

(11) Número de Publicação: **PT 2682387 E**

(51) Classificação Internacional:
C07D 207/10 (2015.01) **A61K 31/4025**
(2015.01)
A61P 31/04 (2015.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2009.08.07	(73) Titular(es): TETRAPHASE PHARMACEUTICALS, INC. 480 ARSENAL STREET, SUITE 110 WATERTOWN, MA 02472 US
(30) Prioridade(s): 2008.08.08 US 188307 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2014.01.08	
(45) Data e BPI da concessão: 2015.10.07 023/2016	(72) Inventor(es): DIANA KATHARINE HUNT US ROGER B. CLARK US ROBERT B. ZAHLER US LOUIS PLAMONDON CA XIAO-YI XIAO US
	(74) Mandatário: JOÃO LUÍS PEREIRA GARCIA RUA CASTILHO, 167 2º 1070-050 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **COMPOSTOS DE TETRACICLINA SUBSTITUÍDOS COM C7-FLÚOR**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO É DIRIGIDA A UM COMPOSTO REPRESENTADO PELA FÓRMULA ESTRUTURAL(A); OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO. AS VARIÁVEIS PARA A FÓRMULA ESTRUTURAL(A) SÃO DEFINIDAS NO PRESENTE DOCUMENTO. TAMBÉM É DESCRITA UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O COMPOSTO DE FÓRMULA ESTRUTURAL(A) E SUA UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA.

RESUMO

COMPOSTOS DE TETRACICLINA SUBSTITUÍDOS COM C7-FLÚOR

A presente invenção é dirigida a um composto representado pela Fórmula Estrutural(A): ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. As variáveis para a Fórmula Estrutural(A) são definidas no presente documento. Também é descrita uma composição farmacêutica compreendendo o composto de Fórmula Estrutural(A) e sua utilização terapêutica.

DESCRIÇÃO

COMPOSTOS DE TETRACICLINA SUBSTITUÍDOS COM C7-FLÚOR

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

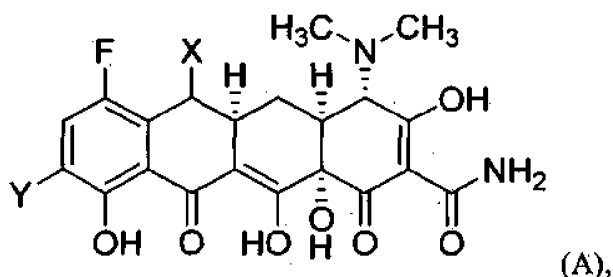
As tetraciclinas são agentes antimicrobianos de amplo espectro que são amplamente utilizados na medicina veterinária e humana. A produção total de tetraciclinas por meio de fermentação ou semi-síntese é medida nos milhares de toneladas métricas por ano.

A ampla utilização de tetraciclinas para fins terapêuticos tem levado aa aparição de resistência a estes antibióticos, mesmo entre espécies de bactérias altamente suscetíveis. Portanto, existe a necessidade de novos análogos de tetraciclina com atividades e eficácias antibacterianas melhoradas contra outras doenças ou distúrbios sensíveis à tetraciclina.

O documento EP 0582789 divulga 7-(substituída)-8-(substituída)-9-(substituída glicil)amido-6-demetil-6-desoxi-tetraciclinas para utilização como agentes antibióticos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a um composto de acordo com a reivindicação 1. Também é divulgado um composto representado pela seguinte Fórmula Estrutural (A):



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

X é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo;

Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, carbociclilo, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $n(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{0-4}-N(R^A)(R^B)$, $CH=N-OR^A$, $-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{1-4}-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-(C_1-C_6)$ alquilo, $N(R^F)-C(O)-$ heterociclilo $-N(R^F)-C(O)-$ heteroarilo, $-N(R^F)-C(O)-$ carbociclilo, $-N(R^F)-C(O)-$ arilo, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-carbociclilo, e $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-arilo;

pelo menos um de X e Y não é hidrogénio;

cada R^A e R^B são independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_0-C_6)$ alquilenos-carbociclilo, $-(C_0-C_6)$ alquilenos-arilo, $-(C_0-C_6)$ alquilenos-heterociclilo, $-(C_0-C_6)$ alquilenos-heteroarilo, $-(C_1-C_6)$ alquilenos-O-carbociclilo, $-(C_1-C_6)$ alquilenos-O-arilo, $-(C_1-C_6)$ alquilenos-O-heterociclilo, $-(C_1-C_6)$ alquilenos-O-heteroarilo, $-S(O)_m-(C_1-C_6)$ alquilo, $-(C_0-C_4)$ alquilenos- $S(O)_m$ -carbociclilo, $-(C_0-C_4)$ alquilenos- $S(O)_m$ -arilo, $-(C_0-C_4)$ alquilenos- $S(O)_m$ -heterociclilo e $-(C_0-C_4)$ alquilenos- $S(O)_m$ -heteroarilo; ou

R^A e R^B tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados formam um heterociclilo ou heteroarilo, em que o heterociclo ou heteroarilo opcionalmente compreende de 1 a 4 heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O;

cada R^D e cada R^E é independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C_1-C_6) alquilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo,

ou uma fração de cadeia lateral de aminoácido de ocorrência natural, ou

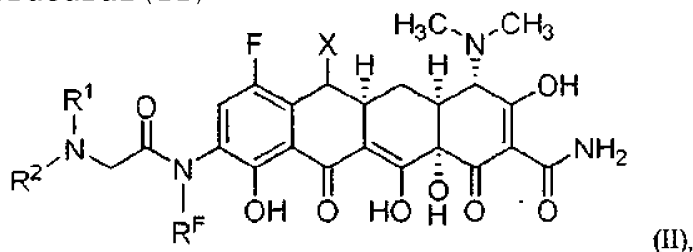
R^D e R^E tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um carbociclilo de 3-7 membros, ou um heterociclilo de 4-7 membros, em que o heterociclilo formado por R^D e R^E opcionalmente compreende um a dois heteroátomos adicionais

independentemente selecionados a partir de N, S e O;
 R^F é selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo; e
 m é 1 ou 2, em que:

cada carbociclilo, arilo, heterociclilo ou heteroarilo é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-OH$, $=O$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquil- $O-(C_1-C_4)$ alquilo, halo-substituído $-(C_1-C_4)$ alquilo, halo-substituído $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, $-C(O)-(C_1-C_4)$ alquilo, $-C(O)-(flúor-substituído-(C_1-C_4)alquil)$, $-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilo, $-N(R^G(R^G))$, e CN ;

cada alquilo no grupo representado por R^A , R^B , R^D e R^E é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-OH$, $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquil- $O-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alquilo fluoro-substituído, $-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilo, e $-N(R^G(R^G))$, em que cada R^G é hidrogénio ou (C_1-C_4) alquilo, em que cada alquilo no grupo representado por R^G é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo, halo, $-OH$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, e (C_1-C_4) alquil- $O-(C_1-C_4)$ alquilo.

Também é divulgado um composto representado pela Fórmula Estrutural (II)



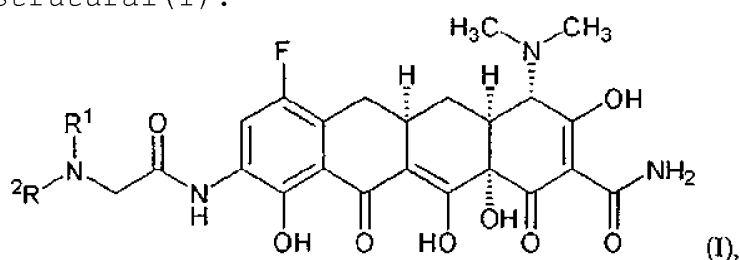
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

R^1 e R^2 são cada um independentemente selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, $(C_3-$

C_6) cicloalquil (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, (C_3-C_6) cicloalcoxi (C_1-C_4) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo, arilo, arilo (C_1-C_4) alquilo, ariloxi (C_1-C_4) alquilariltio (C_1-C_4) alquilo, arilsufinil (C_1-C_4) alquilo, arilsulfonil (C_1-C_4) alquilo, e $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, ou R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo opcionalmente contém um ou dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, O e S; e em que cada fração de alquilo, cicloalquilo, alcoxi e cicloalcoxi nos grupos representados por R^1 e R^2 e cada heterociclo representado por NR^1R^2 tomado em conjunto é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, $-OH$, (C_1-C_4) alcoxi, (C_1-C_4) alquiltio, (C_1-C_4) alquilsulfinilo, (C_1-C_4) alquilsulfonilo, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, e $-N(R^3)(R^4)$; e cada fração arilo, ariloxi, ariltio, arilsufinilo e arilsulfonilo nos grupos representados por R^1 e R^2 e cada heteroarilo representado por NR^1R^2 tomados em conjunto é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, $-OH$, (C_1-C_4) alcoxi, $-S-(C_1-C_4)$ alquilo, $-S(O)(C_1-C_4)$ alquilo, $-S(O)_2(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, $-N(R^3)(R^4)$; $-CN$, halo (C_1-C_4) alquilo, e halo (C_1-C_4) alcoxi, e R^3 e R^4 são cada um independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-H$ e (C_1-C_4) alquilo, em que o (C_1-C_4) alquilo representado por R^3 e R^4 é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo

consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, -OH, (C₁-C₄)alcoxi, e (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo. Valores para X e R^F são conforme descritos acima para a Fórmula Estrutural(A).

Também é divulgado um composto representado pela Fórmula Estrutural(I):



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

R¹ e R² são cada um independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquil(C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalcoxi (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo, arilo, aril(C₁-C₄)alquilo, ariloxi(C₁-C₄)alquilo, ariltio (C₁-C₄)alquilo, arilsulfinil(C₁-C₄)alquilo, e arilsulfonil(C₁-C₄)alquilo, ou R¹ e R² tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo opcionalmente contém um heteroátomo adicional independentemente selecionado a partir de N, O e S; e As restantes variáveis são conforme descritas acima para a Fórmula Estrutural(II).

Outra forma de realização da presente invenção é dirigida a uma composição farmacêutica compreendendo um portador farmaceuticamente aceitável ou diluente e um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. A composição farmacêutica é utilizada em terapêutica, tal como no tratamento de uma infeção num sujeito.

Uma forma de realização da presente invenção é um composto para utilização num método de tratamento de uma

infecção num sujeito cujo método compreende administrar ao sujeito uma quantidade eficaz de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

Outra forma de realização da presente invenção é um composto para utilização num método de prevenção de uma infecção num sujeito cujo método compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

Outra forma de realização da presente invenção é a utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo para o fabrico de um medicamento para o tratamento de uma infecção num sujeito.

Outra forma de realização da presente invenção é a utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo para o fabrico de um medicamento para a prevenção de uma infecção num sujeito.

Outra forma de realização da presente invenção é a utilização de um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo para terapêutica, tal como tratamento ou prevenção de uma infecção num sujeito.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

É divulgado um composto representado pela Fórmula Estrutural (A) ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo. Valores e valores alternativos para as variáveis na Fórmula Estrutural (A) são definidos como o seguinte:

X é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo. Num aspeto, X é hidrogénio. Num aspeto alternativo, X é $-(C_1-C_7)$ alquilo. Alternativamente, X é $-(C_1-C_4)$ alquilo. Noutro aspeto alternativo, X é carbociclilo. Noutro aspeto alternativo,

X é arilo ou heteroarilo. Noutro aspeto alternativo, X é fenilo.

Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, carbociclilo, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{0-4}-N(R^A)(R^B)$, $-CH=N-OR^A$, $-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{1-4}-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-(C_1-C_6)$ alquilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heterociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heteroarilo, $-N(R^F)-C(O)$ -carbociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -arilo, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-carbociclilo, e $N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-arilo, contanto que pelo menos um de X e Y não seja hidrogénio. Num aspeto, Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{0-4}-N(R^A)(R^B)$, $-CH=N-OR^A$, $-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{1-4}-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-(C_1-C_6)$ alquilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heterociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heteroarilo, $-N(R^F)-C(O)$ -carbociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -arilo, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-carbociclilo, e $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-arilo, contanto que pelo menos um de X e Y não seja hidrogénio. Num aspeto, Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{0-4}-N(R^A)(R^B)$, $-CH=N-OR^A$, $-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{1-4}-N(R^A)(R^B)$, $-NH-C(O)-C(R^{D'}) (R^E)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-(C_1-C_6)$ alquilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heterociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heteroarilo, $-N(R^F)-C(O)$ -carbociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -arilo, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-carbociclilo, e $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilenos-arilo. Noutro aspeto, Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquilenos- $NH-C(O)-(CH_2)_{0-1}-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^A)(R^B)$, $-NH-C(O)$ -carbociclilo, $-NH-C(O)$ -arilo, $-NH-C(O)$ -heterociclilo, -

NH-C(O)-heteroarilo, -NH-C(O)-N(R^A)(R^A), -N(R^E)-C(O)-CH₂-N(R^A)(R^B), -NH-C(O)-C(R^{D'})(R^E)-N(R^A)(R^B) e -NH-S(O)_m-(C₁-C₄)alquilenos-N(R^A)(R^B). Alternativamente, o -(C₁-C₇)alquilo representado por Y descrito acima é um -(C₁-C₄)alquilo. Ainda noutro aspeto, Y é selecionado a partir de -N(R^A)(R^B), -N(H)-C(O)-carbociclilo, -N(H)-C(O)-arilo, -N(H)-C(O)-heterociclilo, e -N(H)-C(O)-heteroarilo. Alternativamente, Y é -NH-C(O)-CH₂-N(R^A)(R^B). Mais especificamente, R^A e R^B em -NH-C(O)-CH₂-N(R^A)(R^B) são R¹ e R², respetivamente.

Cada R^A e R^B são independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, -O-(C₁-C₇)alquilo, -(C₀-C₆)alquilenos-carbociclilo, -(C₀-C₆)alquilenos-arilo, -(C₀-C₆)alquilenos-heterociclilo, -(C₀-C₆)alquilenos-heteroarilo, -(C₁-C₆)alquilenos-O-carbociclilo, -(C₁-C₆)alquilenos-O-arilo, -(C₁-C₆)alquilenos-O-heterociclilo, -(C₁-C₆)alquilenos-O-heteroarilo, -S(O)_m-(C₁-C₆)alquilo, -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-carbociclilo, -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-arilo, -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-heterociclilo e -(C₀-C₁)alquilenos-S(O)_m-heteroarilo; ou R^A e R^B tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados formam um heterociclilo ou heteroarilo, em que o heterociclilo ou heteroarilo opcionalmente compreende de 1 a 4 heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O. numa alternativa, cada R^A é independentemente selecionado a partir de hidrogénio e metilo; R^B é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, -(C₀-C₆)alquilenos-carbociclilo, -(C₀-C₆)alquilenos-arilo, -(C₀-C₆)alquilenos-heteroarilo, -S(O)_m-(C₁-C₆)alquilo, -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-carbociclilo, -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-arilo, -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-heterociclilo e -(C₀-C₄)alquilenos-S(O)_m-heteroarilo; ou R^A e R^B tomados em conjunto com o átomo de azoto para formar um heterociclilo, em que o heterociclilo é opcionalmente substituído com =O e -N(R^G)(R^G). Noutro aspeto, R^A é hidrogénio; e R^B é

selecionado a partir de (C₁-C₄)alquilo, e -S(O)₂-CH₃; ou R^A e R^B tomados em conjunto para formar um anel heterocíclico de 4-7 membros.

Cada R^D e cada R^E é independentemente selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₆)alquilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, ou uma fração de cadeia lateral de aminoácido de ocorrência natural, ou R^D e R^E tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um carbociclilo de 3-7 membros, ou um heterociclilo de 4-7 membros, em que o heterociclilo formado por R^D e R^E opcionalmente compreende um a dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O. Num aspeto, R^D e R^E são ambos -H.

R^F é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo. Num aspeto, é hidrogénio. Noutro aspeto, R^F é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, arilo e heteroarilo. Noutro aspeto, R^F é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo e fenilo. Noutro aspeto, R^F é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₄)alquilo e fenilo.

R^{D'} é selecionado a partir de (C₁-C₆)alquilo, carbociclilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo e uma fração de cadeia lateral de aminoácido de ocorrência natural, ou R^{D'} e R^E tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um carbociclilo de 3-7 membros, ou um heterociclilo de 4-7 membros, em que o heterociclilo formado por R^{D'} e R^E opcionalmente compreende um a dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O. Num aspeto, R^{D'} e R^E tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um (C₃-C₇)cicloalquilo.

m é 1 ou 2. Num aspeto, m é 2.

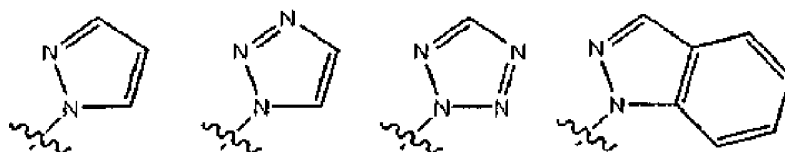
Cada carbociclilo, arilo, heterociclilo ou heteroarilo descrito acima (por exemplo, nos grupos representados por Y, R^A, R^F, R^D, R^{D'} e R^E) é opcionalmente e independentemente

substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-OH$, $=O$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquil- $O-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilo halo-substituído, $O-(C_1-C_4)$ alquilo halo-substituído, $-C(O)-(C_1-C_4)$ alquilo, $C(O)-(C_1-C_4)$ alquilo fluoro-substituído, $-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilo, $-N(R^G)(R^G)$, e CN . Num aspeto, cada carbociclilo, heterociclilo ou heteroarilo é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilo halo-substituído, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, e $-N(R^G)(R^G)$. Noutro aspeto, cada carbociclilo, arilo, heteroarilo, ou heterociclo é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-CH_3$, flúor, e $-N(CH_3)_2$.

Cada alquilo descrito acima (por exemplo, nos grupos representados por Y , R^A , R^B , R^D , $R^{D'}$, R^E , R^F e $R^{F'}$) é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-OH$, $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquil- $O-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alquilo fluoro-substituído, $-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilo, e $-N(R^G)(R^G)$. Num aspeto, cada grupo alquilo (por exemplo, no grupo representado por Y ou R^B) é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-OH$, e $-N(R^G)(R^G)$.

Cada R^G é hidrogénio ou (C_1-C_4) alquilo, em que cada alquilo no grupo representado por R^G é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo, halo, $-OH$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, e (C_1-C_4) alquil- $O-(C_1-C_4)$ alquilo. Num aspeto, cada alquilo no grupo representado por R^G é opcionalmente e independentemente substituído com (C_3-C_6) cicloalquilo.

Como é utilizado no presente documento, quando R^A e R^B tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados formam um heterociclilo ou heteroarilo, o heterociclilo ou heteroarilo representado por $-NR^A R^B$ pode incluir um sistema de anel tendo um heteroátomo adjacente ao átomo de azoto ao qual R^A e R^B são ligados. Por exemplo, $-NR^A R^B$ pode ser, mas não é limitado a, os seguintes sistemas de anel:



Do mesmo modo, quando R^D e R^E ou $R^{D'}$ e R^E tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um heterociclilo, o heterociclilo pode incluir um sistema de anel tendo um heteroátomo adjacente ao átomo de carbono ao qual R^D e R^E ou $R^{D'}$ e R^E são ligados.

É também divulgado um composto representado pela Fórmula Estrutural(I) ou (II) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. Valores e valores alternativos para as variáveis na Fórmula Estrutural(I) ou (II) são definidos como o seguinte:

R^1 é selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquil (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, (C_3-C_6) cicloalcoxi (C_1-C_4) alquil (C_3-C_6) cicloalquilo, arilo, aril (C_1-C_4) alquilo, ariloxi (C_1-C_4) alquilo, ariltio (C_1-C_4) alquilo, arilsulfinilo (C_1-C_4) alquilo, arilsulfonil (C_1-C_4) alquilo e $-O-(C_1-C_7)$ alquilo. Cada fração alquilo, cicloalquilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, ariloxi, ariltio, arilsulfinilo e arilsulfonilo nos grupos representados por R^1 pode ser opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados definidos acima para a Fórmula Estrutural(I). Alternativamente, R^1 é selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquil (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo,

(C₃-C₆)cicloalcoxi (C₁-C₄) alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo, arilo, aril (C₁-C₄)alquilo, ariloxi (C₁-C₄)alquilo, ariltio (C₁-C₄)alquilo, arilsulfinil (C₁-C₄)alquilo e arilsulfonil (C₁-C₄)alquilo. Noutra alternativa, R¹ é -H, (C₁-C₇)alquilo, ou -O- (C₁-C₄)alquilo. Noutra alternativa, R¹ é -H ou (C₁-C₇)alquilo. Noutra alternativa, R¹ é -H, metilo ou etilo. Em ainda outra alternativa, R¹ é -OCH₃ ou -OC (CH₃)₃.

R² é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquil (C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalcoxi (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo, arilo, aril (C₁-C₄)alquilo, ariloxi (C₁-C₄)alquilo, ariltio (C₁-C₄)alquilo, arilsulfinilo (C₁-C₄)alquilo, arilsulfonil (C₁-C₄)alquilo e -O- (C₁-C₇)alquilo. Cada fração alquilo, cicloalquilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, e ariloxi nos grupos representados por R² pode ser opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados definidos acima para a Fórmula Estrutural(I). Alternativamente, R² é selecionado a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquil (C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalcoxi (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo, arilo, aril (C₁-C₄)alquilo, ariloxi (C₁-C₄)alquilo, ariltio (C₁-C₄)alquilo, arilsulfinil (C₁-C₄)alquilo e arilsulfonil (C₁-C₄)alquilo. Alternativamente, R² é selecionado a partir de (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquil (C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi (C₁-C₄)alquilo, fenilo, fenil (C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo e halo (C₁-C₄)alquilo, em que cada fração alquilo, alcoxi e cicloalquilo nos grupos representados por R² é opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo e halo; e cada fração fenilo nos grupos representados por R² é opcionalmente substituída com um ou mais substituintes

independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi. Noutra alternativa, R² é selecionada a partir do grupo consistindo em ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, fenilo, benzilo, -(CH₂)₂-O-CH₃, -(CH₂)₃-OCH₃, -C(CH₃)₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂C(CH₃)₃, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂-CF₃, -(CH₂)₂-CH₂F, e -(CH₂)_nCH₃, em que n é 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6; e em que o grupo fenilo ou benzilo representado por R² é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi. Noutra alternativa, R² é um grupo fenilo ou benzilo opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi. Noutra alternativa, R² é fenilo ou benzilo não substituído. Noutra alternativa, R² é selecionado a partir de ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, -(CH₂)₂-O-CH₃, -C(CH₃)₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CF₃, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₃ e -CH₂CH₃.

Alternativamente, R¹ e R² tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos podem também formar um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo opcionalmente contém um ou dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, O e S adicionalmente ao átomo de N ao qual R₁ e R₂ estão ligados. O heteroarilo ou heterociclo pode ser opcionalmente substituído com um ou mais substituintes

independentemente selecionados descritos acima para a Fórmula Estrutural (I). Alternativamente, o heteroarilo ou heterociclo contém um heteroátomo adicional selecionado a partir de N, O e S. Alternativamente, R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heterociclo selecionado a partir do grupo consistindo em azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, octahidrociclopenta[c]pirrol, isoindolina, e azabicyclo[3,1,0]hexano, em que o heterociclo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halogénio, $-OH$, (C_1-C_4) alcoxi, (C_1-C_4) alquiltio, (C_1-C_4) alquilsulfinilo, (C_1-C_4) alquilo sulfonilo, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, e $-N(R^3)(R^4)$. Num aspeto mais específico, estes heterociclos são opcionalmente substituídos com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em halogénio, (C_1-C_4) alcoxi, hidroxil, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo e $-N(R^3)(R^4)$. Noutra alternativa, estes heterociclos são opcionalmente substituídos com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em halogénio, metoxil, hidroxil, metoximetil e dimetilamino. Alternativamente, R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um anel selecionado a partir de pirrolidinil, morfolinil, azetidinil, piperidinil, octahidrociclopenta[c]pirrolil, isoindolinil, indazolil, imidazolil, pirazolil, triazolil e tetrazolil, em que o anel formado por R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos é opcionalmente substituído com halogénio, (C_1-C_4) alcoxi, hidroxil, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo e $-N(R^3)(R^4)$. Mais especificamente, o anel formado por R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos é opcionalmente substituída com flúor, $-OH$, $-OCH_3$, ou $N(CH_3)_2$.

R^3 e R^4 são cada um independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-H$ e (C_1-C_4) alquilo, em que o (C_1-C_4) alquilo representado por R^3 e R^4 é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, $-OH$, (C_1-C_4) alcoxi, e (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo. Alternativamente, R^3 e R^4 são ambos metilo. Noutra alternativa, R^3 e R^4 são ambos $-H$. Em ainda outra alternativa, R^3 e R^4 são cada um (C_1-C_4) alquilo não substituído. Numa primeira alternativa, o composto é representado pela Fórmula Estrutural (I) ou (II), ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, em que:

R^1 é $-H$ ou (C_1-C_7) alquilo; e

R^2 é selecionado a partir de (C_1-C_7) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquil (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, fenilo, fenil (C_1-C_4) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo e halo (C_1-C_4) alquilo, em que cada fração alquilo, alcoxi ou cicloalquilo nos grupos representados por R^2 é opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo e halo; e cada fração fenilo nos grupos representados por R^2 é opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, (C_1-C_4) alcoxi, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, $-CN$, halo (C_1-C_4) alquilo, e halo (C_1-C_4) alcoxi. Alternativamente, R^2 é selecionado a partir do grupo consistindo em ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, fenilo, benzilo, $-(CH_2)_2-O-CH_3$, $-(CH_2)_3-OCH_3$, $-C(CH_3)_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2C(CH_3)_3$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2-CF_3$, $-(CH_2)_2-CH_2F$, e $-(CH_2)_nCH_3$, em que n é 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6; e em que o grupo fenilo ou benzilo representado por R^2 é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo

consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi. Noutra alternativa, o grupo fenilo ou benzilo representado por R² é não substituído. Em ainda outra alternativa, R² é selecionado a partir de ciclopropilo, ciclopropil-metilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, -(CH₂)₂-O-CH₃, -C(CH₃)₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CF₃, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₃ e -CH₂CH₃.

Num segundo aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (I) ou (II), R¹ é hidrogénio, metilo ou etilo; e valores e valores alternativos para R² são conforme descritos acima para o primeiro aspeto alternativo.

Num terceiro aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (I) ou (I), R¹ é hidrogénio, (C₁-C₄)alquilo ou -O-(C₁-C₄)alquilo; R² é selecionado a partir de (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquil(C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, fenilo, (C₃-C₆)cicloalquilo, e fluoro(C₁-C₄)alquilo; ou R¹ e R² tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um anel selecionado a partir de pirrolidinilo, morfolinilo, azetidinilo, piperidinilo, octahidrociclopenta[c]pirrolilo, isoindolinilo, indazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, e tetrazolilo, em que o anel formado por R¹ e R² tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos é opcionalmente substituído com flúor, -OH, -OCH₃, ou N(CH₃)₂. Mais especificamente, R¹ é hidrogénio, metilo, etilo, metoxi ou terc-butoxi.

