

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado
CARLOS R. OLARTE.

ASUNTO	Radicación	09-24346
	Trámite	011
	Evento	378
	Actuación	519
	Oficio	
	Folios	007

12 4 7 7

Patente de Invención	☐	Patente de Modelo de Utilidad	☐
Vía Nacional	☐		
Vía PCT (fase nacional)	☐	Cap. I ☐	Cap. II ☐

No. Solicitud Internacional PCT/EP2007/059381.
Fecha de Presentación Internacional 07 de septiembre de 2007.

Como resultado del Examen de Fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Folios 204 a 392	10/marzo/2009
Reivindicaciones:	Folios 393 a 402	10/marzo/2009
	Folios 422 a 428	23/junio/2009
Dibujos	Folios 406 a 413	10/marzo/2009
Prioridad:	GB 06178636	11/septiembre/2006
	GB 06178685	11/septiembre/2006
	GB 07163710	22/agosto/2007

2. Análisis de la Prioridad

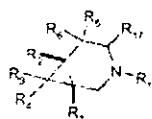
Se acepta las reivindicaciones de las prioridades porque: esta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de las prioridades reivindicadas.

3. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Compuestos azabíciclos como inhibidores de la recaptación de monoaminas"

El problema planteado en esta solicitud consiste en proporcionar nuevos compuestos inhibidores de la recaptación de serotonina (5-HT), Dopamina (DA) y norepinefrina (NE) y las formulaciones que los contienen.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un compuesto de la fórmula (I) y composiciones que lo contienen.



Compuesto I

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K31/435; A61P25/00; C07D221/04

4. Reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso (Art 14 y 21 D 486)

El uso de las reivindicaciones 9 – 11 no es patentable, de acuerdo con el Art 14.

5. De la Solicitud de Patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Las reivindicaciones 1-8 y 12 no están debidamente sustentadas en la descripción porque de las definiciones de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , R_{15} , R_{16} , R_{17} , R_{18} , R_{19} , alquilo C_{1-4} , grupo A, grupo K, grupo W, grupo G, grupo heteroarilo monocíclico de 5 ó 6 miembros, grupo heteroarilo bicíclico de 8 a 11 miembros; p, X, X_1 , X_2 , X_3 , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , haloalcoxi C_{1-4} , alcanilo C_{1-4} , SF_5 , cicloalquilo C_{3-6} , cicloalquilo C_{3-6} -alquilo C_{1-3} se obtiene un gran número de compuestos, muchos de los cuales no están ejemplificados en la forma de ejemplos de la invención dentro del capítulo descriptivo, se sugiere restringir la solicitud a una razonable generalización del tipo de compuestos que han sido sintetizados o probados, es decir, que se encuentran debidamente sustentados.

En la reivindicaciones 1-8 y 12, la característica esencial definida R_2 es un grupo A, K o W no están ejemplificadas aquellas modalidades donde R_2 es W, se sugiere restringir la solicitud a una razonable generalización del tipo de compuestos que han sido sintetizados o probados, es decir, que se encuentran debidamente sustentado en la descripción.

6. Unidad de invención (Art 25 D 486)

La Solicitud no cumple con el Requisito de Unidad de Invención porque se refiere a 4, Grupos Inventivos.

Los Grupos Inventivos están definidos por las siguientes características esenciales:

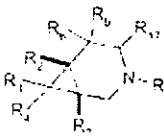
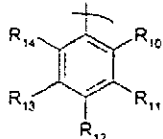
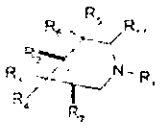
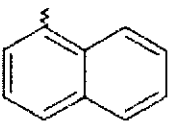
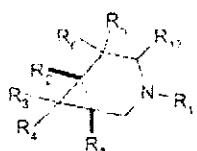
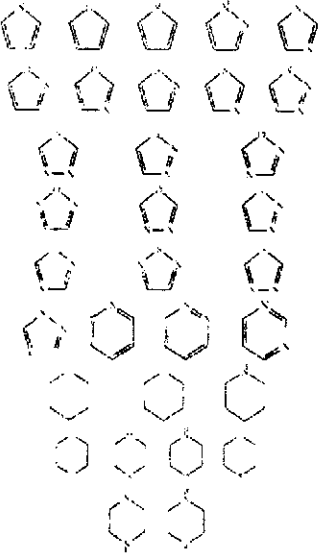
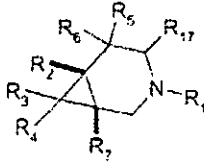
1° Compuestos en los cuales el núcleo está caracterizado por ser derivados del 6-fenil-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano

2° Compuestos en los cuales el núcleo está caracterizado por ser derivados del 6-naftil-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano.

