con diclorometano (3 x 50 ml) y luego se concentró en vacío El aceite resultante se lavó con acetato de etilo y luego con diclorometano para dar una espuma pegajosa que se secó para dar el producto como un polvo blanco (2,32 g) (Rendimiento del 76%)

α_D(23°C) (H_2O) (c=1,002)=+28,2°

^{1}H NMR 400 MHz (d_6-DMSO) δ 0,91 (6H, d, J = 6 Hz), 1,18 (2H, m), 1,42 (2H, m), 1,72 (1H, m), 1,87 (1H, m), 2,42 (2H, ABq, J = 16, 24 Hz), 2,90 (2H, ABq, J = 12, 34 Hz), 8,00 (3H, br s), 12,34 (1H, br s)

MS (ES^+) m/c 186 (M+1 para la base libre)

EJEMPLO 8 **Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético**



Paso i **Síntesis del Etil éster del ácido 2-ciano-((3R,5S)-3,5-dimetil-ciclohexilideno)-acético (8b)** Cis-3,5-dimetilciclohexanona (8a, 15,78 g, 125,0 mmol) se disolvió en tolueno (150 ml) y se trató con acetato de amonio (0,96 g, 0,099 mmol), ácido acético (1,4 ml, 0,195 mmol) y etil cianoacetato (14,04 g, 99,2 mmol) La reacción se calentó a reflujo toda la noche con una trampa de Dean-Stark, luego se enfrió a temperatura ambiente y se lavó con H_2O (3 x 50 ml) La capa acuosa se lavó nuevamente con tolueno (2 x 50 ml) Las capas orgánicas, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron El residuo fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice

eluyendo con 5% de EtOAc/hexano para dar 22,0 g (80%) del producto deseado como un aceite claro

MS 222,1 (M+1 para $C_{13}H_{19}N_1O_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,40 (9 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{13}H_{19}N_1O_2$) (Cal) C 70,56, H 8,68, N 6,33 (hallado) C 70,74, H 8,68, N 6,33 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,83-0,95 (m, 1 H), 1,01 (t, 6 H, J = 6,1 Hz), 1,32 (t, 3 H, J = 7,3 Hz), 1,48-1,85 (m, 5 H), 2,97-3,02 (m, 1 H), 3,92 (dd, 1 H, J = 12,2, 2,2 Hz), 4,24 (q, 2 H, J = 7,1 Hz)

Paso ii Síntesis del 1α,3β,5β-1-Cianometil-3,5-dimetil-ciclohexanocarbonitrilo (8c)

El etil éster del ácido 2-ciano-((3R,5S)-3,5-dimetil-ciclohexilideno)-acético (8b, 6,64 g, 30,0 mmol) se disolvió en EtOH (60 ml) y se agregó a una suspensión de NaCN (1,47 g, 30,0 mmol) en EtOH / H_2O (100 ml / 8 ml) La reacción se calentó a reflujo toda la noche, luego se enfrió a la temperatura ambiente, se filtró y se concentró en vacio para dar un aceite claro que se solificó bajo vacío El residuo fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 4 1 hexano/EtOAc para dar 4,05 g (77%) del producto deseado como un sólido pegajoso, blanco

HHH
1153

MS no se observó ningun ion de M+1 ($C_{11}H_{16}N_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,31 (4 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{11}H_{16}N_2$) (Cal) C 74,96, H 9,15, N 15,89 (hallado) C 74,81, H 9,25, N 15,65 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,58 (dd, 1H, J= 24,9, 12,2 Hz), 0,96 (d, 6 H, J = 6,6 Hz), 1,03 (t, 2H, J = 12,9 Hz), 1,75-1,90 (m, 3H), 2,01 (d, 2H, J= 11,5 Hz), 2,65 (s, 2H)

Paso iii Síntesis del Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (8d) 1α,3β,5β-1-Cianometil-3,5-dimetil-ciclohexanocarbonitrilo (8c, 5,51 g, 31,26 mmol) se disolvió en EtOH (80 ml) y tolueno (80 ml), se enfrió a 0°C y se saturó con gas de HCl La solución fue detenida y agitada toda la noche a temperatura ambiente, luego conentrada en vacio para dar el imino éster crudo como un sólido blanco Este material crudo se trituró con Et_2O (150 ml) y se secó bajo vacío, a temperatura ambiente, luego se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml) Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con solución salina, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron El residuo fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 6.1 hexano/EtOAc para dar 5,78 g (83%) del producto deseado como un aceite claro

MS 224,1 (M+1 para $C_{13}H_{21}N_1O_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,32 (6 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{13}H_{21}N_1O_2$) (Cal) C 69,92, H 9,48, N 6,27 (hallado) C 70,03, H 9,45, N 6,30 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,53 (dd, 1 H, J = 24,9, 12,0 Hz), 0,91 (d, 6 H, J = 6,6 Hz), 1,27 (1, 3 H, J = 7,1 Hz), 1,70-1,76 (m, 1 H), 1,80-1,90 (m, 2 H), 2,02 (d, 2 H, J = 12,9 Hz), 2,51 (s, 2 H), 4,18 (q, 2 H, J = 7,1 Hz)

Paso iv Síntesis de la 5α,7β,9β-7,9-Dimetil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (8e)

Etil éster del ácido 1α,3β,5β-(1-ciano-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético[1] (8d, 5,82 g, 26,1 mmol) se disolvió en MeOH (150 ml), se trató con 10% Rh/2% Pd/C (1,0 g) y se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 28 h La reacción se filtró y se concentró en vacío El residuo fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice con un gradiente de 2 3 hexano/EtOAc, EtOAc, 5% MeOH/EtOAc para dar 2,21 g (47%) del producto deseado

MS 182,0 (M+1 para $C_{11}H_{19}N_1O_1$), punto de fusión 116°C-118°C, TLC SiO_2, R_f 0,36 (6% MeOH/CH_2Cl_2), Análisis ($C_{11}H_{19}N_1O_1$) (Cal) C 72,88, H 10,56, N 7,73 (hallado) C 72,84, H 10,67, N 7,63 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,49 (dd, 1H, J = 24,4, 12,0 Hz), 0,86-0,93 (m, 8 H), 1,38-1,48 (m, 2 H), 1,60-1,71 (m, 3 H), 2,09 (s, 2 H), 3,16 (s, 2 H), 5,79 (br, 1 H)

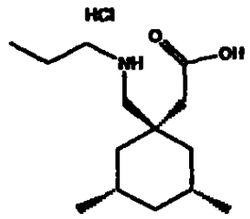
113
1155

Paso v **Síntesis de la sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (8)** La 5α,7β,9β-7,9-dimetil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (8e, 0,52 g, 2,87 mmol) se trató con HCl a 6N (19 ml) y se calentó a reflujo toda la noche La reacción se enfrió a temperatura ambiente, con lo cual se formó un precipitado blanco El sólido se filtró, y el filtrado se enfrió a 0°C para lograr una segunda cosecha de cristales, luego se filtró nuevamente Los sólidos se combinaron y se secaron bajo vacio para dar 0,46 g (68%) del producto deseado

MS 200,1 (M+1 para $C_{11}H_{21}N_1O_2$), punto de fusión 179°C-180°C, Análisis ($C_{11}H_{21}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 56,04, H 9,41, N 5,94 (hallado) C 56,16, H 9,42, N 5,73 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,46-0,53 (m, 1 H), 0,77 (t, 1 H, J = 12,5 Hz), 0,85-0,91 (m, 7 H), 1,55-1,67 (m, 5 H), 2,11 (d, 2 H, J = 13,4 Hz), 2,36 (s, 2 H), 2,44 (s, 1 H), 3,14 (s, 2 H)

HH4
1156

EJEMPLO 9 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético

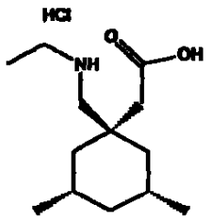


Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (8, 1,0g, 4,2 mmol) se disolvió en EtOH (100 ml), se trató con una solución de hidróxido de sodio (1N, 5 ml), propionaldehído (0,9 ml, 12,6 mmol) y 10% de Pd/C (0,3g) y se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 h La reacción se filtró, se trató con HCl/Et_2O (1 M, 10 ml) y se concentró en vacío El residuo se trató con isopropanol caliente (100 ml), el NaCl se filtró, y la solución clara se concentró en vacío El producto rudo se recristalizó desde i-PrOH/acetona/hexano (14 200 225 ml) y se secó bajo vacío para dar 0,136 g (12%) del producto deseado

MS 242,1 (M+1 para $C_{14}H_{27}N_1O_2$), punto de fusión 178°C-180°C, Análisis ($C_{14}H_{27}N_1O_2$ HCl 0,27H_2O) (Cal) C 59,48, H 10,18, N 4,95 (hallado) C 59,53, H 10,21, N 4,78 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,52 (dd, 1 H, J = 24,2, 12,0 Hz), 0,83-0,90 (m, 8 H), 1,00 (t, 3 H, J = 7,6 Hz), 1,61-1,80 (m, 7 H), 2,43 (s, 2 H), 2,98 (t, 2 H, J = 7,8 Hz), 3,20 (s, 2 H)

~~1115~~
1157

EJEMPLO 10 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético

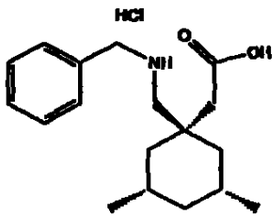


El Ejemplo 10 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó acetaldehído en lugar de propionaldehído y se usó acetetato de etilo/heptano para la recristalización (rendimiento 30%)

MS (M+1 para $C_{15}H_{29}N_1O_2$), punto de fusión 188°C-190°C, ^1H NMR (DMSO) δ 0,83 (8H, br d), 1,24 (3 H, t, J = 7,1 Hz), 1,60 (6 H, m), 2,38 (d, s), 2,98 (2 H, m), 3,10 (2 H, br s), 8,33 (2 H, br s), 12,42 (1 H, br s)

1176
1158

EJEMPLO 11 Sal de Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-bencilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil-acético

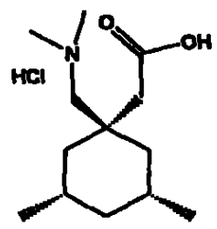


El Ejemplo 11 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó benzaldehído en lugar de propionaldehído y que se usó Et_2O para la recristalización (rendimiento 30%)

MS 290,1 (M+1 para $C_{18}H_{27}N_1O_2$), punto de fusión 162°C-163°C, Análisis ($C_{18}H_{27}N_1O_2$ HCl 0,20H_2O) (Cal) C 65,62, H 8,69, N 4,25 (hallado) C 65,60, H 8,71, N 4,31 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48 (dd, 1 H, J = 12,5 Hz), 0,79-0,90 (m, 8 H), 1,46 (br, 2 H), 1,64 (d, 3 H, J = 13,4 Hz), 2,42 (s, 2 H), 3,19 (s, 2 H), 4,23 (s, 2 H), 7,43-7,50 (m, 5 H)

1159

EJEMPLO 12 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-dimetilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético

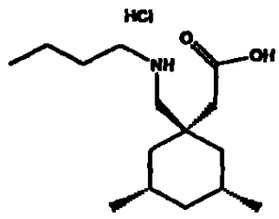


Una solución de la sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (8, 0,20 g, 0,59 mmol) en EtOH (15 ml), solución de hidróxido de sodio (1 N, 0,59 mmol) y H_2O (1 ml) se trató con 20% de Pd/C (50 mg) y se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 15 horas) La reacción se filtró, se trató con HCl/Et_2O a 1 N (1 ml) y se concentró en vacio El residuo se disolvió en i-PrOH caliente (4 ml), se diluyó con acetona (100 ml) y Et_2O (350 ml) y se enfrió a 0°C El sólido se filtró y se secó bajo vacio para dar 103 mg (rendimiento del 70%) del producto deseado

MS 228,1 (M+1 para $C_{12}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 195°C-196°C, Análisis ($C_{12}H_{23}N_1O_2$ HCl 0,41H_2O) (Cal) C 57,58, H 9,97, N 5,16 (hallado) C 57,73, H 9,71, N 4,91 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,56 (dd, 1 H, J = 24,4, 12,0 Hz), 0,89-0,92 (m, 8 H), 1,59-1,75 (m, 8 H), 2,51 (s, 2 H), 2,95 (s, 6 H), 3,44 (s, 2 H)

1160

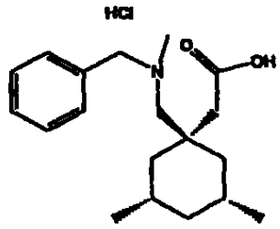
EJEMPLO 13 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-butilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético



El ejemplo 13 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó butiraldehído en lugar de propionaldehído (rendimiento del 48%)

MS 256,1 (M+1 para $C_{15}H_{29}N_1O_2$), punto de fusión 184°C-185°C, Análisis ($C_{15}H_{29}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 61,73, H 10,36, N 4,80 (hallado) C 61,71, H 10,21, N 4,72 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,53 (dd, 1 H, J = 24,4, 12,0 Hz), 0,86-0,99 (m, 11 H), 1,37-1,47 (m, 2 H), 1,60-1,75 (m, 7 H), 2,43 (s, 2 H), 3,02 (t, 2 H, J = 8,1 Hz), 3,20 (s, 2 H)

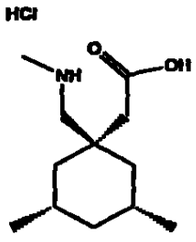
EJEMPLO 14 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-{1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético



1161

El Ejemplo 14 se preparó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usaron el análogo de N-bencilo (11) y formaldehído como los materiales iniciales y que se usó PtO_2 como el catalizador en lugar de Pd/C (rendimiento del 70%). MS 304,1 (M+1 para $C_{19}H_{29}N_1O_2$), punto de fusión 209°C-210°C; Análisis ($C_{19}H_{29}N_1O_2$ HCl 0,21$H_2$0) (Cal) C 66,40, H 8,92, N 4,08 (hallado) C 66,40, H 9,05, N 4,06 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,51 (dd, 1 H, J = 24,4, 12,2 Hz), 0,79-0,92 (m, 9 H), 1,29 (br, 1 H), 1,56-1,82 (m, 4 H), 2,51 (dd, 2 H, J = 18,8, 16,3 Hz) 2,85 (s, 2 H), 3,23-3,49 (m, 2 H), 4,37 (dd, 2 H, J = 31,7, 12,7 Hz), 7,45-7,54 (m, 5 H)

EJEMPLO 15 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

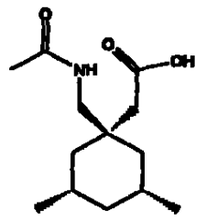


El Ejemplo 14 (0,14 g, 1,21 mmol) se disolvió en 95% de EtOH (50 ml), se trató con solución de hidróxido de sodio (1 N, 1,21 mmol) así como 20% de Pd/C (0,1 g), y se agitó bajo una

LZD
1162

atmósfera de H_2 (50 psi) durante 45 minutos La reación se filtró, se trató con HCl/Et_2O (1 M, 1 ml), y se concentró en vacío El residuo se trató con iPr/OH caliente, el NaCl se filtró y la solución se concentró en vacío El producto crudo se recristalizó desde iPrOH/acetona/hexano (7 150 110 ml) y se secó bajo vacío para dar 0,189 (63%) del producto deseado MS 214,1 (M+1 para $C_{12}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 182°C-183°C, Análisis ($C_{12}H_{23}N_1O_2$ HCl H_2O) (Cal) C 57,70, H 9,68, N 5,61 (hallado) C 57,47, H 9,58, N 5,35 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,52 (dd, 1 H, J = 24,4, 12,2 Hz), 0,84-0,98 (m, 8 H), 1,57-1,72 (m, 5 H), 2,38 (s, 2 H), 2,72 (s, 3 H), 3,21 (s, 2 H)

EJEMPLO 16 Acido 1α,3β,5β-[1-(acetilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético

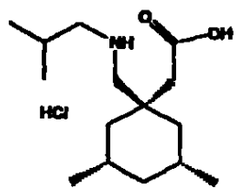


El Ejemplo 8 (0,5 g, 21, mmol) se trató con H_2O (10 ml) y NaOH (0,56 g, 14,0 mmol), se enfrió a 0°C y se trató con anhídrido acético La reacción se agitó toda la noche a temperatura ambiente, luego se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con HCl

1N (100 ml) La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró en vacio El material crudo fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 4% de $MeOH/CH_2Cl_2$ para dar 0,138 g (27%) del producto deseado como un aceite que se solidificó bajo vacío

MS 242,1 (M+1 para $C_{13}H_{23}N_1O_3$), punto de fusión 122°C-124°C, Análisis ($C_{13}H_{23}N_1O_3$) (Cal) C 64,70, H 9,61, N 5,80 (hallado) C 64,65, H 9,59, N 5,63 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,46 (dd, 1 H, J = 23,7, 11,7 Hz), 0,81-0,87 (m, 9 H), 1,56 (d, 2 H, J = 13,4 Hz), 1,65-1,76 (m, 3 H), 1,98 (s, 3 H), 2,18 (s, 2 H), 3,30 (s, 3 H)

EJEMPLO 17 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isobutilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético

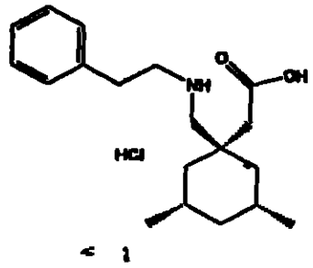


El Ejemplo 17 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó isobutiraldehído en lugar de propionaldehído (rendimiento del 53%)

MS 256 (M+1 para $C_{15}H_{29}N_1O_2$), punto de fusión 193°C-194°C, ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,53 (dd, 1H, J = 24,3, 12,5 Hz), 0,81-0,90 (m, 2

H), 0,89 (d, 6H, J = 6,4 Hz), 1,03 (d, 6H, J = 6,8 Hz), 1,57-1,71 (m, 5H), 2,09 (m, 1 H), 2,49 (s, 2 H), 2,88 (d, 2H, J = 7,1 Hz), 3,19 (s, 2 H)

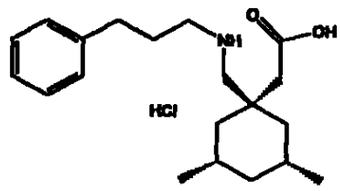
EJEMPLO 18 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético



El Ejemplo 18 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó fenilacetaldehído en lugar de propionaldehído (rendimiento del 16%)

MS 304 (M+1 para $C_{19}H_{29}N_1O_2$), punto de fusión 188°C-189°C, Análisis ($C_{19}H_{29}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 67,14, H 8,90, N 4,12 (hallado) C 66,94, H 8,91, N 3,98 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,46 (dd, 1 H, J = 24,6, 12,3 Hz), 0,81-0,91 (m, 8 H), 1,58-1,72 (m, 5 H), 2,50 (s, 2H), 3,04-3,08 (m, 2H), 3,26-3,30 (m, 4H), 7,23-7,75 (m, 5H)

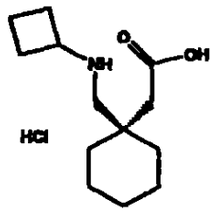
EJEMPLO 19 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético



El ejemplo 19 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó hidrocinamaldehído en lugar de propionaldehído (rendimiento del 50%)

MS 318 (M+1 para $C_{20}H_{31}N_1O_2$), punto de fusión 171°C-172°C, Análisis ($C_{20}H_{31}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 67,87, H 9,11, N 3,96 (hallado) C 67,83, H 9,13, N 3,78 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,53 (dd, 1 H, J = 24,6, 12,1 Hz), 0,80-0,90 (m, 2 H), 0,90 (d, 6H, J = 6,0 Hz), 1,60-1,72 (m, 5 H), 2,03-2,11 (m, 2H), 2,45 (s, 2H), 2,73 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,06 (t, 2H, J = 7,7 Hz), 3,3 (s, 2H), 7,20-7,18 (m, 5H)

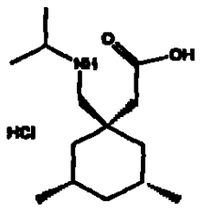
EJEMPLO 20 Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclobutilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético



El Ejemplo 20 se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 26, salvo porque se usó ciclobutano en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 70%)

MS 226 (M+1 para $C_{13}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 176°C-177°C, Análisis ($C_{13}H_{23}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 59,64, H 9,24, N 5,35 (hallado) C 59,88, H 9,18, N 5,19 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1,16-1,60 (br, 10 H), 1,80-1,96 (m, 2 H), 2,21-2,40 (m, 4 H), 2,53 (s, 2H), 2,97 (s, 2H), 3,73 (M, 1 H)

EJEMPLO 21 Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[1-(isopropilamino-metil)-3-dimetil-ciclohexil]-acético