Num quarto aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (I) ou (II), R¹ hidrogénio, metilo, ou etilo; R² é selecionado a partir de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, 2,2-dimetilpropilo, t-butilo, isobutilo, n-pentilo, (C₄-C₆)cicloalquilo, (C₃-C₅)cicloalquilmetilo, metoxietilo, e 2-fluoroetilo; ou R¹ e R² tomados em conjunto com o átomo de

azoto ao qual estão unidos formam um anel selecionado a partir de azetidínio, pirrolidínio, piperidínio, tetrazolilo, ou octahidrociclopenta[c]pirrolilo, e em que o anel formado por R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos é opcionalmente substituído com fluoro.

Num quinto aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), quando X é hidrogénio, Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquileno- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquileno- $N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{0-4}-N(R^A)(R^B)$, $-CH=N-OR^A$, $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^{F'})-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{1-4}-N(R^A)(R^B)$, $-NH-C(O)-C(R^{D'})(R^E)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-N(R^A)(R^A)$, $-N(R^F)-C(O)-(C_1-C_6)$ alquilo, $N(R^F)-C(O)$ -heterociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heteroarilo, $-N(R^F)-C(O)$ -carbociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -aril- $N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquileno- $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquileno-carbociclilo, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquileno-arilo; $R^{D'}$ é selecionado a partir de (C_1-C_6) alquilo, carbociclilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, e uma fração de cadeia lateral de aminoácido de ocorrência natural, ou $R^{D'}$ e R^E tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um carbociclilo de 3-7 membros, ou um heterociclilo de 4-7 membros, em que o heterociclilo formado por $R^{D'}$ e R^E opcionalmente compreende de um a dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O; e $R^{F'}$ é selecionado a partir de (C_1-C_7) alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo.

Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritas acima para a Fórmula Estrutural (A). Alternativamente, $R^{F'}$ é selecionado a partir de (C_1-C_4) alquilo e fenilo e As restantes variáveis são conforme descritas acima no quinto aspeto alternativo.

Num sexto aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), X é selecionado a partir de hidrogénio, metilo, etilo e fenilo; e Y é

selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_4 \text{ alquil})$, $-(C_1-C_4) \text{ alquilenos}-N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4) \text{ alquilenos}-NH-C(O)-[CH_2]_{0-1}-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^A)(R^B)$, $-NH-C(O)-\text{carbociclilo}$, $-NH-C(O)-\text{arilo}$, $-NH-C(O)-\text{heterociclilo}$, $-NH-C(O)-\text{heteroarilo}$, $-NH-C(O)-N(R^A)(R^A)$, $-N(R^{E'})-C(O)-CH_2-N(R^A)(R^B)$, $-NH-C(O)-C(R^{D'})(R^E)-N(R^A)(R^B)$ e $-NH-S(O)_m-(C_1-C_4) \text{ alquilenos}-N(R^A)(R^B)$; ou

X é selecionado a partir de metilo, etilo e fenilo; e Y é $-NH-C(O)-CH_2-N(R^A)(R^B)$, em que:

cada R^A é independentemente selecionado a partir de hidrogénio e metilo;

R^B é selecionado a partir de hidrogénio, $(C_1-C_7) \text{ alquilo}$, $-(C_0-C_6) \text{ alquilenos}-\text{carbociclilo}$, $-(C_0-C_6) \text{ alquilenos}-\text{arilo}$, $-(C_0-C_6) \text{ alquilenos}-\text{heteroarilo}$, $-S(O)_m-(C_1-C_6) \text{ alquilo}$, $-(C_0-C_4) \text{ alquilenos}-S(O)_m-\text{carbociclilo}$, $-(C_0-C_4) \text{ alquilenos}-S(O)_m-\text{arilo}$,

$-(C_0-C_4) \text{ alquilenos}-S(O)_m-\text{heterociclo}$ e $-(C_0-C_4) \text{ alquilenos}-S(O)_m-\text{heteroarilo}$; ou

R^A e R^B quando ligados a um átomo comum de azoto são tomados em conjunto com o átomo de azoto para formar um heterociclo, em que o heterociclo é opcionalmente substituído com $=O$ e $-N(R^G)(R^G)$;

$R^{D'}$ e R^E são tomados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um $(C_3-C_7) \text{ cicloalquilo}$; e m é 1 ou 2;

cada carbociclilo, arilo, heterociclilo ou heteroarilo é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4) \text{ alquilo}$, halo-substituído $-(C_1-C_4) \text{ alquilo}$, $-O-(C_1-C_4) \text{ alquilo}$, e $-N(R^G)(R^G)$;

cada porção alquilo no grupo representado por Y ou R^B é opcionalmente e independentemente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-OH$, e $-N(R^G)(R^G)$, em que

R^G é hidrogénio ou $(C_1-C_4) \text{ alquilo}$, e em que cada alquilo

no grupo representado por R^G é opcionalmente e independentemente substituído com (C_3-C_6) cicloalquilo. As restantes variáveis são conforme descritas acima no quinto aspeto alternativo.

Num sétimo aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), X é selecionado a partir de hidrogénio e metilo; e

Y é selecionado a partir de $-N(R^A)(R^B)$, $-N(H)-C(O)-$ carbociclilo, $-N(H)-C(O)-$ arilo, $-N(H)-C(O)-$ heterociclo, e $-N(H)-C(O)-$ heteroarilo; ou

X é metilo; e

Y é $-NH-C(O)-CH_2-N(R^A)(R^B)$,

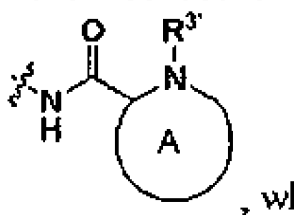
em que:

R^A é hidrogénio; e

R^B é selecionada a partir de (C_1-C_4) alquilo, e $-S(O)_2-CH_3$; ou R^A e R^B tomados em conjunto para formar um anel heterocíclico de 4-7 membros;

em que cada carbociclilo, arilo, heteroarilo, ou heterociclo é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-CH_3$, flúor, e $-N(CH_3)_2$.

Num oitavo aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), Y é



em que o anel A representa um heterociclilo de 4-7 membros; e $R^{3'}$ é hidrogénio ou (C_1-C_6) alquilo. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritos acima para a Fórmula Estrutural (A). Mais especificamente, o anel A é selecionado a partir do grupo consistindo em azetidínio, pirrolidínio, piperidínio, ou

octahidrociclopenta[c]pirrolilo, cada um dos quais é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alquilo halo-substituído (por exemplo, $-CF_3$), $-OH$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, ou $-N(R^G)(R^G)$, em que R^G é hidrogénio ou (C_1-C_4) alquilo. Ainda mais especificamente, o anel A descrito acima é opcionalmente substituído com um ou mais flúor.

Num nono aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), Y é $-NH-C(O)-$ heteroarilo. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritos acima para a Fórmula Estrutural (A). Mais especificamente, o heteroarilo em $-NH-C(O)-$ heteroarilo é selecionada a partir do grupo consistindo em tienilo, piridinilo, pirrolilo, oxazolilo, pirazolilo e tiazolilo, cada um dos quais é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alquilo halo-substituído (por exemplo, $-CF_3$), $-OH$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, e $-N(R^G)(R^G)$, em que R^G é hidrogénio ou (C_1-C_4) alquilo. Mais especificamente, o pirrolilo e pirazolilo são opcionalmente substituídos com um grupo metilo no átomo de N no anel.

Num décimo aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), Y é $-NH-C(O)-$ fenilo. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritos acima para a Fórmula Estrutural (A). Mais especificamente, o fenilo em $-NH-C(O)-$ fenilo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alquilo halo-substituído (por exemplo, $-CF_3$), $-OH$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, e $-N(R^G)(R^G)$, em que R^G é hidrogénio ou (C_1-C_4) alquilo. Mais especificamente, o fenilo em $-NH-C(O)-$ fenilo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a

partir de $-\text{CF}_3$, $-\text{OCH}_3$ e $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$.

Num décimo-primeiro aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), Y é representado por $-\text{NH}-\text{S}(\text{O})_2-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{alquilo}$, $-\text{NH}-\text{S}(\text{O})_2\text{-fenilo}$, $-\text{NH}-\text{S}(\text{O})_2\text{-heteroarilo}$. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritas acima para a Fórmula Estrutural (A). Mais especificamente, o fenilo, heteroarilo ou alquilo no grupo representado por Y é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$, $(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$ halo-substituído (por exemplo, $-\text{CF}_3$), $-\text{OH}$, $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$, e $-\text{N}(\text{R}^{\text{G}})(\text{R}^{\text{G}})$, em que R^{G} é hidrogénio ou $(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$.

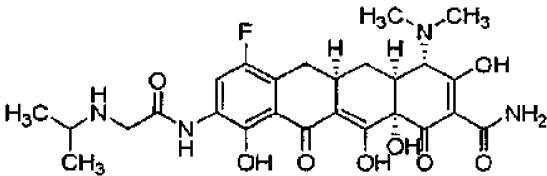
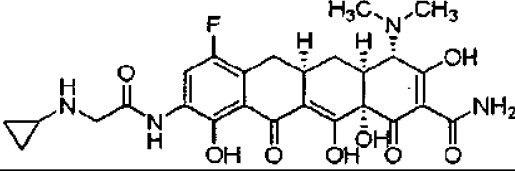
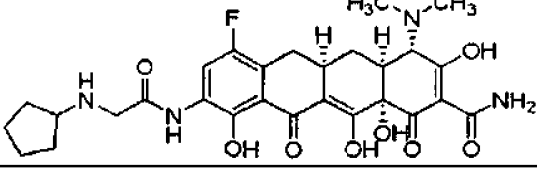
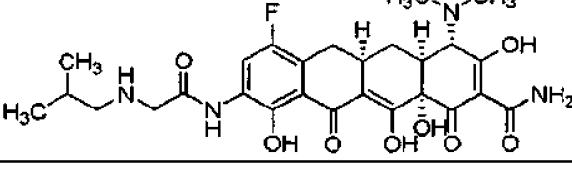
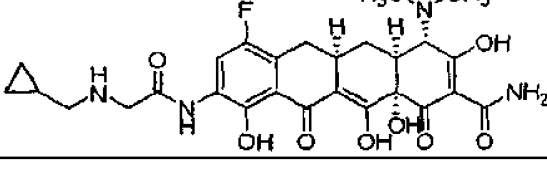
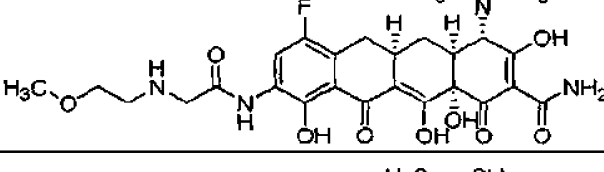
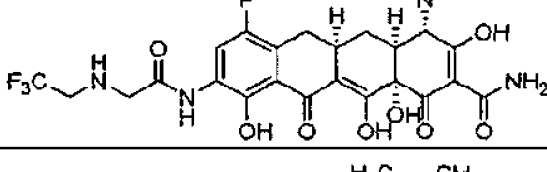
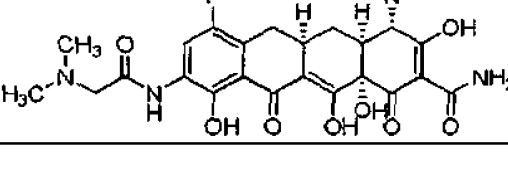
Num décimo-segundo aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), Y é representado por $-\text{N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$, em que R^{A} e R^{B} são cada um independentemente selecionado a partir de hidrogénio, $(\text{C}_1-\text{C}_7)\text{alquilo}$, $-(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquil}-(\text{C}_3-\text{C}_6)\text{cicloalquilo}$, em que o $(\text{C}_1-\text{C}_7)\text{alquilo}$ é opcionalmente substituído com $-\text{N}(\text{R}^{\text{G}})(\text{R}^{\text{G}})$, em que R^{G} é hidrogénio ou $(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritos acima para a Fórmula Estrutural (A).

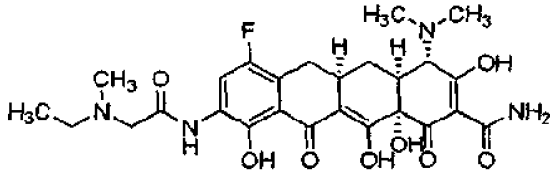
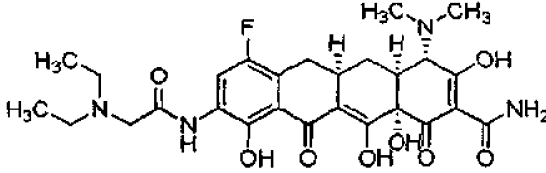
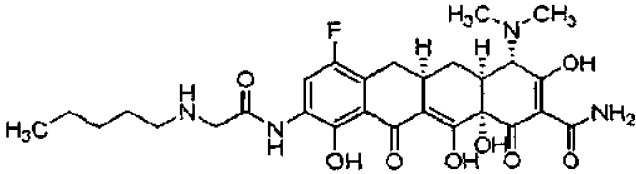
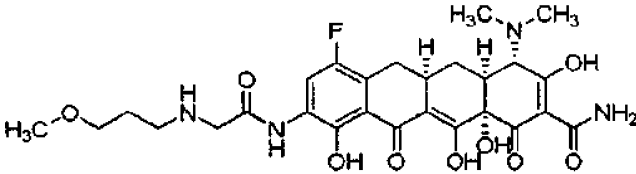
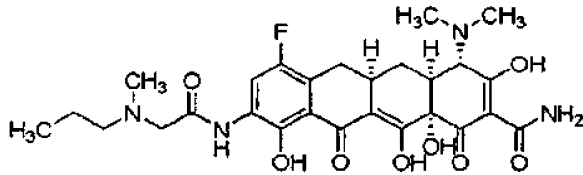
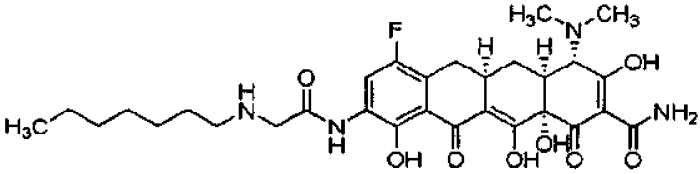
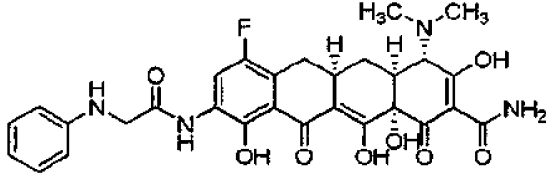
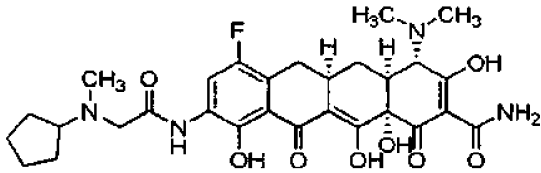
Num décimo-terceiro aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural (A), Y é representado por $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$, em que R^{A} e R^{B} são cada um independentemente selecionados a partir de hidrogénio, $(\text{C}_1-\text{C}_7)\text{alquilo}$, $-(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquil}-(\text{C}_3-\text{C}_6)\text{cicloalquilo}$, ou R^{A} e R^{B} tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados formam um heterociclilo, em que o $(\text{C}_1-\text{C}_7)\text{alquilo}$ representado por R^{A} ou R^{B} é opcionalmente e independentemente substituído com $-\text{N}(\text{R}^{\text{G}})(\text{R}^{\text{G}})$, em que R^{G} é hidrogénio ou $(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$, e o $(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{alquilo}$ representado por R^{G} é opcionalmente substituída com $-\text{F}$. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritas acima para a Fórmula Estrutural (A).

Num décimo-quarto aspeto alternativo, para os compostos representados pela Fórmula Estrutural(A), Y é representado por $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_{0-1}-\text{N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$, em que R^{A} e R^{B} são cada um independentemente selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ alquil- (C_3-C_6) cicloalquilo. Valores e valores alternativos para As restantes variáveis são conforme descritas acima para a Fórmula Estrutural (A).

São divulgados os compostos de Referência mostrados no Quadro a seguir e sais farmacêuticamente aceitáveis do mesmo bem como compostos descritos nos Exemplos 1-12 a seguir e sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos:

COMPOSTO DE REFERÊNCIA N.º	ESTRUTURA QUÍMICA
11	
12	
13	
14	
15	

16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	

24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	

32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	

40	
41	
42	
43	
44	
45	
46	

"Alquilo" significa um radical de hidrocarboneto saturado alifático de cadeia linear ou ramificada monovalente tendo o número especificado de átomos de carbono. Assim, "(C₁-C₇)alquil" significa um radical tendo desde 1-7 átomos de carbono numa disposição linear ou ramificada. "(C₁-C₇)alquilo" inclui metilo, etilo, propilo,

butilo, pentilo, hexilo e heptilo. As substituições adequadas para um "alquilo substituído" incluem, mas não estão limitadas a, -halogénio, -OH, (C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alquiltio, (C₁-C₄)alquilsulfinilo, (C₁-C₄)alquilsulfonilo, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, e -N(R³)(R⁴), em que R³ e R⁴ são conforme descritos acima.

"Cicloalquilo" significa um radical de hidrocarboneto saturado alifático cíclico tendo o número especificado de átomos de carbono. (C₃-C₆)cicloalquilo inclui ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, e ciclohexilo. Substituintes adequados para um "cicloalquilo substituído" incluem halogénio, -OH, (C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alquiltio, (C₁-C₄)alquilsulfinilo, (C₁-C₄)alquilsulfonilo, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, e -N(R³)(R⁴), em que R³ e R⁴ são conforme descritos acima.

"Heterociclo" significa um anel heterocíclico de 4-12 membros parcialmente insaturado ou saturado que contém 1, 2, ou 3 heteroátomos independentemente selecionados a partir de N, O ou S. Quando um heteroátomo é S, pode ser opcionalmente mono- ou di-oxigenado (isto é, -S(O)- ou -S(O)₂-). O heterociclo pode ser monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico em ponte, ou espiro bicíclico.

Exemplos de heterociclo monocíclico incluem, mas não limitados a, azetidina, pirrolidina, piperidina, piperazina, hexahidropirimidina, tetrahydrofurano, tetrahidropirano, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolina 1,1-dióxido, tetrahydro-2H-1,2-tiazina, tetrahydro-2H-1,2-tiazina 1,1-dióxido, isotiazolidina, isotiazolidina 1,1-dióxido.

Um heterociclo bicíclico condensado tem dois anéis que têm dois átomos de anel adjacentes em comum. O primeiro anel é um heterociclo monocíclico e o segundo anel é um cicloalquilo, carbociclo parcialmente insaturado, fenilo, heteroarilo ou um heterociclo monocíclico. Por exemplo, o segundo anel é um (C₃-C₆)cicloalquilo, tal como

ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo e ciclohexilo. Alternativamente, o segundo anel é fenilo. Exemplo de heterociclos bicíclico condensados inclui, mas não limitado a, indolina, isoindolina, 2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol, 2,3-dihidrobenzo[d]oxazol, 2,3-dihidrobenzo[d]tiazol, octahidrobenzo[d]oxazol, octahidro-1H-benzo[d]imidazol, octahidrobenzo[d]tiazol, octahidrociclopenta[c]pirrol, 3-azabicyclo[3,1,0]hexano, e 3-azabicyclo[3,2,0]heptano.

Um heterociclo espiro-bicíclico tem dois anéis que têm somente um átomo de anel em comum. O primeiro anel é um heterociclo monocíclico e o segundo anel é um cicloalquilo, carbociclo parcialmente insaturado ou um heterociclo monocíclico. Por exemplo, o segundo anel é um (C₃-C₆)cicloalquilo. Exemplo de heterociclo espiro bicíclico inclui, mas não limitado a, azaespiro[4,4] nonano, 7-azaespiro[4,4]nonano, azaespiro[4,5]decano, 8-azaespiro[4,5]decano, azaespiro[5,5]undecano, 3-azaespiro[5,5] undecano e 3,9-diazaespiro[5,5]undecano.

Um heterociclo bicíclico em ponte tem dois anéis que têm três ou mais átomos de anel adjacentes em comum. O primeiro anel é um heterociclo monocíclico e o outro anel é um cicloalquilo (tal como (C₃-C₆)cicloalquilo), carbociclo parcialmente insaturado ou um heterociclo monocíclico. Exemplos de heterociclos bicíclicos em ponte incluem, mas não estão limitados a, azabicyclo[3,3,1]nonano, 3-azabicyclo[3,3,1]nonano, azabicyclo[3,2,1]octano, 3-azabicyclo[3,2,1]octano, 6-azabicyclo[3,2,1] octano e azabicyclo[2,2,2]octano, 2-azabicyclo[2,2,2]octano.

Quando o heterociclo contém um átomo de N para além do átomo de azoto ao qual R¹ e R² estão ligados, o átomo de N pode ser substituído com H, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cada um dos quais pode ser opcionalmente substituído com halogénio, hidroxil, alcoxi, haloalquilo, alquilo, etc. O heterociclo pode ser opcionalmente

substituído com um grupo oxo (C=O) e anéis heterocíclicos oxo substituídos incluem, mas não estão limitados a, tiomorfolina 1-óxido, tiomorfolina 1,1-dióxido, tetrahydro-2H-1,2-tiazina 1,1-dióxido, e isotiazolidina 1,1-dióxido, pirrolidin-2-ona, piperidin-2-ona, piperazin-2-ona, e morfolin-2-ona. Outros substituintes opcionais para um heterociclo incluem (C₁-C₄)alquilo, halo, -OH, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alquiltio, (C₁-C₄)alquilsulfinilo, (C₁-C₄)alquilsulfonilo, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -N(R³)(R⁴), -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi.

"Heteroarilo" significa um radical de anel de 5-12 membros monovalente heteroaromático monocíclico ou bicíclico. Um heteroarilo contém 1, 2 ou 3 heteroátomos independentemente selecionados a partir de N, O, e S. Heteroarilos incluem, mas não estão limitados a pirrol, imidazol, pirazol, oxazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,5-tiadiazol, 1,2,5-tiadiazol 1-óxido, 1,2,5-tiadiazol 1,1-dióxido, 1,3,4-tiadiazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, 1,2,4-triazina, 1,3,5-triazina, e tetrazol. Anéis heteroarilo bicíclico incluem, mas não são limitados a, sistema de anéis condensados biciclo[4,4,0] e biciclo[4,3,0] tais como indolizina, indol, isoindol, indazol, benzimidazol, benzotiazol, purina, quinolina, isoquinolina, cinnolina, ftalazina, quinazolina, quinoxalina, 1,8-naftiridina, e pterdina.

"Carbociclo" significa anel de hidrocarboneto cíclico alifático de 4-12 membros saturado ou insaturado.

"Alcoxi" significa um radical alquilo unido através de um átomo ligante de oxigênio. "Alcoxi" pode também ser representado como -O-alquilo. Por exemplo, (C₁-C₄)-alcoxi pode também representado como -O-(C₁-C₄)alquilo. "(C₁-C₄)-alcoxi" inclui metoxi, etoxi, propoxi, e butoxi.

"Alquiltio" significa um radical alquilo unido através de um átomo ligante de enxofre. "Alquiltio" pode também ser

representado como -S-alquilo. Por exemplo, "(C₁-C₄)alquiltio" pode ser representado como -S-(C₁-C₄)alquilo. "(C₁-C₄)alquiltio" incluem metiltio, etiltio, propiltio e butiltio.

"Alquilsulfinilo" significa um radical alquilo unido através de um grupo ligante de -S(O)-. "Alquilsulfinilo" pode ser representado como -S(O)-alquilo. Por exemplo, "(C₁-C₄)alquilsulfinilo" pode ser representado como -S(O)-(C₁-C₄)alquilo. "(C₁-C₄)alquilsulfinilo" incluem metilsulfinilo, etilsulfinilo, propilsulfinilo e butilsulfinilo.

"Alquilsulfonilo" significa um radical alquilo unido através de um grupo ligante de -S(O)₂-. "Alquilsulfonilo" pode ser representado como -S(O)₂-alquilo. Por exemplo, "(C₁-C₄)alquilsulfonilo" pode ser representado como -S(O)₂-(C₁-C₄)alquilo. "(C₁-C₄)alquilsulfonilo" incluem metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo e butilsulfonilo.

Haloalquilo e halocicloalquilo incluem grupos mono, poli, e perhaloalquilo onde cada halogénio é independentemente selecionado a partir de flúor, cloro, e bromo. Haloalquilo e halocicloalquilo podem também ser referidos como alquilo halo-substituído e cicloalquilo halo-substituído, respetivamente.

"Cicloalcoxi" significa um radical cicloalquilo unido através de um átomo ligante de oxigénio. "Cicloalcoxi" pode também ser representado como -O-cicloalquilo. Por exemplo, "(C₃-C₆)cicloalcoxi" pode ser representado como -O-(C₃-C₆)cicloalquilo. "(C₃-C₆)cicloalcoxi" inclui ciclopropiloxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi e ciclohexiloxi.

"Arilo" significa um sistema de anel aromático carbocíclico monocíclico ou policíclico (por exemplo, bicíclico ou tricíclico). Numa alternativa, "arilo" é um sistema de 6-12 membros monocíclico ou bicíclico. Os sistemas arilo incluem, mas não limitado a, fenilo,

naftalenilo, fluorenilo, indenilo, azuleno, e antraceno.

"Ariloxi" significa uma fração arilo unida através de um átomo ligante de oxigênio. "Ariloxi" pode ser também representado como -O-arilo. Ariloxi inclui, mas não limitado a, fenoxi.

"Ariltio" significa um arilo fração unido através de um átomo ligante de enxofre. "Ariltio" pode ser também representado como -S-arilo. Ariltio inclui, mas não limitado a, feniltio.

"Arilsulfinilo" significa um arilo fração unido através de um grupo ligante de -S(O)-. "Arilsulfinilo" pode ser também representado como -S(O)-arilo. Arilsulfinilo inclui, mas não limitado a, fenilsulfinilo.

"Arilsulfonilo" significa um arilo fração unido através de um grupo ligante de -S(O)₂-. "Arilsulfonilo" pode ser também representado como -S(O)₂-arilo. Arilsulfonilo inclui, mas não limitado a, fenilsulfonilo.

"Hetero" refere-se à substituição de pelo menos um membro de átomo de carbono num sistema de anel com pelo menos um heteroátomo selecionado a partir de N, S, e O. "Hetero" também se refere à substituição de pelo menos um membro de átomo de carbono num sistema acíclico. Um sistema de anel hetero ou um sistema hetero acíclico pode ter 1, 2, ou 3 membros de átomo de carbono substituídos por um heteroátomo.