3° Compuestos en los cuales el núcleo está caracterizado por ser derivados del 6-(heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros)-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano

4° Compuestos en los cuales el núcleo está caracterizado por ser derivados del 6-(heteroarilo bicíclico de 8 o 11 miembros)-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano

La solicitud de patente no cumple con el requisito de unidad de invención debido a refiere 4, Grupos Inventivos de acuerdo con las realizaciones preferidas, los cuales son descritos a continuación:

GRUPO INVENTIVO	CARACTERÍSTICA ESENCIAL DE GRUPO INVENTIVO (Estructura química central)	REALIZACIONES PREFERIDAS DEL GRUPO INVENTIVO (Ejemplos)
1	 donde R ₂ 	1-24 y 29-33
2	 donde R ₂ 	25-28
3	 Donde R ₂ es un grupo heteroarilo monocíclico de 5 ó 6 miembros 	No Referida
4	 Donde R ₂ es un grupo heteroarilo bicíclico de 8 a 11 miembros.	No Referida

Lo anterior evidencia que no hay elementos técnicos comunes en las 4 invenciones reivindicadas, porque los elementos técnicos distintivos de cada una de ellas no son idénticos y puesto que no hay una relación entre los elementos técnicos de las diferentes invenciones, no hay un único concepto general inventivo. En consecuencia, la solicitud no cumple el requisito del Artículo 25 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina de Naciones.

Se sugiere presentar las Solicitudes Divisionales que considere necesarias, ó limitar la solicitud inicial a una sola invención, eliminando de ella las otras invenciones

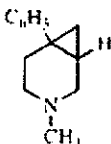
7. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad más antigua: septiembre 11 de 2006 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

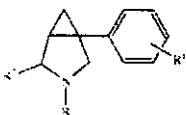
Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación*
------	-----------	--------	-----------------------

D1	Bioorganic & Medicinal Chemistry 13 (2005) 5808–5813	A novel and selective monoamine oxidase B substrate	29/junio/2005
D2	US 6204284	Use of 1-(substitutedphenyl)-3-azabicyclo[3.1.0]hexanes for the treatment of chemical dependencias	20/marzo/2001

D1: divulga (Pág. 1, Abstract) el compuesto 3-metil-6-fenil-3-aza-biciclo [4.1.0]heptano como un sustrato selectivo de la monoamina oxidasa B, el cual una persona versada en la materia lo definiría como inhibidor competitivo de las monoaminas endógenas para la enzima monoamina oxidasa B.



D2:[http://www.google.com.co/patents?hl=es&lr=&vid=USPAT6204284&id=AMYFAAAAEBAJ&oi=fnd&dq=Use+of+1-%28substituted+phenyl%29-3-azabicyclo\[3.1.0\]hexane+for+the+treatment+of+chemical+dependencies&printsec=abstract#v=onepage&q=Use%20of%201-%28substituted%20phenyl%29-3-azabicyclo\[3.1.0\]hexane%20for%20the%20treatment%20of%20chemical%20dependencies&f=false](http://www.google.com.co/patents?hl=es&lr=&vid=USPAT6204284&id=AMYFAAAAEBAJ&oi=fnd&dq=Use+of+1-%28substituted+phenyl%29-3-azabicyclo[3.1.0]hexane+for+the+treatment+of+chemical+dependencies&printsec=abstract#v=onepage&q=Use%20of%201-%28substituted%20phenyl%29-3-azabicyclo[3.1.0]hexane%20for%20the%20treatment%20of%20chemical%20dependencies&f=false) divulga el compuesto I (Pág. 2, Col. 2, Ren. 19-26)



Compuesto I

De igual modo, divulga (Pág. 3, Col. 1, Ren. 21-23) como un inhibidor de la recaptación del neurotransmisor serotonina el clorhidrato del 1-(3,4-diclorofenil)-3-azabicyclo[3.1.0]hexano. Finalmente, divulga que se ha encontrado que los 1-(fenil sustituidos)3-azaciclo [3.1.0]hexanos son inhibidores de la recaptación de 5-hidroxitriptamina (5-HT), norepinefrina (NE) y dopamina (DA) en preparaciones crudas de cerebro de rata y pueden ser usados en el tratamiento de desórdenes de adicción como los ocasionados por abuso de sustancias químicas, desórdenes alimenticios (anorexia y obesidad) y otros desordenes compulsivos.