El Ejemplo 21 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 9, salvo que se usó acetona en lugar de propionaldehído (rendimiento del 50%)

MS 242 (M+1 para $C_{14}H_{27}N_1O_2$), punto de fusión 206°C-207°C, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,53 (dd, 1 H, J = 24,8, 12,5 Hz), 0,80-0,90 (m, 2 H), 0,99 (d, 6H, J = 6,1 Hz), 1,35 (d, 6H, J = 6,6 Hz), 1,55-1,78 (m, 5H), 2,45 (s, 2H), 3,18 (s, 2 H), 3,41 (m, 1H)

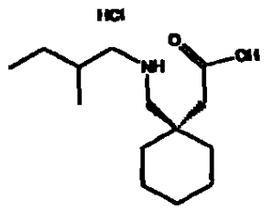
EJEMPLO 22 El acido 1-aminometil-1-ciclohexano-acético se describió anteriormente en Satzinger et al, US 4 087 544, 2 de mayo de 1978

EJEMPLO 23 El ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético se describió anteriormente en Satzinger et al, US 4 087 544, 2 de mayo de 1978

EJEMPLO 24 La sal de sodio del ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético se describió anteriormente en Satzinger et al, US 4 087 544, 2 de mayo de 1978

EJEMPLO 25 La sal de sodio del ácido 1-(1-hidroximetil)ciclohexano-acético se describió anteriormente en Satzinger et al, US 2 960 441, 1960

EJEMPLO 26 Síntesis de la sal de clorhidrato del ácido {1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético



Una solución del ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (Ejemplo 22, 2,0 g, 11,7 mmol) en EtOH (100 ml) se trató con 2-metil-butiraldehído (4 ml, 35,1 mmol) y PtO_2 (0,5 g) y se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 2 h La reacción se filtró, se trató con HCl/Et_2O a 1 N (12 ml), se concentró en vacío, se disolvió en i-PrOH caliente (10 ml), se diluyó con acetona (600 ml), se enfrió a 0°C y se filtró para dar 1,58 g (49%) del producto deseado

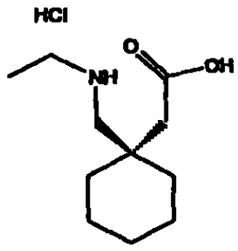
MS 242,1 (M+1 para $C_{14}H_{27}N_1O_2$), punto de fusión 162°C-163°C, Análisis ($C_{14}H_{27}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 60,52, H 10,16, N 5,04 (hallado) C 60,41, H 10,26, N 4,95 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,95 (t, 3 H, J = 7,3 Hz), 1,02 (d, 3 H, J = 6,6 Hz), 1,20-1,31 (m, 1 H), 1,42-1,56 (m, 11 H), 1,81-1,89 (m, 1 H), 2,63 (dd, 2 H, J = 18,3, 16,1 Hz), 2,82 (dd, 1 H, J = 12,5, 8,3 Hz), 2,99 (12,5, 6,1 Hz), 3,07 (dd, 2 H, J = 25,6, 12,9 Hz)

EJEMPLO 27 La sal de clorhidrato del ácido (1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó 4-trifluorobutiraldehído en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 19%)

MS 282,1 (M+1 para $C_{13}H_{22}N_1O_2F_3$), punto de fusión 163°C-164°C, Análisis ($C_{13}H_{22}N_1O_2F_3$ HCl $0,05H_2O$) (Cal) C 49,00, H 7,31, N 4,40 (hallado) C 48,60, H 7,29, N 4,19 ^1H NMR (CD_3OD) δ

1,40-1 ,4 (m, 11 H), 1,96-2,04 (m, 2 H), 2,26-2,38 (m, 2 H), 2,57 (s, 2H), 3,09-3,13 (m, 4 H)

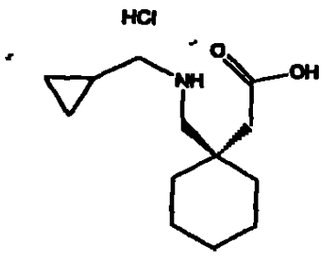
EJEMPLO 28 Sal de clorhidrato del ácido (1-etilaminometil-ciclohexil)-acético



El Ejemplo 28 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó acetaldehído en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 30%)

MS 200,1 (M+1 para $C_{11}H_{21}N_1O_2$), punto de fusión 160°C-166°C, Análisis ($C_{11}H_{21}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 56,04, H 9,41, N 5,94 (hallado) C 55,98, H 9,36, N 5,79 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1,31-1,54 (m, 13 H), 2,54-2,56 (m, 2 H), 3,06-3,13 (m, 4 H)

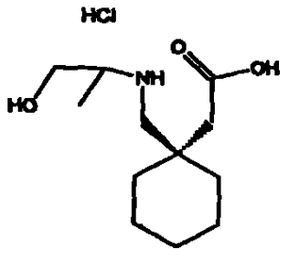
EJEMPLO 29 Sal de clorhidrato del ácido {1-[(Ciclopropilmetil-amino)-metil]-ciclohexil}-acético



El Ejemplo 29 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo porque se usó ciclopropanocarboxaldehído en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 62%)

MS 226 (M+1 para $C_{13}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 177°C-178°C, Análisis ($C_{13}H_{23}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 59,64, H 9,24, N 5,35 (hallado) C 59,72, H 9,15, N 5,27 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,50-0,56 (m, 2 H), 0 71-0 74 (m, 2H), 1 05-1 30 (m, 1 U), 1 42-1 54 (m, 10H), 2,52 (s, 2H), 2,94 (d, 2H, J = 7,3 Hz), 3,10 (s, 2H)

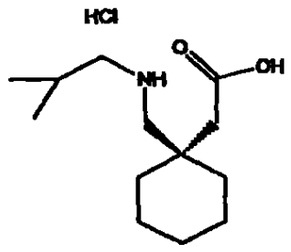
EJEMPLO 30 Sal de clorhidrato del ácido {1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético



El Ejemplo 30 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó 1-hidroxi-2-propano en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 60%)

MS 230 (M+1 for $C_{12}H_{23}N_1O_3$), punto de fusión 164°C-165°C, Análisis ($C_{12}H_{23}N_1O_3$ HCl) (Cal) C 54,23, H 9,10, N 5,27 (hallado) C 54,23, H 9,01, N 5,18 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1,30-1,32 (m, 3 H), 1,44-1,55 (m, 10H), 2,60 (s, 2H), 3,11 (m, 2H), 3,28 (br, 2H), 3,37 (hr, 1H), 3,57-3,61 (m, 1H), 3,78-3,81 (m, 1H)

EJEMPLO 31 Sal de clorhidrato del ácido [1-(isobutilamino-metil)-diclohexil]-acético



El Ejemplo 31 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó ciclopropanocarboxaldehído en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 35%)

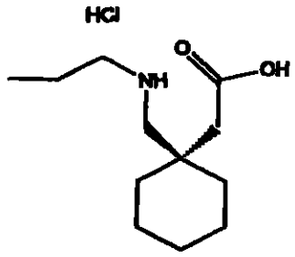
1

MS 228 (M+1 para $C_{13}H_{25}N_1O_2$), punto de fusión 175°C-176°C, Análisis ($C_{13}H_{25}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 59,19, H 9,93, N 5,51, (hallado) C 59,28, H 9,98, N 5,24 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1,03 (d,

H30
1172

6H, J = 6,9 Hz), 1,37-1,60 (m, 10H), 2,10-2,17 (m, 1H), 2,63 (s, 2H), 2,87 (d, 2H, J = 7,4 Hz), 3,07 (s, 2H)

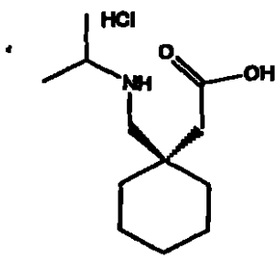
EJEMPLO 32 Sal de clorhidrato del ácido (1-propilaminometil-ciclohexil)-acetico



El Ejemplo 32 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó propionaldehido en lugar de 2-metilbutiraldehido

MS 214,1 (M+1 para $C_{12}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 174°C-177°C, Análisis ($C_{12}H_{23}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 57,70, H 9,69, N 5,61 (hallado) C 57,55, H 9,77, N 5,48 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,93 (t, 1 H, J = 6,3 Hz), 0,99-1,03 (m, 4 H), 1,40-1,54 (m, 13 H), 1,72-1,78 (m, 2 H), 2,96-3,29 (m, 2 H)

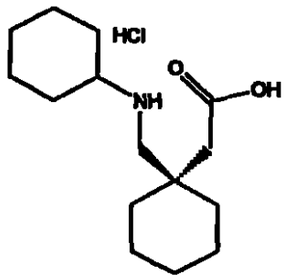
EJEMPLO 33 Sal de clorhidrato del ácido [1-(isopropilamino-metil)-ciclohexil]-acetico



El Ejemplo 33 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo porque se usó acetona en lugar de 2-metilbutiraldehído

MS 214,1 (M+1 para $C_{12}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 193°C-194°C, ^1H NMR (CD_3OD) δ 1,29-1,57 (m, 18 H), 2,59 (s, 2 H), 3,07 (s, 2 H), 3,38-3,42 (m, 1H)

EJEMPLO 34 Sal de clorhidrato del ácido (1-ciclohexilaminometil-ciclohexil)-acético

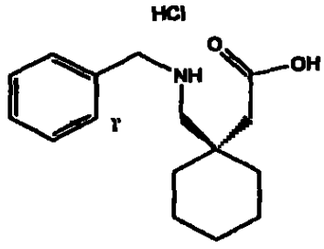


El Ejemplo 34 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó ciclohexanona en lugar de 2-metilbutiraldehído (rendimiento del 48%)

H350
1174

MS 254 (M+1 para $C_{15}H_{21}N_1O_2$), punto de fusión 198°C-199°C, Análisis ($C_{15}H_{27}N_1O_2$ HCl) (Cal) C 62,12, H 9,74, N 4,83 (hallado) C 62,18, H 9,84, N 4,75 ^{1}H NMR (CD3OD) 8 1,20-1,60 (m, 16 H), 1,63-1,76 (m, 1H), 1,88 (br, 2H), 2,13 (br, 2H), 2,60 (m, 2H), 3,09 (m, 3H)

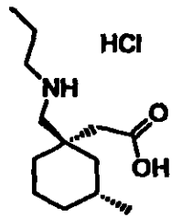
EJEMPLO 35 Sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil)-acético



El Ejemplo 35 se sintetizó de acuerdo con el método del Ejemplo 26, salvo que se usó benzaldehido en lugar de 2-metilbutiraldehído

MS 262,0 (M+i para $C_{19}H_{23}N_1O_2$), punto de fusión 125°C-135°C, ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1,38-1,49 (m, 11 H), 2,55 (s, 2 H), 3,07 (s, 2 H), 4,23 (s, 2 H), 7,43-7,49 (m, 5 H)

EJEMPLO 36 Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético

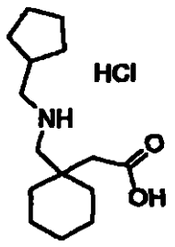


La sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-1-aminometil-3-metil-ciclohexil)-acético (Ejemplo 1, 1,1 g, 4,9 mmol) se disolvió en etanol (95 ml) y se trató con NaOH a 1 N (5 ml) Se agregó pripionaldehido (4,9 ml) y luego 10% de Pd/C (0,5 g), y la reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 15,75 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1M (20 ml) en éter y la solución se concentró en vacio El residuo se disolvió en isopropanol caliente (100 ml), se filtró y se concentró en vacio El residuo se disolvió en isopropanol (10 ml) y se recristalizó desde acetona El sólido se filtró y el filtrado se enfrió toda la noche para dar una segunda cosecha de cristales Los sólidos se combinaron para dar el producto deseado (0,78 g, 66%)

MS 228,1 (M+1 para $C_{13}H_{25}NO_2$), punto de fusión 179°C-179,5°C, Análisis ($C_{13}H_{25}NO_2$ HCl) (Cal) C 59,19, H 9,93, N 5,31, (hallado) C 59,27, H 9,97, N 5,07 IR (KBr, cm^{-1}) 2929 (br), 1717, 1188 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,84-1,03 (m, 8H), 1,12-1,17

(m, 1H) 1,46-1,79 (m, 8H), 2,43 (s, 2H), 3,00 (t, 2H, J = 7,8 Hz) 3,22 (s, 2H)

EJEMPLO 37 Sal de clorhidrato del ácido (1-[ciclopentilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético

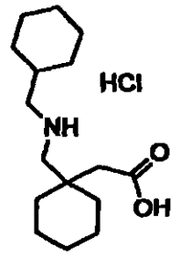


Ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (3,0 g, 17,5 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) Se agregó ciclopentanocarbaldehído (5 m l, 3 eq) y la reacción se trató con PtO_2 (0,25 g) La reacción se agitó luego bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 16,5 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1N (20 ml) y la reacción se concentró en vacío El residuo se recristalizó desde isopropanol caliente y acetona para dar el producto deseado (2,32 g, 52%)

MS 254,1 (M+1 para $C_{15}H_{27}NO_2$), punto de fusión 172°C-173°C, Análisis ($C_{15}H_{27}NO_2$ HCl) (Cal) C 62,16, H 9,74, N 4,83, (hallado) C 61,92, H 9,88, N 4,86 IR (KBr, cm^{-1} 2930, 2854, 2509, 1689, 1455, 1211 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1,23-1,32 (m, 2H), 1,41-1,73 (m, 16H), 1,90 (m, 1H), 2,63 (s, 2H), 3,01 (d, 2H, J = 7,6 Hz), 3,09 (s, 2H)

H35.
1177

EJEMPLO 38 Sal clorhídrica del ácido (1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético

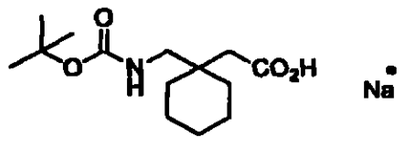


Ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (3,0 g, 17,5 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) Se agregó ciclohexanocarbaldehído (5 ml, 3 eq) y la reacción se trató con PtO_2 (0,25 g) La reacción se agitó luego bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 16,5 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1N y la reacción se concentró en vacío El residuo se recristalizó desde isopropanol caliente y éter para dar el producto deseado (3,57 g, 67%)

MS 268,1 (M+1 para $C_{15}H_{29}NO_2$), punto de fusión 167,5°C-168°C; Análisis ($C_{16}H_{29}NO_2$ HCl) (Cal) C 63,24 H 9,95, N 4,61, (hallado) C 63,14, H 10,01, N 4,45 IR (KBr, cm^{-1}) 2926, 2851, 1718, 1684 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1,03 (m, 1H), 1,20-1,85 (m, 20H), 2,63 (s, 2H), 2,88 (d, 2H, J = 6,8 Hz), 3,07 (s, 2H)

H36
1178

EJEMPLO 39 Acido [1-(terc-butoxicarbonilamino-metil)-ciclohexil]-acético

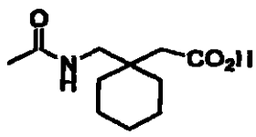


Ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (10,0 g, 58,4 mmol) se disolvió en THF (280 ml) y se lo trató con NaOH a 1N (128,5 ml) La reacción se enfrió a 0°C y se agregaron 14,0 g (1,1 eq) de di-terc-butildicarbonato por porciones con agitación vigorosa La reacción se mantuvo caliente a la temperatura ambiente y se agitó toda la noche Luego se evaporó el THF y la capa acuosa se lavó con acetato de etilo (3x50 ml) La capa acuosa se acidificó con KH_2PO_4 (44 g) y se observó espuma Gradualmente la espuma fue reemplazada con un precipitado blanco El precipitado se filtró y se lavó con agua para dar el producto deseado (15,2 g, 96%)

MS 272,1 (M+1 para $C_{14}H_{25}NO_4$), punto de fusión 181°C, Análisis ($C_{14}H_{25}NO_4$) (Cal) C 59,52, H 9,36, N 4,76, (hallado) C 59,51, H 9,03, N 4,87 IR (KBr, cm^{-1}) 3413, 3054, 2933 (br), 1709, 1666, 1531, 1248, ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 1,27-1,58 (m, 19H), 2,29 (s, 2H), 3,12 (d, 2H, J = 6,8 Mz), 4,97 (br, 1 H)

~~1197~~
1179

EJEMPLO 40 **Acido [1-(acetilamino-metil)-ciclohexil]-acético**

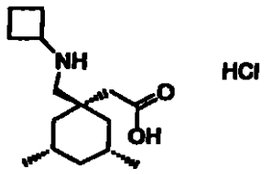


Ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (2,0 g, 11,7 mmol) se disolvió en H_2O (20 ml), luego se agregaron NaOH (3,1 g, 77,5 mmol, 6,6 eq) y anhídrido acético (1,8 ml, 19,3 mmol, 1,7 eq) La reacción fue dejada agitar a temperatura ambiente durante 2 días Se agregó HCl a 1N (125 ml) y la reacción se extrajo con EtOAc (125 ml) La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró en vacío El residuo se disolvió en H_2O (100 ml) y se trató con NaoH (0,12 g) y se concentró en vacío La muestra luego fue sometida a cromatografía rápida con 6% de $MeOH/CH_2Cl_2$ para dar el producto deseado (0,31 g, 12%)

MS 214,1 (M+1 $C_{11}H_{19}NO_3$), punto de fusión 107°C-108°C, Análisis ($C_{11}H_{19}NO_3$) (calculado) C 61,95 H 8,98 N 6,57 (hallado) C 61,96 H 9,03 N 6,54, TLC 0,31 6% MeOH/ CH_2Cl_2, IR (KBr, cm^{-1}) 3236, 3120, 2932, 2440, 1714, 1576, 1419, 1313, 1208 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 1,25-1,51 (m, 10 H), 2,06 (s, 3H), 2,28 (s, 2H), 3,26-3,29 (m, 2H), 6,32 (br, 1 H)

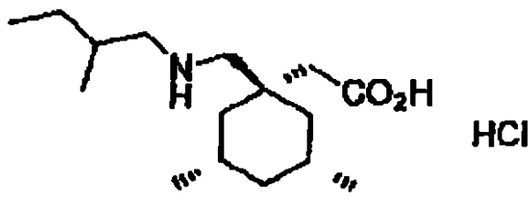
H358
1180

EJEMPLO 41 Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclobutilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético



Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético (0,76 g, 3,2 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con NaOH a 1N (3,2 ml) Se agregó ciclobutanona (1 ml, 6 eq) y luego PtO_2 (0,2 g) La reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 16 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1 N en éter (35 ml), y la reacción se concentró en vacío El residuo se disolvió en isopropanol caliente (150 ml) y se filtró La acetona (100 ml) y éter (600 ml) que se habían enfriado a 0°C se agregaron a la solución La solución fue dejada en reposo a 0°C durante 2 h, en cuyo momento se observaron cristales Los cristales se recogieron y se lavaron con éter y acetona (0,38 g, 41%)
MS 254,1 (M+1 $C_{15}H_{27}NO_2$), punto de fusión 200°C-201°C, Análisis ($C_{15}H_{27}NO_2$) (calculado) C 62,16 H 9,74 N 4,83 (hallado) C 62,09 H 9,72 N 4,68, IR (KBr, cm^{-1}) 2926, 1720, 1189 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 H), 0,85-0,92 (m, 8H), 1,60-1,73 (m, 2H), 1,78-1,93 (m, 2H), 2,22-2,38 (m, 4 H), 2,42 (s, 2H), 3,11 (s, 2H), 3,72-3,78 (m, 1H)

EJEMPLO 42 Sal de clorhidrato del ácido ((3R, 5S)-3,5-dimetil-1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético

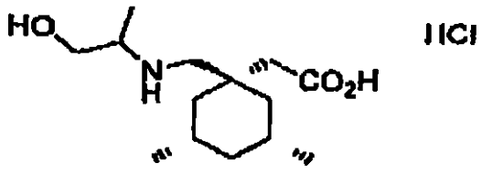


Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (1,0 g, 4,4 mmol) se disolvió en etanol (47 ml) y se trató con NaOH a 1N (4,4 ml) Se agregó isobutiraldehído (1 ml, 3 eq) y luego PtO_2)0,17 g) La reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1N (10 ml) en éter y la reacción se concentró en vacío El residuo se disolvió en isopropanol caliente (100 ml) y se filtró Luego se lo concentró en vacío y se lo recristalizó desde acetona y hexano Los cristales fueron recogidos y lavados con hexano para dar el producto deseado (0,89 g, 75%)