"Halogênio" ou "halo" utilizado no presente documento refere-se a flúor, cloro, bromo, ou iodo.

Conforme utilizado no presente documento, cicloalquilalquilo pode ser representado como -alquileno-cicloalquilo. Por exemplo, (C₃-C₆)cicloalquil(C₁-C₄) alquilo pode ser representado como -(C₁-C₄)alquileno-(C₃-C₆)cicloalquilo.

Conforme utilizado no presente documento, alcoxialquilo pode ser representado como -alquileno-O-

alquilo. Por exemplo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-O- (C_1-C_7) alquilo.

Conforme utilizado no presente documento, cicloalcoxialquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-O-cicloalquilo. Por exemplo, (C_3-C_6) cicloalcoxi (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-O- (C_3-C_6) alquilo.

Conforme utilizado no presente documento, arilalquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-arilo. Por exemplo, aril (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-arilo.

Conforme utilizado no presente documento, ariloxialquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-O-arilo. Por exemplo, ariloxi (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-O-arilo.

Conforme utilizado no presente documento, ariltioalquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-S-arilo. Por exemplo, ariltio (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-S-arilo.

Conforme utilizado no presente documento, arilsufinilalquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-S(O)-arilo. Por exemplo, arilsufinil (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-S(O)-arilo.

Conforme utilizado no presente documento, arilsulfonilalquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-S(O)₂-arilo. Por exemplo, arilsulfonil (C_1-C_4) alquilo pode ser representado como $-(C_1-C_4)$ alquilenno-S(O)₂-arilo.

Outra forma de realização da presente invenção é uma composição farmacêutica compreendendo um ou mais portador e/ou diluente farmacêuticamente aceitável e um composto de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

"Portador farmacêuticamente aceitável" e "diluente farmacêuticamente aceitável" significa componentes não terapêuticos que são de suficiente pureza e qualidade para

utilização na formulação de uma composição da invenção que, quando adequadamente administrados a um animal ou ser humano, tipicamente não produzem uma reação adversa, e que são utilizados como um veículo para uma substância medicamentosa (isto é, um composto da presente invenção).

Sais farmacologicamente aceitáveis dos compostos de acordo com a reivindicação 1 estão também incluídos. Por exemplo, um sal de ácido de um composto da presente invenção contendo uma amina ou outro grupo básico pode ser obtido por meio da reação do composto com um ácido orgânico ou inorgânico adequado, resultando em formas de sal aniônico farmacologicamente aceitáveis. Exemplos de sais aniônicos incluem os sais de acetato, benzenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, brometo, edetato de cálcio, cansilato, carbonato, cloreto, citrato, dicloridrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gliceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, bromidrato, cloridrato, hidroxinaftoato, iodeto, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, pamoato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartarato, teoclato, tosilato, e trietiodeto.

Sais dos compostos divulgados no presente documento que contêm um ácido carboxílico ou outro grupo funcional ácido podem ser preparados por meio da reação com uma base adequada. Um tal sal farmacologicamente aceitável pode ser fabricado com uma base que fornece um cátion farmacologicamente aceitável, que inclui sais de metal alcalinos (especialmente sódio e potássio), sais de metal alcalino-terrosos (especialmente cálcio e magnésio), sais de alumínio e sais de amônio, bem como sais fabricados a partir de bases orgânicas fisiologicamente aceitáveis tais como trimetilamina, trietilamina, morfolina, piridina,

piperidina, picolina, diciclohexilamina, N,N'-dibenziletilenodiamina, 2-hidroxi-etilamina, bis-(2-hidroxi-etil)amina, tri-(2-hidroxi-etil)amina, procaína, dibenzilpiperidina, desidroabietilamina, N,N'-bisdesidroabietilamina, glucamina, N-metilglucamina, colidina, quinina, quinolina, e aminoácidos básicos tais como lisina e arginina.

A invenção também inclui vários isômeros e misturas dos mesmos. Os compostos da presente invenção podem existir em várias formas estereoisoméricas. Estereoisômeros são compostos que diferem somente no seu arranjo espacial. Enantiômeros são pares de estereoisômeros cujas imagens especulares não são sobreponíveis, mais comumente porque contêm um átomo de carbono assimetricamente substituído que atua como um centro quiral. "Enantiômero" significa um de um par de moléculas que são imagens especulares uma da outra e não são sobreponíveis. Diastereómeros são estereoisômeros que não estão relacionados como imagens especulares, mais comumente porque contêm dois ou mais átomos de carbono assimetricamente substituídos. "R" e "S" representam a configuração de substituintes ao redor de um ou mais átomos de carbono quirais. Quando um centro quiral não é definido como R ou S, ou um enantiômero puro ou uma mistura de ambas as configurações está presente.

"Racemato" ou "mistura racêmica" significa um composto de quantidades equimolares de dois enantiômeros, em que tais misturas não exibem atividade ótica; isto é, não giram no plano da luz polarizada.

Os compostos da invenção podem ser preparados como isômeros individuais ou por meio de síntese específica a isômero ou resolvidos a partir de uma mistura isomérica. Técnicas de resolução convencionais incluem a formação do sal de uma base livre de cada isômero de um par isomérico utilizando um ácido oticamente ativo (seguido por cristalização fracionada e regeneração da base livre), a

formação do sal da forma ácida de cada isómero de um par isomérico utilizando uma amina opticamente ativa (seguido por cristalização fracionada e regeneração do ácido livre), a formação de um éster ou amida de cada um dos isómeros de um par isomérico utilizando um ácido, amina ou álcool opticamente puro (seguido por separação cromatográfica e remoção do auxiliar quiral), ou resolução de uma mistura isomérica de um material de partida ou um produto final utilizando vários métodos cromatográficos bem conhecidos.

Quando a estereoquímica de um composto divulgado é nomeada ou representada através de estrutura, o estereoisómero nomeado ou representado é pelo menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 99 % ou 99,9 % em peso puro em relação aos outros estereoisómeros. Quando um único enantiómero é nomeado ou representado através de estrutura, o enantiómero representado ou nomeado é pelo menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 99 % ou 99,9 % em peso opticamente puro. A percentagem de pureza ótica em peso é a razão da massa do enantiómero que está presente dividida pela massa combinada do enantiómero que está presente e a massa do seu isómero ótico.

A presente invenção também divulga o composto conforme definido na reivindicação 1 para utilização num método de tratamento ou prevenção de um indivíduo com uma doença ou distúrbio sensível à tetraciclina, o dito método compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz do dito composto ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

"Doença ou distúrbio sensível à tetraciclina" refere-se a uma doença ou distúrbio que pode ser tratado, prevenido, ou de outro modo melhorado através da administração de um composto de tetraciclina da presente invenção. Doença ou distúrbio sensível a tetraciclina inclui infeções, cancro, distúrbios inflamatórios, doença autoimune, arteriosclerose, ulceração da córnea, enfisema, artrite, osteoporose, osteoartrite, esclerose múltipla,

osteossarcoma, osteomielite, bronquiectasia, doença obstrutiva pulmonar crônica, doenças de pele e olhos, periodontite, osteoporose, artrite reumatoide, colite ulcerativa, prostatite, metástase, invasão e crescimento de tumor, diabetes, proteinúria diabética, panbronquiolite; aneurismas vasculares ou aórticos, lesões de tecido da pele, olho seco, osso, degradação de cartilagem, malária, senescência, diabetes, acidente vascular cerebral, distúrbios neurodegenerativos, doença cardíaca, diabetes juvenil, bronquite aguda e crônica, sinusite, e infecções respiratórias, incluindo o resfriado comum; granulomatose de Wegener; dermatoses neutrofílicas e outras doenças inflamatórias tais como dermatite herpetiforme, vasculite leucocitoclástica, lúpus eritematoso bolhoso, psoríase pustulosa, eritema elevatum diutinum; vitiligo; lúpus eritematoso discoide; pioderma gangrenoso; psoríase pustulosa; blefarite, ou meibomianite; doença de Alzheimer; maculopatia degenerativa; gastroenterite e colite aguda e crônica; cistite e uretrite aguda e crônica; dermatite aguda e crônica; conjuntivite aguda e crônica; serosite aguda e crônica; pericardite urêmica; coleciste aguda e crônica; fibrose cística, vaginite aguda e crônica; uveíte aguda e crônica; reações a fármacos; mordidas de insetos; queimaduras e queimaduras solares, distúrbio de massa óssea, lesão pulmonar aguda, distúrbios pulmonares crônicos, isquemia, acidente vascular cerebral ou acidente vascular cerebral isquêmico, lesões da pele, aneurisma vascular ou aórtico, retinopatia diabética, acidente vascular cerebral hemorrágico, angiogénese, e outros estados para os quais os compostos de tetraciclina foram constatados como sendo ativos (veja-se, por exemplo, as Patentes US N°s 5.789.395; 5.834.450; 6.277.061 e 5.532.227).

Adicionalmente, o composto de acordo com a reivindicação 1 pode ser utilizado num método para tratar

qualquer doença ou estado de doença que poderia beneficiar da modulação da expressão e/ou função de óxido nítrico, metaloproteases, mediadores pró-inflamatórios e citocinas, espécies de oxigénio reativo, componentes da resposta imune, incluindo quimiotaxia, transformação de linfócitos, hipersensibilidade tardia, produção de anticorpos, fagocitose, e metabolismo oxidativo de fagócitos. Utilização num método para tratar qualquer doença ou estado de doença que poderia beneficiar da modulação da expressão e/ou função de proteína C-reativa, vias de sinalização (por exemplo, via de sinalização de FAK), e/ou aumento da expressão de COX-2 e produção de PGE₂ está coberto. Utilização num método para tratar qualquer doença ou estado de doença que poderia beneficiar da inibição de neovascularização está coberto.

Os compostos da invenção podem ser utilizados para prevenir ou tratar importantes doenças de mamíferos e veterinárias tais como diarreia, infeções do trato urinário, infeções de pele e estrutura de pele, infeções de ouvido, nariz e garganta, infeção de lesões, mastite e semelhantes. Adicionalmente, são divulgados métodos para o tratamento de neoplasmas utilizando compostos de tetraciclina da invenção (van der Bozert et al., Cancer Res., 48: 6686-6690 (1988)).

As infeções que podem ser tratadas utilizando os compostos da invenção ou um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos incluem, mas não estão limitadas a, infeções de pele, infeções gastrointestinais, infeções do trato urinário, infeções genitourinárias, infeções do trato respiratório, infeções sinusais, infeções do ouvido médio, infeções sistémicas, cólera, gripe, bronquite, acne, malária, doença sexualmente transmitida incluindo sífilis e gonorreia, doença do legionário, doença de Lyme, febre maculosa das Montanhas Rochosas, febre Q, tifo, peste bubónica, gangrena gasosa, infeções adquiridas em hospital,

leptospirose, tosse convulsa, antrax e infeções causadas por parte dos agentes responsáveis por linfogranuloma venéreo, conjuntivite de inclusão, ou psitacose. Infeções podem ser infeções bacterianas, fúngicas, parasíticas e virais (incluindo aquelas que são resistentes a outros compostos de tetraciclina).

Numa forma de realização, a infeção pode ser causada por bactérias. Noutra forma de realização, a infeção é causada por bactérias Gram-positivas. Num aspeto específico desta forma de realização, a infeção é causada por uma bactéria Gram-positiva selecionada a partir de *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Nocardia* spp., *Clostridium* spp., *Actinobacteria* spp., e *Listeria* spp..

Noutra forma de realização, a infeção é causada por uma bactéria Gram-negativa. Num aspeto desta forma de realização, a infeção é causada por uma proteobactéria (por exemplo, Betaproteobacteria e Gamaproteobacteria), incluindo *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, outras *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, bactérias do ácido acético, *Legionella* ou alfa-proteobactéria tal como *Wolbachia*. Noutro aspeto, a infeção é causada por uma bactéria Gram-negativa selecionada a partir de cianobactérias, espiroquetas, bactérias verdes do enxofre ou verdes não do enxofre. Num aspeto específico desta forma de realização, a infeção é causada por uma bactéria Gram-negativa selecionada a partir de *Enterobacteriaceae* (por exemplo, *E. coli*, *Klebsiella pneumonia* incluindo aquelas contendo β -lactamases de espectro estendido e/ou carbapenemases), *Bacteroidaceae* (por exemplo, *Bacteroides fragilis*), *Vibrionaceae* (*Vibriocholerae*), *Pasteurellae* (por exemplo, *Haemophilus influenza*), *Pseudomonadaceae* (por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*), *Neisseriaceae* (por exemplo,

Neisseria meningitidis), *Rickettsiae*, *Moraxellaceae* (por exemplo, *Moraxella catarrhalis*), qualquer espécie de *Proteeae*, *Acinetobacter* spp., *Helicobacter* spp., e *Campylobacter* spp.

Numa forma de realização particular, a infeção é causada por bactéria Gram-negativa selecionada a partir do grupo consistindo em *Enterobacteriaceae* (por exemplo, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*), *Pseudomonas*, e *Acinetobacter* spp.

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo selecionado a partir do grupo consistindo em *K. pneumoniae*, *Salmonella*, *E. hirae*, *A. baumannii*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *E. faecium*, *E. coli*, *S. aureus*, e *E. faecalis*.

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo selecionado a partir do grupo consistindo em *Rickettsiae*, *Chlamydiae*, *Legionella* spp. e *Mycoplasma* spp. Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo resistente a tetraciclina ou qualquer membro da primeira e segunda geração de antibióticos de tetraciclina (por exemplo, doxiciclina ou minociclina).

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo resistente a meticilina.

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo resistente a vancomicina.

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo resistente a uma quinolona ou fluoroquinolona.

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um organismo resistente a tigeciclina.

Noutra forma de realização, a infeção é causada por um agente patogénico resistente a múltiplos fármacos (tendo resistência intermediária ou total a qualquer dois ou mais antibióticos). Noutra forma de realização a infeção é uma infeção por *Bacillus anthracis*. "Infeção por *Bacillus anthracis*" inclui qualquer estado, doenças, ou distúrbios

causados ou que resultam da exposição ou exposição alegada a *Bacillus anthracis* ou outro membro do grupo *Bacillus cereus* de bactérias. Noutra forma de realização, a infeção é causada por *Bacillus anthracis* (antrax), *Yersinia pestis* (peste), ou *Francisella tularensis* (tularemia).

Em ainda outra forma de realização, a infeção pode ser causada por mais de um organismo descrito acima. Exemplos de tais infeções incluem, mas não estão limitados a, infeções intra-abdominais (frequentemente uma mistura de uma espécie gram-negativa como *E. coli* e um anaeróbio como *B. fragilis*), pé diabético (várias combinações de *Streptococcus*, *Serratia*, *Staphylococcus* e *Enterococcus* spp., anaeróbios (S.E. Dowd, et al., PloS one 2008;3:e3326) e doença respiratória (especialmente em pacientes que têm infeções crónicas como fibrose quística -, por exemplo, *S. aureus* mais *P. aeruginosa* ou *H. influenza*, agentes patogénicos atípicos), lesões e abscessos (várias bactérias gram-negativas e gram-positivas, notavelmente MSSA/MRSA, estafilococos coagulase-negativos, enterococos, *Acinetobacter*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. fragilis*), e infeções da corrente sanguínea (13 % foram polimicrobianas (H. Wisplinghoff, et al., Clin. Infect. Dis. 2004;39:311-317)).

Num aspeto adicional, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina não é uma infeção bacteriana. Noutro aspeto, os compostos de tetraciclina divulgados no presente documento são essencialmente não antibacterianos. Por exemplo, não compostos antibacterianos divulgados no presente documento podem ter valores de MIC maiores do que cerca de 4 µg/ml (conforme medido através de ensaios conhecidos na técnica e/ou o ensaio dado no Exemplo 14. Noutro aspeto, os compostos de tetraciclina divulgados no presente documento têm ambos efabricados antibacterianos e não antibacterianos.

Doença ou distúrbio sensível à tetraciclina também

inclui doenças ou distúrbios associado a estados associados a processos inflamatórios (IPAS). O termo "estado associado a processos inflamatórios" inclui estados nos quais inflamação ou fatores inflamatórios (por exemplo, metaloproteinases de matriz (MMPs), óxido nítrico (NO), TNF, interleuquinas, proteínas plasmáticas, sistemas de defesa celular, citocinas, metabolitos de lípidos, proteases, radicais tóxicos, moléculas de adesão, etc.) estão envolvidos ou estão presentes numa área em quantidades aberrantes, por exemplo, em quantidades que podem ser vantajosas para alterar, por exemplo, para beneficiar o sujeito. O processo inflamatório é a resposta do tecido vivo ao dano. A causa da inflamação pode ser devido a dano físico, substâncias químicas, microorganismos, necrose de tecido, cancro ou outros agentes. Inflamação aguda é de curta duração, durando somente uns poucos dias. Se for mais longa no entanto, então pode ser referida como inflamação crónica.

IPASs incluem distúrbios inflamatórios. Os distúrbios inflamatórios são caracterizados geralmente por calor, rubor, inchaço, dor e perda de função. Exemplos de causas de distúrbios inflamatórios incluem, mas não estão limitados a, infeções microbianas (por exemplo, infeções bacterianas e fúngicas), agentes físicos (por exemplo, queimaduras, radiação, e traumatismo), agentes químicos (por exemplo, toxinas e substâncias cáusticas), necrose de tecido e vários tipos de reações imunológicas.

Exemplos de distúrbios inflamatórios que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos incluem, mas não estão limitados a, osteoartrite, artrite reumatoide, infeções agudas e crónicas (bacterianas e fúngicas, incluindo difteria e tosse convulsa); bronquite aguda e crónica, sinusite, e infeções respiratórias superiores, incluindo o resfriado comum; gastroenterite e colite aguda

e crónica; distúrbio inflamatório do intestino; cistite e uretrite aguda e crónica; vasculite; septicemia; nefrite; pancreatite; hepatite; lúpus; distúrbios inflamatórios da pele incluindo, por exemplo, eczema, dermatite, psoríase, pioderma gangrenoso, acne rosácea, e dermatite aguda e crónica; conjuntivite aguda e crónica; serosite aguda e crónica (pericardite, peritonite, sinovite, pleurite e tendinite); pericardite urémica; coleciste aguda e crónica; vaginite aguda e crónica; uveíte aguda e crónica; reações a fármacos; mordeduras de insetos; queimaduras (térmicas, químicas, e elétricas); e queimaduras solares.

IPASS também incluem estados associados a metaloproteinase de matriz (MMPAS). MMPAS incluem estados caracterizados por quantidades aberrantes de MMPs ou atividade de MMP. Exemplos de estados associados a metaloproteinase de matriz ("MMPAS's") que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos, incluem, mas não estão limitados a, arteriosclerose, ulceração da córnea, enfisema, osteoartrite, esclerose múltipla (Liedtke *et al.*, *Ann. Neurol.* 1998, 44: 35-46; Chandler *et al.*, *J. Neuroimmunol.* 1997, 72: 155-71), osteossarcoma, osteomielite, bronquiectasia, doença obstrutiva pulmonar crónica, doenças de pele e olhos, periodontite, osteoporose, artrite reumatoide, colite ulcerativa, distúrbios inflamatórios, crescimento e invasão tumoral (Stetler-Stevenson *et al.*, *Annu. Rev. Cell Biol.* 1993, 9: 541-73; Tryggvason *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 1987, 907: 191-217; Li *et al.*, *Mol. Carcinol.* 1998, 22: 84-89)), metástase, lesão pulmonar aguda, acidente vascular cerebral, isquemia, diabetes, aneurismas vasculares ou aórticos, lesões de tecido da pele, olho seco, ósseo e degradação de cartilagem (Greenwald *et al.*, *Ósseo* 1998, 22: 33-38; Ryan *et al.*, *Curr. Op. Rheumatol.* 1996, 8: 238-247). Outros MMPAS incluem aqueles descritos nas Patentes

US N°s 5.459.135; 5.321.017; 5.308.839; 5.258.371; 4.935.412; 4.704.383, 4.666.897, e RE 34.656.

Num aspeto adicional, o IPAS inclui distúrbios descritos nas Patentes US N° 5.929.055; e 5.532.227.

Doença ou distúrbio sensível à tetraciclina também inclui doenças ou distúrbios associados a estados associados a NO. O termo "estados associados a NO" inclui estados que envolvem ou estão associados com óxido nítrico (NO) ou óxido nítrico sintase induzível (iNOS). Estado associado a NO inclui estados que são caracterizados por quantidades aberrantes de NO e/ou iNOS. Preferentemente, o estado associado a NO pode ser tratado por meio da administração de compostos de tetraciclina da invenção. Os distúrbios, doenças e estados descritos nas Patentes US N°s 6.231.894; 6.015.804; 5.919.774; e 5.789.395 estão também incluídos como estados associados a NO.

Exemplos de doenças ou distúrbios associados a estados associados a NO que podem ser tratados utilizando os compostos da presente invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos incluem, mas não são limitados a, malária, senescência, diabetes, acidente vascular cerebral, distúrbios neurodegenerativos (doença de Alzheimer e doença de Huntington), doença cardíaca (lesão associada a reperfusão após enfarte), diabetes juvenil, distúrbios inflamatórios, osteoartrite, artrite reumatoide, aguda, infecções recorrentes e crônicas (bacterianas, virais e fúngicas); bronquite aguda e crônica, sinusite, e infecções respiratórias, incluindo o resfriado comum; gastroenterite e colite aguda e crônica; cistite e uretrite aguda e crônica; dermatite aguda e crônica; conjuntivite aguda e crônica; serosite aguda e crônica (pericardite, peritonite, sinovite, pleurite e tendinite); pericardite urémica; coleciste aguda e crônica; fibrose cística, vaginite aguda e crônica; uveíte aguda e crônica; reações a fármacos; mordeduras de insetos; queimaduras (térmicas, químicas, e

elétricas); e queimaduras solares.

Noutro aspeto, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina é cancro. Exemplos de cancros que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacêuticamente aceitável dos mesmos incluem todos os tumores sólidos, isto é, carcinomas, por exemplo, adenocarcinomas, e sarcomas. Adenocarcinomas são carcinomas derivados de tecido glandular ou em que as células tumorais formam estruturas glandulares reconhecíveis. Sarcomas incluem amplamente tumores cujas células são incrustadas numa substância fibrilar ou homogénea como tecido conectivo embrionário. Exemplos de carcinomas que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção incluem, mas não estão limitados a, carcinomas da próstata, mama, ovário, testículo, pulmão, cólon, e mama. As utilizações da invenção não estão limitadas ao tratamento destes tipos de tumor, mas estendem-se a qualquer tumor sólido derivado de qualquer sistema de órgãos. Exemplos de cancros tratáveis incluem, mas não estão limitados a, cancro do cólon, cancro da bexiga, cancro da mama, melanoma, carcinoma dos ovários, carcinoma da próstata, cancro do pulmão e uma variedade de outros cancros também. A utilização dos compostos da invenção também causa a inibição do crescimento de cancro em adenocarcinomas, tais como, por exemplo, aqueles da próstata, mama, rim, ovário, testículos, e cólon. Num aspeto, os cancros que podem ser tratados por compostos da invenção incluem aqueles descritos nas Patentes US N°s 6.100.248; 5.843.925; 5.837.696; ou 5.668.122.

Alternativamente, os compostos de tetraciclina podem ser úteis para a prevenção de ou redução da probabilidade de recorrência de cancro, por exemplo, para tratar cancro residual após ressecção cirúrgica ou terapêutica com radiação. Os compostos de tetraciclina úteis de acordo com a invenção são especialmente vantajosos uma vez que são substancialmente não tóxicos em comparação com outros

tratamentos de cancro.

Num aspeto adicional, os compostos da invenção são administrados em combinação com terapêutica contra o cancro padrão, tal como, mas não limitado a, quimioterapia.

Exemplos de estados sensíveis à tetraciclina que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos também incluem distúrbios neurológicos que incluem tanto distúrbios neuropsiquiátricos como neurodegenerativos, mas não estão limitados a, tal como doença de Alzheimer, demências relacionadas com doença de Alzheimer (tal como doença de Pick), de Parkinson e outras doenças de corpos difusos de Lewy, demência senil, doença de Huntington, síndrome de Gilles de la Tourette, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica (ALS), paralisia supranuclear progressiva, epilepsia, e doença de Creutzfeldt-Jakob; distúrbios de função autonómica tais como hipertensão e distúrbios do sono, e distúrbios neuropsiquiátricos, tais como depressão, esquizofrenia, distúrbio esquizoafectivo, psicose de Korsakoff, mania, distúrbios de ansiedade, ou distúrbios de fobia; distúrbios de aprendizagem ou memória, por exemplo, amnésia ou perda de memória relacionada com a idade, distúrbio de défice de atenção, distúrbio distímico, distúrbio depressivo maior, mania, distúrbio obsessivo-compulsivo, distúrbios por utilização de substância psicoativa, ansiedade, fobias, distúrbio do pânico, bem como distúrbio afetivo bipolar, por exemplo, distúrbio afetivo (humor) bipolar severo (BP-1), distúrbios neurológicos afetivos bipolares, por exemplo, enxaqueca e obesidade.

Distúrbios neurológicos adicionais incluem, por exemplo, aqueles listados no *American Psychiatric Association's Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders* (DSM).

Noutro aspeto, a doença ou distúrbio sensível à

tetraciclina é diabetes. As diabetes que podem ser tratadas utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos incluem, mas não estão limitadas a, diabetes juvenil, diabetes mellitus, diabetes tipo I, ou diabetes tipo II. Num aspecto adicional, a glicosilação de proteínas não é afetada pela administração dos compostos de tetraciclina da invenção. Noutro aspecto, o composto de tetraciclina da invenção é administrado em combinação com terapêuticas diabéticas padrão, tais como, mas não limitadas a terapêutica com insulina.

Noutro aspecto, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina é um distúrbio de massa óssea. Os distúrbios de massa óssea que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos incluem distúrbios onde é vantajosa a utilização em distúrbios e estados dos ossos de um sujeito na formação, reparo ou remodelação óssea. Por exemplo, os distúrbios de massa óssea incluem osteoporose (por exemplo, uma diminuição da resistência e densidade óssea), fraturas dos ossos, formação óssea associada a procedimentos cirúrgicos (por exemplo, reconstrução facial), osteogénese imperfeita (doença dos ossos quebradiços), hipofosfatase, doença de Paget, displasia fibrosa, osteopetrose, doença de mieloma ósseo, e a depleção de cálcio nos ossos, tal como a que está relacionada com hiperparatireoidismo primário. Os distúrbios de massa óssea incluem todos os estados nos quais a formação, reparação ou remodelação óssea é vantajosa para o sujeito bem como todos os outros distúrbios associados aos ossos ou sistema esquelético de um sujeito que podem ser tratados com os compostos de tetraciclina da invenção. Num aspecto adicional, os distúrbios de massa óssea incluem aqueles descritos nas Patentes US N.ºs 5.459.135; 5.231.017; 5.998.390; 5.770.588; RE 34.656; 5.308.839; 4.925.833; 3.304.227; e 4.666.897.