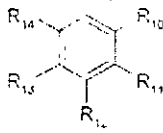
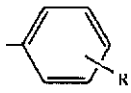
8. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Novedad (Art 16 D486)

La reivindicación 2 para el primer grupo inventivo consiste en derivados del 6-fenil-aza-biciclo[4.1.0]heptano.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1
 Derivados del 6-fenil-aza-biciclo [4.1.0]heptano	 El 3-metil-6-fenil-3-aza-biciclo [4.1.0]heptano.
R ₁	N-Radical
CH ₃	CH ₃
R ₂	C ₆ H ₅

		dentro de los que se encuentra el compuesto 1-(3,4-diclorofenil)-3-azabicyclo[3.1.0]hexano
R₂ 	C₆H₅ 	Fenilo 
R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃ y R₁₄	R¹	R¹
hidrógeno halógeno hidroxi ciano alquilo C ₁₋₄ haloalquilo C ₃₋₆ alcoxi C ₁₋₄ haloalcoxi C ₁₋₄ alcanoilo C ₁₋₄ SF ₅ Un grupo heterociclo de 5-6 miembros sustituido	hidrógeno	hidrógeno halógeno No menciona No menciona alquilo C ₁₋₆ No menciona alcoxi C ₁₋₃ No menciona No menciona No menciona No menciona
R₁	N-Sustituyente	R
hidrógeno alquilo C ₁₋₄	Metilo	hidrógeno alquilo C ₁₋₆
R₁₇	Sustituyente carbono 2	R₂
hidrógeno alquilo C ₁₋₂	hidrógeno	hidrógeno alquilo C ₁₋₂
R₇, R₅, R₆, R₃ y R₄	Sustituyentes carbonos 5,6,7	
hidrógeno	hidrógeno	hidrógeno

Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 7 porque divulgan compuestos halogenados derivados del 6-fenil-aza-biciclo[4.1.0]heptano que inhiben la recaptación de 5-hidroxitriptamina (5-HT), norepinefrina (NE) y dopamina (DA) y por lo tanto útiles para el tratamiento de trastornos o enfermedades sensibles a la actividad inhibidora de la recaptación de neurotransmisores de monoamina como depresión, parkinsonismo, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño, trastornos relacionados con sustancias, trastornos de hiperactividad con déficit de atención, trastornos de ansiedad, deterioro cognitivo, disfunciones sexuales trastornos de espectro obsesivo-compulsivo, enfermedad de Giles de la Tourette y demencia senil.

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 7 y el compuesto divulgado en el documento D1 consiste es que el Documento D1 no refiere al derivados halogenados del 6-fenil-3-aza-biciclo[4.1.0]heptano y la invención en su reivindicación 7 hace referencia a una serie de compuesto halogenados derivados de 6-fenil-3-aza-biciclo [4.1.0]heptano.

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 7 y el compuesto divulgado en el documento D2 consiste en el anillo principal es un 6-fenil-aza-biciclo [3.1.0]hexano en lugar de ser un 6-fenil-aza-biciclo [4.1.0]heptano de acuerdo con lo definido para el primer grupo inventivo en la reivindicación 7 de la invención.

El efecto que logra el incluir un átomo de carbono en el anillo 6-fenil-aza-biciclo [3.1.0]hexano es obtener nuevos compuestos derivados del 6-fenil-aza-biciclo [4.1.0]heptano del inhiben la recaptación de 5-hidroxitriptamina (5-HT), norepinefrina (NE) y dopamina (DA) y por lo tanto útiles para el tratamiento de trastornos o enfermedades sensibles a la actividad inhibidora de la recaptación de neurotransmisores de monoamina como depresión, parkinsonismo, trastornos de la

Expediente 09-24346 Artículo 45

alimentación, trastornos del sueño, trastornos relacionados con sustancias, trastornos de hiperactividad con déficit de atención, trastornos de ansiedad, deterioro cognitivo, disfunciones sexuales trastornos de espectro obsesivo – compulsivo, enfermedad de Giles de la Tourette y demencia senil