MS 270,1 (M+1 $C_{16}H_{31}NO_2$), punto de fusión 171°C-173°C, Análisis ($C_{16}H_{31}NO_2$ HCl) (calculado) C 62,82 H 10,54 N 4,58 (hallado) C 62,59 H 10,43 N 4,52, IR (KBr, cm^{-1}) 2964, 1721, 1485, 1186, 840 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 H), 0,81-1,07 (m, 12H), 1,23-1,27 (m, 1H), 1,45-1,72 (m, 6H), 1,83-1,91 (m, 1 H), 2,50 (s, 2H), 2,83 (dd, 1H, J = 8,3, 12,5 Hz), 3,00 (dd, 1H, J = 6,1, 12,5 Hz), 3,13-3,29 (m, 4 H)

H40
1182

EJEMPLO 43 Sal de clorhidrato del ácido ((3R, 5S)-1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético

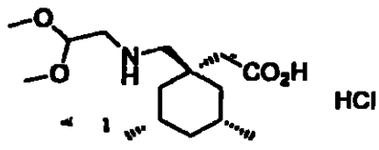


La sal de clorhidrato del ácido ((3R, 5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (1,0 g, 4,3 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con NaOH a 1H (4,3 ml), se agregó 1-hidroxi-propan-2-ona (1 ml, 3 eq) y luego PtO_2 (0,15 g) La reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 82 h Se agregó PtO_2 (0,1 g) y 1-hidroxi-propan-2-ona (1 ml) y la reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 durante otras 24 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1N en éter (35 ml) y la reacción se concentró en vacio El residuo se disolvió en isopropanol caliente (150 ml) y se filtró Luego se lo concentró en vacío y se lo recristalizó desde isopropanol caliente, acetona y éter Los cristales se recogieron, se lavaron con éter así como acetona y se secaron (0,30 g, 1,04 mmol, 24%)

MS 258,1 (M+1 para $C_{14}H_{27}NO_3$), punto de fusión 178°C-179°C, Análisis ($C_{14}H_{27}NO_3$ HCl) (calculado) C 57,23 H 9,60 N 4,77

(hallado) C 56,77 H 9,39 N 4,45, IR (KBr, cm^{-1}) 3349, 2897, 1704, 1419, 1194 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 H), 0,84-0,90 (m, 8H), 1,25-1,32 (m, 4H), 1,60-1,75 (m, 5H), 2,47 (s, 2 H), 3,23 (d, 2H, J = 5,1 Hz), 3,38 (m, 1H), 3,58 (dd, 1H, J = 12,0, 7,1 Hz), 3,79 (dd, 1H, J = 12,0, 4,2 Hz)

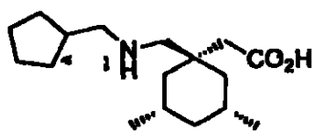
EJEMPLO 44 Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético



Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (1,0 g, 4,3 mmol) se disolvió en etanol (47 ml) Se agregó glixoal 1,1-dimetil acetal (3,7 ml, 3,0 eq) y la reacción se trató con PtO_2 (0,17 g) La reacción luego se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 h La reacción se filtró, se agregó HCl a 1H en éter (10 ml) y la reacción se concentró en vacio El residuo se disolvió en isopropanol caliente (100 ml) y se filtró Luego, el filtrado se concentró, y el residuo se recristalizó desde acetona y hexanos para dar el producto deseado (0,92 g, 75%)
MS 288,1 (M+1 $C_{15}H_{29}NO_4$), punto de fusión 125°C, Análisis ($C_{15}H_{29}NO_4$ HCl) (calculado) C 55,63 H 9,34 N 4,32 (hallado)

C 55,29 H 9,48 N 4,18, IR (KBr, cm^{-1}) 2949, 1715, 1457, 1191, 1134, 1077 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,47-0,56 (m, 1 H), 0,81-0,90 (m, 8H), 1,59-1,71 (m, 5H), 2,46 (s, 2 H), 3,18 (d, 2H, J = 5,1 Hz), 3,26-3,29 (m, 2H), 3,45-3,47 (m, 6H), 4,73 (t, 1H, J = 5,1 Hz)

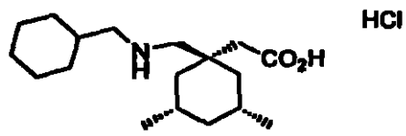
EJEMPLO 45 Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(ciclopentilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético



La sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (1,0, g, 4,1 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con NaOH a 1N (4,2 ml) Se agregó ciclopentanocarbaldehído (1,5 ml, 3 eq) y luego PtO_2 (0,2 g) La reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 12 h La reacción se filtró, se agregó HCl 1N en éter (35 ml), y la reacción se concentró en vacío El residuo se disolvió en isopropanol caliente (150 ml) y se filtró Luego la solución se concentró en vacío y se recristalizó desde isopropanol caliente, acetona y éter Los cristales se recogieron y se lavaron con éter y acetona (0,40 g, 27%)

MS 282,1 (M+1 $C_{17}H_{31}NO_2$), punto de fusión 187°C-188°C, Análisis ($C_{17}H_{31}NO_2$ HCl) (calculado) C 64,23 H 10,15 N 4,41 (hallado) C 64,11 H 10,04 N 4,34, IR (KBr, cm^{-1}) 2952, 1720, 1452, 1185 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 H), 0,81-0,90 (m, 8H), 1,25-1,32 (m, 2H), 1,60-1,71 (m, 9 H), 1,89-1,93 (m, 2H), 2,25-2,29 (m, 1H), 2,49 (m, 1H), 2,49 (s, 2H), 3,01 (d, 2H, J= 7,6 Hz), 3,20 (s, 2H)

EJEMPLO 46 Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético



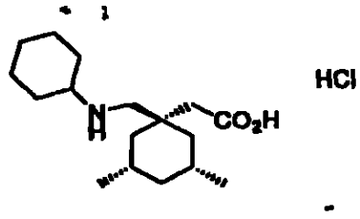
La sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (1,0 g, 4,2 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con NaoH 1N (4,3 ml) Se agregó ciclohexanocarbaldehído (1,5 ml, 3 eq) y luego PtO_2 (0,15 g) La reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 17 h La reacción se filtró, se agregó HCl 1N en éter (35 ml) y la reacción se concentró en vacío El residuo se disolvió en isopropanol caliente (150 ml) y se filtró Luego la solución se concentró en vacío y se recristalizó desde isopropanol

HAA 1186

caliente, acetona y éter Los cristales se recogieron y se lavaron con éter y acetona (0,46 g, 34%)

MS 296,2 (M+1 para $C_{18}H_{33}NO_2$), punto de fusión 176°C-177°C, Análisis ($C_{18}H_{33}NO_2$ HCl) (calculado) C 65,13 H 10,32 N 4,22 (hallado) C 64,89 H 10,36 N 4,09, IR (KBr, cm^{-1}) 2919, 2851, 1721, 1453, 1192 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 H), 0,81-0,90 (m, 8H), 1,00-1,36 (m, 5H), 1,60-1,71 (m, 11H), 2,49 (s, 2 H), 2,88 (d, 2H, J = 6,8 Hz), 3,18 (s, 2H)

EJEMPLO 47 Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclohexilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético

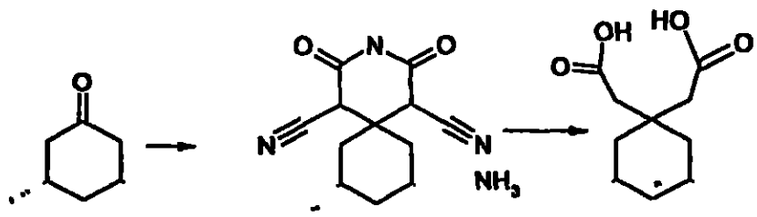


La sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (0,99 g, 4,2 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con NaoH 1N (4,2 ml) Se agregó ciclohexanona (1,5 ml, 3 eq) y luego PtO_2 (0,2 g) La reacción se agitó a una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 17 h La reacción se filtró luego, se agregó HCl 1N en éter (35 ml) y la reacción se concentró en vacío El residuo se disolvió en isopropanol caliente (150 ml) y se filtró Luego la solución se concentró en vacío y se recristalizó desde isopropanol

caliente, acetona y éter Los cristales se recogieron y se lavaron con éter y acetona (0,33 g, 25%)

MS 282,1 (M+1 para $C_{17}H_{31}NO_2$), punto de fusión 210°C, Análisis ($C_{17}H_{31}NO_2$ HCl) (calculado) C 64,23 H 10,15 N 4,41 (hallado) C 63,89 H 9,98 N 4,33, IR (KBr, cm^{-1}) 2921, 1691, 1452, 1216 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,47-0,57 (m, 1 H), 0,82-0,90 (m, 8H), 1,30-1,46 (m, 5H), 1,57-1,63 (m, 2H), 1,69 (d, 2H, J = 12,5 Hz), 2,13 (d, 2H, J = 10,3 Hz), 2,46 (s, 2 H), 3,04-3,10 (m, 1 H), 3,21 (s, 2H)

EJEMPLO 48 Ácido ((3R,5S)-1-carboximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético



48a **Ejemplo 48**

Paso i Síntesis de la sal de amonio del (8R,10S)-8,10-dimetil-3-aza-espiro[5 5]undecano-1,5-dicarbonitrilo (48a)

Una solución de etanol abosoluto (40 ml) se enfrió a 0°C y se saturó con gas de NH_3, luego se trató con cis-3,5-dimetil-ciclohexanona (5,0 g, 39,62 mmol) y etil cianoacetato (8,43

H96
1188

ml, 79,24 mmol) El matraz fue detenido, se lo dejó calentar a la temperatura ambiente y se agitó toda la noche El precipitado se filtró, se enjuagó con Et_2O y se secó bajo vacío para dar 6,04 g (59%) del producto deseado como un sólido pálido

MS 260,1 (M+1 para $C_{14}H_{17}N_3O_2$), Análisis ($C_{14}H_{17}N_3O_2$ NH_3 0,88 H_2O) (calculado) C 57,55 H 7,51 N 19,17 (hallado) C 57,67 H 7,45 N 19,06, IR (KBr, cm^{-1}) 3298, 2954, 2172, 1700, 1575 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,46-0,50 (m, 1 H), 0,82-1,17 (m, 11H), 1,65-1,98 (m, 3H), 3,58 (dd, 2H, J = 13,9, 6,8 Hz)

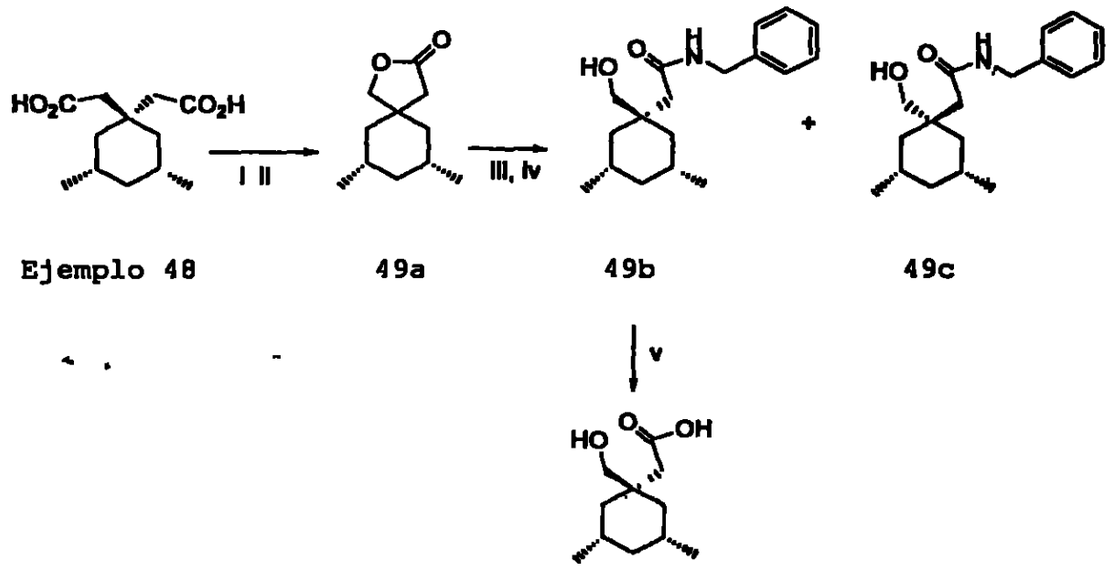
Paso ii Síntesis del Ejemplo 48 Se trató al (8S,10R)-8,10-dimetil-2,4-dioxo-3-aza-espiro[5 5]undecano-1,5-dicarbonitrilo (**48a**, 25,36 g, 97,8 mmol) con H_2SO_4 concentrado (102 ml) y agua (30 ml) La reacción se calentó a 150°C durante 5 h, luego se la dejó enfriar a temperatura ambiente y agitar toda la noche La reacción se filtró y el sólido se recogió y se disolvió en NaOH 1 N Esta solución se filtró, luego el filtrado se acidificó con HCl concentrado (40 ml) El precipitado se recogió y se secó toda la noche bajo alto vacío El compuesto luego se disolvió en isopropanol caliente (100 ml) y se recristalizó desde agua y dio el producto deseado (13,21 g, 59%)

MS 229,1 (M+1 para $C_{12}H_{20}O_4$), Análisis ($C_{12}H_{20}O_4$) (calculado) C 63,14 H 8,83 (hallado) C 63,36 H 8,92 IR (KBr, cm^{-1}) 2950,

H47
1189

2913, 1698 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,40-0,48 (m, 1 H), 0,77-0,85 (m, 8H), 1,57-1,77 (m, 5H), 2,41 (s, 2 H), 2,56 (s, 2H)

EJEMPLO 49 Sal de clorhidrato de trans-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético



Ejemplo 48 49a 49b 49c

Ejemplo 49

Pasos i y ii Síntesis de la (cis/trans)-(7S-,9R)-7,9-Dimetil-2-oxa-espiro[4 5]decan-3-ona (49a)

(i) El di-ácido (48, 6,36 g, 27,9 mmol) se suspendió en H_2O (93 ml), se trató con hidróxido de amonio (3,5 ml) y nitrato de plata (4,73 g, 27,9 mmol) y se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente La reacción se filtró y el sólido se suspendió nuevamente tres veces con H_2O, luego se secó bajo

1147
1140

vacío en un lugar oscuro durante dos días a 50°C para dar 6,41 g de la di-sal de plata, que fue transportada inmediatamente (ii) La di-sal de plata (1,24 g, 2,81 mmol) fue colocada en un matraz de ámbar, tratada con CCl_4 (50 ml) y yodo (0,72 g, 2,81 mmol) y calentada a 75°C toda la noche La reacción se filtró, se concentró en vacío y fue sometida a cromatografía sobre gel de sílice elueydndo con 4 1 hexanos/EtOAc para dar 0,37 g (72%) del producto deseado como un aceite pálido (49a) MS 183,0 (M+1 para $C_{11}H_{18}O_2$), Análisis ($C_{11}H_{18}O_2$ $0,05H_2O$) (calculado) C 72,13 H 9,96 (hallado) C 71,77 H 9,69 IR (KBr, cm^{-1}) 3298, 2954, 2172, 170, 1575, 1450, 1337 ^1H NMR ($CDCl_3$ -1 1 de mezcla de cis/trans diastereómeros) δ 0,49-0,59 (m, 10 H), 1,42-1,53 (m, 2H), 1,58-1,72 (m, 3H), 2,30 (s, 1 H, para un isómero 2), 2,39 (s, 1 H, para el otro isómero 2), 3,96 (s, 1H, para un isómero), 4,10 (s, 1 H, para el otro isómero)

Paso iii Síntesis de la (cis/trans)-N-Bencil-2-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acetamida (49b y 49c) La lactona (49a, 0,85 g, 4,66 mmol) se disolvió en THF (18 ml), se trató con bencilamina (0,61 ml 5,60 mmol) y se calentó a reflujo durante dos días La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se lavó con solución de bicarbonato de sodio saturado y solución salina, se secó sobre Na_2SO_4, y se concentró en vacío El residuo fue sometido a

4749
1191

cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 1 1 hexano/EtOAc para dar 0,79 g (59%) del producto deseado como un acetite claro (mezcla de cis y trans isómeros, **49b** y **49c**) MS 290,1 (M+1 para $C_{18}H_{27}N_1O_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,16 (2 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{18}H_{27}N_1O_2$) (calculado) C 74,70 H 9,40, N 4,84 (hallado) C 74,41 H 9,35, N 4,57

Paso iv Separacion de 49b y 49c La mezcla de los cis- y trans-sómeros (**49b** y **49c**) fue separada por HPLC (columna de C_{18} eluyendo con un gradiente de 60% de CH_3CN/40% de H_2O durante 5 minutos, luego 45% de CH_3CN/55% de H_2O durante 35 minutos, todas las fases móviles con 0,05% de TFA)

El trans-isómero (**49b**) TR= 23,600 minutos, 54 mg de rendimiento ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,36-0,62 (m, 3 H), 0,82 (d, 6H, J = 6,3 Hz), 1,39-1,70 (m, 5 H), 2,14 (s, 2 H), 2,58 (br, 1H), 3,60 (s, 2 H), 4,43 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 5,97 (br, 1 H), 7,26-7,37 (m, 5 H)

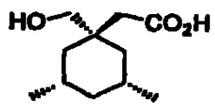
El cis-isómero (**49c**) TR= 25,828 minutos, 87 mg de rendimiento ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,47-0,56 (m, 1 H), 0,65 (t, 2H, J = 13,2 Hz), 0,85 (d, 6H, J = 6,3 Hz), 1,47-1,68 (m, 5 H), 2,38 (s, 2 H), 2,58 (br, 1H), 3,40 (s, 2 H), 4,45 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 6,03 (br, 1 H), 7,28-7,36 (m, 5 H)

H50
1192

Paso v La síntesis del Ejemplo 49 El trans isómero de *N*-bencil-2-(1-hidroximetil-ciclohexil)-acetamida (49b, 87 g, 0,303 mmol) fue tomado desde HPLC, disuelto en 5 ml de agua, y tratado con 24 mg de NaOH La reacción se calentó a reflujo durante 3 días Luego ésta se enfrió a la temperatura ambiente, se diluyó con NaOH 1N y se extrajo con EtOAc La capa acuosa se acidificó con HCl concentrado (5 ml) y luego se diluyó con HCl 1 N, y el producto se extrajo con EtOAc La capa orgánica se lavó con solución salina y se secó sobre Na_2SO_4 La solución se concentró para dar 23 mg (61%) del producto deseado

MS 201 (M+1 para $C_{11}H_{20}O_3$), ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 h), 0,88-1,00 (m, 8H), 1,40-1,49 (m, 2H), 1,68-1,70) (m, 3H), 2,28 (s, 2 H), 4,11 (s, 2 H)

EJEMPLO 50 Sal de clorhidrato del ácido *cis*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético



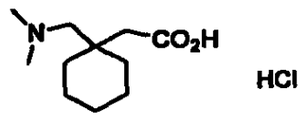
El cis isómero de *N*-Bencil-2-(1-hidroximetil-ciclohexil)-acetamida (49a, 87 mg, 0,303 mmol) fue tomada desde HPLC, disuelta en 5 ml de agua, y tratada con 24 mg de NaOH La reacción se calentó a reflujo durante 3 días, luego se enfrió a la temperatura ambiente, se diluyó con NaOH 1N, y se extrajo

454
1193

con EtOAc La capa acuosa se acidificó con HCl concentrado (5 ml) y luego se diluyó con HCl 1N y el producto se extrajo con EtOAc La capa orgánica se lavó con solución salina y se secó sobre Na_2SO_4 La solución se concentró para dar 43 mg (71%) del producto deseado

MS 201,1 (M+1 para $C_{11}H_{20}O_3$), ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1 h), 0,88-0,96 (m, 8H), 1,42-1,50 (m, 2H), 1,59-1,69) (m, 3H), 2,37 (s, 2 H), 3,94 (s, 2 H)

EJEMPLO 51 Sal de clorhidrato del ácido (1-dimetiaminometil-ciclohexil)-acético

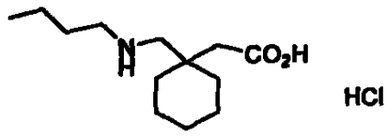


El ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (0,51 g, 3,0 mmol) se isolvió en etanol, y se agregó formaldehído (3 ml, 2 eq) Se agregó 10% de Pd/C (1,6 h) y la reacción se agitó a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno de 760 Torr durante 12 horas Luego la reacción se trató con HCl Hasta que el pH fue de 2, y se recristalizó desde acetona y éter para dar 1,62 g (87%) del producto deseado
óon 140°C-142°C, Análisis ($C_{11}H_{21}NO_2$ HCl) (Cal) C 54,99, H 9,44, N 5,83, (hallado) C 54,90, H 9,36, N 6,22 ^1H NMR