Noutro aspeto, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina é lesão pulmonar aguda. Lesões de pulmão agudas que podem ser tratadas utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos incluem síndrome da angústia respiratória do adulto (ARDS), síndrome pós-bombeamento (PPS), e traumatismo. O traumatismo inclui qualquer lesão ao tecido vivo causada por um agente ou evento extrínseco. Exemplos de traumatismo incluem, mas não estão limitados a, lesões por esmagamento, contacto com uma superfície dura, ou corte ou outro dano aos pulmões.

As doenças ou distúrbios sensíveis à tetraciclina da invenção também incluem distúrbios pulmonares crónicos. Exemplos de distúrbios pulmonares crónicos que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos incluem, mas não estão limitados a, asma, fibrose quística, doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD), e enfisema. Num aspeto adicional, os distúrbios pulmonares agudos e/ou crónicos que podem ser tratados utilizando os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos incluem aqueles descritos nas Patentes US N.ºs 5.977.091; 6.043.231; 5.523.297; e 5.773.430.

Ainda noutro aspeto, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina é isquemia, acidente vascular cerebral, ou acidente vascular cerebral isquémico.

Num aspeto adicional, os compostos de tetraciclina da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo podem ser utilizados para tratar tais distúrbios conforme descrito acima e nas Patentes US N.ºs 6.231.894; 5.773.430; 5.919.775 e 5.789.395.

Noutra forma de realização, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina é uma lesão na pele. A invenção também proporciona um composto para utilização num método para melhorar a resposta de cicatrização do tecido

epitelizado (por exemplo, pele, mucosas) a lesão traumática aguda (por exemplo, corte, queimadura, arranhão, etc.). O método inclui utilizar um composto de tetraciclina da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo para melhorar a capacidade do tecido epitelizado de curar lesões agudas. O método pode aumentar a taxa de acumulação de colagénio do tecido em cicatrização. O método pode também diminuir a atividade proteolítica no tecido epitelizado por meio da diminuição da atividade colagenolítica e/ou gelatinolítica de MMPs. Numa forma de realização adicional, o composto de tetraciclina da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo é administrado à superfície da pele (por exemplo, topicamente). Numa forma de realização adicional, o composto de tetraciclina da invenção ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo é utilizado para tratar uma lesão na pele, e outros tais distúrbios conforme descrito, por exemplo, nas Patentes US N°s 5.827.840; 4.704.383; 4.935.412; 5.258.371; 5.308.839, 5.459.135; 5.532.227; e 6.015.804.

Ainda noutro aspeto, a doença ou distúrbio sensível à tetraciclina é um aneurisma vascular ou aórtico em vascular tecido de um sujeito (por exemplo, um sujeito tendo ou em risco de ter um aneurisma vascular ou aórtico, etc.). O composto de tetraciclina ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo pode ser eficaz para reduzir o tamanho do aneurisma vascular ou pode ser administrado ao sujeito antes da aparição do aneurisma vascular de modo que o aneurisma seja prevenido. Num aspeto, o tecido vascular é uma artéria, por exemplo, a aorta, por exemplo, a aorta abdominal. Num aspeto adicional, os compostos de tetraciclina da invenção são utilizados para tratar distúrbios descritos na Patente US N° 6.043.225 e 5.834.449.

Os compostos da invenção ou um sal farmacologicamente

aceitável dos mesmos podem ser utilizados por si só ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos nos métodos da invenção divulgados no presente documento.

A linguagem "em combinação com" outro agente terapêutico ou tratamento inclui a coadministração do composto de tetraciclina e com o outro agente terapêutico ou tratamento ou como uma única forma farmacêutica de combinação ou como formas farmacêuticas múltiplas separadas, a administração do composto de tetraciclina primeiro, seguida pelo outro agente terapêutico ou tratamento e a administração do outro agente terapêutico ou tratamento primeiro, seguida pelo composto de tetraciclina.

O outro agente terapêutico pode ser qualquer agente que é conhecido na técnica para tratar, prevenir, ou reduzir os sintomas de uma doença ou distúrbio sensível à tetraciclina. A eleição de agente(s) terapêutico(s) adicional(is) é baseada na doença ou distúrbio sensível à tetraciclina particular sendo tratado. Tal eleição está dentro do conhecimento de um médico responsável pelo tratamento. Além disso, o outro agente terapêutico pode ser qualquer agente benéfico para o paciente quando administrado em combinação com a administração de um composto de tetraciclina.

Conforme utilizado no presente documento, o termo "sujeito" significa um mamífero com necessidade de tratamento ou prevenção, por exemplo, animais de companhia (por exemplo, cães, gatos, e semelhantes), animais de criação (por exemplo, vacas, porcos, cavalos, ovelhas, cabras e semelhantes) e animais de laboratório (por exemplo, ratos, ratinhos, cobaias e semelhantes). Tipicamente, o sujeito é um ser humano em necessidade do tratamento especificado.

Conforme utilizado no presente documento, o termo "tratar" ou "tratamento" refere-se a obter efeito farmacológico e/ou fisiológico desejado. O efeito pode

incluir alcançar, parcialmente ou substancialmente, um ou mais dos seguintes resultados: reduzir parcialmente ou totalmente a extensão da doença, distúrbio ou síndrome; aliviar ou melhorar um sintoma clínico ou indicador associado com o distúrbio; atrasar, inibir ou diminuir a probabilidade da progressão da doença, distúrbio ou síndrome.

Conforme utilizado no presente documento, "prevenir" ou "prevenção" refere-se a reduzir a probabilidade da aparição ou desenvolvimento da doença, distúrbio ou síndrome.

"Quantidade eficaz" significa aquela quantidade de agente de composto ativo que provoca a resposta biológica desejada num sujeito. Numa forma de realização, a quantidade eficaz de um composto da invenção é desde cerca de 0,01 mg/kg/dia até cerca de 1000 mg/kg/dia, desde cerca de 0,1 mg/kg/dia até cerca de 100 mg/kg/dia, ou desde cerca de 0,5 mg/kg/dia até cerca de 50 mg/kg/dia.

A invenção inclui adicionalmente o processo para fabricar a composição compreendendo misturar um ou mais dos presentes compostos e um portador farmacêuticamente aceitável opcional; e inclui aquelas composições que resultam de um tal processo, cujo processo inclui técnicas farmacêuticas convencionais.

As composições da invenção incluem formulações oculares, orais, nasais, transdérmicas, tópicas com ou sem oclusão, intravenosas (tanto bólus como infusão), inaláveis, e por injeção (intraperitonealmente, subcutaneamente, intramuscularmente, intra-tumoralmente, ou parentericamente). A composição pode estar numa forma farmacêutica unitária tal como um comprimido, pílula, cápsula, pó, grânulo, lipossoma, resina de permuta iónica, solução ocular estéril, ou dispositivo de administração ocular (tal como uma lente de contacto e semelhantes facilitando libertação imediata, libertação cronometrada,

ou libertação sustentada), solução ou suspensão parentérica, aerossol ou *spray* líquido dosificado, gota, ampola, dispositivo autoinjeter, ou supositório; para administração ocularmente, oralmente, intranasalmente, sublingualmente, parentericamente, ou retalmente, ou através de inalação ou insuflação.

As composições da invenção adequadas para administração oral incluem formas sólidas tais como pílulas, comprimidos, comprimidos oblongos, cápsulas (cada uma incluindo formulações de libertação imediata, libertação cronometrada, e libertação sustentada), grânulos e pós; e, formas líquidas tais como soluções, xaropes, elixires, emulsões, e suspensões. Formas úteis para administração ocular incluem soluções estéreis ou dispositivos de administração ocular. Formas úteis para administração parentérica incluem soluções, emulsões, e suspensões estéreis.

As composições da invenção podem ser administradas numa forma adequada para administração uma vez por semana ou uma vez por mês. Por exemplo, um sal insolúvel do composto ativo pode ser adaptado para proporcionar uma preparação *depot* para injeção intramuscular (por exemplo, um sal de decanoato) ou para proporcionar uma solução para administração oftálmica.

A forma farmacêutica contendo a composição da invenção contém uma quantidade eficaz do ingrediente ativo necessário para proporcionar um efeito terapêutico. A composição pode conter desde cerca de 5.000 mg até cerca de 0,5 mg (preferentemente, desde cerca de 1.000 mg até cerca de 0,5 mg) de um composto da invenção ou forma de sal do mesmo e pode ser constituído em qualquer forma adequada para o modo selecionado de administração. A composição pode ser administrada cerca de 1 a cerca de 5 vezes por dia. Administração diária ou dosagem pós-periódica pode ser utilizada.

Para administração oral, a composição está preferentemente na forma de um comprimido ou cápsula contendo, por exemplo, 500 a 0,5 miligramas do composto ativo. As dosagens variarão dependendo de fatores associados com o paciente particular sendo tratado (por exemplo, idade, peso, dieta, e momento de administração), a gravidade da condição sendo tratada, o composto sendo empregue, o modo de administração, e a resistência da preparação.

A composição oral é preferentemente formulada como uma composição homogênea, em que o ingrediente ativo é disperso uniformemente por toda a mistura, que pode ser prontamente subdividida em formas farmacêuticas unitárias contendo quantidades iguais de um composto da invenção. Preferentemente, as composições são preparadas por meio da mistura de um composto da invenção (ou sal farmaceuticamente aceitável do mesmo) com um ou mais portadores farmacêuticos opcionalmente presentes (tais como um amido, açúcar, diluente, agente de granulação, lubrificante, deslizante, agente de ligação, e agente de desintegração), um ou mais excipientes farmacêuticos inertes opcionalmente presentes (tais como água, glicóis, óleos, álcoois, agentes aromatizantes, conservantes, agentes de coloração, e xarope), um ou mais ingredientes de formação de comprimido convencionais opcionalmente presentes (tais como amido de milho, lactose, sacarose, sorbitol, talco, ácido esteárico, estearato de magnésio, fosfato dicálcico, e qualquer de uma variedade de gomas), e um diluente opcional (tal como água).

Agentes de ligação incluem amido, gelatina, açúcares naturais (por exemplo, glucose e beta-lactose), adoçantes de milho e gomas naturais e sintéticas (por exemplo, acácia e tragacanto). Agentes de desintegração incluem amido, metilcelulose, agar, e bentonite.

Os comprimidos e cápsulas representam uma forma

farmacêutica unitária oral vantajosa. Os comprimidos podem ser revestidos com açúcar ou revestidos com película utilizando técnicas padrão. Os comprimidos podem também ser revestidos ou de outro modo compostos para proporcionar um efeito terapêutico de libertação prolongada, controlada. A forma farmacêutica pode compreender um componente de dosagem interior e de dosagem exterior, em que o componente exterior está na forma de um envelope sobre o componente interior. Os dois componentes podem estar adicionalmente separados por uma camada que resiste à desintegração no estômago (tal como uma camada entérica) e permite que o componente interior passe intacto para o duodeno ou uma camada que atrasa ou sustenta a libertação. Uma variedade de materiais de camada entérica e não entérica ou de revestimento (tais como ácidos poliméricos, gomas-lacas, álcool acetílico, e acetato de celulose ou combinações dos mesmos) pode ser utilizada.

Os compostos da invenção podem também ser administrados através de uma composição de libertação lenta; em que a composição inclui um composto da invenção e um portador de libertação lenta biodegradável (por exemplo, um portador polimérico) ou um portador de libertação lenta não biodegradável farmacêuticamente aceitável (por exemplo, um portador de permuta iônica).

Portadores de libertação lenta biodegradáveis e não biodegradáveis são bem conhecidos na técnica. Portadores biodegradáveis são utilizados para formar partículas ou matrizes que retêm um agente(s) ativo(s) e que se degradam/dissolvem lentamente num ambiente adequado (por exemplo, aquoso, ácido, básico e semelhantes) para a libertação do agente. Tais partículas degradam/dissolvem-se em fluidos corporais para a libertação do(s) composto(s) ativo(s) nos mesmos. As partículas são preferentemente nanopartículas ou nanoemulsões (por exemplo, no intervalo de cerca de 1 a 500 nm de diâmetro, preferentemente cerca

de 50-200 nm de diâmetro, e mais preferentemente cerca de 100 nm de diâmetro). Num processo para preparar uma composição de libertação lenta, um portador de libertação lenta e um composto da invenção são primeiro dissolvidos ou dispersos num solvente orgânico. A mistura resultante é adicionada a uma solução aquosa contendo um agente(s) tensioactivo(s) opcional(is) para produzir uma emulsão. O solvente orgânico é então evaporado da emulsão para proporcionar uma suspensão coloidal de partículas contendo o portador de libertação lenta e o composto da invenção.

O composto divulgado no presente documento pode ser incorporado para administração oralmente ou por injeção numa forma líquida tal como soluções aquosas, xaropes adequadamente aromatizados, suspensões aquosas ou em óleo, emulsões aromatizadas com óleos comestíveis tais como óleo de algodão, óleo de sésamo, óleo de coco ou óleo de amendoim e semelhantes, ou em elixires ou veículos farmacêuticos semelhantes. Agentes de dispersão ou suspensão adequados para suspensões aquosas, incluem gomas sintéticas e naturais tais como tragacanto, acácia, alginato, dextrano, carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, polivinilpirrolidona, e gelatina. As formas líquidas em agentes de dispersão ou suspensão adequadamente aromatizados podem também incluir gomas sintéticas e naturais. Para administração parentérica, suspensões e soluções estéreis são desejadas. Preparações isotónicas, que geralmente contêm conservantes adequados, são empregues quando a administração intravenosa é desejada.

Os compostos podem ser administrados parentericamente através de injeção. Uma formulação parentérica pode consistir no ingrediente ativo dissolvido em ou misturado com um portador líquido inerte adequado. Portadores líquidos aceitáveis habitualmente compreendem solventes aquosos e outros ingredientes opcionais para auxiliar a solubilidade ou conservação. Tais solventes aquosos incluem

água estéril, solução de Ringer, ou uma solução salina aquosa isotónica. Outros ingredientes opcionais incluem óleos vegetais (tais como óleo de amendoim, óleo de algodão, e óleo de sésamo), e solventes orgânicos (tais como solcetal, glicerol, e formilo). Um óleo estéril, não volátil pode ser utilizado como um solvente ou agente de suspensão. A formulação parentérica é preparada por meio da dissolução ou suspensão do ingrediente ativo no portador líquido pelo qual a forma farmacêutica unitária final contém desde 0,005 até 10 % em peso do ingrediente ativo. Outros aditivos incluem conservantes, isotonizantes, solubilizantes, estabilizantes, e agentes de suavização da dor. Suspensões injetáveis podem também ser preparadas, em cujo caso portadores líquidos adequados, agentes de suspensão e semelhantes podem ser empregues.

Os compostos da invenção podem ser administrados intranasalmente utilizando um veículo intranasal adequado.

Noutra forma de realização, os compostos desta invenção podem ser administrados diretamente aos pulmões por inalação.

Os compostos da invenção podem também ser administrados topicamente ou potenciados utilizando um veículo transdérmico tópico adequado ou um adesivo transdérmico.

Para administração ocular, a composição está preferentemente na forma de uma composição oftálmica. As composições oftálmicas são preferentemente formuladas como formulações de gotas oculares e preenchidas em recipientes adequados para facilitar a administração ao olho, por exemplo, um conta-gotas equipado com uma pipeta adequada. Preferentemente, as composições são estéreis e de base aquosa, utilizando água purificada. Adicionalmente ao composto da invenção, uma composição oftálmica pode conter um ou mais de: a) um tensioativo tal como um éster de ácido gordo de polioxietileno; b) um agente espessante tal como

celulose, derivados de celulose, polímeros de carboxivinilo, polímeros de polivinilo, e polivinilpirrolidonas, tipicamente numa concentração no intervalo de cerca de 0,05 a cerca de 5,0 % (p/vol); c) (como uma alternativa a adicionalmente a armazenar a composição num recipiente contendo azoto e opcionalmente incluindo um absorvedor de oxigénio livre tal como Fe), um antioxidante tal como hidroxianisol butilado, ácido ascórbico, tiosulfato de sódio, ou hidroxitolueno butilado numa concentração de cerca de 0,00005 a cerca de 0,1 % (p/vol); d) etanol numa concentração de cerca de 0,01 a 0,5 % (p/vol); e e) outros excipientes tais como um agente isotónico, tampão, conservante, e/ou agente de controlo de pH. O pH da composição oftálmica está desejavelmente dentro do intervalo de 4 a 8.

Em certas formas de realização, a composição desta invenção inclui um ou mais agentes adicionais. O outro agente terapêutico pode ser um agente que é capaz de tratar, prevenir ou reduzir os sintomas de uma doença ou distúrbio sensível à tetraciclina. Alternativamente, o outro agente terapêutico pode ser qualquer agente benéfico a um paciente quando administrado em combinação com o composto de tetraciclina nesta invenção.

EXEMPLIFICAÇÃO

As seguintes abreviações e os termos têm os significados indicados:

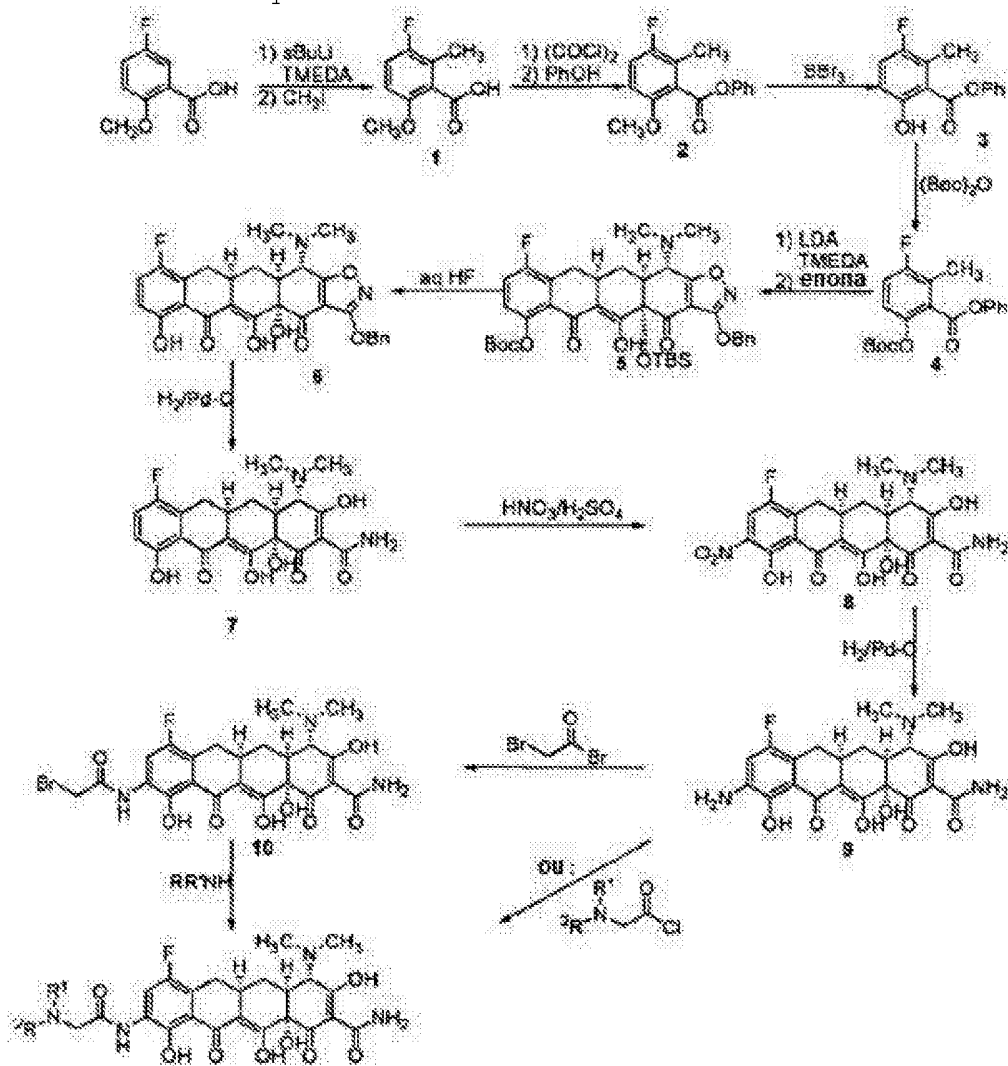
Abreviação/Termo	Significado
Ac	acetilo
AIBN	2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo)
aq	aquoso
Bn	benzilo
salmoura	cloreto de sódio saturado aquoso
Boc	terc-butoxi carbonilo ou t-butoxi carbonilo
(Boc) ₂ O	dicarbonato de di-terc-butilo

BBr ₃	Tribrometo de boro
Bu	butilo
Cbz	benziloxicarbonilo
CH ₂ Cl ₂	cloreto de metileno
CH ₃ CN ou ReCN	acetonitrilo
Cy	tríciclohexilfosfino
dba	dibenzilidenoacetona
DIBAL-H	hidreto de diisobutilalumínio
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DME	1,2-dimetoxietano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMPU	1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidona
DMSO	dimetilsulfóxido
EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
ESI	Ionização por eletrospray
equiv.	equivalente
Et	etil
Et ₂ O	éter etílico
EtOAc	acetato de etilo
h, hr	hora
HCl	ácido clorídrico
KHPO ₄	hidrogenofosfato de potássio
HPLC	cromatografia líquida de alto rendimento
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
<i>i</i>	iso
IBX	ácido 2-iodoxibenzoico
LDA	diisopropilamida de lítio
LHMDS	bis(trimetilsilil)amida de lítio
LTMP	2,2,6,6-tetrametilpiperidida de lítio

Me	metilo
MeOH	metanol
MeI	iodeto de metilo
min	minuto
Ms	metanosulfonilo
MS	espetro de massa
MTBE	metil <i>terc</i> -butil éter
MM	massa molecular
NaHCO ₃	bicarbonato de sódio
NaOH	hidróxido de sódio
Na ₂ SO ₄	sulfato de sódio
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NCS	<i>N</i> -clorosuccinimida
RMN	Espetrometria de ressonância magnética nuclear
Ph	fenilo
Pr	propilo
<i>s</i>	secundário
<i>t</i>	terciário
RP	fase reversa
TMEDA	tetrametiletilenodiamina
TBS	<i>terc</i> -butildimetilsililo
TEA	triethylamina
Tf	trifluorometanosulfonilo
TFA	ácido trifluoroacético
TFAA	anidreto trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TLC	cromatografia de camada fina
Ts	<i>para</i> -toluenosulfonilo
TsOH	ácido <i>para</i> -toluenosulfônico
Xantphos	4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno

Exemplo de Referência 1. Síntese de Compostos de Fórmula Estrutural (I).

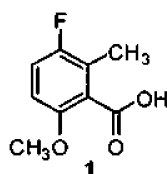
Os compostos da invenção e exemplos de referência, podem ser preparados de acordo com o esquema sintético mostrado no Esquema 1.



Esquema 1

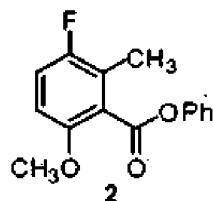
Condições específicas para as reações ilustradas no Esquema 1 são proporcionadas nos seguintes exemplos.

Composto de Preparação 1



A uma solução em THF de ácido de 5-fluoro-2-metoxibenzoico (500 mg, 2,94 mmol, Aldrich 523097) arrefecido a -78°C foi adicionada uma solução em THF de *s*-BuLi (4,60 ml, 1,40 M, 6,44 mmol, 2,2 equiv) e TMEDA (0,97 ml, 6,47 mmol, 2,2 equiv). A reação foi agitada a -78°C durante 2 h. MeI (1,10 ml, 17,64 mmol, 6,0 equiv) foi adicionado à mistura de reação gota a gota. A reação foi permitida aquecer até 25°C ao longo de 1 h e agitada a 25°C durante 1 h. NaOH (6 N, 20 ml) foi adicionado. A mistura resultante foi extraída com éter *t*-butilmetílico (20 ml x 2). A camada aquosa foi acidificada com HCl (6 N) a pH 1 e extraída com EtOAc (20 ml x 4). Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para dar 510 mg de produto em bruto **1**; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,06 (dd, $J = 9,8, 8,5$ Hz, 1 H), 6,75 (dd, $J = 9,8, 3,7$ Hz, 1 H), 3,86 (s, 3 H), 2,34 (d, $J = 2,4$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 185,12 (M+H).

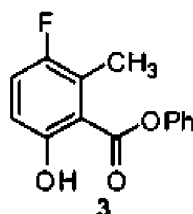
Composto de Preparação 2



Cloreto de oxalilo (0,95 ml, 11,10 mmol, 5,5 equiv) foi adicionado a solução de CH_2Cl_2 (15 ml, anidro) de **1** (510 mg, 2,00 mmol). DMF (0,1 ml) foi adicionado à mistura resultante. A reação foi agitada a 25°C durante 1 h e concentrada. O sólido resultante foi redissolvido em 15 ml de CH_2Cl_2 anidro. Fenol (520 mg, 5,50 mmol, 2,8 equiv), DMAP (670 mg, 5,6 mmol, 2,8 equiv), e trietilamina (1,90 ml, 13,90 mmol, 7,0 equiv) foram adicionados à mistura de reação. A reação foi agitada a 25°C durante 12 h e concentrada. EtOAc e H_2O foram adicionados ao resíduo. A camada orgânica foi lavada com NaOH (1 N), H_2O , e salmoura, seca (Na_2SO_4), e concentrada. Cromatografia *flash* em sílica gel (40:1 hexanos/EtOAc) rendeu 400 mg de composto **2** (52 %

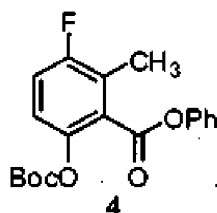
para 2 etapas): ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,47–7,41 (m, 2 H), 7,31–7,24 (m, 3 H), 7,08 (dd, $J=9,2, 9,2$ Hz, 1 H), 6,77 (dd, $J=9,2, 3,7$ Hz, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 2,36 (d, $J=2,3$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 261,12 (M+H).

Composto de Preparação 3



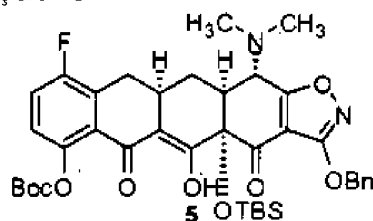
BBr_3 (1,85 ml, 1 M, 1,85 mmol, 1,2 equiv) foi adicionado a uma solução de CH_2Cl_2 (8 ml) de **2** (400 mg, 1,54 mmol) a -78°C . A reação foi agitada desde -78°C até 25°C durante 1,5 h, extinta com NaHCO_3 saturado e concentrada. EtOAc e H_2O foram adicionados à mistura de reação. A camada aquosa foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para render 360 mg de produto em bruto **3**: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 10,66 (s, 1 H), 7,50–7,44 (m, 2 H), 7,36–7,31 (m, 1 H), 7,26–7,18 (m, 3 H), 6,86 (dd, $J=9,3, 4,9$ Hz, 1 H), 2,60 (d, $J=2,4$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 245,11 (M-H).