Por lo tanto, el Problema Técnico Objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar el compuesto I conocido en D2 para obtener compuestos nuevos inhibidores de la recaptación de 5-hidroxitriptamina (5-HT), norepinefrina (NE) y dopamina (DA) y por lo tanto útiles para el tratamiento de trastornos o enfermedades sensibles a la actividad inhibidora de la recaptación de neurotransmisores de monoamina como depresión, parkinsonismo, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño, trastornos relacionados con sustancias, trastornos de hiperactividad con déficit de atención, trastornos de ansiedad, deterioro cognitivo, disfunciones sexuales trastornos de espectro obsesivo – compulsivo, enfermedad de Giles de la Tourette y demencia senil”.

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría un átomo de carbono en el anillo 6-fenil-aza-biciclo [3.1.0]hexano del compuesto I divulgado en el documento D2 , como está divulgado en el documento D1 para formar un anillo 6-fenil-aza-biciclo [4.1.0]heptano para llegar así al objeto de la reivindicación 7 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia para el primer grupo inventivo.

9. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente Solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Bioorganic & Medicinal Chemistry 13 (2005) 5808–5813	2-8	Nivel Inventivo
D2	US 6204284	2-8	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 (60) días contados a partir de la fecha de 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.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante y presentarla por escrito

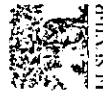
Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.


JESÚS FERNÉL GARCÍA GARCÍA
Director de Nuevas Creaciones (E)

18 JUN. 2012

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha _____

Elaborado por: Lenin Roberto Guerrero. 
Revisado Por: Consuelo Leguizamón Leguizamón.
Aprobado por: Jesús Fernél García García.



A novel and selective monoamine oxidase B substrate

John M. Rimoldi^{a,*}, Satish G. Puppali^a, Eric Isin^b, Philippe Bissel^b,
Ashraf Khalil^b and Neal Castagnoli, Jr.^{b,c}

^aDepartment of Medicinal Chemistry and Laboratory for Applied Drug Design and Synthesis, The University of Mississippi,

University, MS 38677, USA

^bDepartment of Chemistry, Virginia Tech, Blacksburg, VA 24061, USA

^cReceived 15 April 2003; revised 25 May 2003; accepted 5 May 2003

Available online 29 June 2003

Abstract—A cyclic five- and six-membered tertiary amines constitute a unique class of monoamine oxidase substrates that undergo a net two-electron α -carbon oxidation to form the cyclic, conjugated enaminone iminolactones. The corresponding saturated pyrrolidinyl and piperidinyl systems are not substrates for this flavoenzyme system. In an attempt to evaluate possible contributions that α -orbital stabilization of the putative α -carbon radical intermediates may play in the catalytic pathway, we have examined the substrate properties of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), the 3,4-cyclopropyl analog of the selective monoamine oxidase B substrate 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). The results, which document the first reported example of a saturated, cyclic tertiary amine with monoamine oxidase substrate properties, are consistent with α -carbon radical stabilization as a contributing factor in the catalytic pathway.

© 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The outer mitochondrial membrane flavoenzymes monoamine oxidase A and B (MAO-A and MAO-B) catalyze the two-electron α -carbon oxidation of a variety of primary and secondary amines including the biogenic amine neurotransmitters.¹ Acyclic tertiary amine substrates are rare and, with the exception of the class of compounds under consideration in this study, no cyclic tertiary amine has been unambiguously described as an MAO substrate.¹ This exceptional class of compounds is a group of cyclic tertiary amines that undergo MAO-catalyzed oxidation to give the corresponding cyclic, conjugated enaminone metabolites.⁴ This pathway is illustrated in Scheme 1 by the MAO-B-catalyzed oxidation of the parkinsonian inducing neuroleptic 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine [MPTP (1)] that yields the corresponding dihydropyridinium metabolite 2.⁵ The MAO catalytic pathway is thought to proceed via α -carbon radical intermediates, such as 2, that may be generated either directly via a hydrogen atom transfer (HAT)⁶ step or via an initial single electron transfer (SET)⁷ step and subsequent