H5C
1194

(CD_3OD) δ 1,42-1,59 (m, 10H), 2,63 (s, 2H), 2,96 (s, 6H), 3,26-3,29 (m, 2H)

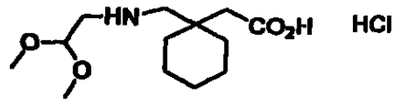
EJEMPLO 52 Sal de clorhidrato del ácido (1-butilaminometil-ciclohexil)-acético



El ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (0,86 g, 5,0 mmol) se disolvió en etanol (100 ml), luego se agregó Pd/C (10%, 0,86 g) y butiraldehído (1,44 g, 3 eq) La reacción fue colocada bajo 760 Torr de hidrógeno a temperatura abmiente hasta que la reacción fue completa Ésta fue filtrada, acidificada y concentrada El residuo se disolvió en isopropanol, se filtró y se recristalizó desde acetona y éter para dar el producto final

MS 228,1 (M+1 para $C_{13}H_{25}NO_2$), punto de fusión 142°C-154°C; Análisis ($C_{13}H_{25}NO_2$ HCl) (Cal) C 59,19, H 9,93, N 5,31, (hallado) C 58,85, H 9,86, N 5,05 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,98 (t, 3 H, J=7,3 Hz), 1,39-1,54 (m, 12H), 1,66-1,72 (m, 2H), 2,57 (s, 2H), 3,01 (t, 2H, J=9,3 Hz), 3,09 (s, 2H)

EJEMPLO 53 Sal de clorhidrato del ácido (1-[2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético

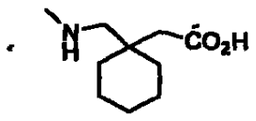


El ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (2,0 g, 11,7 mmol) se disolvió en etanol (100 ml) Se agregó glioxal 1,1-dimetil acetal (3,7 ml, 3 eq) y la reacción se trató con PtO_2 (0,5 g) La reacción se agitó luego bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 4 horas La reacción se filtró, se agregó HCl 1N (15 ml) y la reacción se concentró en vacio El residuo se recristalizó desde isopropanol caliente (25 ml) y acetona (700 ml) para dar 0,44 g (52%) del producto deseado

MS 260,1 (M+1 para $C_{13}H_{25}NO_4$), punto de fusión 128°C-129°C, Análisis ($C_{13}H_{25}NO_2$ HCl) (Cal) C 52,79, H 8,86, N 4,74, (hallado) C 52,84, H 8,94, N 4,67 IR (KBr, cm^{-1}(2926, 1693, 1457, 1208, 1087 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,40-1,55 (m, 10 H), 2,60 (s, 2H), 3,13 (s, 2H), 3,17 (d, 2H, J = 4,9 Hz), 3,45 (s, 6H), 4,72 (t, 1H, J=5,1 Hz)

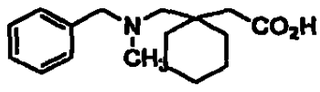
EJEMPLO 54 Sal de clorhidrato del ácido (1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

454
1196



La sal de clorhidrato del ácido {1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil}-acético (Ejmemplo 55, 4,1 g, 13,2 mmol) se disolvió en 95% de etanol (250 ml) Se agregó 10% de Pd/C (1 g) y la reacción se agitó a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno de 760 Torr durante 1 hora La reacción se filtró y se concentró, luego se recristalizó desde acetona y éter para dar 12,69 g (92%) del producto deseado
MS 186,0 (M+1 para $C_{10}H_{19}NO_2$), punto de fusión 158°C-162°C, Análisis ($C_{10}H_{19}NO_2$ HCl) (Cal) C .53,09, H 9,13, N 6,19, (hallado) C 53,14, H 8,96, N 6,34 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 1,42-1,54 (m, 10H), 2,50-2,53 (m, 2H), 2,71-2,74 (m, 3H), 3,09-3,11 (m, 2H)

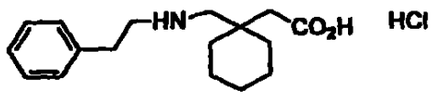
EJEMPLO 55 Sal de colorhidrato del ácido {1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil}-acético



La sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil]-acético (0,49 g, 1,7 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y fue tratada con NaOH 1N (1,8 ml) Se agregó

fomaldehído (1 ml, 5 eq) y la reacción fue tratada con PtO_2 (0,2 g) La reacción se agitó luego abajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 30 horas La reacción se filtró, se agregó HCl 1N en éter (10 ml) y la reacción se concentró en vacío para dar 0,31 g (1,14 mmol, 67%) del producto deseado
MS 274,1 (M-1 para $C_{17}H_{25}NO_2$), un aceite, IR (KBr, cm^{-1}) 3205, 2930, 2261, 1684, 1451, 1198 HRMS (calculado) 276,1963 (hallado) 276,1973 (M+1 para $C_{17}H_{25}NO_2$), ^1H NMR (CD_3OD) δ 1,33-1,63 (m, 13H), 2,28 (s, 2H), 3,06 (s, 2H), 4,40 (s, 2H), 7,21-7,34 (m, 5H)

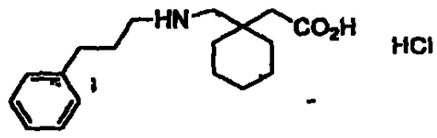
EJEMPLO 56 Sal de clorhidrato del ácido [1-(Fenetilamino-metil)-acético



El ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (2,0 g, 11,7 mmol) se disolvió en etanol (100 ml) Se agregó fenil-acetaldehído (4 ml, 3 eq) y la reacción se trató con 10% de Pd/C (0,5 g) La reacción se agitó luego bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 horas La reacción se filtró, se agregó HCl 1N en éter (20 ml) y la reacción se concentró en vacío El residuo se recristalizó desde isopropanol caliente y éter para dar 0,15 g (4,1%) del producto deseado

MS 276,1 (M+1 para $C_{17}H_{25}NO_2$), punto de fusión 182°C-183°C, Análisis ($C_{17}H_{25}NO_2$ HCl) (Cal) C 64,54, H 8,46, N 4,43, (hallado) C 64,54, H 8,35, N 4,34 IR (KBr, cm^{-1}) 2929, 2855, 2813, 1693, 1455, 1220 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1,38-1,58 (m, 10H), 2,56 (s, 2H), 3,01-3,06 (m, 2H), 3,14 (s, 2H), 3,23-3,29 (m, 2H), 7,21-7,34 (m, 5H)

EJEMPLO 57 Sal de clorhidrato del ácido {1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético



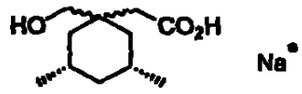
El ácido (1-aminometil-ciclohexil)-acético (2,00 g, 11,7 mmol) se disolvió en etanol (100 ml) Se agregó 3-fenil-propionaldehído (4,6 ml, 3 eq) y la reacción se trató con 10% de Pd/C (0,5 g) La reacción luego se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 horas La reación se filtró, se agregó HCl 1N (20 ml) en éter, y la reacción se concentró en vacio El residuo se recristalizó desde isopropanol caliente y éter para dar 0,46 g (12%) del producto deseado

MS 290,1 (M+1 para $C_{18}H_{27}NO_2$), punto de fusión 168°C-169°C, Análisis ($C_{18}H_{27}NO_2$ HCl) (Cal) C 66,34, H 8,66, N 4,40, (hallado) C 66,48, H 8,65, N 4,17 IR (KBr, cm^{-1}) 2932, 2854, 1686, 1454, 1217 ^1H NMR (CD_3OD) δ 1,38-1,58 (m, 10H),

1199

2,00-2,04 (m, 2H), 2,56 (s, 2H), 2,71 (t, 2H, J = 7,6 Hz)), 3,01-3,08 (m, 4H), 7,21-7,34 (m, 5H)

EJEMPLO 58 Sal de sodio del ácido (3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético

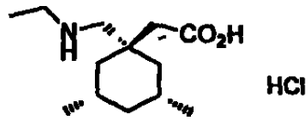


Se disolvió (7S,9R)-7,9-dimetil-2-oxa-espiro[4 5]decan-3-ona (49a, 1,04 g, 5,71 mmol) en agua (25 ml) y se la trató con NaOH (2,5 g) La reacción se calentó a reflujo (115°C) durante 4 horas. La solución se enfrió luego a temperatura ambiente, se lavó con Et_2), y la capa acuosa se concentró en vacío para dar un sólido (8 g) El residuo se lavó con ácido acético a 1N, y esto se extrajo con EtOAc, que luego se concentró El residuo se recristalizó desde EtoH, MeOH y hexanos para dar 0,75 g (3,75 mmol, 66%)

MS 199,0 (M-1 para $C_{11}H_{20}O_3$), HRMS (calculado) 199,1334 (hallado) 199,1333 (M-1 para $C_{11}H_{20}O_3$), punto de fusión >250°C

IR (KBr, cm^{-1}) 2953, 2910, 1777, 1706, 1458, 1168, 1012

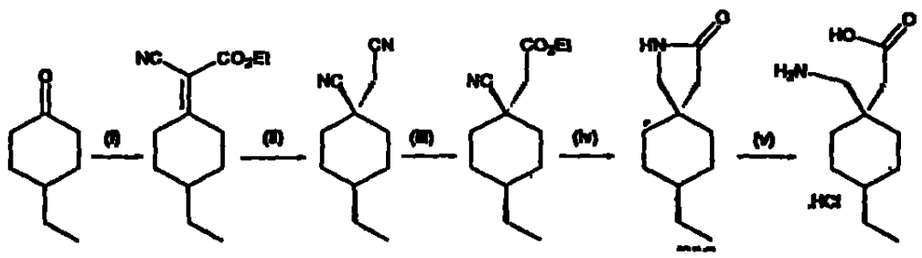
EJEMPLO 59 Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético



La sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético (**59a**, 0,418 g, 1,8 mmol, Compuesto **59a**, se preparó de acuerdo con el procedimiento de la bibliografía Bryans, J Bioorganic & Medical Chemistry Letters, 1997, 7(19), 2481) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con NaOH a 1N (1,8 ml) Se agrgó acetaldehído (0, ml, 3 eq) y la reacción se trató con PtO_2 (0,2 g) La reacción luego se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 horas La reacción se filtró, se agregó HCl a 1N (2 ml) en éter y la reacción se concentró en vacio El residuo se disolvió en isopropanol caliente (100 ml) y se filtró Se agregaron hexanos (100 ml) al filtrado a 0°C y el precipitado se recogió para dar 31 mg (0,14 mmol, 8%) del producto deseado

MS 228,1 (M+1 para $C_{13}H_{25}NO_2$), punto de fusión 167°C-168°C, IR (KBr, cm^{-1}) 2954 (br), 2502, 1685, 1459, 1223 Análisis ($C_{13}H_{25}NO_2$ HCl) (Cal) C 56,60, H 9,98, N 5,11, (hallado) C 56,60, H 9,85, N 4,77 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,47-0,56 (m, 1H), 0,78-0,89 (m, 8H), 1,30-1,36 (m, 3H), 1,61-1,79 (m, 5H), 2,58 (s, 2H), 2,99-3,10 (m, 4H)

EJEMPLO 60 Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-etil-ciclohexil)-acético



(60a) (60b) (60c) (60d) Ejemplo 60

Paso i Síntesis del etil éster del ácido 2-ciano-(4-etil-ciclohexilideno)-acético (60a)

Se disolvió 4-etilciclohexanona (13,0 g, 103,0 mmol) en tolueno (150 ml) y se trató con acetato de amonio (0,79 g, 10,3 mmol), ácido acético glacial (1,2 ml) y etil cianoacetato (11,65 g, 103,0 mmol) La reacción se calentó a reflujo durante 56 horas con una trampa de Dean-Stark, luego se la enfrió a la temperatura ambiente y se la lavó con H_2O (2x100 ml) La capa acuosa se lavó nuevamente con tolueno (2x150 ml) Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron en vacio El residuo fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 5 1 hexanos/acetato de etilo parara dar 19,81 g (87%) del producto deseado como un aceite amarillo claro (60a)

MS 222,1 (M+1 para $C_{13}H_{19}N_1O_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,93 (1 1 hexano/EtOAc), IR (KBr, cm^{-1}) 2931, 2225, 1728, 1602,

1233 ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0,82 (t, 3H, J = 7,4 Hz), 1,11-1,38 (m, 7H), 1,39-1,45 (m, 1H), 1,90-2,09 (m, 3H), 2,20-2,28 (m, 1H), 2,91-2,98 (m, 1H), 3,75-3,79 (m, 1H), 4,15-4,20 (m, 2H)

Paso ii Síntesis del *cis*-1-Cianometil-4-etil-ciclohexanocarbonitrilo (60b) El etil éster del ácido ciano-(4-etil-ciclohexilideno)-acético (60a, 16,57 g, 74,86 mmol) se disolvió en EtOH (100 ml) y se agregó a una suspensión de NaCN (3,67 g, 74,86 mmol) en EtOH/H_2O (300 ml/16 ml) La reacción se calentó a reflujo toda la noche, luego se enfrió a la temperatura ambiente y se filtró para remover la sal que había precipitado (4,58g) El filtrado se concentró en vacío para dar un aceite de color amarillo, altamente viscoso, claro El residuo fue sometido a cromatografía rápida sobre gel de silice eluyendo con 16 1 hexanos/EtOAc para dar 11,82 g (77%) (una mezcla del 81% del *cis*- y el 19% de los *trans*-isómeros) del producto como un aceite de color amarillo (60c)
MS no se observó ningun ion de M+1 ($C_{11}H_{16}N_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,55 (2 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{11}H_{16}N_2$) (Calculado) C 74,96, H 9,15, N 15,89 (hallado) C 74,84, H 8,97, N 15,74 IR (KBr, cm^{-1}) 2934, 2240, 1453 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,90 (t, 3H, J = 7,6 Hz), 1,18-1,47 (m, 7H), 1,83-1,87 (m, 2H), 2,07-2,10 (m, 2H), 2,85 (s, 2H)

H64
1203

Paso iii Síntesis del etil ester del ácido *cis*-(1-ciano-4-etil-ciclohexil)-acético (60c)

Se disolvió *cis*-1-cianometil-4-etil-ciclohexanocarbonitrilo (60b, 6,16 g, 34,95 mmol) en EtoH (92 ml) y tolueno (92 ml), se enfrió a 0°C y se saturó con gas de HCl La solución fue detenida y se la dejó agitarse toda la noche a temperatura ambiente Luego se la concentró en vacío para dar un sólido blanco amarillento El residuo se trituró con éter etílico (200 ml) y se secó bajo vacío, luego se lo trató con H_2O (90 ml) y se agregó HCl a 1N (4 ml) Se dejó que la reacción se agitara toda la noche a temperatura ambiente y a las 18 horas se observaron gotas de aceite de color amarillo en la sulución El compuesto se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml), las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con solución salina, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron El residuo fue sometido a cromatografía rápida con 16 1 hexanos/EtOAc para dar 4,40 g (56%) del producto deseado (60c)

MS 224,1 (M+1 para $C_{13}H_{21}NO_2$), un aceite, TLC. SiO_2, R_f 0,38 (CH_2Cl_2), Análisis ($C_{13}H_{21}NO_2$) (Calculado) C 69,92, H 9,48, N 6,27 (hallado) C 69,97, H 9,49, N 6,17 IR (KBr, cm^{-1}) 2930, 2236, 1736, 1187 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,87-0,90 (m, 3H), 1,18-1,46 (m, 10H), 1,77-1,80 (m, 2H), 2,05-2,09 (m, 2H), 2,59 (s, 2H), 4,13-4,15 (m, 2H)

Paso iv **Síntesis de la 8-Etil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (60d)** El etil éster del ácido *cis*-(1-ciano-4-etil-ciclohexil)-acético (60c, 2,7 g, 12,1 mmol) se disolvió en MeoH (250 ml) y se trató con 10% de Rh/2% de Pd/C (0,5g) y se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 3 horas La reacción luego se filtró, se concentró en vacio y fue sometida a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con 3% de $MeOH/CH_2Cl_2$ para dar 1,13 g (52%) del producto deseado como un sólido blanco (60d)

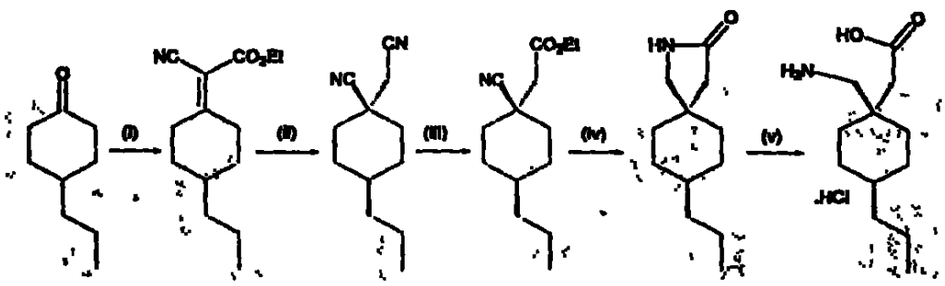
MS 181,0 (M+1 para $C_{11}H_{19}N_1O_1$), punto de fusión 131°C-133°C, TLC SiO_2, R_f 0,22 (4% de $MeOH/CH_2Cl_2$), Análisis ($C_{11}H_{19}N_1O_1$) (Calculado) C 72,28, H 10,08, N 7,66 (hallado) C 72,66, H 10,45, N 7,26 IR (KBr, cm^{-1}) 3197, 2918, 1680 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,83-0,97 (m, 5H), 1,06-1,23 (m, 3 H), 1,31-1,39 (m, 2H), 1,63-1,67 (m, 4H), 2,09-2,11 (m, 2H), 3,15-3,17 (m, 2H), 5,73 (br, 1H)

Paso v **Síntesis del Ejemplo 60** La 8-etil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (60d, 3,8 g, 21,1 mmol) se trató con HCl concentrado (141 ml) y se calentó a 110°C durante 24 horas La reacción se concentró y se recristalizó desde isopropanol caliente (20 ml) y acetona para dar 3,3 g (16,6 mmol, 79%) del producto

H69
1205

MS 200,1 (M+1 para $C_{11}H_{21}NO_2$), Análisis ($C_{11}H_{21}NO_2$) (Calculado) C 56,04, H 9,41, N 5,94 (hallado) C 56,06, H 9,46, N 5,88 IR (KBr, cm^{-1}) 2916 (br), 1698, 1526, 1281 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,89 (t, 3H, J= 7,3 Hz), 1,02-1,40 (m, 8H), 1,68 (t, 4 H, J = 16,1 Hz), 2,38 (s, 2H), 3,13 (s, 2H)

EJEMPLO 61 Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético



(61a) (61b) (61c) (61d) Ejemplo 61

Paso i Síntesis del etil éster del ácido 2-ciano-(4-propil-ciclohexilideno)-acético (61a)

Se disolvió 4-*n*-propilciclohexanona (14,0 g, 99,8 mmol) en tolueno (145 ml) y se trató con acetato de amonio (0,77 g, 9,98 mmol), ácido acético glacial (1,1 ml) y etil cianoacetato (11,3 g, 99,8 mmol) La reacción se calentó a reflujo toda la noche con una trampa de Dean-Stark, luego se la enfrió a temperatura ambiente y se la lavó con H_2O (2 x 200 ml) La capa acuosa se lavó nuevamente con tolueno (3 x 200 ml) Las capas

1164
1206

orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron en vacio El residuo fue sometido a cromatografia sobre gel de sílice eluyendo con 8 1 hexano/acetato de etilo para dar 21,58 g (92%) del producto deseado como un aceite de color amarillo, transparente (61a)

MS 236,1 (M+1 para $C_{14}H_{21}NO_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,57 (8 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{14}H_{21}NO_2$) (Calculado) C 71,46, H 8,99, N 5,95 (hallado) C 71,38, H 8,92, N 6,10 IR (KBr, cm^{-1}) 2929, 2225, 1728, 1603, 1227 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,83 (t, 3H, J = 7,3 Hz), 1,07-1,30 (m, 9 H), 1,51-1,56 (m, 1H), 1,91-2,00 (m, 2H), 2,04-2,12 (m, 1H), 2,23-2,30 (m, 1H), 2,95-3,01 (m, 1H), 3,77-3,83 (m, 1H), 4,20 (q, 2H, J =7,1 Hz)

Paso ii Síntesis del *cis*-cianometil-4-propil-1-ciclohexanocarbonitrilo (61b) El etil éster del ácido ciano-(4-*n*-propil-ciclohexilideno)-acético (61a, 19,46 g, 82,70 mmol) se disolvió en EtOH (100 ml) y se agregó a una suspensión de NaCN (4,053 g, 82,70 mmol) en EtOH/H_2O (340 ml / 20 ml) La reacción se calentó a reflujo toda la noche, luego se enfrió a la temperatura ambiente y se filtró para remover la sal que habia precipitado El filtrado se concentró en vacio para dar un aceite de color amarillo, altámente viscoso, transparente Este aceite se disolvió nuevamente en EtOAc y se lavó con solución salina (2 x 150 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró El residuo fue sometido a cromatografía rápida