Composto de Preparação 4



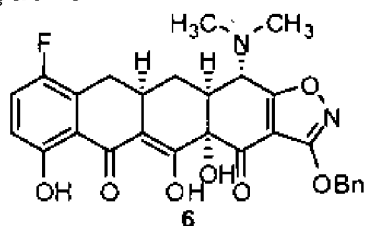
Boc_2O (350 mg, 1,60 mmol, 1,1 equiv) e DMAP (20 mg, 0,16 mmol, 0,1 equiv) foram adicionados a uma solução de CH_2Cl_2 de produto em bruto **3** (360 mg). A reação foi agitada a 25°C durante 1,5 h e concentrada. Cromatografia *flash* em sílica gel (35:1 hexanos/EtOAc) rendeu 400 mg de composto **4** (94 % para 2 etapas): ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,46–7,41 (m, 2 H), 7,31–7,23 (m, 3 H), 7,18 (dd, $J=8,8, 8,7$ Hz, 1 H), 7,10 (dd, $J=8,8, 4,4$ Hz, 1 H), 2,41 (d, $J=2,3$ Hz, 3 H), 1,44 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 345,18 (M-H).

Composto de Preparação 5



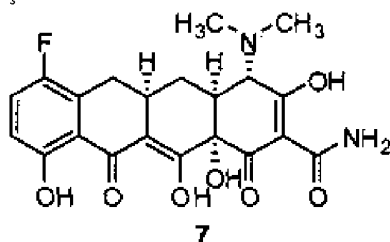
Uma solução em THF (6 ml) de **4** (487 mg, 1,40 mmol, 2,0 equiv) foi adicionada a uma solução em THF (5 ml) de LDA (6,30 ml, 10 % em peso, 4,20 mmol, 6,0 equiv) e TMEDA (1,70 ml, 11,20 mmol, 16,0 equiv) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. A reação foi agitada a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min. Uma solução em THF de enona (339 mg, 0,70 mmol, 1,0 equiv) foi adicionada à mistura de reação gota a gota. A reação foi agitada desde $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h, extinta com NH_4Cl saturado, e extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para render o produto em bruto. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C1,8 OBD [5 μm , 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H_2O com 0,1 % de HCO_2H ; Solvente B: CH_3CN com 0,1 % de HCO_2H ; volume de injeção: 4,0 ml (CH_3CN); gradiente: 80–100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,3–8,0 min, foram colhidas e concentradas num RotaVap a *ta* para remover a maior parte do acetonitrilo. A solução maioritariamente aquosa resultante foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para dar 185 mg de produto puro **5** (35 %): ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 15,67 (s, 1 H), 7,51–7,46 (m, 2 H), 7,39–7,29 (m, 3 H), 7,21 (dd, $J = 8,9, 8,9\text{ Hz}$, 1 H), 7,03 (dd, $J = 8,9, 4,0\text{ Hz}$, 1 H), 5,34 (s, 2 H), 3,93 (d, $J = 10,4\text{ Hz}$, 1 H), 3,30–3,21 (m, 1 H), 3,10–3,00 (m, 1 H), 2,57–2,41 (m, 3 H), 2,48 (s, 6 H), 2,17–2,12 (m, 1 H), 1,53 (s, 9 H), 0,82 (s, 9 H), 0,26 (s, 3 H), 0,12 (s, 3 H); MS (ESI) m/z 735,45 (M+H).

Composto de Preparação 6



HF aquoso (3 ml, 48 %) e TFA (4 μ l) foram adicionados a uma solução de CH_3CN (7 ml) de **5** (210 mg, 0,29 mmol) num tubo de polipropileno a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 18 h. A mistura resultante foi vertida numa solução aquosa de K_2HPO_4 (21 g, dissolvida em 150 ml água). A mistura foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para render 180 mg de produto em bruto **6**: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 14,64 (s, 1 H), 11,47 (s, 1 H), 7,49–7,45 (m, 2 H), 7,39–7,32 (m, 3 H), 7,14 (dd, $J = 9,2, 8,8$ Hz, 1 H), 6,77 (dd, $J = 9,2, 4,3$ Hz, 1 H), 5,36 (s, 2 H), 3,68 (d, $J = 3,7$ Hz, 1 H), 3,09 (dd, $J = 15,6, 4,6$ Hz, 1 H), 3,02–2,92 (m, 1 H), 2,84–2,79 (m, 1 H), 2,49 (s, 6 H), 2,34–2,22 (m, 1 H), 2,09–2,02 (m, 1 H), 1,55–1,44 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 521,30 (M+H).

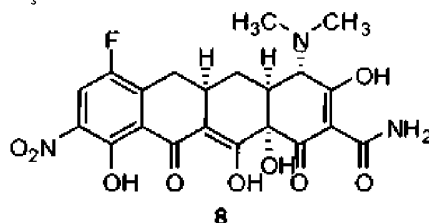
Composto de Preparação 7



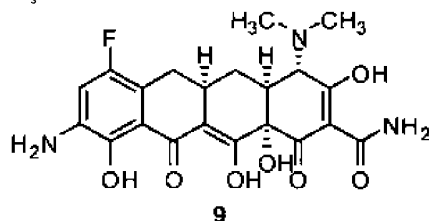
Paládio sobre carbono (35 mg, 10 % em peso) foi adicionado a uma solução de MeOH/dioxano (4 ml/4 ml) de produto em bruto **6** (180 mg). A reação foi purgada com hidrogénio e agitada sob H_2 (balão) a 25 °C durante 1 h. A mistura de reação foi filtrada através de uma tampa pequena de Celite. O filtrado foi concentrado para render o produto em bruto. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters

utilizando uma coluna Fenomenex Polimerx 10 μ RP-1 100A [10 μ m, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl/água; Solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 4,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 0→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,4–8,2 min, foram colhidas e liofilizadas para render 51 mg de composto **7** (41 % para 2 etapas): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,26 (dd, J = 9,2, 9,2 Hz, 1 H), 6,80 (dd, J = 9,2, 4,3 Hz, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,14 (dd, J = 15,0, 4,6 Hz, 1 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 3,09–2,91 (m, 2 H), 2,31–2,18 (m, 2 H), 1,68–1,56 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 433,28 (M+H).

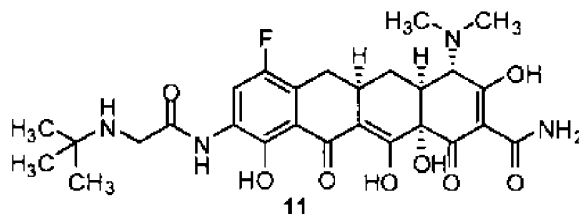
Composto de Preparação **8**



Uma mistura de HNO₃ (8,5 μ l, 69 %) e H₂SO₄ (0,5 ml) foi adicionada a um H₂SO₄ solução (1 ml) de **7** (51 mg, 0,12 mmol) a 0 °C. A reação foi agitada a 0 °C durante 30 min. A mistura resultante foi adicionada gota a gota a éter dietílico agitado vigorosamente (60 ml). A suspensão foi filtrada através de uma almofada pequena de Celite e lavada várias vezes com mais éter dietílico. A almofada de Celite foi então eluída com MeOH até o eluente se tornar incolor. O eluente de MeOH amarelo foi colhido e concentrados sob pressão reduzida para dar o produto em bruto **8**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,03 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,50–2,97 (m, 3 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,46–2,36 (m, 1 H), 2,29–2,20 (m, 1 H), 1,71–1,59 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 478,20 (M+H).

Composto de Preparação **9**

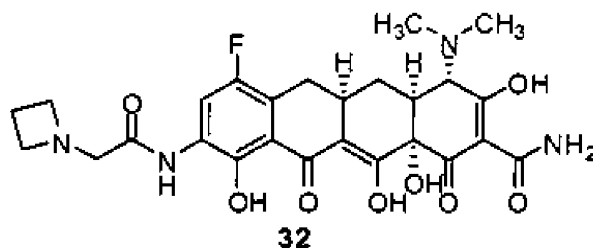
Paládio sobre carbono (12 mg, 10 % em peso) foi adicionado a uma solução de MeOH (4 ml) de produto em bruto **8**. A reação foi purgada com hidrogênio e agitada sob H_2 (balão) a 25 °C durante 2 h. O catalisador foi retirado por meio de filtração com uma almofada pequena de Celite. O filtrado foi concentrado para render o produto em bruto **9**. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Fenomenex Polimerx 10 μ RP-1 100A [10 μm , 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl; Solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 4,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 0→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 5,0-6,6 min, foram colhidas e liofilizadas para render 43 mg de produto puro **9** (81 % para 2 etapas): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,43 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 4,11 (s a, 1 H), 3,22-3,16 (m, 1 H), 3,15-3,08 (m, 1 H), 3,06-2,95 (m, 1 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,40-2,31 (m, 1 H), 2,28-2,21 (m, 1 H), 1,71-1,59 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 448,24 ($\text{M}+\text{H}$).

Composto de Referência **11**

Cloridrato de 2-*t*-Butilaminoacetilcloreto (4,2 mg, 0,022 mmol, 2,0 equiv) foi adicionado a uma solução de DMF (0,1 ml) de **9** (5 mg, 0,011 mmol) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 30 min. A mistura de reação foi

diluída com 0,05 N de HCl (2 ml) e injetada num sistema de autopurificação Waters equipado com uma coluna Fenomenex Polimerx 10 μ RP-1 100A [10 μ m, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl; Solvente B: CH₃CN; gradiente: 0→100 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,4–7,0 min, foram colhidas e liofilizadas para render 3,9 mg de produto puro **11** (62 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,25 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 4,11 (s a, 1 H), 4,09 (s, 2 H), 3,22–2,86 (m, 3 H), 3,05 (s, 3 H), 2,97 (s, 3 H), 2,33–2,20 (m, 2 H), 1,69–1,57 (m, 1 H), 1,42 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 561,39 (M+H).

Composto de Referência **32**

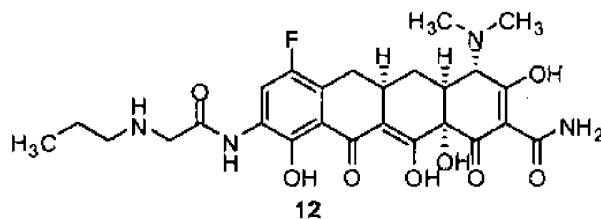


Na₂CO₃ anidro (16 mg, 0,15 mmol, 5,5 equiv) foi adicionado a uma solução de DMPU/acetonitrilo anidro (150 μ l/50 μ l) de **9** (12 mg, 0,027 mmol). Brometo de bromoacetilo (2,8 ml, 0,032 mmol, 1,2 equiv) foi adicionado à mistura. A reação foi agitada a 25 °C durante 10 min. A análise de LC/MS indicou a formação completa de intermediário **10**. Azetidina (36 μ l, 0,54 mmol, 20 equiv) foi adicionada à mistura de reação. A reação foi agitada a 25 °C durante 2 h. A mistura de reação foi concentrada e acidificada com HCl (0,5 N em MeOH, 0,7 ml). A mistura resultante foi adicionada gota a gota a éter dietílico agitado vigorosamente (10 ml). A suspensão foi filtrada através de uma almofada pequena de Celite e lavada várias vezes com mais éter dietílico. A almofada de Celite foi então eluída com MeOH até o eluente se tornar incolor. O eluente de MeOH amarelo foi colhido e concentrado sob pressão reduzida para dar em bruto **32**. A purificação por meio de HPLC preparativa

de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Fenomenex Poliymerx 10 μ RP-1 100A [10 μ m, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl; Solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 2,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 10→20 % de B ao longo de 30 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 10,8-12,5 min, foram colhidas e liofilizadas para render 2,0 mg de produto puro **32**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,18 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 4,41 - 4,31 (m, 2 H), 4,32 (s, 2 H), 4,24-4,13 (m, 2), 4,08 (s, 1 H), 3,18-2,86 (m, 3 H), 3,03 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 2,71-2,57 (m, 1 H), 2,54-2,42 (m, 1 H), 2,33-2,16 (m, 2 H), 1,69-1,57 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 545,20 (M+H).

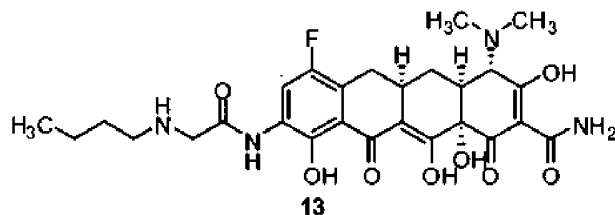
Os Compostos de Referência 12 -31 e os Compostos de Referência 33-46 são preparados do mesmo modo que os **Compostos 11 ou 32**, ao substituir o haleto de acilo adequado por 2-*t*-Butilaminoacetilcloreto na síntese de **Composto de Referência 11** ou amina cíclica por azetidina na síntese de **Composto de Referência 32**.

Composto de Referência **12**



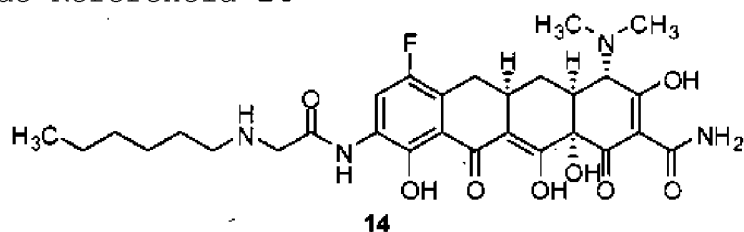
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,23 (d, J =11,2 Hz, 1 H), 4,08 (s, 3 H), 3,17-2,97 (m, 11 H), 2,31 (dd, J = 14,8, 14,8 Hz, 1 H), 2,24 (dd, J = 14,0, 5,2, 2,8 Hz, 1H), 1,79-1,72 (m, 2 H), 1,66 (ddd, J = 13,6, 13,6, 13,6 Hz, 1 H), 1,05 (t, J = 7,2 Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 547,2 (M+H).

Composto de Referência **13**



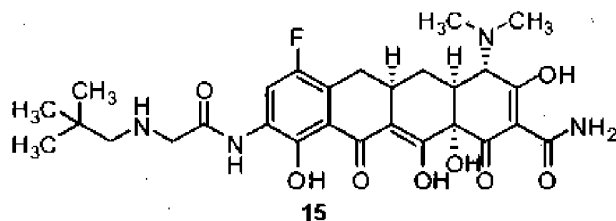
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 3 H), 3,16-2,97 (m, 11 H), 2,30 (dd, $J = 14,8, 14,8$ Hz, 1 H), 2,24 (ddd, $J = 14,4, 5,2, 2,8$ Hz, 1 H), 1,75-1,69 (m, 2 H), 1,66 (ddd, $J = 13,6, 13,6, 13,6$ Hz, 1 H), 1,49-1,41 (m, 2 H), 1,01 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 561,2 (M+H).

Composto de Referência **14**



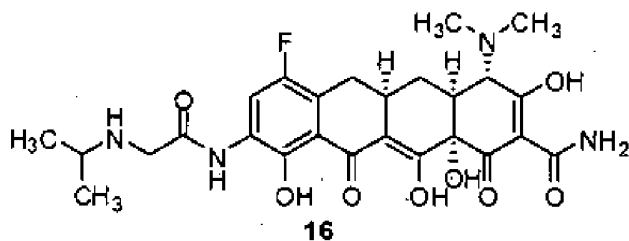
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,21 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 4,06 (s, 2 H), 3,16-2,96 (m, 11 H), 2,28 (dd, $J = 14,8, 14,8$ Hz, 1 H), 2,22 (ddd, $J = 14,4, 5,2, 2,8$ Hz, 1H), 1,77-1,71 (m, 2 H), 1,66 (ddd, $J = 14,0, 14,0, 14,0$ Hz, 1 H), 1,43-1,35 (m, 6 H), 0,93 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 589,2 (M+H).

Composto de Referência **15**



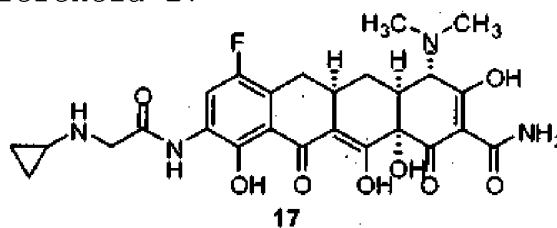
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,09 (s, 2 H), 4,07 (s, 1 H), 3,15-2,95 (m, 11 H), 2,29 (dd, $J = 14,4, 14,4$ Hz, 1 H), 2,25 (ddd, $J = 14,4, 5,2, 2,8$ Hz, 1H), 1,66 (ddd, $J = 13,2, 13,2, 13,2$ Hz, 1 H), 1,10 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 575,2 (M+H).

Composto de Referência **16**



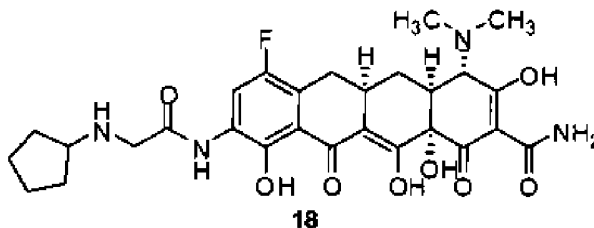
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,08 (s, 2H), 4,01-3,89 (m, 1H), 3,50-3,42 (m, 1H), 3,20-2,84 (m, 9H), 2,30 (at, $J = 14,7$ Hz, 1H), 2,23-2,15 (m, 1H), 1,70-1,58 (m, 1H), 1,37 (d, $J = 6,7$ Hz, 6H); MS (ESI) m/z 547,25 (M+H).

Composto de Referência **17**



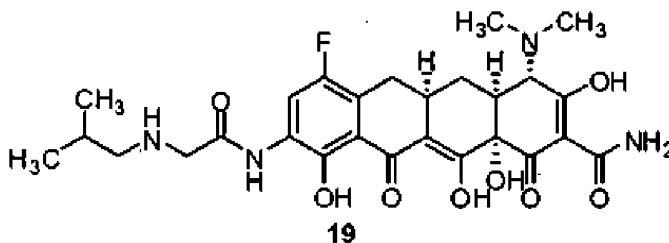
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,20 (s, 2 H), 4,09 (s a, 1 H), 3,19-3,13 (m, 1 H), 3,12-2,89 (m, 2 H), 2,89-2,38 (m, 1 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,35-2,19 (m, 2 H), 1,71-1,59 (m, 1 H), 0,95 (s a, 2), 0,94 (s a, 2); MS (ESI) m/z 545,37 (M+H).

Composto de Referência **18**



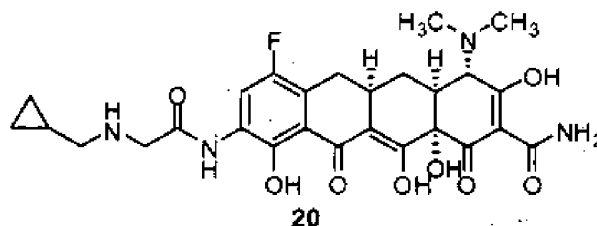
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,09 (s, 3 H), 3,68-3,61 (m, 1H), 3,16-2,97 (m, 9 H), 2,29 (dd, $J = 14,4, 14,4$ Hz, 1 H), 2,25 (ddd, $J = 14,4, 5,2, 2,8$ Hz, 1H), 2,20-2,12 (m, 2 H), 1,98-1,91 (m, 2H), 1,75-1,68 (m, 4 H), 1,66 (ddd, $J = 13,6, 13,6, 13,6$ Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 573,1 (M+H).

Composto de Referência **19**



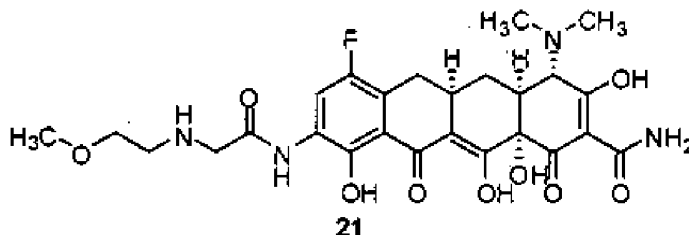
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,26 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,09 (s a, 3 H), 3,19-2,93 (m, 5 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,35-2,26 (m, 1 H), 2,25-2,18 (m, 1 H), 2,14-2,02 (m, 1 H), 1,71-1,59 (m, 1 H), 1,07 (d, $J = 6,7$, 6 H); MS (ESI) m/z 561,24 (M+H).

Composto de Referência **20**



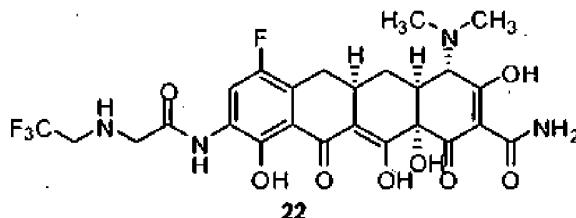
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,11 (s, 2 H), 4,08 (s a, 1 H), 3,22-2,92 (m, 5 H), 3,03 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 2,33-2,24 (m, 1 H), 2,24-2,17 (m, 1 H), 1,69-1,58 (m, 1 H), 1,17-1,07 (m, 1 H), 0,77-0,71 (m, 2 H), 0,46-0,40 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 559,23 (M+H).

Composto de Referência **21**

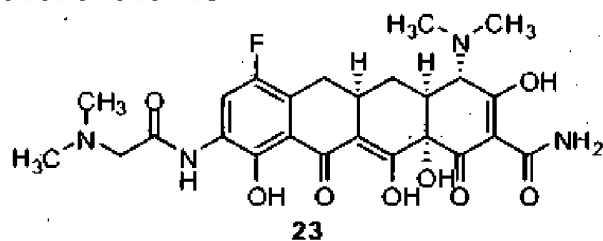


^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,12 (s, 2H), 4,09 (s, 1H), 3,72-3,67 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,19-2,92 (m, 11H), 2,35-2,18 (m, 2H) 1,71-1,58 (m, 1H); MS (ESI) m/z 563,23 (M+H).

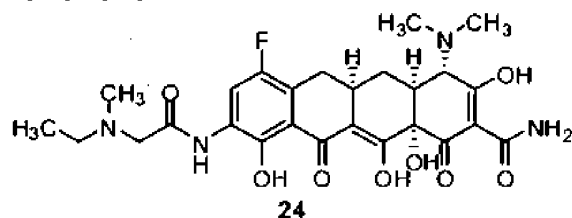
Composto de Referência **22**



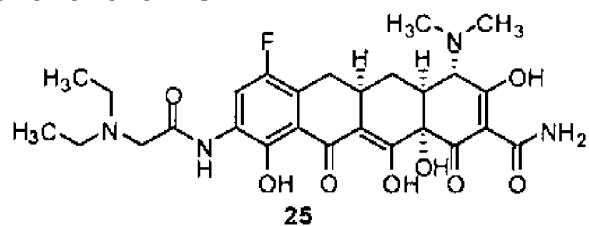
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,22 (s, 2H), 4,14-4,05 (m, 3H), 3,18-2,84 (m, 9H), 2,34-2,17 (m, 2H), 1,70-1,57 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 587,28 (M+H).

Composto de Referência **23**

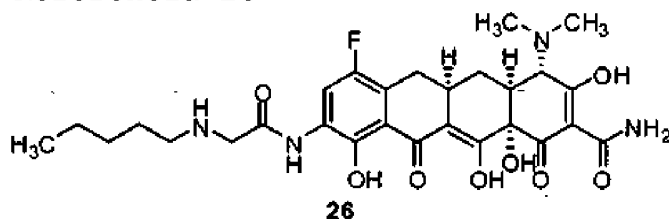
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,24 (s, 2H), 4,09 (s, 1H), 3,14-2,93 (m, 15H), 2,24-2,18 (m, 2H), 1,65 (dt, $J = 13,4, 11,6$ Hz, 1H), MS (ESI) m/z 533,17 (M+H).

Composto de Referência **24**

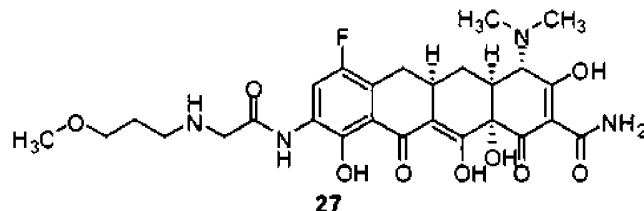
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 4,29 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 4,18 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 4,09 (s, 1H), 3,19-2,89 (m, 14H), 2,36-2,17 (m, 2H), 1,70-1,58 (m, 1H), 1,38 (t, $J = 7,32$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 547,25 (M+H).

Composto de Referência **25**

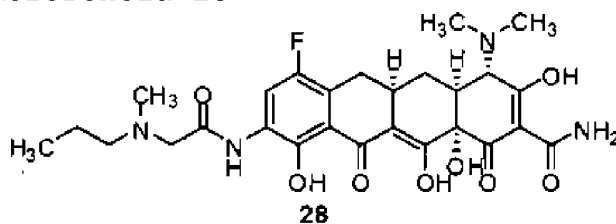
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,21 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,25 (s, 2 H), 4,10 (s, 1 H), 3,35 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 3,34 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 3,13-2,99 (m, 9 H), 2,31 (dd, $J = 14,8, 14,8$ Hz, 1 H), 2,27 (ddd, $J = 14,8, 5,2, 2,8$ Hz, 1H), 1,78-1,74 (m, 2 H), 1,68 (dd, $J = 13,6, 13,6, 13,6$ Hz, 1 H), 1,38 (t, $J = 7,2$ Hz, 6 H); MS (ESI) m/z 561,2 (M+H).

Composto de Referência **26**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 3 H), 3,16-2,96 (m, 11 H), 2,31 (dd, $J = 14,4$, 14,4 Hz, 1H), 2,24 (ddd, $J = 14,4$, 5,2, 2,8 Hz, 1H), 1,78-1,71 (m, 2 H), 1,66 (ddd, $J = 14,0$, 14,0, 14,0 Hz, 1 H), 1,45-1,38 (m, 4 H), 0,98 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 575,2 (M+H).

Composto de Referência **27**

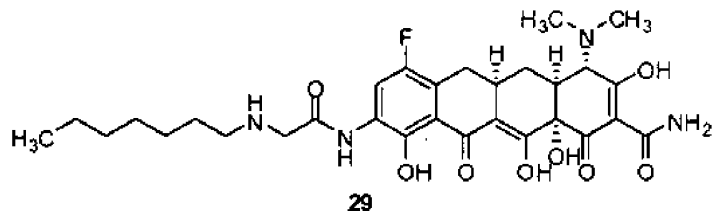
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,09 (s, 3 H), 3,59 (t, $J = 5,6$ Hz, 2 H), 3,40 (s, 3 H), 3,23 (t, $J = 5,6$ Hz, 2 H), 3,15-2,94 (m, 9 H), 2,32 (dd, $J = 15,2$, 15,2 Hz, 1 H), 2,24 (ddd, $J = 14,0$, 5,2, 2,8 Hz, 1H), 2,08-2,02 (m, 2 H), 1,66 (ddd, $J = 15,2$, 15,2, 15,2 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 577,2 (M+H).