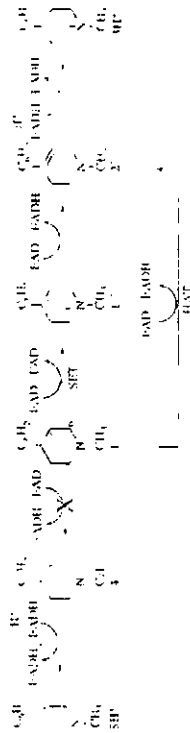
Keywords—Monoamine oxidase B selective substrate, Cyclopropyl tetrahydropyridine, Regioselectivity, Cyclic enaminone metabolite

*Corresponding author. Tel.: +1 662 915 8700; fax: +1 662 915 5800

E-mail address: rimoldi@chem.msstate.edu (J.M. Rimoldi)

0965-0595/\$ - see front matter © 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.bmcl.2003.05.039

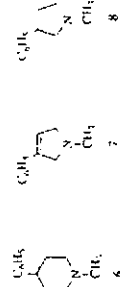


Scheme 1.

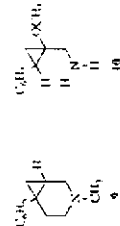
λ_{max} of the cyclopropylpyridinium system is shifted to longer wavelengths (347 nm (ϵ 8,500) and 377 nm (ϵ 12,400) compared to the isopropyl analog (λ_{max} of 255 nm (ϵ 3,000) and 274 nm (ϵ 14,000)).¹¹ The calculated carbon–carbon bond rotational energy barriers for vinylbenzene versus cyclopropylbenzene versus isopropylbenzene are 7.1 versus 7.2 versus 0.7 kcal/mol, respectively; the corresponding values for vinylamine, respectively, cyclopropylamine versus isopropylamine are 4.9 versus 4.9 versus 2.1 kcal/mol.¹² Additionally, the optimized length for the vinyl cyclopropyl C–C bond, 1.475 Å, is considerably shorter than that of the vinyl methyl C–C bond, 1.501 Å.¹² In view of these α -bond characteristics of the cyclopropyl group, studies have been initiated to examine the MAO enzyme substrate properties of 1-methyl-4-phenyl-1,3-bis(2,4-dichlorophenyl)-1,3,4,5-tetrahydropyridine (19), a structurally rigid, chiral, antimetastereoselective MAO-B substrate search identified a report describing the MAO-B substrate properties of *trans*-1-(1-aminomethyl)-2-methyl-3-phenylcyclopropane (10), a primary amine and somewhat distant structural analog of 9. Reel liver MAO-B catalyzed the conversion of this compound (K_m = 10.8 mM) to a pyrrolyl metabolite via a complex reaction sequence.¹³

2. Results and discussion

The synthesis of 9 via a direct Simmons Smith cyclopropylation reaction (Et_2Zn , CH_2I_2) of MPTP (1) in CH_2Cl_2 ¹⁴ proceeded in 57% yield (Scheme 2). Strictly anhydrous conditions and at least 6 equiv. of both diethylzinc and diiodomethane were necessary for the reaction to proceed effectively.¹⁵ The proton ^1H NMR spectrum documented the replacement of the signal for the C(5)-olefinic proton (δ 5.86 ppm) of the starting material (H^1 , H^2) with three signals (δ 1.60 (m, H^3), 1.24 (m, H^4), and 1.14 (m, H^5) corresponding to the methine proton at C(3) and the methylene protons at C(7) of the newly introduced cyclopropyl group.



Scheme 2.



Scheme 3.

The ESI/MS product ion spectrum of 9H⁺ (MH⁺ 188) displayed a single fragment ion at m/z 44 that was assigned structure 1'. The formation of 1' is likely to proceed via a reverse [2p + 2p] cycloaddition pathway with 2-phenyl-1,3-pentadiene (A) as the neutral loss species (Scheme 3).

The substrate properties of 9 were examined with baboon liver mitochondrial MAO-B and human placental mitochondrial MAO-A.¹¹ Spectrophotometric analysis of the incubation mixtures showed the time-dependent formation of a new chromophore (λ_{max} 255 nm) with the baboon liver preparations but not with the human placental preparations demonstrating that 9, like MPTP,²² is an MAO-B selective substrate. (*R*-dephenyl), a potent and selective mechanism-based inactivator of MAO-B,²³ completely inhibited the reaction

A plot of the absorbance at 253 nm versus time was linear for the first 15 min (0.048 OD units/min).