1765
1207

sobre gel de sílice eluyendo con 19 1 hexano/EtOAc para dar 4,69 g de **61b** (74% de rendimiento)

MS no se observó ningún ion de M+1 ($C_{12}H_{18}N_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,38 (3 1 hexano/EtOAc), Análisis ($C_{12}H_{18}N_2$) (Calculado) C 75,74, H 9,53, N 14,72 (hallado) C 76,05, H 9,58, N 14,90 IR (KBr, cm^{-1}) 2931, 2239, 1453, 758 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,86 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,18-1,34 (m, 7H), 1,42-1,61 (m, 2H), 1,81-1,83 (m, 2H), 2,06-2,09 (m, 2H), 2,65 (s, 2H)

Paso iii Síntesis del etil ester del ácido *cis*-(1-ciano-4-propil-ciclohexil)-acético (61c) El *cis*-1-cianometil-4-*n*-propil-ciclohexanocarbonitrilo (61b, 3,87 g, 20,34 mmol) se disolvió en EtOH (50 ml) y tolueno (50 ml), se enfrió a 0°C y se saturó con gas de HCl durante 20 minutos La solución fue detenida y se la agitó toda la noche a temperatura ambiente Luego se la concentró en vacío para dar un sólido de color blanco amarillento El residuo se trituró con éter etílico (200 ml) y se secó bajo vacío, luego se disolvió en H_2O (80 ml) Se agregó HCl 1N (4 ml) La reacción se volvió transparente pasadas 4 horas de agitación y se dejó que continuara agitándose toda la noche a temperatura ambiente Pasadas 18 horas se observaron gotas de aceite de color amarillo en la solución El compuesto se extrajo con EtOAc (4 x 200 ml), las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con solución salina (2 x 200 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 y se

1766
1208

concentraron El residuo fue sometido a cromatografía rápida con 19 1 hexanos/EtOAc y se obtuvieron 3,27 g del producto (61c, 68%)

MS 238,1 (M+1 para $C_{13}H_{21}NO_2$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,38 (CH_2Cl_2), Análisis ($C_{13}H_{21}NO_2$) (Calculado) C 70,85, H 9,77, N 5,90 (hallado) C 70,65, H 9,72, N 5,84 IR (KBr, cm^{-1}) 2929, 2236, 1736, 1185 ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 0,85 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,19-1,55 (m, 10H), 1,71-1,74 (m, 2H), 2,08-2,10 (m, 2H), 2,59 (s, 2H), 4,16 (q, 2H, J =7,1 Hz)

Paso iv Síntesis de la *cis*-8-propil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (61d) El etil éster del ácido *cis*-(1-ciano-4-propil-ciclohexil)-acético (61c, 8,27 g, 34,8 mmol) se disolvió en metanol (90 ml), se trató con trietilamina y 10% de Rh/2% de Pd/C y se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 55 horas La reacción se filtró y se concentró en vacio El residuo fue sometido a cromatografía sobre gel de silice eluyendo con 5 1 hexanos/EtOAc para dar 6,41 g (61d, 94%) del producto deseado

MS 196,1 (M+1 para $C_{12}H_{21}NO$), un aceite, TLC SiO_2, R_f 0,38 (hexano/EtOAc), Análisis ($C_{12}H_{21}NO$) (Calculado) C 73,80, H 10,84, N 7,17 (hallado) C 73,86, H 10,76, N 7,11 IR (KBr, cm^{-1}) 3192, 2924, 1704, 1678 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,83-1,17 (m,

467
1209

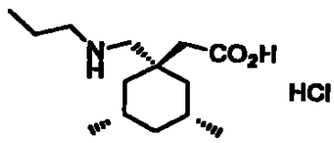
5H), 1,18-1,39 (m, 7 H), 1,61-1,65 (m, 2H), 1,71-1,74 (m, 2H), 2,11 (s, 2H), 3,16 sm, 2H), 5,85 (br, 1H)

Paso v, Síntesis del Ejemplo 61 Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético La 8-propil-2-aza-espiro[4 5]decan-3-ona (61d, 5,8 g, 29,75 mmol) se trató con HCl concentrado (150 ml) y se calentó a 115°C toda la noche Luego se dejó enfriar la reacción a la temperatura ambiente y se observó un precipitado Éste se filtró para obtener 3,47 g de un sólido blanco, y el filtrado se enfrió y se filtró nuevamente para dar un total de 6,24 g (99%) del producto deseado

MS 214,1 (M+1 para $C_{12}H_{23}NO_2$), punto de fusión 142°C-144°C; Análisis ($C_{12}H_{23}NO_2$ HCl 0,86H_2O) (Calculado) C 58,91, H 9,83, N 5,72 (hallado) C 59,27, H 9,60, N 5,71 ^{1}H NMR (CD_3OD) δ 0,86-0,90 (m, 3H), 0,97-1,41 (m, 10H), 1,61-1,75 (m, 4H), 2,37 (s, 2H), 3,13 (s, 2H) IR (KBr, cm^{-1}) 2919, 1702, 1525, 1461, 1188

468
1210

EJEMPLO 62 **Sal de clorhidrato del ácido (3R, 5S)-3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético**

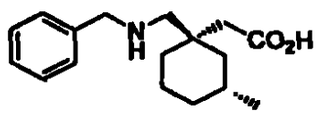


La sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético 59a, 0,50 g, 2,12 mmol) se disolvió en etanol (45 ml) y se trató con 1,8 ml de NaOH 1N Se agregó propionaldehído (0,5 ml, 3 eq) y la reacción se trató con PtO_2 (0,2 g) La reacción se agitó luego bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 23horas La reacción se filtró, se agregó HCl 1N en éter (5 ml) y la reacción se concentró en vacío El residuo se disolvió en isopropanol caliente (100 ml) y se filtró El filtrado se concentró y se recristalizó desde isopropanol caliente (4 ml), Et_2O (225 ml) y hexanos (150 ml) para dar 200 mg (0,83 mmol, 39%) del producto

MS 242,1 (M+1 para $C_{14}H_{27}NO_2$), IR (KBr, cm^{-1}) 2952 (br), 1686, 1457, 1218 Análisis ($C_{14}H_{27}NO_2$ HCl 0,24H_2O) (Calculado) C 59,60, H 10,17, N 4,96 (hallado) C 59,68, H 10,09, N 4,64 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,48-0,57 (m, 1H), 0,78-1,05 (m, 1 H), 1,61-1,78 (m, 7H), 2,60 (s, 2H), 2,93-3,00 (m, 4H)

#169
1211

EJEMPLO 63 Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético



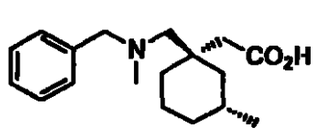
La sal de clorhidrato del açido ((1R,3R)-1-aminometil-3-metil-ciclohexil)-acético(Ejemplo 1, 3,0 g, 13,5 mmol) se disolvió en etanol (80 ml) y se trató con NaOH 1N (14 ml, 1+ equivalentes) Se agregó benzaldehído (4,5 ml) y luego 10% de Pd/C (1,0 g) y la reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi), durante 2,75 horas La reacción es filtró, se agregó HCl a 1M en éter (20 ml), y la solución se concentró en vacío El residuo se disolvió luego en isopropanol caliente (100 ml), se filtró y se concentró en vacío El residuo se disolvió luego en la cantidad mínima necesria de isopropanol y se recristalizó desde éter El sólido se filtró y el filtrado se enfrió toda la noche para dar una segunda cosecha de cristales Los sólidos se combinaron para dar 1,35 g (36%) del producto deseado

MS 276,1 (M+1 para $C_{17}H_{25}NO_2$), HRMS (calculado) 276,1963 (hallado) 276,1962 (M+1 para $C_{17}H_{25}NO_2$), punto de fusión 157°C-158°C, IR (KBr, cm^{-1}) 2932 (br), 1691, 1450, 1201, Análisis ($C_{17}H_{25}NO_2$ HCl 0,24H_2O) (Calculado) C 64,58, H 8,44, N 4,43 (hallado) C 64,47, H 8,44, N 4,28 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,77-

1212

1,69 (m, 12H), 2,42 (s, 2H), 3,21 (s, 2H), 4,25 (s, 2H), 7,43-7,52 (m, 5H)

EJEMPLO 64 Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil)-acético

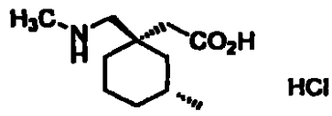


La sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético (Ejemplo 63, 1,02 g, 3,27 mmol) se disolvió en etanol (40 ml) y se trató con NaOH a 1N (3,3 ml, 1+ eq) Se agregó formaldehído (2,5 ml) y luego PtO_2 (0,1 g) y la reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 8 horas La reacción se filtró, se agregó HCl a 1 M (10 ml) en éter y la solución se concentró en vacío El residuo se disolvió luego en la cantidad mínima necesaria de isopropanol y se recristalizó desde éter y hexano El sólido se recogió para dar 0,704 g (2,16 mmol, 66%) del producto deseado

MS 290,1 (M+1 para $C_{18}H_{27}NO_2$), HRMS 290,2128 $C_{18}H_{27}NO_2$), punto de fusión 204°C-205°C, IR (KBr, cm^{-1}) 2926 (br), 1720, 1457, 1201, ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,82-0,98 (m, 5 H), 1,24-1,91 (m, 7H), 2,38-2,58 (m, 2H), 2,91 (d, 3H, J=11,2 Hz), 3,43-3,54 (m, 2H), 4,33-4,49 (m, 2H), 7,50-7,56 (m, 5H)

1213

EJEMPLO 65 Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acetico



Sal de clorhidrato del ácido [(1R, 3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil]-acético (Ejemplo 64, 0,60 g, 1,84 mmol) se disolvió en etanol (50 ml), 20% Pd/C (0,1 g) y la reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 (50 psi) durante 7 minutos La reacción se filtró, se agregó HCl a 1 M en éter (5 ml) y la solución se concentró en vacío El residuo se disolvió entonces en isopropanol caliente (100 ml), se filtró y se concentró en vacio El residuo luego se disolvió en la cantidad mínima necesaria de isopropanol caliente y se recristalizó desde éter y hexano Los cristales debían dar 0,15 g (35%) del producto deseado

MS 200,1 (M+1 para $C_{11}H_{21}NO_2$), HRMS (calculado) 200,1650, (hallado) 200,1646 (M+1 para $C_{11}H_{21}NO_2$), punto de fusión 160°C-161°C, IR (KBr, cm^{-1}) 2925 (br), 1719, 1457, Análisis ($C_{11}H_{21}NO_2$ HCl 0,40 H_2O (Calculado) C 54,38, H 9,46, N 5,77, (hallado) C 54,27, H 9,36, N 5,65 ^1H NMR (CD_3OD) δ 0,83-0,97 (m, 5 H), 1,20-1,28 (m, 1H), 1,42-1,74 (m, 6H), 2,38 (s, 2H), 2,73 (s, 3H), 3,23 (s, 2H)

HPB
1214

EJEMLO 66 Resumen

Usando un modelo fuera del cuerpo vivo de retinas de ratas recién disecadas, se investigaron los mecanismos por los cuales los niveles de glutamato en el cerebro son mantenidos dentro de los limites normales La sintesis de glutamato anaplerótico puede ser ımportante para reabastecer de glutamato oxidado en la glıa después de una neurotransmisión Los puntos de control de velocıdad a través de esta vía de renovación se identificaron como carboxilación de piruvato y transaminación de cadena de amıno ramificada Para ensayar la relación entre la síntesis del glutamato y la actividad de la carboxılasa de pıruvato, la síntesis del ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina desde $H^{14}CO_3$ se midió en función del piruvato del medio El incremento del piruvato de 0,2 mM a 5 mM incrementó la síntesis de los ^{14}C-aminoácidos en un 66% ± 15% La radioactividad especifica de la glutamina en relación con la de $H^{14}CO_3$ pasados 20 minutos de incubación indicó que un ≈30% de glutamina en la retina deriva de la fijación de bicarbonato Para ensayar la dependencia de la síntesis del glutamato con respecto a los amınoácıdos de cadena ramificada (BCAA) como una fuente de nitrógeno, se midió el efecto de la inhibición de la amınotransferasa de cadena ramificada neuronal (BCATc) La gabapentina (GBP) (1 mM), un ınhibidor selectivo de la

1229 99
1215

BCATc en las meuronas, inhibió la síntesis del ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina desde $H^{14}CO_3$ en un 31% sin hacer más lenta la incorporación de $H^{14}CO_3$ en los intermedios de ciclo de lactato y ácido cítrico La inhibición de la nueva síntesis del glutamato fue invertida por el agregado de BCAA a 0,6 mM Los datos indicaron que la carboxilasa de piruvato y la aminotransferasa de cadena ramificada comparten el control de la velocidad de la nueva síntesis del glutamato en la retina, y que la nueva síntesis del glutamato es cuantitativamente importante para mantener los niveles de glutamato retinal

Métodos

Animales experimentales

Se usaron ratas Sprague Dawley (200 g - 400 g) para todos los experimentos Las ratas fueron alojadas en un ciclo de luz y sombra de 12 horas, y provistas de alimento y agua sin límite Después de anestesiar las ratas con nembutal (intraperitoneal), se les extirparon los ojos y se disecaron las retinas en un tampón helado

Fijación del CO_2

Las medias retinas recién aisladas se preincubaron a 37°C durante 3 minutos en el tampón A (pH 7,4) que contenía NaCl a

118 mM, KCl a 4,7 mM, CaCl a 2,5 mM, KH_2PO_4 a 1,2 mM, $MgSO_4$ a 1,17 mM, HEPES a 20 mM, glucosa a 5 mM, NH_4Cl a 0,05 mM y $NaH^{14}CO_3$ a 25 mM También se incluyó piruvato (a 0,2 mM o 5 mM) en el tampón 1 ml del tampón al igual que la fase de gas dentro de los tubos de 20 ml se equilibraron con 95% de O_2, 5% de CO_2 Las incubaciones se iniciarion con el agregado de 10 µCi/ml de $H^{14}CO_3$ Los recipientes fueron cerrados inmediatamente a la atmósfera La mayor parte de la incubación continuó durante 20 minutos, aunque en algunos estudios preliminares, se variaron los tiempos de 10 a 60 minutos Las reaciones fueron detenidas removiendo las medias retinas del tampón y colocándolas en 2% de ácido perclórico El tampón se acidificó por separado con ácido perclórico (concentración final del 2%) y se dejó que el $^{14}CO_3$ sin reacionar se difundiera fuera de las muestras acidificadas

La cantidad total del producto (metabolitos de carbono 14 no volátiles) se determinó midiendo la radioactividad en alicuotas del medio y muestras de tejido Los metabolitos en los extractos fueron separados mediante cromatografía de acetato de Dowex-1 como se describió previamente Williamson, J R , y Corkey, B (1969) "Métodos en Enzimología", Volumen 13, ed Lowenstein, J M (*Academic Press*) páginas 434-513, y fueron cuantificados mediante el recuento por centelleo En la mayor parte de los casos, los datos de carbono 14 de cada

1217

metabolito se informan como la suma de la radioactividad en el medio más los extractos de tejidos La cuantificación completa de las cantidades de ^{14}C-metabolitos en la retina y en el medio pueden hallarse en las Tablas I y II .

Los datos que no se muestran en los resultados y en las secciones de discusión se recogieron en el transcurso de la realización de la evaluación de la influencia del piruvato sobre la fijación del $H^{14}CO_3$ en la retina La Figura 2 muestra solamente el efecto del piruvato sobre la suma del glutamato más la glutamina y sobre la suma del piruvato más el lactato La Tabla II proporciona los valores para todos los metabolitos que se etiquetaron con $H^{14}CO_3$ y su compartimentación

De igual manera, los datos adicionales, que no se muestran en los resultados y las secciones de discusión, se recogieron durante la evaluación de la influencia de la gabapentina Por lo tanto, la Tabla II es una expansión de los datos mostrados en la Figura 4, y proporciona valores para todos los metabolitos etiquetados con $H^{14}CO_3$ y su compartimentación

1126
309
1218

Tabla I

Condición	Compar-timiento	Gln	Glu	Asp	Lact	Ciclo de TCA	Total
Control (0,2 Pyr)	interno	0,59 ±0,05	1,47 ±0,29	0,85 ±0,06	0,16 ±0,06	1,02 ±0,26	4,08 ±0,41
	externo	0,61 ±0,08	0,04 ±0,01	0,08 ±0,01	0,55 ±0,03	0	1,19 ±0,13
	suma	1,20 ±0,09	1,51 ±0,29	0,93 ±0,08	0,71 ±0,06	1,02 ±0,26	5,27 ±0,45
+5,0 Pyr	interno	0,91 ±0,13	0,91 ±0,29	1,08 ±0,12	0,29 ±0,04	2,31 ±0,13	7,26 ±0,61
	externo	0,96 ±0,14	0,06 ±0,01	0,08 ±0,01	1,18 ±0,11	0	2,24 ±0,21
	suma	1,87 ±0,23	2,73 ±0,28	1,16 ±0,12	1,47 ±0,13	2,31 ±0,13	9,50 ±0,74

Tabla II

Condición	Compar-timiento	Gln	Glu	Asp	Lact	Ciclo de TCA	Total
Control	interno	0,440 ±0,032	1,477 ±0,097	0,634 ±0,038	0,080 ±0,08	1,096 ±0,105	3,715 ±0,266
	externo	0,551	0,08	0,070	0,478	0	1,117

		±0,036	±0,001	±0,003	±0,030		±0,075
	suma	0,991 ±0,054	1,485 ±0,096	0,704 ±0,040	0,558 ±0,031	1,096 ±0,105	4,832 ±0,303
+GBP	interno	0,389 ±0,026	1,324 ±0,025	0,549 ±0,019	0,089 ±0,006	1,514 ±0,103	3,902 ±0,122
	externo	0,545 ±0,024	0,008 ±0,003	0,035 ±0,003	0,516 ±0,030	0	1,066 ±0,028
	suma	0,934 ±0,036	1,332 ±0,025	0,584 ±0,022	0,605 ±0,028	1,514 ±0,103	4,968 ±0,028
+GBP +BCAA	interno	0,480 ±0,011	1,549 ±0,070	0,609 ±0,021	0,086 ±0,008	1,220 ±0,116	3,989 ±0,043
	externo	0,806 ±0,086	0,009 ±0,001	0,093 ±0,008	0,458 ±0,048	0	1,322 ±0,076
	suma	1,286 ±0,082	1,558 ±0,070	0,702 ±0,016	0,5445 ±0,040	1,220 ±0,116	5,311 ±0,119

El procedimiento cromatográfico empleado en este ejemplo separa la glutamina, el glutamato, el aspartato y el ácido láctico Los intermedios del ciclo del ácido cítrico permanecen en las columnas de Dowex y se estiman como la diferencia entre los recuentos totales en la muestra y los recuentos que son eluidos La prueba de la validez de este procedimiento se han informado previamente Antes de someter las muestras a la cromatografía, el ^{14}C-ácido pirúvico en las

AAA 304
1220

muestras fue convertido en forma estequiométrica en lactato tratando las muestras con exceso de NADH y deshidrogenasa de lactato En consecuencia, se informa que el único pico de lactato contiene todos los carbonos 14 en el lactato y el piruvato Para determinar la actividad específica del glutamato y la glutamina en las muestras retinales, se midió fluorométricamente la cantidad de masa del glutamato usando un procedimiento enzimático Patel, M S (1989) en Neurométodos Metabolismo de los Carbohidratos y la Energía, Volumen II, eds Boulton, A A y Baker G D (*The Humana Press, Inc*) páginas 309-340 La cantidad de masa de la glutamina se midió después de la separación cromatográfica del glutamato seguida por la determinación luminométrica descripta anteriormente ATP y el fosfato de creatina se midieron fluorométricamente usando un ensayo de enzimas

La proteína retinal se determinó usando el ensayo de proteína DC (Bio-Rad, Richmond, CA, USA) Cada media retina contenía 0,4 mg de proteína

Ensayo de la Carboxilasa de Piruvato

La actividad de la carboxilasa de piruvato se ensayó en muestras nuevas de cerebro completo y de retinas extirpadas Se usó el método descripto por Patel, M S (1989) en

Neurométodos Metabolismo de los Carbohidratos y de la Energía, Volumen II, eds Boulton, A A y Baker G D (The Humana Press), páginas 309-340, que consiste en medir la fijación del $^{14}CO_3$ en condiciones óptimas en tejido