Composto de Referência **28**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,32 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 4,21 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,18-2,99 (m, 9 H), 3,01 (s, 3 H), 2,33 (dd, $J = 14,8$, 14,8 Hz, 1 H), 2,29 (ddd, $J = 15,2$, 5,2, 2,8 Hz, 1H), 1,78-1,74 (m, 2 H), 1,88-1,81 (m, 2 H), 1,68 (ddd, $J = 15,6$, 15,6, 15,6 Hz, 1 H), 1,08 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H); MS

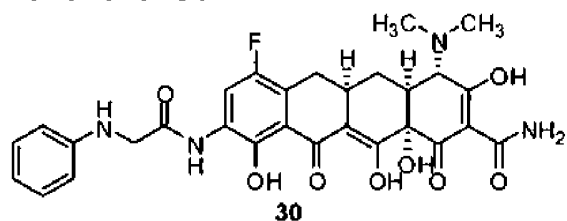
(ESI) m/z 561,2 (M+H).

Composto de Referência **29**



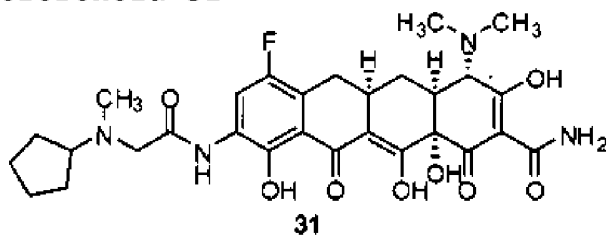
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 3 H), 3,18–2,98 (m, 11 H), 2,31 (dd, $J = 14,8$, 14,8 Hz, 1 H), 2,26 (ddd, $J = 14,4$, 5,2, 2,8 Hz, 1H), 1,78–1,74 (m, 2 H), 1,66 (ddd, $J = 13,6$, 13,6, 13,6 Hz, 1 H), 1,42–1,30 (m, 8 H), 0,94 (t, $J = 6,8$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 603,2 (M+H).

Composto de Referência **30**



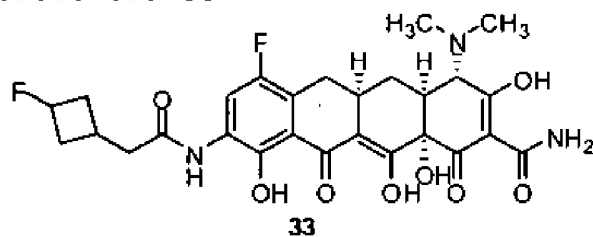
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,32 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 7,38–7,34 (m, 2 H), 7,10–7,06 (m, 3 H), 4,17 (s, 2 H), 4,10 (s, 1 H), 3,18–2,99 (m, 11 H), 2,29 (dd, $J = 15,6$, 15,6 Hz, 1 H), 2,25 (ddd, $J = 14,8$, 5,2, 2,8 Hz, 1H), 1,66 (ddd, $J = 14,8$, 14,8, 14,8 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 581,1 (M+H).

Composto de Referência **31**



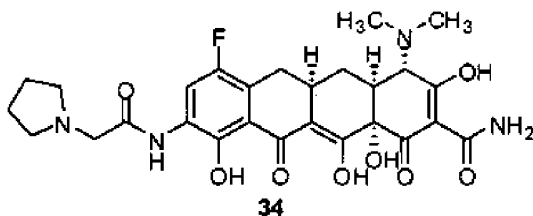
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,36 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 4,21 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 1H), 3,68–3,61 (m, 1 H), 3,18–2,98 (m, 9 H), 3,00 (s, 3 H), 2,29 (dd, $J = 14,4$, 14,4 Hz, 1 H), 2,20–2,10 (m, 3 H), 1,96–1,89 (m, 2 H), 1,78–1,68 (m, 4 H), 1,66 (ddd, $J = 14,4$, 14,4, 14,4 Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 587,2 (M+H).

Composto de Referência 33



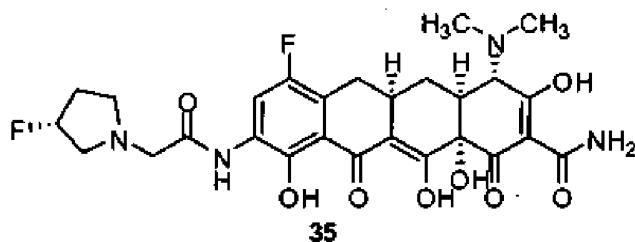
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,20 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 5,54–5,33 (m, 2 H), 4,71–4,37 (m, 4 H), 4,40 (s, 2 H), 4,06 (s, 1 H), 3,17–2,92 (m, 3 H), 2,99 (s, 6 H), 2,33–2,24 (m, 1 H), 2,23–2,16 (m, 1 H), 1,70–1,58 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 563,20 (M+H).

Composto de Referência 34



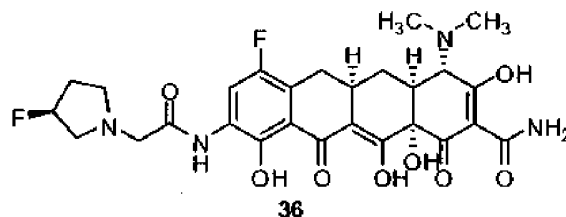
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,22 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,33 (s, 2H), 4,10 (s, 1H), 3,83–3,72 (m, 2H), 3,25–2,89 (m, 12H), 2,32–2,00 (m, 6H), 1,69–1,56 (m, 1H); MS (ESI) m/z 559,39 (M+H).

Composto de Referência 35



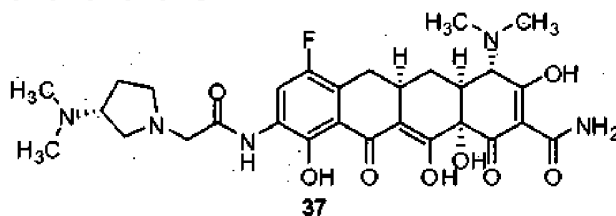
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 5,54–5,31 (m, 1H), 4,39–4,20 (m, 2H), 4,09–4,01 (m, 1H), 3,40–3,30 (m, 2H), 3,09–2,89 (m, 12H), 2,50–2,34 (m, 2H), 2,34–2,25 (m, 1H), 2,24–2,16 (m, 1H), 1,71–1,58 (m, 1H); MS (ESI) m/z 577,32 (M+H).

Composto de Referência 36



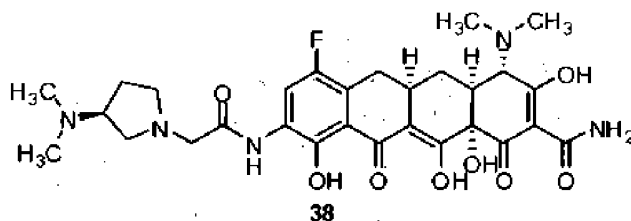
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 5,57-5,37 (m, 1H), 4,47-4,33 (m, 2H), 4,15-3,87 (m, 2H), 3,72-3,40 (m, 1H), 3,17-2,83 (m, 12H), 2,55-2,34 (m, 2H), 2,33-2,18 (m, 2H), 1,69-1,57 (m, 1H); MS (ESI) m/z 577,37 (M+H).

Composto de Referência 37

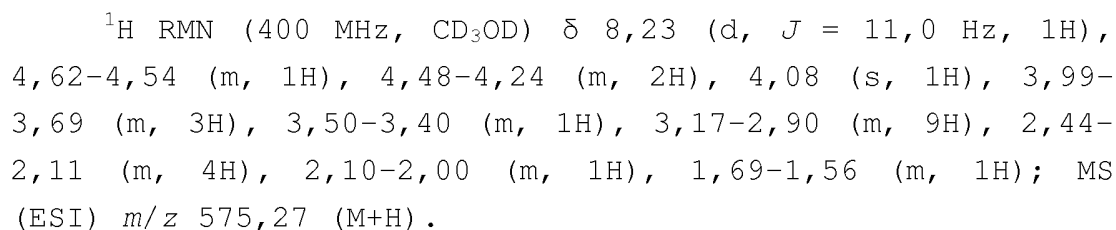


^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,28 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 4,08 (s, 1H), 4,00-3,91 (m, 2H), 3,09-2,57 (m, 18H), 3,26-3,18 (m, 3H), 2,49-2,34 (m, 2H), 2,35-2,06 (m, 2H), 1,72-1,59 (m, 1H); MS (ESI) m/z 602,37 (M+H).

Composto de Referência 38



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,46-4,32 (m, 2H), 4,26-4,16 (m, 1H), 4,08 (s, 2H), 4,00-3,72 (m, 2H), 3,18-2,91 (m, 16H), 2,68-2,56 (m, 1H), 2,51-2,39 (m, 1H), 2,34-2,24 (m, 1H), 2,23-2,17 (m, 1H), 1,70-1,57 (m, 1H); MS (ESI) m/z 602,37 (M+H).



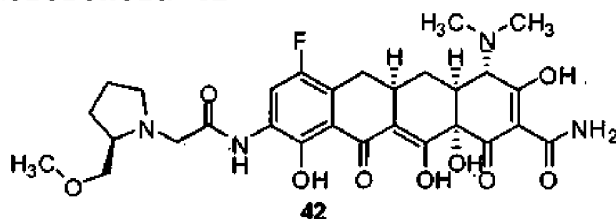
40

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,23 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 4,62-4,54 (m, 1H), 4,50-4,38 (m, 1H), 4,37-4,27 (m, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,99-3,70 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 1H), 3,24-2,84 (m, 9H), 2,40-2,11 (m, 4H), 2,10-2,01 (m, 1H), 1,70-1,57 (m, 1H); MS (ESI) *m/z* 575,33 (M+H).

41

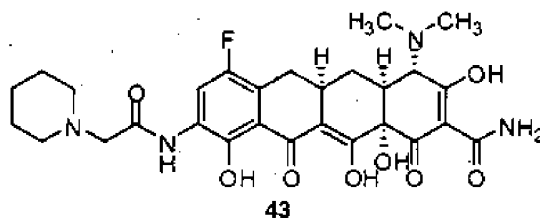
76

Composto de Referência 42



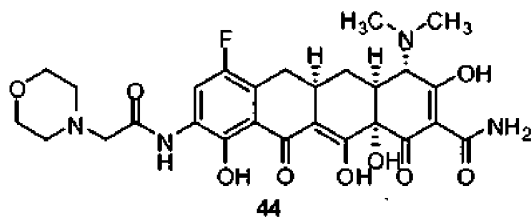
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,55 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 4,27 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,95-3,82 (m, 2H), 3,81-3,75 (m, 1H), 3,70-3,63 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 3,20-2,92 (m, 9H), 2,35-2,02 (m, 6H), 1,92-1,80 (m, 1H), 1,70-1,58 (m, 1H); MS (ESI) m/z 603,41 (M+H).

Composto de Referência 43

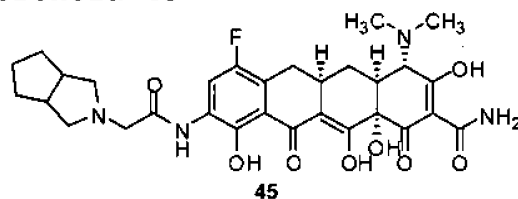


^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,22 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,19 (s, 2H), 4,09 (s, 1H), 3,65-3,58 (m, 2H), 3,19-2,92 (m, 10H), 2,34-2,18 (m, 2H), 2,02-1,79 (m, 6H), 1,69-1,50 (m, 2H); MS (ESI) m/z 573,35 (M+H).

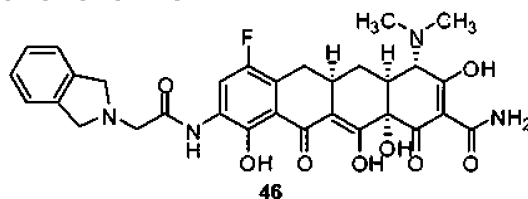
Composto de Referência 44



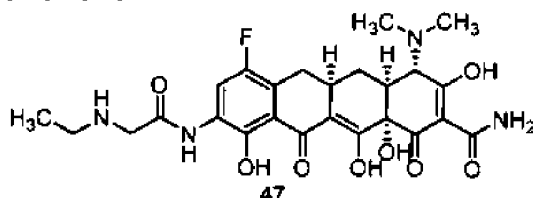
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,28 (s, 2H), 4,03-4,00 (m, 2H), 3,94-3,81 (m, 2H), 3,68-3,55 (m, 2H), 3,20-2,88 (m, 12H), 2,36-2,18 (m, 2H), 1,71-1,57 (m, 1H); MS (ESI) m/z 575,37 (M+H).

Composto de Referência **45**

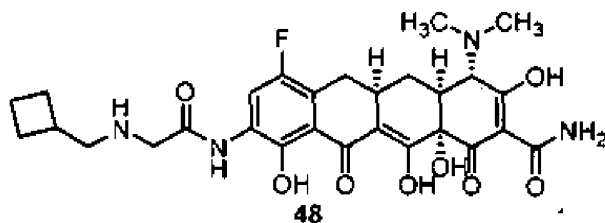
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD , 2:1 mistura de diastereómeros) δ 8,25 (d + d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,29, 4,24 (s + s, 2H), 4,08 (s + s, 1H), 4,01-3,92 (m + m, 3H), 3,20-2,62 (m + m, 13H), 2,35-2,16 (m + m, 3H), 1,83-1,46 (m + m, 5H); MS (ESI) m/z 599,36 (M+H).

Composto de Referência **46**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,29 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 7,41 (s, 5H), 4,50-4,37 (m, 2H), 4,05 (s, 1H), 3,95-3,81 (m, 2H), 3,40-3,37 (m, 1H), 3,24-3,15 (m, 3H), 3,10-2,70 (m, 9H), 2,36-2,25 (m, 1H), 2,25-2,16 (m, 1H), 1,72-1,59 (m, 1H); MS (ESI) m/z 607,34 (M+H).

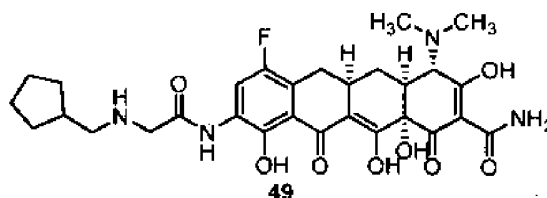
Composto de Referência **47**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,15 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,00 (s, 1 H), 3,99 (s, 2 H), 3,10-2,87 (m, 11 H), 2,32-2,12 (m, 2 H), 1,59-1,51 (m, 1 H), 1,26 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 533,1 (M+H).

Composto de Referência **48**

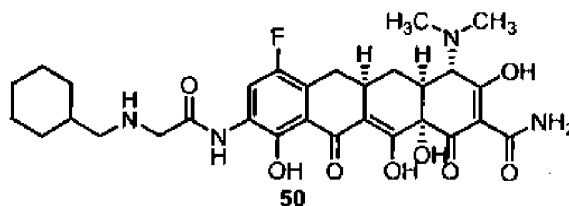
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,15 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 4,00 (s, 1 H), 3,96 (s, 2 H), 3,08–2,87 (m, 11 H), 2,70–2,61 (m, 1 H), 2,23–2,09 (m, 4 H), 1,97–1,75 (m, 4 H), 1,59–1,51 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 572,2 (M+H).

Composto de Referência **49**



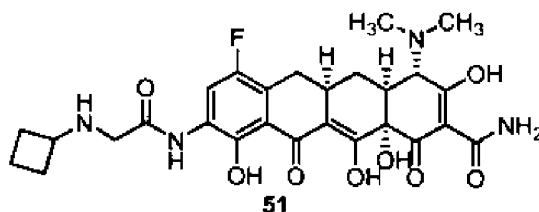
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,26 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 3 H), 3,21–2,97 (m, 11 H), 2,35–2,20 (m, 2 H), 2,15–2,05 (m, 1 H), 1,98–1,82 (m, 2 H), 1,77–1,61 (m, 5 H), 1,35–1,26 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 587,1 (M+H).

Composto de Referência **50**



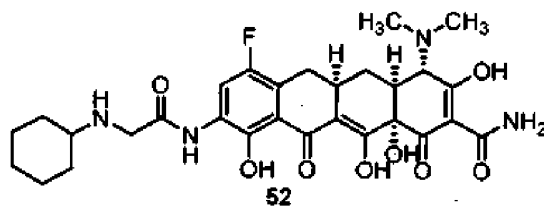
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,26 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,16 (s, 1 H), 4,14 (s, 2 H), 3,20–2,95 (m, 11 H), 2,32–2,20 (m, 2 H), 1,88–1,59 (m, 6 H), 1,39–1,21 (m, 4 H), 1,12–1,02 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 601,1 (M+H).

Composto de Referência **51**



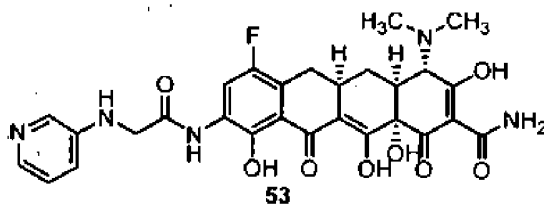
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,14 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,00 (s, 1 H), 3,88 (s, 2 H), 3,77–3,73 (m, 1 H), 3,09–2,87 (m, 9 H), 2,29–2,10 (m, 6 H), 1,88–1,81 (m, 2 H), 1,59–1,50 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 559,1 (M+H).

Composto de Referência 52



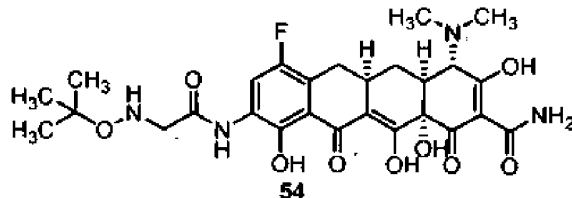
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 3 H), 3,17–2,97 (m, 9 H), 2,32–2,09 (m, 4 H), 1,92–1,85 (m, 2H), 1,75–1,63 (m, 2 H), 1,43–1,26 (m, 6 H); MS (ESI) m/z 587,2 (M+H).

Composto de Referência 53



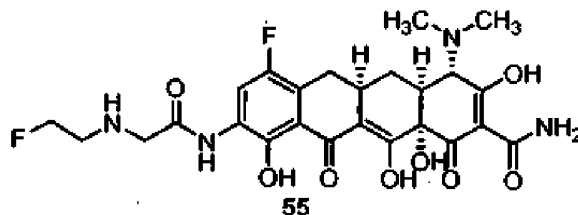
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,20 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 8,16 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J = 5,2$ Hz, 1 H), 7,85–7,78 (m, 2 H), 4,27 (s, 2 H), 4,11 (s, 1 H), 3,18–2,98 (m, 9 H), 2,32–2,21 (m, 2 H), 1,70–1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 582,2 (M+H)

Composto de Referência 54



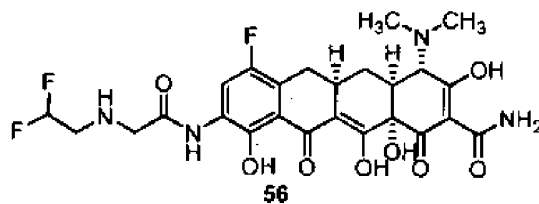
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,31 (s, 2 H), 4,11 (s, 1 H), 3,22–2,88 (m, 9 H), 2,36–2,16 (m, 2 H), 1,70–1,56 (m, 1 H), 1,44 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 577,41 (M+H).

Composto de Referência 55



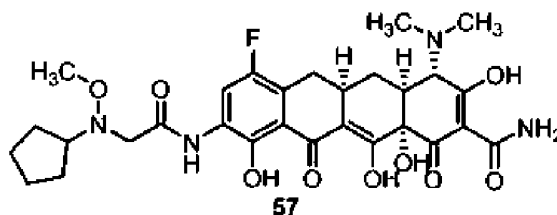
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,15 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,65 (t, $J = 4,8$ Hz, 2 H); 4,08 (s, 2 H), 4,00 (s, 1 H), 3,45 (t, $J = 4,4$ Hz, 1 H), 3,38 (t, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 3,20–2,87 (m, 9 H), 2,25–2,09 (m, 2 H), 1,59–1,50 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 551,0 (M+H).

Composto de Referência 56



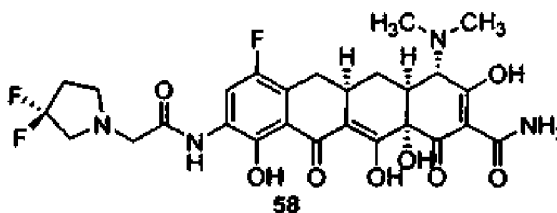
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 6,39 (tt, $J = 53,6, 3,2$ Hz, 1 H), 4,24 (s, 2 H), 4,13 (s, 1 H), 3,71 (td, $J = 15,2, 2,8$ Hz, 2 H), 3,19–2,91 (m, 9 H), 2,33–2,24 (m, 2 H), 1,70–1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 569,0 (M+H).

Composto de Referência 57



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,21 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,01 (s, 1 H), 3,85 (s, 2 H), 3,73 (s, 3 H), 3,59–3,51 (m, 1 H), 3,12–2,87 (m, 9 H), 2,23–2,12 (m, 2 H), 1,88–1,50 (m, 9 H); MS (ESI) m/z 559,1 (M+H).

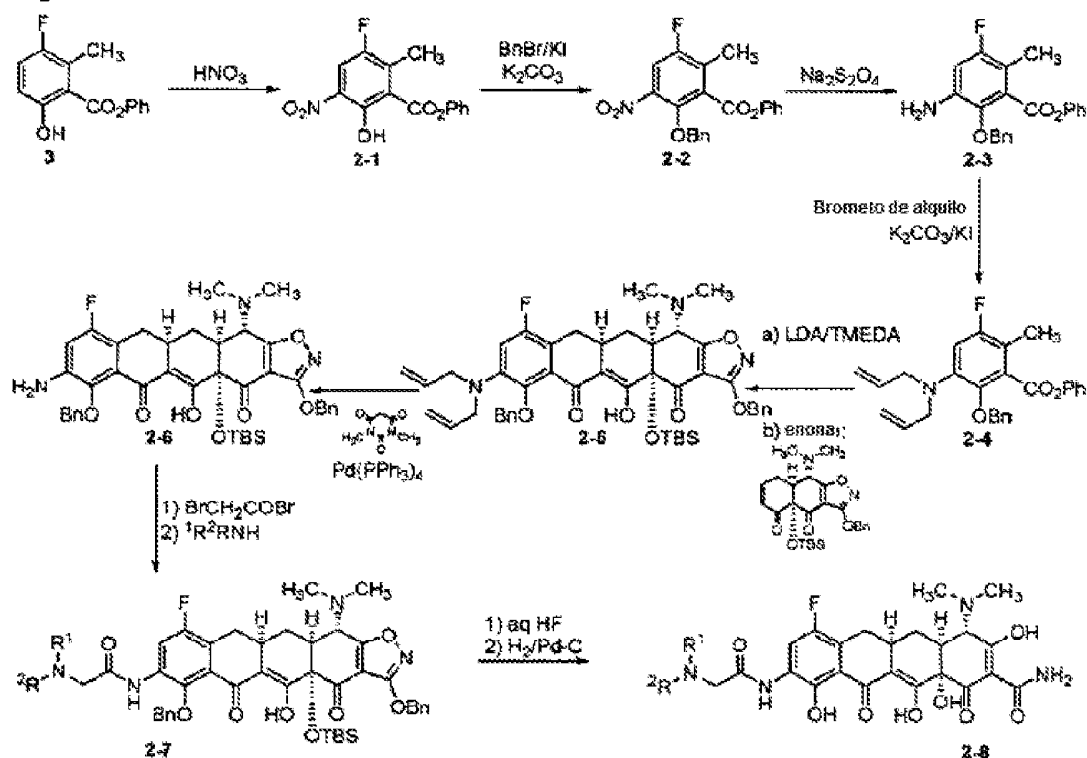
Composto de Referência 58



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,48 (s, 2 H), 4,12 (s, 1 H), 4,10–4,07 (m, 2 H), 3,93–3,86 (m, 2 H), 3,19–2,90 (m, 9 H), 2,79–2,67 (m, 2 H), 2,37–2,21 (m, 2 H), 1,59–1,51 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 595,0 (M+H).

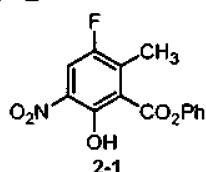
Exemplo de Referência 2. Síntese de Compostos de Referência de Fórmula Estrutural (I), em que R^1 e R^2 tomados em conjunto com o azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico.

Esquema 2



O seguinte composto e compostos de Referência foram preparados de acordo com o Esquema 2.

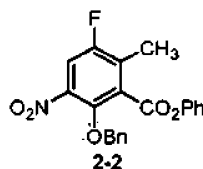
Composto de Preparação 2-1



A um balão de fundo redondo de 250 ml foi adicionado o composto 3 (14,47g, 56,30 mmol, 1,0 equiv, em bruto), brometo de tetrabutylamônio (0,90 g, 2,80 mmol, 0,05 equiv), 1,2-dicloroetano (60 ml), e água (60 ml). A bicamada transparente foi arrefecida num banho de água a 20 °C. Ácido nítrico (7,2 ml, 70 % em peso, 112,60 mmol, 2,0 equiv) foi adicionado. Após a adição, a reação temperatura

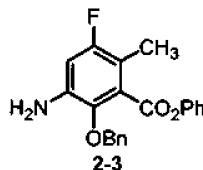
lentamente subiu até 26 °C. A reação foi agitada a temperatura ambiente durante a noite (19 h). TLC (heptano/EtOAc = 9,5/0,5) mostrou que a reação estava completa. A camada orgânica foi separada, lavada com água (60ml x 2) e salmoura, e seca em sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido para dar o composto **2-1** como um óleo marrom, que solidificou em repouso (17,71 g, quantitativo). O produto em bruto foi utilizado diretamente na seguinte etapa.

Composto de Preparação **2-2**



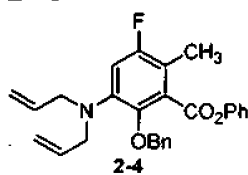
A um balão de fundo redondo de 250 ml foi adicionado composto **2-1** (17,7 g, 56,30 mmol 1,0 equiv), acetona (177 ml), carbonato de potássio anidro (15,6 g, 113,00 mmol, 2,0 equiv), e iodeto de potássio (0,47 g, 2,80 mmol, 0,05 equiv). À suspensão agitada a temperatura ambiente foi adicionado brometo de benzilo (7,03 ml, 59,10 mmol, 1,05 equiv). A suspensão foi então aquecida até 56 °C durante 4 h. TLC (heptano/EtOAc = 9/1) mostrou que a reação estava completa. O sólido foi removido por meio de filtração e lavado com acetona (30 ml). O filtrado foi concentrado para dar uma pasta. A pasta foi dividida entre metil *t*-butil éter (MTBE, 120 ml) e água (80 ml). A camada orgânica foi lavada com água (80 ml) e salmoura, seca em sulfato de sódio anidro e concentrada para dar o composto **2-2** como um óleo castanho (21,09 g, 98 %). O produto em bruto foi utilizado diretamente na seguinte etapa.