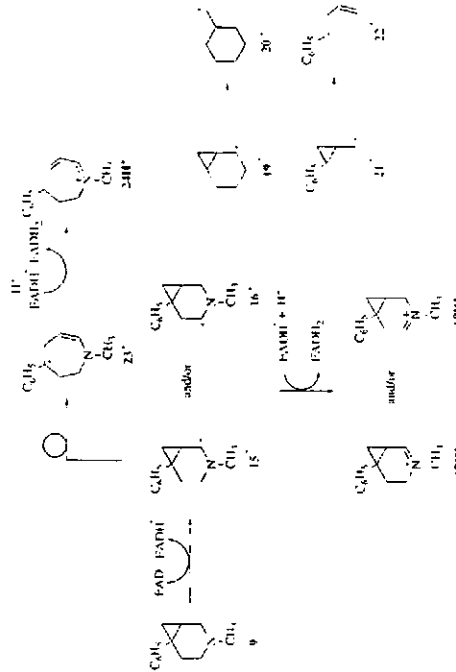
The LC-ESI/MS total ion current tracing of the postincubation mixture showed two major peaks, one containing the starting material 9 and the second containing a compound with m/z 186 Da, consistent with a metabolic structure, at an oxidation state two electrons higher than that of the substrate (m/z 184). The two possible γ -carbon radical intermediates anticipated in this biotransformation, 15 and 16, will lead to the corresponding triaminic metabolites 17H⁺ and 18H⁺ following the second one-electron oxidation (Scheme 4). According to the proposed γ -carbon radical stabilization by the cyclopropylcarbinyl radical 15, would be the preferred structure. Carbocyclic radicals analogous to 15 are reported to undergo spontaneous rearrangements to ring-opened products, a reaction that is promoted by release of ring strain. For example, the bicyclo[4.1.0]hept-1-yl radical 19 is reported to rearrange to the cyclohexylmethyl radical 20 at a rate of 2×10^6 s⁻¹, and the *trans*-2-phenylcyclopropylmethyl radical 21 to the open-chain benzyl radical 22 at a rate of 1.9×10^6 s⁻¹. Consequently, 15 also could undergo a rearrangement reaction that most likely would lead to the benzyl radical 22. Subsequent oxidation of this intermediate would lead to a dihydroazepinium system with the 2,3-dihydro-1*H*-azepinium species 24H⁺ as the thermodynamically preferred product.²⁶

By analogy with the shift observed with the cyclopropyl-tropylium system,¹⁶ the UV spectrum of "pseudoallylic" structure 17H⁺ would be expected to display a bathochromic shift relative to the starting amine due to the

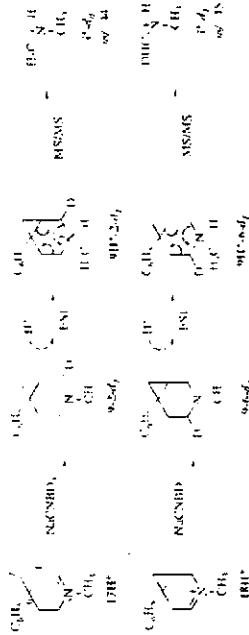
conjugation between the iminium and cyclopropyl groups. Therefore, the observed λ_{max} 253 nm of the metabolic species against the "pseudoallylic" structure 18H⁺ since this compound should have a chromophore similar to that of the starting material (λ_{max} 211 nm, ϵ 503). This chromophore of the metabolite, however, does not rule out the dihydroazepinium structure 24H⁺.

This major metabolite proved to be quite stable and could be isolated in small quantities by preparative TLC. GC-ESI/MS analysis of the purified metabolic displayed two isomeric peaks with qualitatively similar fragmentation patterns. Peak 1 (6.6 min, major product) (m/z 184, 100%; 184 (100%), 157 (29%), 143 (50%), 128 (50%), 105 (50%), 94 (80%), 91 (100%)) and again did not help to distinguish amongst the proposed structures. The LC-ESI/MS total ion current tracing of this isolate showed a single peak at 6.6 min. The product ion spectrum of the m/z 184 ion also was complicated, m/z 186 (100%), 171 (30%), 157 (40%), 155 (50%), 143 (50%), 129 (50%), 128 (50%), 105 (50%), 94 (80%), 91 (100%) and again did not help to distinguish amongst the proposed structures.