Inmunotransferencia

Se realizó SDS-PAGE como lo describió en Patel, M S (1989) en *Neurométodos Metabolismo de los Carbohidratos y de la Energía*, Volumen II, eds Boulton, A A y Baker G D (The Humana Press, Inc), página 309-340, usando 10% de gel Para la inmunotransferencia, se transfirieron proteínas a las membranas de Immobilon P Las membranas fueron bloqueadas con 5% de BSA e incubadas con el anticuerpo de péptido de BCATc antiratas de conejo purificado por inmunoafinidad (1 1 00 de dilución) o el anticuerpo de péptido de BCATm antihumano de conejo purificado por inmunoafinidad (1 1 000 de dilución) Las bandas de la proteína inmunoreactiva se visualizaron usando el sistema de ECL de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Amersham, Arlington Heights, IL, USA)

Cálculos y Estadísticas

Los datos se informan en el texto y las figuras determinando los dpm/mg en un metabolito particular y dividiendo por la

actividad específica del HCO_3 del medio En consecuencia, todos los datos se informan como nmoles de $H^{14}CO_3$/mg de proteína para cualquier metabolito dado

Los resultados se dan como el medio ± error estándar del medio La significación estadística se juzgó con el ensayo t emparejado y un $p<0,05$ Los números de las determinaciones independientes (n) se proporcionan en leyendas en las figuras y en las tablas

RESULTADOS

Los niveles de carboxilasa de piruvato son similares en la retina y en el cerebro completo

Patel demostró que la carboxilasa de piruvato es la principal enzima fijadora del CO_2 en el cerebro de roedores adultos Para juzgar si esto también puede ser cierto en la retina, la actividad de la carboxilasa de piruvato a 37°C en sonicatos de la neocorteza fue comparada con aquellos de la retina Los niveles de la neocorteza (2,9 ± 0,1 nmoles de $H^{14}CO_3$ fijado/mın/mg) fueron sımılares a aquellos hallados en los tejidos retinales (3,4 ± 0,4 nmoles de $H^{14}CO_3$ fijado/min/mg, lo cual ındica que la carboxilasa de piruvato fue casi tan activa en la retina como en el cerebro completo

Velocidades de la fijación de $^{14}CO_2$ y de la apariencia del ^{14}C-glutamato en función de los niveles de piruvato en la retina

En los experimentos preliminares las retinas se incubaron con piruvato a 0,2 mM como se describió en los métodos para periodos de 10, 20, 40 y 60 minutos Se monitoreó tanto el $^{14}CO_2$ total como los niveles de ATP y de fosfato de creatina Los niveles de ATP y de fosfato de creatina permanecieron constantes en función del tiempo, lo cual demostró que la oxigenación y el control del pH fueron adecuados durante todo el experimento La fijación del CO_2 total (5,50 ± 0,14 nmoles/mg de proteína) tuvo picos entre los 20 y los 40 minutos, pero ya era un 76% del máximo (4,2 ± 0,1 nmoles/mg) a los 10 minutos Como los niveles de ATP (20 ± 0,2 nmoles/mg) y de fosfato de creatina (16 ± 1,1 nmoles/mg) fueron altos y no cambiaron con el tiempo, este pico indicó que la velocidad de fijación del CO_2 fue constante, pero que la rotura continua de los productos de carbono 14 no volátiles a CO_2+H_2O produjo un nivel de estado casi estacionario de la radioactividad especifica del glutamato y la glutamina a los 20 minutos

Para estimar el control de la carboxilación de piruvato sobre la síntesis del glutamato, las retinas se incubaron con piruvato a 0,2 mM o 5 mM en el medio y se analizaron los

1182 - 308

124

metabolitos intracelulares y extacelulares El $^{14}CO_2$ total fijado a los 20 minutos en la presencia del piruvato a 0,2 mM fue 5,27 ± 0,45 nmoles de $H^{14}CO_3$/mg, mientras que aquel fijado en la presencia de piruvato a 5 mM fûe 9,50 ± 0,74 nmoles de $H^{14}CO_3$/mg La Figura 2 muestra que el incremento en el piruvato no etiquetado desde 0,2 mM hasta 5 mM aumenta la suma de ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina (de 1,74 ± 0,19 a 2,90 ± 0,31 nmoles/mg, $p<0,005$) La Figura 2 también muestra que la incubación de piruvato más elevada aumenta los valores de ^{14}C-lactato más ^{14}C-piruvato Por lo tanto, en estado estacionario, un aumento en la concentración del piruvato de 0,2 mM a 5 mM aumentó la incorporación de $H^{14}CO_3$ en el glutamato y la glutamina en un 60%, mientras que el aumento en el piruvato aumentó la incorporación de $H^{14}CO_3$ en el piruvato y e el lactato un 111% El carbono 14 ciclado en el piruvato y en el lactato representa el reciclado glial a través de la carboxilasa de piruvato, la enzima málica y la carboxicinasa de fosfoenolpiruvato y por primera vez demuestra la descarboxilación del ciclo del ácido citrico activo en el tejido neural intacto

Estos datos muestran que un aumento en el flujo a través de la carboxilasa de piruvato induce un aumento en la nueva síntesis

del glutamato retinal Simultáneamente, ocurre un aumento algo mayor en el reciclado del piruvato

Una fracción importante de la síntesis de la glutamina deriva de la carboxilación del piruvato

La importancia de la carboxilación del piruvato como una fuente para reabastecer del glutamato liberado desde las terminaciones nerviosas retinales durante la transmisión neuronal se estimó determinando la radioactividad específica de la glutamina en el tejido retinal incubado con el medio que contiene $H^{14}CO_3$ Una proporción fija de la síntesis de la glutamina en la retina deriva del glutamato no etiquetado liberado por las neuronas y recogido por la glia de Müller El resto proviene del α-cetoglutarato glial sintetizado anapleróticamente desde el piruvato y el $^{14}CO_2$ En consecuencia, la radioactividad específica de la glutamina comparada con la actividad específica del $H^{14}CO_3$ proporciona un valor mínimo para la proporción de la glutamina derivada de la anaplerosis El producto de la carboxilasa de piruvato en la glia es [1,4-^{14}C]-oxaloacetato Las posiciones 1 y 4 se etiquetan porque el carbono 14 inicialmente incorpora en la posición 4-C del oxaloacetato se reparte al azar entre las posiciones 1 y 4 mediante el equilibrio del oxaloacetato con fumarato asimétrico El oxaloacetato etiquetado se condensa

con piruvato para formar citrato, que luego se isomeriza hacia ısocitrato El [1,4-^{14}C]-ısocitrato es oxidado y descarboxilado hacia el [5-^{14}C] α-cetoglutarato por la deshidrogenasa de isocitrato En consecuencia, el α-cetoglutarato sintetizado anapleróticamente tiene aproximdamente la mitad de la radioactividad especifica del $H^{14}CO_3$ del sustrato original, según el grado de selección al azar de la etiqueta en el oxaloacetato Esto también es cierto para la glutamina sintetizada desde el [5-^{14}C] α-cetoglutarato

La actividad especifica de la glutamina se midió en los extractos de tejido retinal incubados con piruvato a 0,2 mM y $H^{14}CO_3$ para los 10, 20, 40 y 60 minutos Solamente se informa la glutamina del tejido (no del medio La radioactividad especifica de la glutamina en el tejido fue constante entre los 10 y los 60 minutos Después de 20 minutos de incubación la cantidad de masa de glutamina en el tejido fue de 4,50 ± 0,44 nmoles/mg, y su radioactividad especifica fue de 1 970 ± 115 dpm/nmol o de 0,158 ± 0,009 dpm/nmol de la actividad especifica del bicarbonato Esto ındica que un 32% de la glutamina fue producida por la anaplerosis y la carboxilasa de pıruvato

La radioactivıdad espcífica del glutamato retinal (269 ± 8 dpm/nmol) fue menor que la de la glutamına y también constante

1227

en función del tiempo desde los 10 a los 60 minutos Fue sólo del 14% de la actividad espcífica de la glutamina Esto sugiere que la devolución metabólica del glutamato en las neuronas es rápida con respecto a la síntesis anaplerótica Sin embargo, como la devolución de glutamato neuronal no puede reabastecer del esqueleto de carbono de glutamato perdido durante la neurotransmisión, la vía anaplerótica es de fundamental importancia en el mantenimiento de los niveles de glutamato Los presentes datos muestran inequívocamente que la vía anaplerótica proporciona una importante proporción (≈32%) de la glutamina requerida para el reabastecimiento de glutamato.

La síntesis del glutamato y la glutamina retinales depende parcialmente de la transaminación de los aminoácidos de cadena ramificada

Estudios recientes de la síntesis del glutamato en astrocitos cultivados sugirieron que la conversión del α-cetoglutarato al glutamato puede actuar como un paso de control de la velocidad en la síntesis anaplerótica del glutamato Varios grupos han indicado que el grupo α-amino del glutamato no puede ser suministrado como amoníaco y debe en consecuencia ser suministrado por la transaminación del α-cetoglutarato con

otro aminoácido Kanamori, K , Ross, B D , y Kondrat, R W (1998) *J Neurochem* 70, 1304-1315, Laemmli, Reino Unido (1970) *Nature* 227, 680-885, que incluye Haberg, A , Qu, H , Bakken, I J , Sande, L M , White, L R , Haraldseth, O , Unsgard, G , Assley, J , Sonnewald, U (1998), de nuestra autoría, *Dev Neurosci*, 20, 389-398 Los aminoácidos de cadena ramificada contribuyen con hidrógeno igualmente ya que pueden atravesar las barreras sangre-cerebrales y sangre-retinales eficientemente Hutson y sus colaboradores han propuesto que una lanzadera de nitrógeno entre las neuronas y la glia que consiste en aminoácidos de cadena ramificada y dos isoenzimas de BCAT,) una en el citosol neuronal (BCATc) y una en la mitocondria glial (BCATm), también puede proporcionar también el nitrógeno necesario Hutson, S M , Berkich, D , Down, P , Xu, B , Aschner, M , y LaNoue, K F (1998) *J Neurochem* 71, 863-874 De acuerdo con esta lanzadera hipotética, la BCATc neuronal facilita la conversión por la BCATm glial del α-cetoglutarato en el glutamato proporcionando BCAA regenerado en las neuronas (cf Figura 1)

Como un primer paso hacia la investigación del rol de las isoenzimas de BCAT en la nueva síntesis del glutamato en la retina, se usó la imunotransferencia con anticuerpos específicos de BCATm y BCATc para determinar si las isoenzimas de BCAT se expresan en la retina de las ratas Como se muestra

H82
1229

en la Figura 3, tanto la BCATc como la BCATm se expresan en la retina a niveles que son comparables con aquellos hallados en homogenatos de cerebro completo En consecuencia, la retina de rata recién disecada es un sistema neural intacto apropiado en para ensayar el concepto del lanzamiento de nitrógeno entre las neuronas y la glia

La gabapentina análoga de leucina (GBP) es una droga neuroactiva que inhibe la BCATc, pero no la BCATm Su, T -Z , Lunney, E , Campbell, G , Oxender, D L (1995) *J Neurochem* 64, 2125-2131 Se confirmó que la GBP inhibe la síntesis de la leucina en las retinas de rata recién disecadas (no se muestran datos) Se midió entonces el efecto de la GBP sobre la síntesis de ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina desde $H^{14}CO_3$ en retinas de rata fuera del cuerpo vivo Como se muestra en la Figura 4, la GBP a 1 mM redujo la formación de ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina al 71% de los valores de control (2,26 ± 0,05 contra 3,18 ± 0,12 nmol/mg, $p<0,001$) El agregado de 200 µM cada uno de leucina, isoleucina y valina invirtió la inhibición al 89% del control (2,84 ± 1,15 nmol/mg, $p<0,01$ comparada con la GBP sola) La GBP no tuvo ningún efecto sobre ATP ni sobre el fosfato de creatina, lo cual indica que la GBP no deterioró los procesos bioenergéticos retinales El pequeño aumento en la incorporación de carbono 14 en los intermedios

del ciclo del lactato y del ácido cítrico (de 1,93 ± 0,06 a 2,12 ± 0,13) debido a que la presencia de GBP a 1 mM no era significativa La incorporación de la etiqueta en todos los metabolitos se muestra en la Tabla II

Se realizaron otros experimentos para investigar las propiedades de respuesta a la dosis de la GBP Las retinas recién disecadas se incubaron durante 20 minutos en el tampón A que contenía GBP a 0, 0,2, 1 o 5 mM Como se muestra en la Figura 5, el aumento de la concentración de la GBP en 1 mM no aumentó significativamente el grado de esta inhibición de la síntesis de ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina desde $H^{14}CO_3$ Nuevamente la GBP no tuvo ninguna influencia sobre la formación de intermedios de ciclo de ácido cítrico, lactato y piruvato (Figura 5) Esto apoya la propuesta de que el sitio de inhibición de GBP de la síntesis del glutamato es la conversión mediada por BCAT del α-cetoglutarato al glutamato

DISCUSION

Los estudios descriptos evaluaron los mecanismos para mantener los niveles de glutamato en el sistema nervioso central Los estudios previos mostraron que la sintetasa de glutamina es requerida en las retinas y los cortes del hipocampo para

1231

mantener los niveles de glutamato neuronal Su, T -Z , Lunney, E Campbell, G , Oxender, D L (1995) *J Neurochem* 64, 2125-2131

Las mediciones inmunocitoquímicas indican que el 90% o más del glutamato retinal y del cerebro completo es neuronal y que la inhibición de la sintetasa de glutamina para los 90 minutos agota la fuente de glutamato neuronal a niveles despreciables Ottersen, O P , Zhang, N , y Walberg, F (1992) *Neurosci* 46, 519-534 Esto demostró que la sintetasa de glutamina es requerida para mantener el glutamato neuronal Aunque el glutamato se puede sintetizar en las neuronas desde el α-cetoglutarato, la falta de carboxilasa de piruvato u otra enzima anaplerótica impide el reabastecimiento de α-cetoglutarato, y por lo tanto, impide la síntesis de glutamato neto dentro de las neuronas, salvo desde la glutamina a través de la glutaminasa

En este ejemplo, las fuentes y el control de la síntesis de la glutamina se investigó incubando retinas extirpadas con $H^{14}CO_3$ y midiendo la apariencia y la radioactividad específica de la ^{14}C-glutamina y el ^{14}C-glutamato Se sintetiza más ^{14}C-glutamina en presencia de piruvato a 5 mM que en presencia de 0,2 mM Esto indica que la actividad de la carboxilasa de piruvato

+90
1232

influye en la velocidad de la síntesis de la glutamina Sin embargo, la sensibilidad de este control es demostrada por la observacion de que cuando el piruvato se incrementa de 0,2 mM a 5 mM, la magnitud del incremento en el flujo de la carboxilasa de piruvato (80,3%) no se traduce directamente en un aumento equivalente en el ^{14}C-glutamato más ^{14}C-glutamina (69,0%) La flexibilidad del control es provista por el potencial de descarboxilación del ciclo del ácido cítrico y el reciclado del piruvato La dependencia del piruvato de la fijación total de $H^{14}CO_3$ en el tejido retinal fue similar a la observada en los astrocitos aislados cultivados Gamberino, W C , Berkich, D A , Lynch, C J , Xu, B , y LaNoue, K F (1997) *J Neurochem* 69, 2312-2325 Sin embargo, en los astrocitos, que no tienen ningún modo de regenerar BCAA endógena usada para transaminar el α-cetoglutarato, los aumentos inducidos por el piruvato en la fijación del CO_2 no se tradujeron en aumentos en los niveles de ^{14}C-glutamato y ^{14}C-glutamina En cambio, el carbono 14 se acumuló exclusivamente en los intermedios del ciclo de ácido cítrico y en el piruvato "reciclado"

En los estudios retinales informados aquí, la radioactividad especifica de la glutamina en el estado estacionario fue 0,158 de la actividad específica del bicarbonato Como aproximadamente la mitad del ^{14}C incorporado en el oxalacetato

es retenida en el α-cetoglutarato, los resultados muestran que ≈32% de la glutamina deriva de $H^{14}CO_3$ Ésta es la primera estimación directa de la contribución de la anplerosis a la síntesis de la glutamina en un tejido neuronal Las estimaciones anteriores han sido indirectas, y consistieron en el análisis isotopomérico de los espectros de NMR posteriores a la infusión de ^{13}C glucosa (3-5, 11-13) en cerebros intactos Las estimaciones de la contribución de la carboxilación del piruvato a la síntesis de la glutamina usando estos métodos de NMR han sido menores que la presente, y están en la gama de menos del 1% (3) al 5%-10% (4,5) al 20%-25% Shank, R P , Bennet, G S , Freytag, S O y Campbell, G L (1985) *Brain Res* 329, 364-367, Griffen, J L , Rae, C , Radda, G K , y Matthews, P M (1999) *Biochim Biophys Acta* 1450, 297-307, lo cual depende en gran medida de las suposiciones iniciales de los modelos matemáticos usados Los presentes resultados sugieren que la carboxilación del piruvato glial y la conversión de los intermedios del ciclo del ácido cítrico al glutamato y la glutamina probablemente sean cuantitativamente importantes para la función retinal y posiblemente para la función cerebral completa

La observación de que la GBP hace más lenta la conversión de los intermedios del ciclo del ácido cítrico en glutamina y

H93
1234

glutamato sugiere que la síntesis neuronal de la BCAA por la BCATc es necesaria para las velocidades óptimas de la aminación del α-cetoglutarato al glutamato Un esquema razonable para su participación en este proceso se muestra en la Figura 1

Los resultados, que demuestran la inhibición de la síntesis del ^{14}C-glutamato y la 14C-glutamina desde $H^{14}CO_3$ por la GBP y la inversión de la inhibición por la BCAA son consistentes con la lanzadera descipta La hipótesis también da una explicación para la acción antiepiléptica de la GBP Taylor, C P , Gee, N S , Welty, D F , Brown, J P , Dooley, D J , Boden, P , Singh, L (1998) *Epilepsy Res* 29, 233-249 De hecho, la síntesis del glutamato disminuida es una acción común de la GBP y los inhibidores de la anhirasa carbónica antiepiléptica Hazen, S A , Waheed, A , Sly, W S , LaNoue, K F , Lynch, C J (1997) *Dev Neurosci* 19, 162-171 También, la Enfermedad de la Orina de Jarabe de Arce, la enfermedad hereditaria causada por una mutación del gen para la deshidrogenasa del cetoácido de cadena ramificada, si no es tratada induce una alta BCAA en suero en pacientes y consecuentes anormalidades neurológicas Chuang, D I , y Shih, V E (1995) en *La Base Metabólica de la Enfermedad Hereditaria*, eds Schriver, C R , Beaudet, A L , Sly, S , y Vaile, D (McGraw-Hill) páginas 1239-1277, que puede estar relacionada con la regulación anormal de la

H93
1235

síntesis del glutamato Finalmente la implicación del lanzamiento del nitrógeno durante la síntesis del glutamato debe ser estudiada más profundamente a la luz de la eficacia de la GBP en el tratamiento de la enfermedad neuropática Ottersen, O P , Zhang, N y Walberg, F (1992) *Neurosci* 46, 519-534 y la neurodegeneración, Chuang, D I y Shih, V E (1995) en *La Base Metabólica de la Enfermedad Hereditaria*, eds Schriver, C R , Beaudet, A L , Sly, S y Vaile, D (McGraw-Hill), páginas 1239-1277, Rothsetin J D y Kunel, R W (1995) *J Neurochem* 65, 643-651

EJEMPLO 67

Preparación de Enzimas Cerebros de rata congelados fueron fundidos en hielo y desmenuzados en trozos finos Para cada cerebro se agregaron 5 ml de un tampón isotónico [manitol a 225 mM sucrosa a 75 mM, MOPS a 5 mM (pH 7,1), EDTA a 1 mM, EGTA a 1 mM, DTT a 1 mM, que contenía leupeptina, pepstatina y PMSF] Las muestras se homogeneizaron en un homogeneizador de Potters (B Bran Biotech International) a 500 rpm durante diez pulsaciones, y luego diez pulsaciones adicionales a 800 rpm Los homogenatos se centrifugaron en el centrifugador Beckman J2-M1 con rotor JA-20 a 19 000 rpm durante 1 hora El sobrenadante se dializó con al menos tres cambios del tampón de diálisis (manitol a 225 mM, sucrosa a 75 mM, MOPS a 5 mM a

pH 7,1, EDTA a 1 mM, EGTA a 1 mM, y DTT a 1 mM) durante 24 horas La enzima resultante se almacenó a -80°C para otros ensayos