Composto de Preparação **2-3**



A um balão de 1 l de fundo redondo foi adicionado composto **2-2** (21,08 g, 55,40 mmol, 1,0 equiv) e THF (230 ml). A solução foi arrefecida num banho de água frio até 10 °C. A outro balão de fundo redondo de 500 ml contendo água (230 ml), hidrossulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 56,7 g, 276,80 mmol, 5,0 equiv) foi adicionado lentamente com agitação. A solução aquosa de hidrossulfito de sódio foi adicionada à solução em THF do composto **2-2**. A temperatura rapidamente subiu desde 10 °C até 20,4 °C após a adição. A suspensão amarela foi agitada enquanto o banho de água fria aqueceu lentamente até à temperatura ambiente durante a noite para dar uma solução turva laranja. A temperatura de reação durante este período estava entre 15 °C e 19 °C. TLC (heptano/EtOAc = 9/1) mostrou que a reação estava completa. A solução turva laranja foi diluída com EtOAc (460 ml). A camada orgânica foi lavada com água (150 ml x 2) e salmoura, seca em sulfato de sódio anidro, e concentrada sob pressão reduzida para dar o produto em bruto como um óleo castanho. O produto em bruto foi purificado por meio de coluna *flash* de sílica gel eluída com heptano/EtOAc 9/1 para render o produto desejado **2-3** (15,83 g, 80 %, 3 etapas).

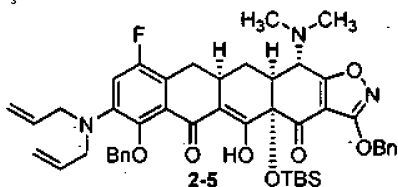
Composto de Preparação 2-4



A uma solução de NMP (50 ml) anilina **2-3** (10,02 g, 28,5 mmol, 1 equiv) foi adicionada brometo de alilo (7,65 ml, 85,5 mmol, 3 equiv) e carbonato de potássio (11,79 g, 85,5 mmol, 3 equiv). Iodeto de potássio (994,8 mg, 6 mmol, 0,2 equiv) foi adicionado e a mistura de reação foi colocada sob azoto e aquecida até 100 °C. Após 16 h, a reação foi arrefecida, diluída com água (60 ml), e extraída com EtOAc (75 ml, posteriormente 2 x 50 ml). Os extratos

orgânicos combinados foram lavados com água (2 x 35 ml), foram secos (Na_2SO_4), filtrados e concentrados para render o produto em bruto. A purificação através de cromatografia de coluna *flash* em sílica gel (RediSep, 125 g, gradiente 1-6 % de EtOAc em hexanos) deu 10,97 g de puro **2-4** (89 %): ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,42-7,30 (m, 7 H), 7,42-7,20 (m, 1 H), 7,00 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 6,72 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 5,77-5,70 (m, 2 H), 5,20-5,12 (m, 6 H), 3,81 (d, $J = 6,1$ Hz, 4 H), 2,26 (s, 3 H); MS (ESI) m/z 432,34 (M+H).

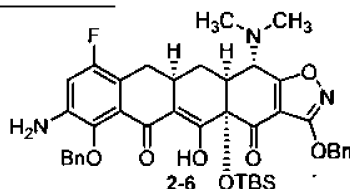
Composto de Preparação 2-5



Uma solução em THF (6,5 ml) de **2-4** (875 mg, 2,03 mmol, 1,25 equiv) foi adicionada a uma solução preparada recentemente de LDA em THF (0,051 M, 2,03 mmol, 40 ml, 1,25 equiv) e TMEDA (304 ml, 2,03 mmol, 1,25 equiv) a -78 °C. A reação foi agitada a -78 °C durante 15 min. Uma solução em THF (6,5 ml) de enona (784 mg, 1,62 mmol, 1,0 equiv) foi adicionada à mistura de reação gota a gota, seguido pela adição de solução de LHMDs (1,0 M em THF, 2,03 ml, 2,03 mmol, 1,25 equiv). A reação foi agitada desde -78 °C até -10 °C durante 1 h, extinta com NH_4Cl saturado (6 ml), e aquecida até 25 °C. A solução foi vertida em NH_4Cl saturado (20 ml) e extraída com EtOAc (2 x 75 ml). Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4), filtrados e concentrados para render o produto em bruto. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 μm , 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H_2O com 0,1 % de HCO_2H ; Solvente B: CH_3CN com 0,1 % de HCO_2H ; volume de injeção: 4x 3,6-4,2 ml (CH_3CN); gradiente: 88-100 % de B ao longo de 12 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada,

eluindo a 6,6-10,6 min, foram colhidas e liofilizadas para dar 552 mg de produto puro **2-5** (41 %): ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 16,22 (s, 1 H), 7,49-7,47 (m, 4 H), 7,37-7,31 (m, 6 H), 6,80 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 5,76-5,64 (m, 2 H), 5,35 (s, 2 H), 5,17-5,11 (m, 4 H), 4,98 (d, $J = 9,2$, 1 H), 4,87 (d, $J = 9,8$ Hz, 1 H), 3,96 (m, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 3,83-3,71 (m, 4 H), 3,14 (dd, $J = 14,7$, 4,3 Hz, 1 H), 3,0-2,87 (m, 1 H), 2,55-2,35 (m, 9 H), 2,11 (d, $J = 14,7$ Hz, 1 H), 0,82 (s, 9 H), 0,26 (s, 3 H), 0,13 (s, 3 H); MS (ESI) m/z 820,55 (M+H).

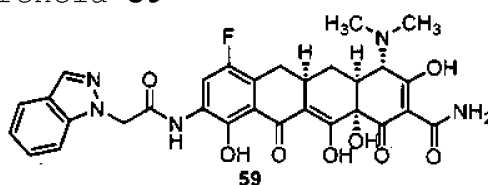
Composto de Preparação **2-6**



Uma solução de **2-5** (550 mg, 0,671 mmol, 1,0 equiv) em CH_2Cl_2 desgasificado (2,5 ml, com 1 e 1,5 ml de enxague) foi adicionada sob azoto via seringa a um balão seco por chama contendo ácido *N,N*-dimetilbarbitúrico (324 mg, 2,07 mmol, 3,0 equiv), e Tetraquis(trifenilfosfino)paládio(0) (56,9 mg, 0,0492 mmol, 0,07 equiv). A solução resultante foi aquecida até 35 °C durante 4 h, posteriormente concentrada para remover o solvente. A mistura em bruto resultante foi purificada via HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 μm , 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H_2O com 0,1 % de HCO_2H ; Solvente B: CH_3CN com 0,1 % de HCO_2H ; volume de injeção: 3x 3,1 ml (CH_3CN); gradiente: 80→100 % de B ao longo de 17 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,1-10,1 min, foram colhidas e liofilizadas para dar 352 mg de produto puro **2-6** (71 %): ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 16,10 (s, 1 H), 7,51-7,43 (m, 4 H), 7,9-7,29 (m, 6 H), 6,61 (d, $J = 9,8$ Hz, 1 H), 5,35 (s, 2 H), 4,87 (dd, $J = 22,6$, 10,4 Hz, 2 H), 3,96 (d, $J = 10,4$

Hz, 1 H), 3,91 (s, 2 H), 3,12 (dd, $J = 15,3, 10,1$ Hz, 1 H), 3,04-2,92 (m, 1 H), 2,55-2,31 (m, 9 H), 2,11 (d, $J = 14,7$ Hz, 1 H), 0,82 (s, 9 H), 0,27 (s, 3 H), 0,12 (s, 3 H); MS (ESI) m/z 740,44 (M+H).

Composto de Referência **59**



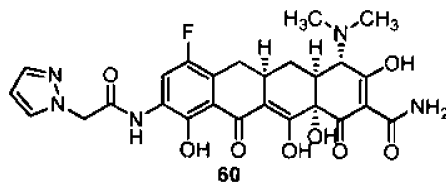
A uma solução de anilina **2-6** (30 mg, 0,041 mmol, 1 equiv) em THF (600 μ L) foi adicionada bromoacetilbrometo (3,7 μ L, 0,043 mmol, 1,05 equiv). Após 15 minutos, indazol (53 mg, 0,45 mmol, 10 equiv) foi adicionado. Após 15 h a reação foi aquecida até 80 °C. Após um 26 h adicionais, outros 20 mg de indazol (0,17 mmol, 4 equiv) foram adicionados e a reação aquecida a 80 °C. Após 20 h, o solvente foi removido *in vacuo* e a mistura em bruto resultante seca sob vácuo.

O intermediário em bruto anterior foi transferido para um vial de plástico em dioxano (1,2 ml) e uma solução aquosa de fluoreto de hidrogénio (50 %, 300 μ L) foi adicionada. Após cinco horas, a solução de reação foi diluída com uma solução aquosa de K_2HPO_4 (3,6 g em 30 ml) e extraída com EtOAc (2 x 30 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas para render o produto em bruto.

Paládio sobre carbono (10 %, 10 mg) foi adicionado a solução do intermediário em bruto anterior em dioxano:metanol (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação durante dois minutos, posteriormente a reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e

concentrada sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 4,8 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10–60 % de B ao longo de 15 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 14–14,65 min, foram colhidas e liofilizadas para render 3,6 mg de composto **59** (15 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,71 (s, 1 H), 8,19 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 7,92–7,90 (m, 1 H), 7,72–7,57 (m, 2 H), 7,35–7,29 (m, 1 H), 5,65 (s, 2 H), 4,08 (s, 1 H), 3,16–2,92 (m, 9 H), 2,31–2,18 (m, 2 H), 1,67–1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 606,41 (M+H).

Composto de Referência **60**



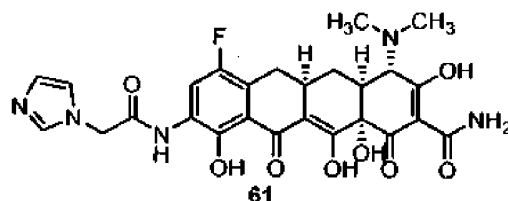
A uma solução de anilina **2-6** (22 mg, 0,030 mmol, 1 equiv) em THF (500 μ l) foi adicionado bromoacetilbrometo (2,7 μ l, 0,031 mmol, 1,05 equiv). Após 30 minutos, pirazol (36 mg, 0,53 mmol, 18 equiv) foi adicionado. Após 20 min a reação foi aquecida até 80 °C durante 1,5 h, arrefecido até temperatura ambiente durante 15 h, posteriormente aquecida a 80 °C durante 4,5 h. O solvente foi removido *in vacuo* e a mistura em bruto resultante seca sob vácuo.

O intermediário em bruto anterior foi transferido para um vial de plástico em acetonitrilo, (1,0 ml) e uma solução aquosa de fluoreto de hidrogénio (50 %, 200 μ l) foi adicionada. Após 20 h, a solução de reação foi diluída com uma solução aquosa de K₂HPO₄ (2,4 g em 20 ml) e extraída com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄), filtradas e concentradas para render

o produto em bruto.

Paládio sobre carbono (10 %, 10 mg) foi adicionado a solução do intermediário em bruto anterior em dioxano:metanol (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação durante dois minutos e a reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 3,0 ml (10 % CH₃CN em 0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10→60 % de B ao longo de 10 min, posteriormnte mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 8,8-10,2 min foram colhidas e liofilizadas. O sólido amarelo resultante foi purificado uma segunda vez via purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa utilizando o procedimento acima com um gradiente ao longo de 20 minutos, com as frações com a MM desejado eluindo a 10,7-12,4 min foram colhidas e liofilizadas para dar 8,2 mg de produto puro **60** (50 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,19 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 8,05-7,92 (m, 2 H), 6,62-6,57 (m, 1 H), 5,33 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,08 (s, 1 H), 3,16-2,90 (m, 9 H), 2,31-2,17 (m, 2 H), 1,69-1,55 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 556,42 (M+H).

Composto de Referência **61**



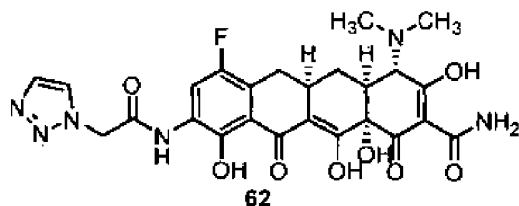
A uma solução de anilina **2-6** (23 mg, 0,032 mmol, 1 equiv) em THF (500 μ L) foi adicionada bromoacetilbrometo (2,9 μ L, 0,034 mmol, 1,05 equiv). Após 30 minutos, imidazol (32 mg, 0,47 mmol, 15 equiv) foi adicionado e a solução foi aquecida até 80 °C. Após 2 h, a solução foi arrefecida e o solvente foi removido *in vacuo*.

O intermediário em bruto anterior foi transferido para um frasco de plástico em dioxano (1,2 ml) e uma solução aquosa de fluoreto de hidrogénio (50 %, 200 μ L) foi adicionada. Após 1,5 h, a solução de reação foi diluída com uma solução aquosa de K_2HPO_4 (2,4 g em 30 ml) e extraída com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas para render o produto em bruto.

Paládio sobre carbono (10 %, 8 mg) foi adicionado a solução do intermediário em bruto anterior em dioxano:metanol (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação e a reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,5 h. Mais catalisador de paládio foi adicionado e a evacuação e enchimento de novo com hidrogénio foi realizada outras duas vezes a 1,5 h e 5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrados sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05N HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 2,8 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10-60 % de B ao longo de 15 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 7,0-7,8 min foram colhidas e liofilizadas para

dar 4,1 mg de produto puro **61** (23 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) 8 9,02 (s, 1 H), 8,17 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 7,67 (s, 1 H), 7,61 (s, 1 H), 5,34 (s, 2 H), 4,09 (s, 1 H), 3,18-2,90 (m, 9 H), 2,34-21,7 (m, 2 H), 1,71-1,56 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 556,45 (M+H).

Composto de Referência **62**



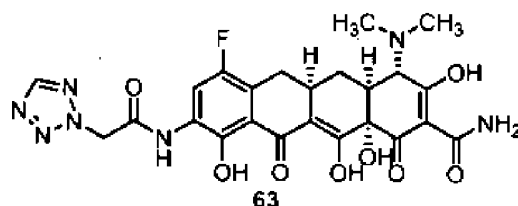
A uma solução de anilina 2-6 (20,2 mg, 0,027 mmol, 1 equiv) em THF (500 ml) foi adicionada bromoacetilbrometo (2,5 μl , 0,029 mmol, 1,05 equiv). Após 30 minutos, 1H-1,2,3-triazol (31 ml, 0,54 mmol, 20 equiv) foi adicionada e a solução foi aquecida até 80 °C. Após 17 h, 31 μl (20 equiv) adicionais de 1H-1,2,3-triazol foram adicionados e a solução foi aquecida durante 22 h. A solução foi arrefecida e o solvente foi removido *in vacuo*.

O intermediário em bruto anterior foi transferido para um frasco de plástico em dioxano (1,0 ml) e uma solução aquosa de fluoreto de hidrogénio (50 %, 200 μl) foi adicionada. Após 17 h, a solução de reação foi diluída com uma solução aquosa de K_2HPO_4 (2,4 g em 20 ml) e extraída com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas para render o produto em bruto.

Paládio sobre carbono (10 %, 7 mg) foi adicionado a solução do intermediário em bruto anterior em dioxano:metanol (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação e a reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrados sob pressão reduzida.

A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num Waters Autopurificação sistema utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 2,5 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10–60 % de B ao longo de 15 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 9,25–10,5 min foram colhidas e liofilizadas. A purificação foi realizada uma segunda vez como acima e as frações com a MM desejada, eluindo a 9,75–10,25 min foram colhidas e liofilizadas para dar 1,5 mg de produto puro **62** (10 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 8,8,24 (s, 1 H), 8,17 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 8,00 (s, 1 H), 5,57 (s, 2 H), 4,09 (s, 1 H), 3,16–2,92 (m, 9 H), 2,34–2,16 (m, 2 H), 1,71–1,67 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 557,44 (M+H).

Composto de Referência **63**



A uma solução de anilina **2-6** (16,7 mg, 0,023 mmol, 1 equiv) em THF (500 μ l) foi adicionada bromoacetilbrometo (2,0 μ l, 0,024 mmol, 1,05 equiv). Após 20 minutos, um tetrazol solução (0,45M em CH₃CN, 500 μ l, 0,23 mmol, 10 equiv) foi adicionada e a solução foi aquecida até 80 °C. Após 4 h, carbonato de potássio (35 mg, 0,25 mmol, 11 equiv) foi adicionado e a reação aquecida durante 35 minutos. A solução foi arrefecida e filtrada através de celite, e o solvente foi removido *in vacuo*.

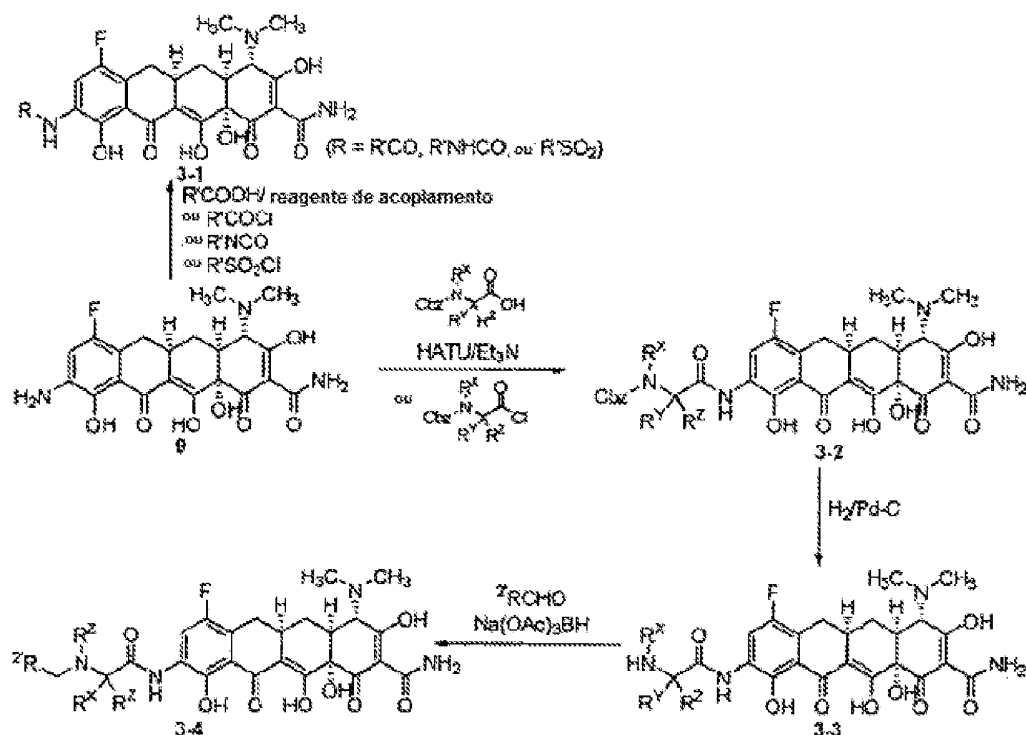
O intermediário em bruto anterior foi transferido para um frasco de plástico em dioxano (1,0 ml) e uma solução aquosa de fluoreto de hidrogénio (50 %, 200 μ l) foi adicionado. Após 18 h, a solução de reação foi diluída com uma solução aquosa de K₂HPO₄ (2,4 g em 20 ml) e extraída

com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas para render o produto em bruto.

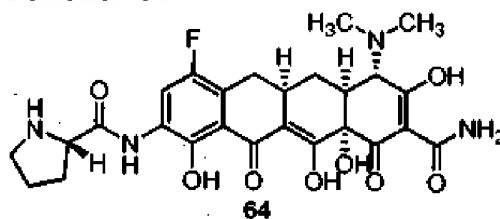
Paládio sobre carbono (10 %, 7 mg) foi adicionado a solução do intermediário em bruto anterior em dioxano:metanol (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação e a reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrados sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num Waters Autopurificação sistema utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 2,5 ml (10 % CH_3CN em 0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10→60 % de B ao longo de 15 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 11,2-12,1 min foram colhidas e liofilizadas. A purificação foi realizada uma segunda vez como acima com o gradiente estendido ao longo de 20 min. Frações com a MM desejada, eluindo a 13,7-14,5 min foram colhidas e liofilizadas para dar 1,6 mg de produto puro 63 (13 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,78 (s, 1 H), 8,14 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 5,78 (s, 2 H), 4,07 (s, 1 H), 3,17-2,81 (m, 9 H), 2,36-2,16 (m, 2 H), 1,70-1,52 (m, 1 H), MS (ESI) m/z 558,43 (M+H).

Exemplo 3. Síntese de Composto e compostos de Referência de Fórmula Estrutural (A), em que X é hidrogénio e Y é -NH-C(O)-heterociclilo, -NH-C(O)-heteroarilo -NH-C(O)-[C(R^D)(R^E)]₀₋₁-N(R^A)(R^B), -NH-C(O)-carbociclilo, -NH-C(O)-arilo, 5 -NH-SO₂-(C₁-C₆)alquilo, -NH-SO₂-carbociclilo, -NH-SO₂-arilo, -NH-SO₂-heterociclilo ou -NH-SO₂-heteroarilo.

Esquema 3



No Esquema 3, R' representa heterociclilo, heteroarilo, carbociclilo, arilo, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo, ou $[(\text{C}(\text{R}^{\text{D}})(\text{R}^{\text{E}}))]_{0-1}\text{-N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$; e $\text{R}^{2'}$ representa hidrogénio, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo, $-(\text{C}_0\text{-C}_5)$ alquilenocarbociclilo, $-(\text{C}_0\text{-C}_5)$ alquilenoarilo, $-(\text{C}_0\text{-C}_5)$ alquilenoheteroarilo, ou $-(\text{C}_0\text{-C}_5)$ alquilenoheterociclilo. Para certos compostos fabricados pelo Esquema 3 e descritos a seguir, R^{Z} é hidrogénio e R^{X} e R^{Y} são tomados em conjunto com os átomos de carbono e azoto ao qual estão ligados para formar um heterociclilo opcionalmente substituído de 4-7 membros saturado. Será prontamente aparente para um perito na especialidade, no entanto, que este Esquema 3 também será útil para sintetizar compostos onde R^{X} , R^{Y} e R^{Z} são R^{B} , R^{D} e R^{E} , respetivamente, como definido em Fórmula Estrutural (A). Os seguintes compostos foram preparados de acordo com o Esquema 3.

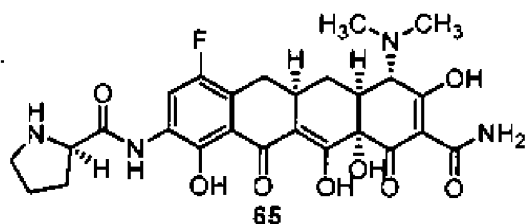
Composto de Referência **64**

A uma solução de anilina **9** (17,0 mg, 0,038 mmol, 1 equiv) em DMF (200 µl) foi adicionado cloreto ácido de N-Benziloxicarbonil-L-prolina (1,0 M em tolueno, 57 µl, 1,5 equiv). Após 50 min a mistura de reação foi diluída a 3 ml com 0,05 N de HCl em H₂O e filtrada para remover quaisquer sólidos. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa da solução resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 µ RP-γ 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 3,5 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10→20 % de B ao longo de 25 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 27,1-28,4 min, foram colhidas e liofilizadas.

Paládio sobre carbono (10 %, 10 mg) foi adicionado a uma solução do intermediário acima em dioxano:MeOH (1:3, 2,3 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. A solução de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,7 h, posteriormente foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. Metade do resíduo resultante foi purificado via purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 µ RP-γ 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 1,8 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 0→35 % de

B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 7,8-8,5 min, foram colhidas e liofilizadas para render 1,9 mg de composto **64** (30 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,16 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,59-4,56 (m, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,48-3,33 (m, 2 H), 3,18-2,95 (m, 9 H), 2,59-2,50 (m, 1 H), 2,34-2,05 (m, 5 H), 1,70-1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 545,38 (M+H).

Composto de Referência **65**

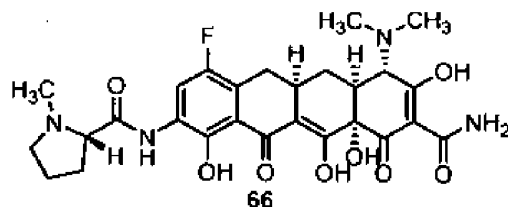


A uma solução de anilina **9** (15,7 mg, 0,035 mmol, 1 equiv) em DMF (200 μl) foi adicionado cloreto ácido de N-Benziloxicarbonil-D-prolina (1,0 M em tolueno, 53 μl , 1,5 equiv). Após 50 min, a reação estava completa. A mistura de reação foi diluída a 3 ml com 0,05 N de HCl em H_2O e filtrada para remover quaisquer sólidos. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa da solução resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 3,5 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 15-80 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,95-8,10 min, foram colhidas e liofilizadas.

Paládio sobre carbono (10 %, 15 mg) foi adicionado a uma solução do intermediário acima em dioxano:MeOH (1:3, 2,3 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio, e a reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de

hidrogênio durante 1,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrados sob pressão reduzida. Metade de resíduo resultante foi purificado via purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando um Polimerx 10 μ RP-y 100 R coluna [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 1,8 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 0→35 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 8,35-8,85 min, foram colhidas e liofilizadas para render 0,93 mg de composto 65 (24 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,17 (d, *J*= 11,0 Hz, 1 H), 4,59-4,53 (m, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,48-3,37 (m, 2 H), 3,18-2,90 (m, 9 H), 2,59-2,50 (m, 1 H), 2,34-2,05 (m, 5 H), 1,70-1,59 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 545,37 (M+H).

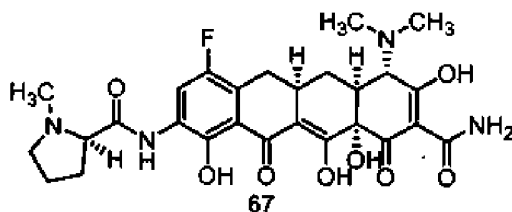
Composto de Referência **66**



A segunda metade do produto em bruto **64** (0,012 mmol, 1,0 equiv) foi dissolvido em DMF (500 μ l), e formaldeído (37 % solução aquosa, 5,3 μ l, 0,072 mmol, 6 equiv), trietilamina (5,0 μ l, 0,036 mmol, 3 equiv), e triacetoxi-borohidreto de sódio (8,4 mg, 0,039 mmol, 3,2 equiv) foram adicionados em sequência. Após 2 h, a mistura de reação foi diluída a 1,8 ml com 0,05 N de HCl em H₂O e purificada via HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 1,8 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 0→30 % de B ao longo de 10 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com

a MM desejada, eluindo a 8,6-9,35 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar uma mistura do composto desejado e um produto super-formilado. A mistura de composto resultante foi dissolvida em 4 N de solução aquosa de HCl (1,5 ml) e agitada durante 50 h, posteriormente liofilizada para proporcionar 1,0 mg do composto desejado 66 (15 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,17 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,82-3,73 (m, 1 H), 3,20-2,90 (m, 12 H), 2,73-2,68 (m, 1 H), 2,35-2,10 (m, 5 H), 1,70-1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 559,38 (M+H).