The partially purified metabolite was treated with NaCNBD₃ and the crude product was analyzed by mass spectrometry. The GC-ESI/MS of the product (m/z



Scheme 4

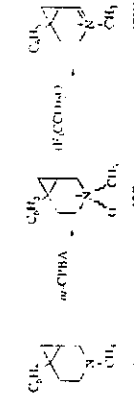


Scheme 5

188) had the same retention time (6.6 min) and fragmentation pattern [m/z 188 (100%), 159 (60%), 144 (65%), 130 (70%), 129 (70%), 113 (20%), 105 (40%), and 94 (100%)] as the starting amine 9 [m/z 187 (100%), 159 (100%), 143 (65%), 130 (70%), 129 (70%), 115 (20%), 103 (30%), and 97 (100%)] except for mass shifts due to the presence of a deuterium atom. The LC-ESI/MS (m/z 189) also displayed a single species with the same retention time (6.6 min) as the starting amine. These data eliminate the dihydroazepinium 24H⁺ as a possible structure but do not distinguish between the two possible iminium species 17H⁺ and 18H⁺. The product ion spectrum of 18H⁺ (189 Da), however, led to a more definitive outcome. The spectrum showed a single fragmentation ion at m/z 44. A consideration of the reverse-cyclo-

elimination pathway proposed to account for the fragmentation observed with the starting amine 9H⁺ provides convincing evidence that the MAO-B-catalyzed oxidation of 9 proceeds exclusively to give the 3-methyl-6-phenyl-3-azabicyclo[4.1.0]hept-2-yl species 17H⁺. Reduction of 17H⁺ with NaCNBD₃ gives 9-2-d, which, following collision-induced dissociation, will yield fragment ion 1-4₆ with a mass of 44 Da. The corresponding reduction of the isomeric 3-methyl-6-phenyl-3-azabicyclo[4.1.0]hept-3-yl species 18H⁺ will yield 9-6-4₆. The reverse cycloaddition fragment ion (1-4₆) that would be obtained in the product ion spectrum of 9-6-4₆ would have a mass of 45 Da rather than the observed mass of 44 Da (Scheme 5). Based on these data, a tentative assignment of 17H⁺ was made for the structure of the MAO-B generated metabolite of 9.

The synthesis of 17H⁺ (Scheme 6) was achieved via a reaction sequence used in the past to prepare 2,3-dihydroazepinium derivatives such as 3H⁺.²⁷ The diastereomeric mixture of N-oxides 25/26 obtained by treatment of 9 with *m*-chloroperoxybenzoic acid (*m*-CPBA), when



Scheme 6

subjected to Polonovski reaction conditions (trifluoroacetic anhydride in CHCl₃), generated a product that was obtained in pure form as a stable perchlorate salt. The ¹H NMR spectrum of this product in DMSO-*d*₆ displayed a complex signal centered at δ 8.96 ppm that was assigned to the C(2) proton of 17H⁺. The other signals also were consistent with this structure (see Section 3). The product ion spectrum of m/z 186 (m/z 186) was identical to that observed with the metabolite generated in the MAO-B-catalyzed oxidation of 9. Finally, reduction of this synthetic product with NaCNBD₃ led to the same monodeuterated reduction product, 9-2-d₁, that was obtained with the metabolite.

The results of these studies provide the first example of a saturated, cyclic tertiary amine with MAO substrate properties. Furthermore, the substrate properties of this bicyclic compound parallel those of the corresponding cyclic allylamine analog MPTP in terms of the MAO-B selectivity and regioselectivity. We speculate that the regioselectivity observed with these two compounds may reflect stabilization of the corresponding γ -carbon radicals that are thought to be intermediates in the catalytic pathways. Kinetic studies are underway to evaluate this proposal and also to characterize the potential enantioselectivity and the C(2)-diastereoselectivity of this biotransformation.

3. Experimental

Note. Some 1, 4-disubstituted-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridines are known nigrostriatal neurotoxins and should be handled using disposable gloves in a properly ventilated hood following good laboratory practices. Detailed procedures for the safe handling of MPTP have been reported.²⁸

3.1. Chemistry

3.1.1. General methods. Unless otherwise noted, reagents and starting materials were obtained from commercial suppliers and were used without purification. Diethyl ether was distilled over sodium and benzophenone. CHCl₃ and CHCl₃ were dried over Lindlar type 3A molecular sieves. All reactions were carried out using flame-dried glassware under an atmosphere of argon.