Ensayo de la BCAT La reacción se realizó en tubos de Eppendorf de 1,5 ml en un volumen de 100 µl que contenía Tris-HCl a 50 mM (pH 8,3), [^{14}C]L-leucina a 25 µM, 2-oxoglutarato a 10 µM, fosfato de piridoxal a 15 µM, DTT a 1 mM, y enzima Las soluciones para la mezcla de la reacción se hicieron en diez veces las concentraciones Pasados 10 minutos de incubación a temperatura ambiente (22°C), la reacción fue detenida agregando 100 µl de p-nitrofenil hidrazina a 15 mM en HCl a 2 M Pasados unos minutos se agregó 1 ml de un líquido de centelleo basado en tolueno (4,5 g de PPO y 0,5 g de bis-MSB en 1 litro de tolueno), se tapó el tubo y se mezcló completamente con un mezclador de Vortex Luego los tubos se centrifugaron a 13 500 rpm (centrifugador de Eppendorf 5415C) durante 10 minutos Se colocaron 600 µl de la capa orgánica de cada tubo en tubos de centelleo, y luego se agregaron 10 ml de cóctel de centelleo para el recuento

Ejemplo Numero	rBCATc IC50 (µM)
1	146

2	1136
3	1660
4	2515
5	2934
6	2620
7	2165
8	74
9	120
10	121
11	1387
12	1490
13	>10 000
14	8592
15	82
16	1319
17	>10 000
18	---
19	---
20	469
21	169
22	389
23	2121
24	942
25	170

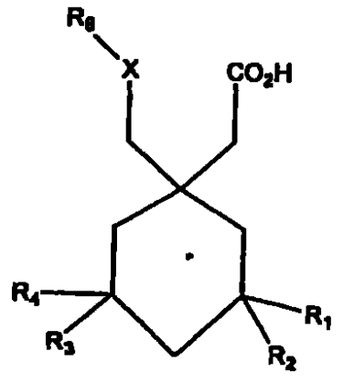
26	8592
27	1553
28	181
29	391
30	2250
31	908
32	243
33	1018
34	3218
35	1768
36	---
37	1193
38	2618
39	933
40	3 800
41	363
42	669
43	2079
44	2728
45	1331
46	1129
47	15 580
48	8530
49	84

50	842
51	>10 000
52	2516
53	3340
54	217
55	9242
56	---
57	---
58	179
59	3370
60	11 530
61	114
62	4216
63	---
64	---
65	---

REIVINDICACIONES

Habiendo descripto y determinado la naturaleza y alcance de la presente invención y la manera en que la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara que lo que reivindica como invención y de propiedad exclusiva es

1 Un compuesto de la Fórmula IV



IV

R_1-R_4 son hidrógeno o alquilo,

X es NR_5 u O,

R_5 es hidrógeno o alquilo,

R_6 es hidrógeno, alquilo, bencilo, alcanoilo, alcoxialcanoilo, arilalquilo, alcoxi, cicloalquilo, alilo, alquilcicloalquilo, halogenalquilo trisustituido y en donde R_1-R_4 son cada uno hidrógeno, entonces R_6 no es hidrógeno o metilo, o una sal, éster, prodroga o amida farmacéuticamente aceptable de él

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1497 D 1241

2 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son alquilo, R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son metilo, R_1-R_4 son hidrógeno, R_1 es alquilo y R_2-R_4 son hidrógeno, R_1 es metilo y R_2-R_4 son hidrógeno, R_5 es hidrógeno, X es NR_6, X es O, R_6 es alquilo, R_6 es bencilo, R_6 es acetilo, R_6 es fenialquilo, R_6 es cicloalquilo, R_6 es trifluoroalquilo, R_6 alquilcicloalquilo, R_6 es alcoxi, y R_6 es alilo

3 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son metilo, R_1-R_4 son hidrógeno, R_1 es metilo y R_2-R_4 son hidrógeno, R_5 es hidrógeno, X es NR_6, R_6 es alquilo, R_6 es bencilo, R_6 es acetilo, R_6 es fenilalquilo, R_6 es cicloalquilo, R_6 es trifluoroalquilo, R_6 alquilcicloalquilo, R_6 es alcoxi, y R_6 es alilo

4 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque R_2 y R_4 son hidrógeno y R_1 y R_3 son metilo, R_1-R^4 son hidrógeno

5 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se selecciona del grupo formado por

Ácido (1-alilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido (1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

T000 326 1242

Ácido (1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido (1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-alilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

ácidotrans-((1R,3R)-1-alilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

ácido trans((1R,3R)-3-metil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido trans((1R,3R)-3-metil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

SERGIO ELEUZERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1243

Ácido 1α,3β,5β-(1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-etilaminometil-3-metil-cilohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-butilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-hidroximetil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-[(hidroximetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dietil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-bencilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1991

1244

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-dimetilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-butilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-[1-(acetilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[1-(isobutilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclobutilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[1-(isopropilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1202 1245 329

Sal de clorhidrato del ácido (1-etilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isobutilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isopropilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-ciclohexilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal clorhídrica del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[ciclopentilmetil-amino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal clorhídrica del ácido [1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Ácido [1-(terc-butoxicarbonilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Ácido [1-(acetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1246

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclobutilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-3,5-dimetil-1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(ciclopentil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclohexilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido ((3R,5S)-1-carboxi etil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *trans*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *cis*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-dimetilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-butilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

SERGIO EL EUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1247

Sal de clorhidrato del ácido (1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil]-acético,

Sal de sodio del ácido ((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-aminometil-4-etil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético,

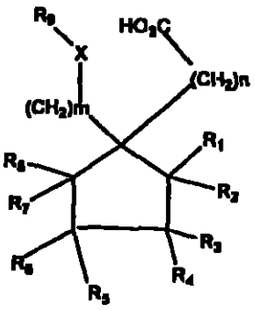
Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil]-acético, o

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

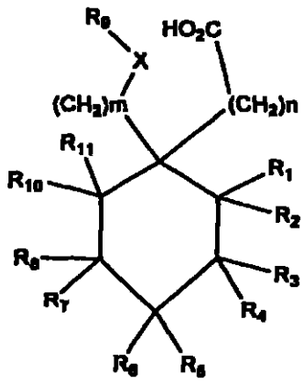
SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1248

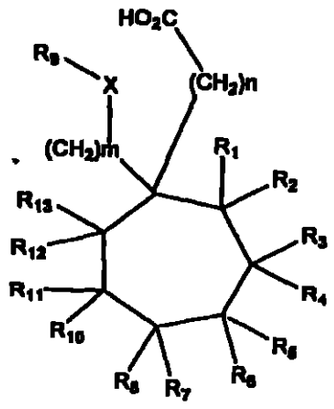
6 Un método para tratar la retinopatía diabética, caracterizado porque comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las Fórmulas I, II y/o III, a un paciente que lo necesita



I



II



III

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2639 Minjusticia 1 991

1249

en donde

R_9 es H, alquilo, cicloalquilo, alquilo sustituido que contiene halógeno, amina, alcoxi, cicloalquilo, o hidroxi, alilo, alquinilo, alcanoilo, alcoxialcanoilo, sulfonilo; fenilo; bencilo, o arilalquilo,

m y n son independientemente un numero entero de 1 a 3,

R_1-R_4 y R_{10}-R_{14} son independientemente H, alquilo, o alquilo sustituido, y

X = NR_{14}, O, o S,

cuando hay más de un estereoisómero, cada centro quiral puede ser independientemente R o S, o una sal, éster, prodrogra, o amida farmacéuticamente aceptable de él

7 El método de la reivindicación 6, caracterizado porque m y n son 1, X es NR_{14}, R_9 es H, R_4 es metilo, R_4 y R_5 son metilo; R_8 es metilo, R_{10} es metilo, R_7 y R_8 son metilo, R_4 y R_8 son metilo, R_1-R_8 y R_{10}-R_{13} son H, R_9 es alquilo, R_8 es bencilo, R_{14} es alquilo, R_9 es arilalquilo, R_9 es cicloalquilo, R_1-R_8 son H, R_1-R_8 y R_{10}-R_{11} son H, R_1-R_2 y R_7-R_8 son H, o R_2 es metilo

8 El método de la reivindicación 6, caracterizado porque R_3 es alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{11} y R_{14} son hidrógeno, y m y n son 1, y X es NR_{14}, R_3 y R_{11} son alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{10} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, y X es NR_{14}, R_3 y R_{11} son alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{10} y

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, R_9 es alquilo, y X es NR_{14}, y R_1-R_{11} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, y X es O

9 El método de la reivindicación 6, caracterizado porque el compuesto se selecciona del grupo formado por

Ácido (1-alilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido (1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido {1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido {1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-alilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{3,5-dimetil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{3,5-dimetil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-alilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(2,2,2-trifuoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{3,5-dimetil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-etilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-butilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-hidroximetil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{1-[(hidroximetil-1-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1252

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dietil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido Lrans-(1R,3R)(1-Aminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (1-aminometil-2-metil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (±)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (cis/trans)-(3R)-(1-aminometil-3-metil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-bencilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

SERGIO EUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1255

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-dimetilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-butilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acetico,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-metilaminoetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-[1-(acetilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isobutilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclobutil-amino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isopropilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Ácido 1-aminometil-1-ciclohexano-acético,

Ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético,

Sal de sodio del ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético,

Sal de sodio del ácido 1-(hidroximetil)ciclohexano-acético,

SERGIO ELEUTERIO ZATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol. No 2839 Minjusticia 1991

1254

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-etilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isobutilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isopropilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-ciclohexilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[ciclopentilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

SERGIO EL EUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1255

Sal de clorhidrato del açıdo {1-[(cıclohexilmetil-amino)-metil]-ciclohexil}-acétıco,

Ácido [1-(terc-butoxicarbonilamino-metıl)-ciclohexil]-acético,

Ácido [1-(acetılamıno-metıl)-cıclohexıl]-acético,

Sal de clorhıdraıo del ácido (3R,5S)-1-cıclobutılaminometil-3,5-dimetil-cıclohexıl)-acétıco,

Sal de clorhidraıo del ácido {(3R,5S)-3,5-dimetil-1-[(2-metil-butilamino)-metil]-cıclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del açido {(3R,5S)-1-[(2-hidroxi-metil-etilamino)-metil]-3,5-dimetıl-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácıdo {(3R,5S)-1-[(2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido {(3R,5S)-1-[(ciclopentilmetil-amıno)-metil]-3,5-dımetil-cıclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácıdo {(3R,5S)-1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-cıclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclohexilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acétıco,

Ácido ((3R,5S)-carboximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *trans*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *cis*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácıdo (1-dimetilamınometil-ciclohexil)-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

Fol 1256

Sal de clorhidrato del ácido (1-butilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-metilaminometil-cicloehexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético;

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Sal de sodio del ácido ((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-etil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhídrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético, o

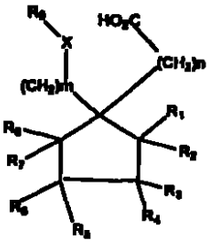
Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1991

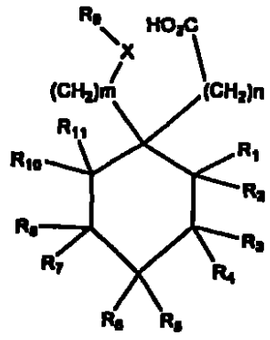
1257

Sal de clorhidrato del ácido {(1R,3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil}-acético, o
Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

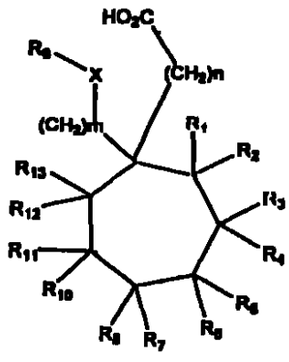
Un método para inhibir la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada en un paciente que lo necesita, caracterizado porque comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las Fórmulas I, II y/o III



I



II



III

SERGIO EUTERIO LATORRE MENDO
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1216 1258

en donde

R_9 es H, alquilo, cicloalquilo, alquilo sustituido que contiene halógeno, amina, alcoxi, cicloalquilo, o hidroxi, alilo, alquinilo, alcanoilo, alcoxialcanoilo, sulfonilo, fenilo; bencilo, o arilalquilo,

m y n son independientemente un número entero de 1 a 3,

R_1-R_4 y R_{10}-R_{14} son independientemente H, alquilo, o alquilo sustituido, y

X = NR_{14}, O, o S,

cuando hay más de un estereoisómero, cada centro quiral puede ser independientemente R o S, o una sal, éster, prodrogra, o amida farmacéuticamente aceptable de él

11 El método de la reivindicación 10, caracterizado porque m y n son 1, X es NR_{14}, R_9 es H, R_4 es metilo, R_4 y R_5 son metilo, R_8 es metilo, R_{10} es metilo, R_7 y R_8 son metilo, R_4 y R_8 son metilo; R_1-R_8 y R_{10}-R_{13} son H; R_9 es alquilo; R_9 es bencilo; R_{14} es alquilo, R_9 es arilalquilo, R_9 es cicloalquilo, R_1-R_8 son H, R_1-R_9 y R_{10}-R_{11} son H, R_1-R_2 y R_7-R_8 son H, o R_2 es metilo

12 El método de la reivindicación 10, caracterizado porque R_3 es alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{11} y R_{14} son hidrógeno, y m y n son 1, y X es NR_{14}, R_3 y R_{11} son alquilo, R_1-R_2 y R_4-R_{10} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, y X es NR_{14}, R_3 y R_{11} son alquilo, R_1-R_2

SERGIO EEUTERIO CATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

y R_4-R_{10} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, R_9 es alquilo, y X es NR_{14}, y R_1-R_{11} y R_{14} son hidrógeno, m y n son 1, y X es O

13 El método de la reivindicación 10, caracterizado porque el compuesto se selecciona del grupo formado por

Ácido (1-alilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido (1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido {1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido {1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(1-alilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{3,5-dimetil-1-[(2,2,2-trifluoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{3,5-dimetil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-alilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-prop-2-inilaminometil-ciclohexil)-acético,

SERGIO EUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(2,2,2-trifuoro-etilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(3,3,3-trifluoro-propilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-3-metil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil}-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-{(1R,3R)-1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil}-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-etilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-butilaminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido trans-((1R,3R)-1-hidroximetil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-{1-[(hidroximetil-1-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1261

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dietil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido trans-(1R,3R)(1-Aminometil-3-metil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (1-aminometil-2-metil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético,

Clorhidrato del ácido (±)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (cis/trans)-(3R)-(1-aminometil-3-metil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido (+)-(trans)-(1-aminometil-3,4-dimetil-ciclopentil)-acético,

Clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-aminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-bencilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1262

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-dimetilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-butilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil}-acetico,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-metilaminoetil-ciclohexil)-acético,

Ácido 1α,3β,5β-[1-(acetilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isobutilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-[3,5-dimetil-1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(3,5-dimetil-1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclobutil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido 1α,3β,5β-(1-(isopropilamino-metil)-3,5-dimetil-ciclohexil]-acético,

Ácido 1-aminometil-1-ciclohexano-acético,

Ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético,

Sal de sodio del ácido 1-aminometil-1-ciclopentano-acético;

Sal de sodio del ácido 1-(hidroximetil)ciclohexano-acético,

BENITO EUSTERIO TORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Mmjusticia 1 991

1263

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-metil-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(4,4,4-trifluoro-butilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-etilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(ciclopropilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(2-hidroxi-1-metil-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isobutilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(isopropilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-ciclohexilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(bencilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[ciclopentilmetil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 591

1264

Sal de clorhidrato del açıdo (1-[(ciclohexilmetil-amino)-metıl]-ciclohexil)-acétıco,

Ácido [1-(*terc*-butoxicarbonilamino-metil)-ciclohexil]-acético;

Ácido [1-(acetilamıno-metıl)-ciclohexıl]-acético,

Sal de clorhıdrato del ácido (3R,5S)-1-ciclobutilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-[(2-metil-butilamino)-metıl]-cıclohexıl)-acétıco,

Sal de clorhıdrato del ácido ((3R,5S)-1-[(2-hidroxi-metil-etilamino)-metil]-3,5-dimetıl-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(2,2-dimetoxi-etilamïno)-metil]-3,5-dimetil-cicloḥexıl)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(ciclopentilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-[(ciclohexilmetil-amino)-metil]-3,5-dimetil-cıclohexıl)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-ciclohexilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Ácido ((3R,5S)-carboximetil-3,5-dımetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido *trans*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil-acético;

Sal de clorhıdrato del ácido *cıs*-((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-cıclohexıl)-acétıco,

Sal de clorhidrato del ácido (1-dımetılaminometıl-ciclohexil)-acétıco,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

1265

Sal de clorhidrato del ácido (1-butilaminometil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[2,2-dimetoxi-etilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-metilaminometil-cicloehexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(bencil-metil-amino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido [1-(fenetilamino-metil)-ciclohexil]-acético,

Sal de clorhidrato del ácido (1-[(3-fenil-propilamino)-metil]-ciclohexil)-acético,

Sal de sodio del ácido ((3R,5S)-1-hidroximetil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-1-etilaminometil-3,5-dimetil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhidrica del ácido (1-aminometil-4-etil-ciclohexil)-acético,

Sal clorhidrica del ácido (1-aminometil-4-propil-ciclohexil)-acético,

Sal de clorhidrato del ácido ((3R,5S)-3,5-dimetil-1-propilaminometil-ciclohexil)-acético, o

Sal de clorhidrato del ácido [(1R,3R)-1-(bencilamino-metil)-3-metil-ciclohexil]-acético,

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol. No 2839 Minjusticia - 991

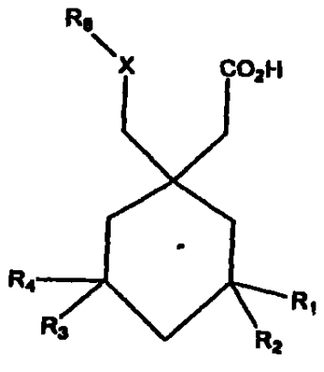
1266

350

Sal de clorhidrato del ácido {(1R,3R)-1-[(bencil-metil-amino)-metil]-3-metil-ciclohexil}-acético, o

Sal de clorhidrato del ácido ((1R,3R)-3-metil-1-metilaminometil-ciclohexil)-acético

14 Un método para tratar trastornos neurológicos, depresión, ansiedad, pánico, manías, trastornos bipolares, enfermedades antiinflamatorias, glaucoma, dolor o lesión gastrointestinal, caracterizado porque comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula IV a un paciente que lo necesita



IV

R_1-R_4 son hidrógeno o alquilo,

X es NR_5 u O,

R_5 es hidrógeno o alquilo,

R_6 es hidrógeno, alquilo, bencilo, alcanoilo, alcoxialcanoilo, arilalquilo, alcoxi, cicloalquilo, alilo, alquilcicloalquilo, halogenalquilo trisustituido y en donde R_1-R_4 son cada uno

SERGIO ELEUTERIO LACOMBE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1 991

1267

hidrógeno, entonces R_6 no es hidrógeno o metilo, o una sal, éster, prodroga o amida farmacéuticamente aceptable de él

EL SUSCRITO TRADUCTOR OFICIAL HA REVISADO LA TRADUCCION DE LAS REIVINDICACIONES DE ESTE DOCUMENTO Y ESTA CORRECTA

ESTE DOCUMENTO FUE LEGALIZADO BAJO EL No. 102911 DE ENERO 24 DEL 2001 ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

SERGIO ELEUTERIO LATORRE MENDOZA
Traductor e Intérprete Oficial
Resol No 2839 Minjusticia 1 991

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
COYA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

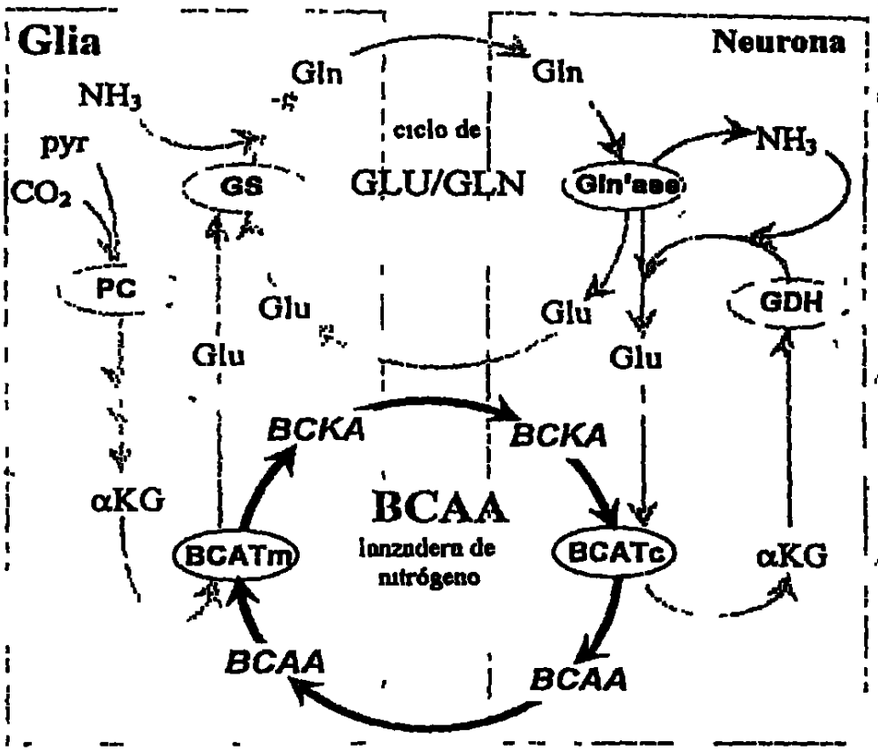
NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2001 JAN 24 A 11:50
JEFE DE LEGALIZACION
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

1268 352

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

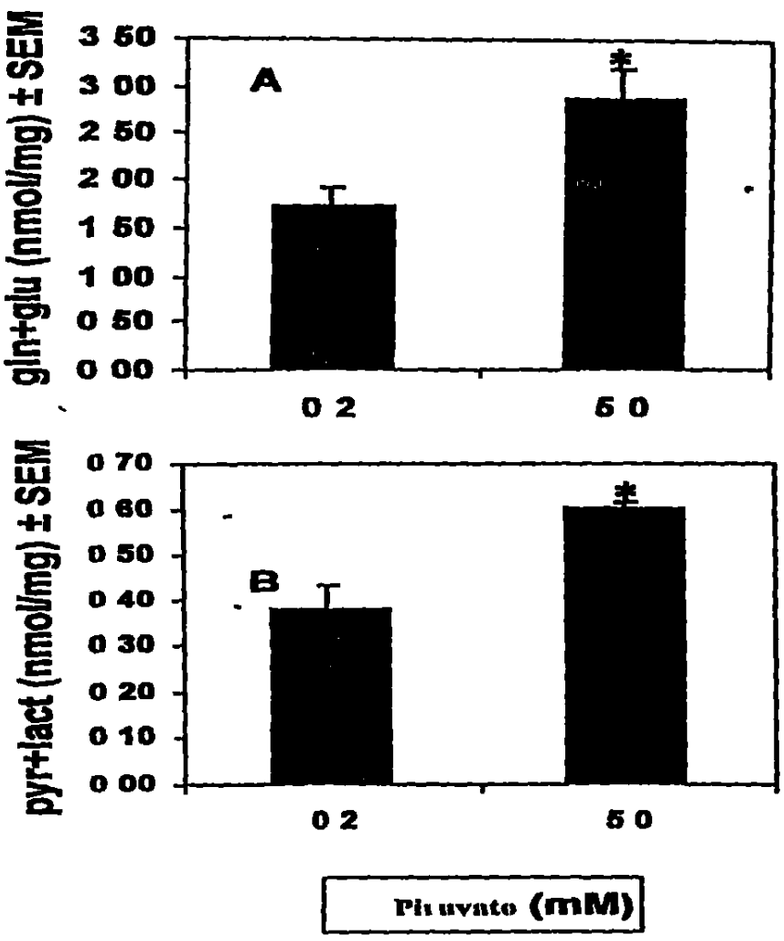
La presente invención se refiere a un método para el tratamiento profiláctico y terapéutico de la retinopatía diabética El método consiste en la administración de un inhibidor de la vía de la aminotransferasa dependiente de aminoácidos de cadena ramificada (BCAT), a un animal, tal como un mamífero, en particular un humano, en una cantidad suficiente para tratar profiláctica o terapéuticamente la retinopatía diabética La presente invención también se refiere a varios inhidores novedosos de la vía de la BCAT ----

Figura 1


Glia
Neurona
Gln
Gln
NH3
ciclo de
NH3
pyr
CO2
GS
GLU/GLN
Gln'ase
PC
Glu
Glu
GDH
Glu
Glu
BCKA
BCKA
αKG
BCAA
lanzadera de
nitrógeno
BCATm
BCATc
αKG
BCAA
BCAA

1270354

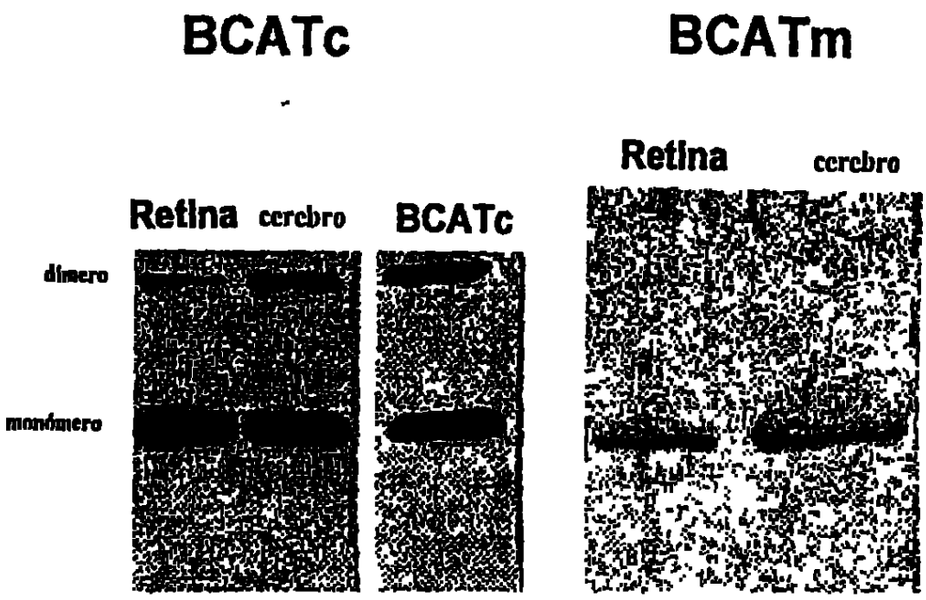
Figura 2



1229 355

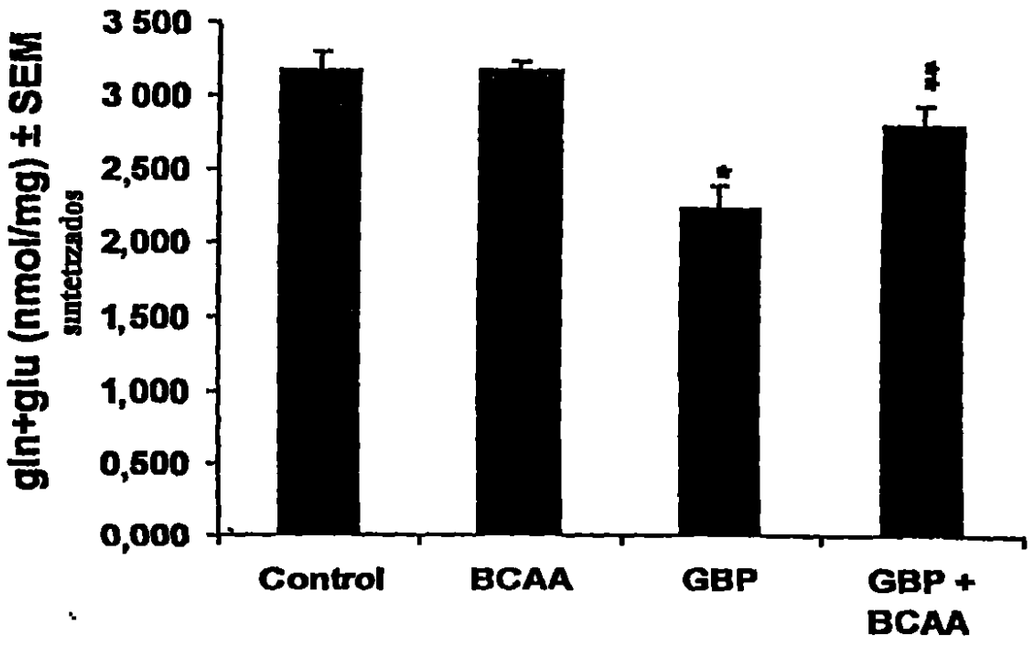
1271

Figura 3



1272 35

Figura 4

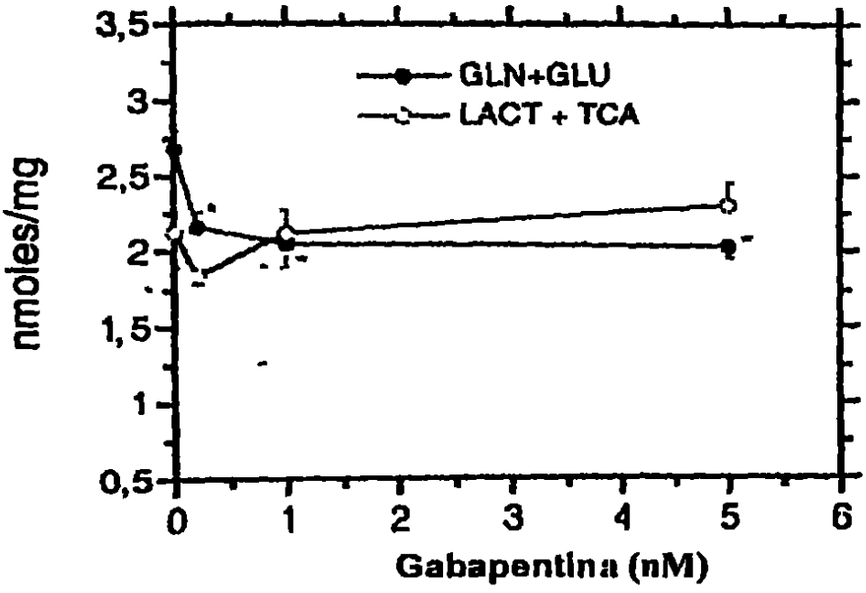


1231

1273

357

Figura 5



1274

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 1232

Radicación no 00 - 93679

Concepto Técnico No 1641
Clasificación Internacional de Patentes. A 61 K 31/185

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención.**

SI [✔] NO [ ] Contiene un resumen de la invención (Art.26-e)

SI [✔] NO [ ] Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d)

SI [✔] NO [ ] Contiene la descripción de la invención (Art.26-b)

SI [✔] NO [ ] NO ES APLICABLE [ ] Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d)

SI [✔] NO [ ] Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c)

SI [ ] NO [ ] NO ES APLICABLE [✔] Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen (Art. 26- h)

SI [ ] NO [ ] NO ES APLICABLE [✔]Los productos y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes.(Art.26-I)

SI [ ] NO [✔] La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-J)

SI [✔] NO [ ] La prioridad coincide con la materia reivindicada.

SI [✔] NO [ ] CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS

OBSERVACIONES Y OTROS. SI [✔] NO [ ] ver hoja(s) anexa(s)
Anexan poderes otorgados según solicitud, documento de cesión de derecho

EXAMINADOR TÉCNICO
202048

Bogotá D C,

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

1275

Folio 1233

2020
Bogotá DC

Doctor
CARLOS MAYA RODRIGUEZ
Apoderado

REFERENCIA.	Radicación No	00 - 93679
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No	0178
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, a los 27 ENE 2003

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202048

528

Carrera 13 No 27-00 Piso 1 y 10
Conmutador 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogota D C. - Colombia

1294
4244
1276

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D C , Abril 12 de 2006

Doctor
CARLOS MAYA RODRÍGUEZ

ASUNTO	Radicación No	00 093 679
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No	
	Folios	0 4581

Como resultado del examen de patentabilidad de la solicitud de patente de invención, realizado segun lo establece el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se notifica el siguiente concepto técnico

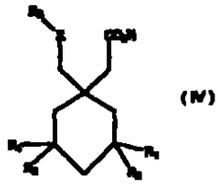
1 Documentos estudiados

Para el presente estudio se tuvieron en cuenta el capítulo descriptivo comprendido en los folios 8 - 181 y el capítulo reivindicatorio de los folios 182 – 209 de la solicitud en estudio

2 Objeto de la invención

El objeto de la presente solicitud de patente de invención consiste en

Las reivindicaciones 1 – 5 se refieren a compuestos de fórmula IV



(IV)

Las reivindicaciones 6 - 14 se refieren a un método para tratamiento de retinopatía diabética, trastornos neurológicos, depresión, pánico, ansiedad, manías, trastornos bipolares, enfermedades inflamatorias, glaucoma, dolor o lesión gastrointestinal que consiste en administrar un compuesto

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de proporcionar compuestos para tratamiento de retinopatía diabética, trastornos neurológicos, depresión, pánico, ansiedad, manías, trastornos bipolares, enfermedades inflamatorias, glaucoma, dolor o lesión gastrointestinal

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona compuestos de fórmula IV

El objeto de la invención definido anteriormente se clasificó de acuerdo con la IPC A 61 K 31/185 // 31/19

También se reivindica prioridad de las Solicitudes de Patente de los Estados Unidos US 60 169 635, US 60 175 399, US 60 230 020 de diciembre 8 de 1999, enero 11 de 2000, septiembre 5 de 2000, respectivamente con respecto a las cuales la fecha de presentación de la actual solicitud cumple el plazo máximo permitido

3 Excepciones a la Patentabilidad

El artículo 20 de la Decisión 486 establece *"No serán patentables d) los métodos terapéuticos o quirúrgicos para el tratamiento humano o animal, así como los métodos de diagnóstico aplicados a los seres humanos o a animales"*

Las reivindicaciones 6 - 14 se refieren a un método para tratamiento de retinopatía diabética, trastornos neurológicos, depresión, pánico, ansiedad, manías, trastornos bipolares, enfermedades inflamatorias, glaucoma, dolor o lesión gastrointestinal que consiste en administrar un compuesto

Se observa que el método de tratamiento de las reivindicaciones 6 – 14, que comprende administrar un compuesto, no es patentable de acuerdo con la norma citada, que especifica que *los métodos terapéuticos para el tratamiento humano o animal* no son patentables

En conclusión, el método de tratamiento de las reivindicaciones 6 – 14, que comprende administrar un compuesto, no es patentable de acuerdo con el Art 20, literal d), de la decisión 486

4 Determinación del Estado de la Técnica

El artículo 16 de la decisión 486 de la comisión de la Comunidad Andina que establece que *"El estado de la técnica comprenderá todo lo que haya sido accesible al publico por una descripción escrita u oral, utilización, comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de patente o, en su caso, de la prioridad reconocida*

Solo para el efecto de la determinación de la novedad, también se considerará dentro del estado de la técnica, el contenido de una solicitud de patente en trámite ante la oficina nacional competente, cuya fecha de presentación o de prioridad fuese anterior a la fecha de presentación o de prioridad de la solicitud de patente que se estuviese examinando, siempre que dicho contenido esté incluido en la solicitud de fecha anterior cuando ella se publique o hubiese transcurrido el plazo previsto en el artículo 40"

Considerando que la fecha de presentación de la primera solicitud de patente de la cual se reivindica prioridad es diciembre 8 de 1999, se consultaron las bases de datos y los archivos con que cuenta la entidad con fecha de publicación anterior y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud

No	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	WO 97 33858	Nuevos aminoácidos cíclicos sustituidos como agentes farmacéuticos	Sept 18, 1997
D2	US 5 510 381	Método de tratamiento de manías y desorden bipolar	Abr 23, 1996
D3	US 5 792 796	Métodos para tratar ansiedad y pánico	Ago 11, 1998

1246

1278

5 Evaluación de los requisitos de Patentabilidad

El artículo 14 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que *"Los Países Miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o de procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel inventivo y sean susceptibles de aplicación industrial"*

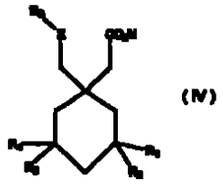
En cumplimiento del artículo 14 de la Decisión 486, se procedió a evaluar el cumplimiento de los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial, con el fin de establecer la patentabilidad de la invención reivindicada en la solicitud en estudio

Evaluación de la Novedad

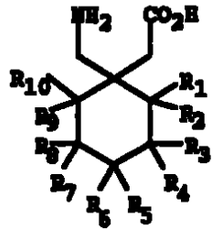
El Art 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece *"Una invención se considerará nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica El estado de la técnica comprenderá todo lo que haya sido accesible al público por una descripción escrita u oral, utilización comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de patente, o, en su caso, de la prioridad reconocida*

Solo para el efecto de la determinación de la novedad, también se considerará dentro del estado de la técnica, el contenido de una solicitud de patente en trámite ante la oficina nacional competente, cuya fecha de presentación o de prioridad fuese anterior a la fecha de presentación o de prioridad de la solicitud de patente que se estuviese examinando, siempre que dicho contenido esté incluido en la solicitud de fecha anterior cuando ella se publique o hubiese transcurrido el plazo previsto en el Art 40"

Las reivindicaciones 1 – 5 se refieren a compuestos de fórmula IV



D1 enseña (ver folios 1235 - 1237) compuestos de fórmula



para tratamiento de trastornos neurológicos, depresión, pánico, ansiedad, entre los cuales menciona compuestos que se reivindican nuevamente en la solicitud en estudio, como p ej ácido-(1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético

D2 enseña (ver folios 1239 – 1241) compuestos aminoácidos cíclicos, como los de esta solicitud, para tratamiento de trastornos neurológicos, depresión, desorden bipolar

D3 enseña (ver folios 1242 - 1243) compuestos aminoácidos cíclicos, como los de esta solicitud, para tratamiento de ansiedad y en el tratamiento y/o prevención de ataques de pánico

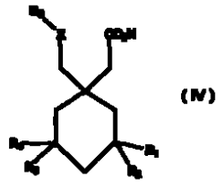
Se observa que los elementos constitutivos de los compuestos de fórmula IV las reivindicaciones 1 - 5, ya se mencionaban en D1, D2 y D3, por lo cual no

pueden considerarse nuevos

Evaluación del Nivel Inventivo

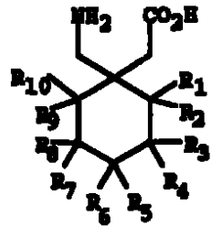
El artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que *Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica*

Las reivindicaciones 1 – 5 se refieren a compuestos de fórmula IV



(IV)

D1 enseña (ver folios 1235 - 1237) compuestos de fórmula



para tratamiento de trastornos neurológicos, depresión, pánico, ansiedad, entre los cuales menciona compuestos que se reivindican nuevamente en la solicitud en estudio, como p ej ácido-(1-aminometil-3,3-dimetil-ciclohexil)-acético

D2 enseña (ver folios 1239 – 1241) compuestos aminoácidos cíclicos, como los de esta solicitud, para tratamiento de trastornos neurológicos, depresión, desorden bipolar

D3 enseña (ver folios 1242 - 1243) compuestos aminoácidos cíclicos, como los de esta solicitud, para tratamiento de ansiedad y en el tratamiento y/o prevención de ataques de pánico

Se observa que

(a) la estructura de los compuestos de fórmula IV reivindicados, caracterizada porque tiene los grupos amino y ácido, era evidente para una persona conocedora de la materia, considerando que los compuestos de las anterioridades ya incluían estos grupos, era evidente el elaborar estos compuestos de manera similar, teniendo en cuenta los compuestos de las anterioridades,

(b) las reivindicaciones de esta solicitud no mencionan una característica que conceda un efecto diferente o especial a los compuestos ni a las composiciones, que pueda considerarse como un aporte a la técnica, así que son obvias para una persona versada en la materia,

(c) el problema planteado en esta solicitud que era la necesidad de proporcionar la necesidad de compuestos para tratamiento de retinopatía diabética, trastornos neurológicos, depresión, pánico, ansiedad, manías, trastornos bipolares, enfermedades inflamatorias, glaucoma, dolor o lesión gastrointestinal se resuelve proporcionando compuestos de fórmulas I, II, III, IV, es decir de manera similar a como se resolvía en las anterioridades, las reivindicaciones son obvias y evidentes para una persona versada en la materia

(d) el resultado obtenido compuestos aminoácidos cíclicos de fórmulas I, II, III,

IV, no es inesperado

(e) no parece haberse superado un prejuicio técnico anterior, con los compuestos propuestos

Por todo lo anterior se observa que los compuestos reivindicados no tienen **nivel inventivo**

6 Conclusión

En conclusión, los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud están afectados así

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO 97 33858	1 – 5	Novedad y Nivel Inventivo
D2	US 5 510 381	1 – 5	Novedad y Nivel Inventivo
D3	US 5 792 796	1 – 5	Novedad y Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta días contados a partir de la fecha de la notificación de la presente comunicación En caso de no dar respuesta al presente requerimiento o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5 2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No 10 de 2001

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 27 ABR 2006

CONCEPTO TÉCNICO No 614	EXAMINADOR TÉCNICO Código 202007