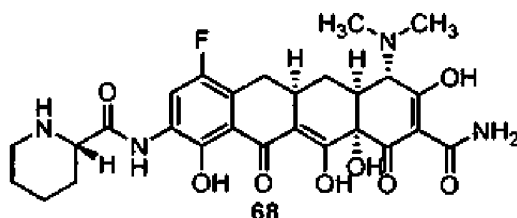
Composto de Referência 67



A segunda metade do produto em bruto 65 (0,007 mmol, 1,0 equiv) foi dissolvido em DMF (500 μl), e formaldeído (37 % solução aquosa, 3,1 μl , 0,042 mmol, 6 equiv) e TEA (3,0 μl , 0,021 mmol, 3 equiv), e triacetoxiborohidreto de sódio (4 mg, 0,026 mmol, 2,6 equiv) foram adicionados em sequência. Após 2,2 h, a mistura de reação foi diluída a 1,8 ml com 0,05 N de HCl em H_2O e purificada via HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando um utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μm , solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 2,0 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 0-30 % de B ao longo de 10 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 8,9-9,6 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar uma mistura do composto desejado e um produto super-formilado. A mistura de composto resultante foi dissolvida em 6 N de solução aquosa de HCl e agitada durante 50 h, posteriormente foi liofilizada para proporcionar 1,5 mg do composto desejado

67 (38 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,17 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 4,45-4,34 (m, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,84-3,74 (m, 1 H), 3,20-2,90 (m, 12 H), 2,79-2,65 (m, 1 H), 2,33-2,05 (m, 5 H), 1,70-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 559,40 ($\text{M}+\text{H}$).

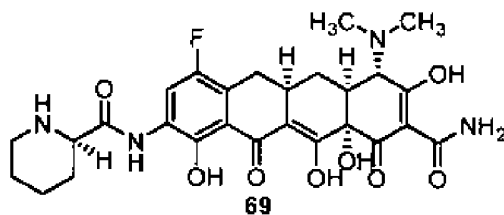
Composto de Referência **68**



A uma solução de ácido (*S*)-(-)-1-Cbz-piperidinacarboxílico (34,2 mg, 0,13 mmol, 3 equiv), e (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio) (50,0 mg, 0,13 mol, 3 equiv) em DMF (200 μl) foi adicionada trietilamina (18 μl , 0,13 mmol, 3 equiv). Após 30 min, anilina **9** (17,5 mg, 0,039 mmol, 1 equiv) foi adicionada. Após 16 h, a mistura de reação foi diluída a 3 ml com 0,05 N de HCl em H_2O e purificada via HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20mm, 10 μm , solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 3,5 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 15 $\rightarrow$ 70 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 9,07-10,0 min, foram colhidas e liofilizadas. Paládio sobre carbono (10 %, 4 mg) foi adicionado a uma solução desta espuma em dioxano:MeOH (1:3, 1,2 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. A mistura de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,5 h, posteriormente foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrados sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo

resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 2,0 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 0→35 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 8,15-8,58 min, foram colhidas e liofilizadas para render 0,75 mg de composto **68** (4 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,15 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 4,12-4,06 (m, 2 H), 3,48-3,40 (m, 2 H), 3,20-2,90 (m, 9 H), 2,36-2,18 (m, 3 H), 2,02-1,90 (m, 2 H), 1,82-1,60 (m, 4 H); MS (ESI) m/z 559,37 (M+H).

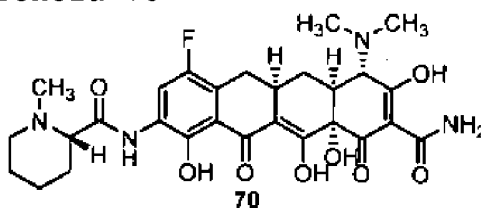
Composto de Referência **69**



A uma solução de ácido (R)-(+)-1-Cbz-piperidinacarboxílico (35,0 mg, 0,13 mmol, 3 equiv), e hexafluorofosfato de (2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio) (50,0 mg, 0,13 mol, 3 equiv) em DMF (200 μ l) foi adicionada TEA (18 μ l, 0,13 mmol, 3 equiv). Após 30 min, anilina 9 (16,6 mg, 0,037 mmol, 1 equiv) foi adicionada. Após 16 h, a mistura de reação foi diluída a 3 ml com 0,05 N de HCl em H₂O e purificada via HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 3,5 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10→50 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 12,1-12,9 min, foram

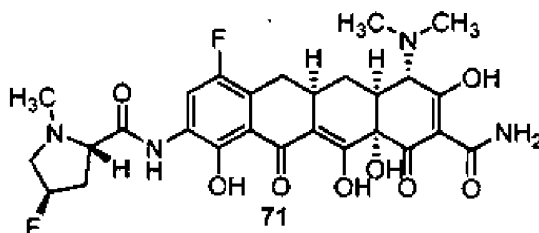
colhidas e liofilizadas. Paládio sobre carbono (10 %, 5 mg) foi adicionado a uma solução desta espuma em dioxano:MeOH (1:3, 800 µl). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. A mistura de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,75 h, posteriormente foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 µ RP-y 100 R [30 x 21,20mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 2,0 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 0→35 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 8,75-9,16 min, foram colhidas e liofilizadas para render 0,55 mg de composto 69 (3 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 8 8,16 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 4,13-4,06 (m, 2 H), 3,50-3,43 (m, 2 H), 3,20-2,90 (m, 9 H), 2,38-2,18 (m, 3 H), 2,04-1,88 (m, 2 H), 1,83-1,60 (m, 4 H); MS (ESI) *m/z* 559,38 (M+H).

Composto de Referência 70



A uma solução de composto 68 (0,0138 mmol, 1 equiv) em DMF (750 µl), foram adicionados formaldeído (37 % solução aquosa, 6,2 µl, 0,083 mmol, 6 equiv), TEA (5,8 µl, 0,041 mmol, 3 equiv), e triacetoxiborohidreto de sódio (11 mg, 0,051 mmol, 3,7 equiv) em sequência. Após 17 h, a mistura de reação foi concentrada para remover amina e 6 N de HCl aquoso (500 µl) foi adicionado. Após 19 dias, a solução de reação foi purificada via HPLC preparativa de fase reversa

num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN, volume de injeção: 2,5 μ l (0,05 N de HCl em água); gradiente: 15→50 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 5,75-6,2 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 2,4 mg do composto desejado **70** (31 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,16 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 4,08-4,04 (m, 1 H), 3,59-3,53 (m, 1 H), 3,20-3,10 (m, 5 H), 3,06-2,96 (m, 5 H), 2,90m (s, 3 H), 2,36-2,25 (m, 2 H), 2,11-2,05 (m, 1 H), 2,02-1,94 (m, 2 H), 1,90-1,74 (m, 2 H), 1,71-1,58 (m, 2 H); MS (ESI) *m/z* 573,33 (M+H).

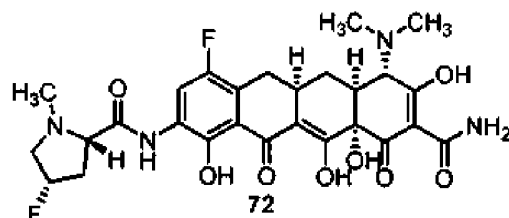
Composto de Referência **71**

Ao composto **9** (20 mg, 0,045 mmol, 1,0 equiv) em THF foi adicionada Na₂CO₃ (9,5 mg, 0,089 mmol, 2,0 equiv), (4R)-4-fluoro-1-metil-L-prolina (9,8 mg, 0,067 mmol, 1,5 equiv) e HATU (34,6 mg, 0,047 mmol, 2,0 equiv). A mistura de reação foi agitada a temperatura ambiente durante 20 horas. A análise de LC-MS indicou que o material de partida foi consumido completamente. HCl/MeOH (1 ml, 4 N) foi adicionada à mistura a 0 °C e agitada durante 2 min. A mistura foi concentrada sob vácuo, o resíduo foi purificado por meio de HPLC de fase reversa para dar produto **71** (6,1 mg): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,18 (d, *J* = 10,8 Hz, 1 H), 5,51 (d, *J* = 51,6 Hz, 1 H), 4,76-4,72 (m, 1 H), 4,22-4,16 (m, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,74-3,63 (m, 1 H), 3,21-2,97 (m, 14 H), 2,35-2,21 (m, 2 H), 1,69-1,60 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 577,1 (M+H).

Compostos de Referência **72** e **73** foram preparados de

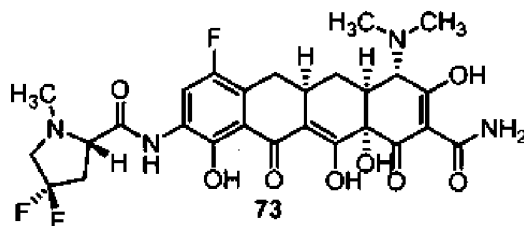
forma semelhante ao composto **71** utilizando os aminoácidos correspondentes.

Composto de Referência **72**



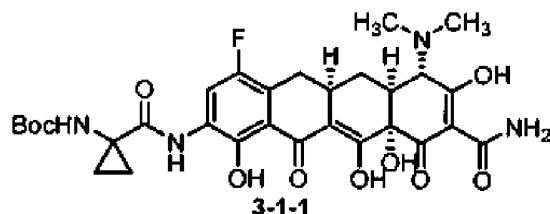
Preparado de forma semelhante ao composto 71: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,16 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 5,48 (d, $J = 51,2$ Hz, 1H), 4,60-4,56 (m, 1 H), 4,11 (s, 1 H), 4,05-3,98 (m, 1 H), 3,67-3,54 (m, 1 H), 3,24-2,96 (m, 13 H), 2,55-2,44 (m, 1 H), 2,34-2,22 (m, 2 H), 1,70-1,66 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 577,1 (M+H).

Composto de Referência **73**



Preparado de forma semelhante ao composto 71: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,18 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 4,76-4,71 (m, 1 H), 4,17-4,12 (m, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,96-3,86 (m, 1 H), 3,67-3,53 (m, 1 H), 3,55-3,53 (m, 1 H), 3,25-2,73 (m, 12 H), 2,33-2,19 (m, 2 H), 1,68-1,59 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 595,3 (M+H).

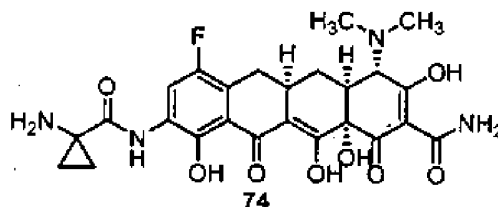
Composto de Referência **3-1-1**



Ácido 1-(Boc-amino)ciclopropanocarboxílico (67,4 mg, 0,335 mmol), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametilurônio (127 mg, 0,335 mmol), e trietilamina (0,078 ml, 0,56 mmol) foram agitados em DMF (1

ml) durante 30 minutos. O composto **9** (50 mg, 0,112 mmol) foi adicionado. Após agitação durante a noite, a mistura de reação foi purificada diretamente através de purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP- γ 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl, solvente B: CH₃CN, eluição de gradiente com 0→50 % de B ao longo de 10 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas. O material foi repurificado por meio de Purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP- γ 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl, solvente B: CH₃CN, eluição de gradiente com 0→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas. Isto deu 42 mg de composto **3-1-1** (59 %, -80 % puro) que foi utilizado sem purificação adicional: MS (ESI) m/z 631,41 (M+H).

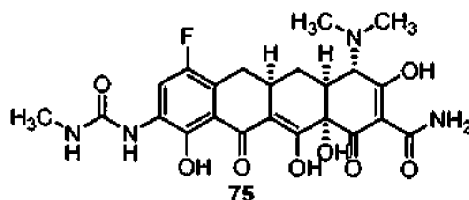
Composto de Referência **74**



O composto **3-1-1** (42 mg, 0.067 mmol), -80 % puro) foi agitado em 4 M de HCl em 1,4-dioxano (5 ml) durante a noite. A mistura de reação foi concentrada sob pressão reduzida e foi purificada por meio de Purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP- γ 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl, solvente B: CH₃CN, eluição de gradiente com 0→50 % de B ao longo de 10 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas. O material foi dissolvido em MeOH (1 ml), e a

solução foi adicionada gota a gota a éter dietílico agitado vigorosamente (200 ml). O sólido resultante foi colhido por meio de filtração numa almofada de Celite. Isto foi lavado com éter dietílico (3 vezes), e o sólido foi dissolvido em MeOH e concentrado sob pressão reduzida. O material foi liofilizado, rendendo 25,8 mg de composto **74**: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD com 1 gota de DCl) δ 8,00 (d, $J = 7,0$ Hz, 1 H), 4,05 (s, 1 H), 3,20–2,85 (m, 9 H), 2,36–2,06 (m, 2 H), 1,70–1,52 (m, 3 H), 1,35–1,22 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 531,33 (M+H).

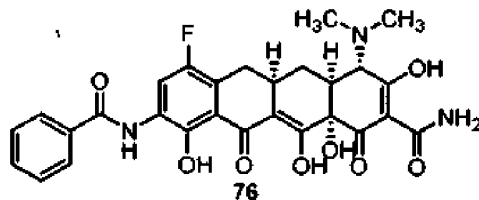
Composto de Referência **75**



A uma suspensão de diclorometano (5 ml) de composto **9** (0,260 g, 0,50 mmol, 1,0 equiv) a ta foi adicionada trietilamina (0,139 ml, 1,00 mmol, 2,0 equiv). A reação foi agitada a ta até formar uma solução transparente. Metilisocianato (89,4 μl , 1,50 mmol, 3,0 equiv) foi adicionado à mistura de reação gota a gota. A reação foi deixada a agitar a 25 °C durante 1 h. Metilisocianato adicional (45 μl , 0,75 mmol, 1,5 equiv) foi adicionado e agitada durante a noite. LCMS indicou que ainda havia material de partida presente. O solvente foi removido sob vácuo para dar o produto em bruto **75**. O produto em bruto foi purificado por meio de HPLC num coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μm , solvente A: 0,05 N de HCl, solvente B: CH_3CN , sample em 2,0 ml (0,05 N de HCl), eluição de gradiente com 15–65 % de B ao longo de 15 min, colheita de fração dirigida por massa] para render o produto desejado **75** como um sólido amarelo (80 mg, 31,7 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,12 (d, $J = 11,4$ Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 3,13–2,93 (m, 3 H), 2,77 (s, 3 H), 2,27–2,15 (m, 2 H), 1,69–1,57 (m, 1 H);

MS (ESI) m/z 505,41 (M+H).

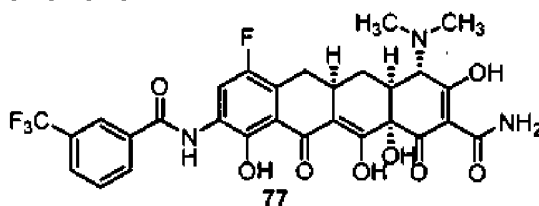
Composto de Referência **76**



Composto **9** (20 mg, 0,045 mmol, 1,0 equiv) em THF foi adicionado Na_2CO_3 (9,5 mg, 0,089 mmol, 2,0 equiv) e 0,1 ml de solução cloreto de benzoilo (54 μL em 1 ml THF, 0,047 mmol, 1,05 equiv). A mistura de reação foi agitada a temperatura ambiente durante 1 hora. A análise de LC-MS indicou que o material de partida foi consumido completamente. HCl/MeOH (1 ml, 4 N) foi adicionada à mistura a 0 °C e agitada durante 2 min. A mistura foi concentrada sob vácuo, o resíduo foi purificado por meio de HPLC de fase reversa para dar produto **76** (5,5 mg): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 7,97 (d, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 7,66–7,54 (m, 3 H), 4,11 (s, 1H), 3,21–2,90 (m, 9 H), 2,37–2,24 (m, 2 H), 1,72–1,66 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 552,1 (M+H).

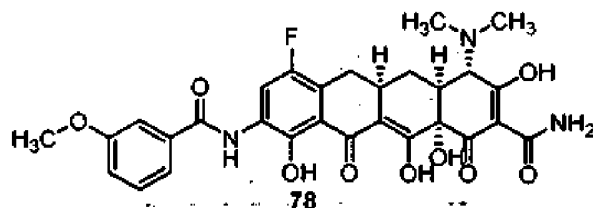
Os compostos de Referência **77** – **83** foram preparados de forma semelhante ao composto **76** utilizando os cloretos ácidos correspondentes.

Composto de Referência **77**



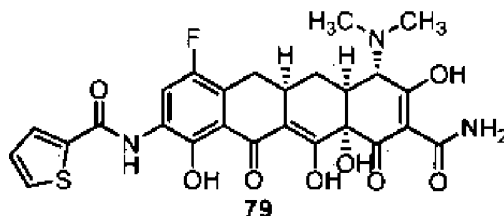
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,25 (s, 1 H), 8,21 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 8,14 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 7,92 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,76 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,21–2,89 (m, 9 H), 2,35–2,22 (m, 2 H), 1,71–1,61 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 620,1 (M+H).

Composto de Referência 78



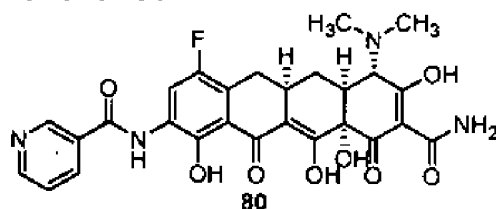
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,10 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 7,41–7,33 (m, 3 H), 7,09–7,07 (m, 1 H), 4,00 (s, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 3,12–2,86 (m, 9 H), 2,23–2,13 (m, 2 H), 1,60–1,50 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 582,1 (M+H).

Composto de Referência 79



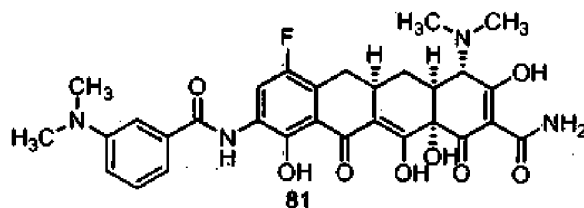
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,12 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 7,89 (d, $J = 3,2$ Hz, 1 H), 7,78 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 7,22 (t, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,20–2,98 (m, 9 H), 2,36–2,20 (m, 2 H), 1,68–1,61 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 558,1 (M+H).

Composto de Referência 80



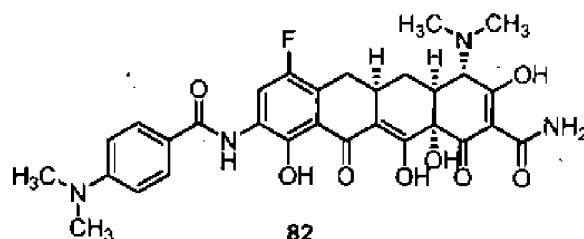
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 9,34 (s, 1 H), 9,04–9,00 (m, 2 H), 8,20–8,15 (m, 2 H), 4,07 (s, 1 H), 3,27–2,94 (m, 9 H), 2,34–2,18 (m, 2 H), 1,68–1,59 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 553,1 (M+H).

Composto de Referência 81



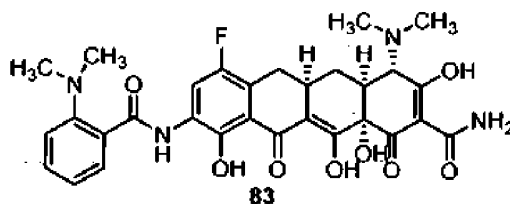
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,13-8,06 (m, 2 H), 7,98 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,77 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 7,67 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 4,01 (s, 1 H), 3,26 (s, 6 H), 3,14-2,83 (m, 9 H), 2,27-2,13 (m, 2 H), 1,64-1,52 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 595,1 (M+H).

Composto de Referência **82**



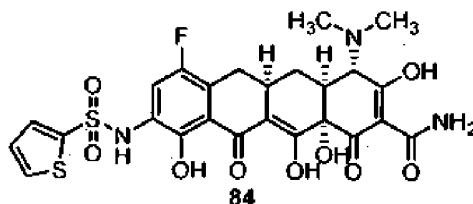
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,08 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 7,98 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H), 7,49 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H), 4,02 (s, 1 H), 3,19 (s, 6 H), 3,12-2,88 (m, 9 H), 2,24-2,13 (m, 2H), 1,60-1,51 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 595,1 (M+H).

Composto de Referência **83**



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,19-8,14 (m, 2 H), 8,05 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,91-7,89 (m, 1 H), 7,76-7,74 (m, 1 H), 4,12 (s, 1 H), 3,32 (s, 6H), 3,21-2,96 (m, 9 H), 2,41-1,98 (m, 2 H), 1,72-1,59 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 595,0 (M+H).

Composto de Referência **84**

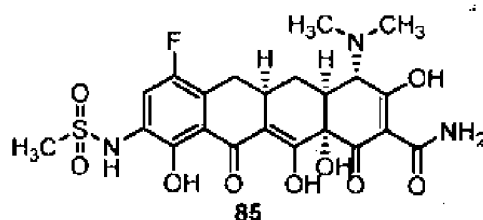


O composto 9 (20 mg, 0,045 mmol, 1,0 equiv) em THF foi adicionado DIEA (11,5 mg, 0,089 mmol, 2,0 equiv) e 2-cloreto de tiofenossulfonilo (12,2 mg, 0,067 mmol, 1,5 equiv). A mistura de reação foi agitada a temperatura ambiente durante 20 horas. A análise de LC-MS indicou que o

material de partida foi consumido completamente. HCl/MeOH (1 ml, 4 N) foi adicionado à mistura a 0°C e agitada durante 2 min. A mistura foi concentrada sob vácuo, o resíduo foi purificado por meio de HPLC de fase reversa para dar o composto **84** (2,0 mg): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,75 (dd, $J = 5,2, 1,2$ Hz, 1 H), 7,59 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 7,52 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 7,09 (t, $J = 4,4$ Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,11-2,92 (m, 9 H), 2,30-2,18 (m, 2 H), 1,68-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 593,9 (M+H).

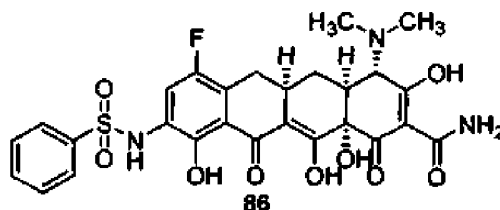
Os compostos **85** - **87** foram preparados de forma semelhante ao composto **84** utilizando os correspondentes cloretos de sulfonilo.

Composto de Referência **85**



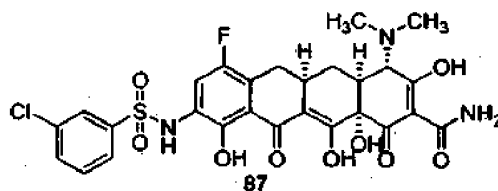
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,44 (d, $J = 10,0$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,21-2,90 (m, 12 H), 2,34-2,22 (m, 2 H), 1,67-1,61 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 526,1 (M+H).

Composto de Referência **86**



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,82 (d, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 7,58-7,46 (m, 4 H), 4,07 (s, 1 H), 3,10-2,92 (m, 9 H), 2,35-2,25 (m, 2 H), 1,65-1,55 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 552,1 (M+H).

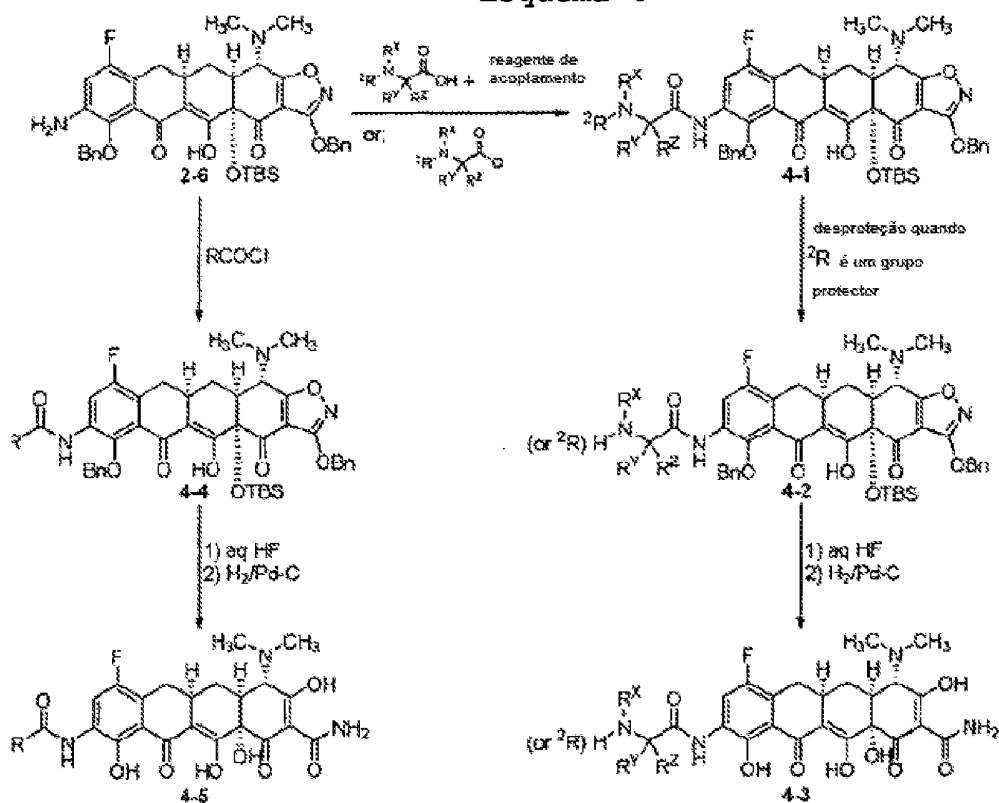
Composto de Referência **87**



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,72 (t, $J = 5,6$ Hz 1 H), 7,62 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,50 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,41-7,38 (m, 2 H), 3,97 (s, 1 H), 3,03-2,82 (m, 9 H), 5 2,19-2,06 (m, 2 H), 1,53-1,50 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 622,1 (M+H).

Exemplo de Referência 4. Síntese de Compostos de Referência de Fórmula Estrutural (I), em que X é hidrogénio e Y é -NH-C(O)-heterociclilo ou -NH-C(O)-heteroarilo

Esquema 4

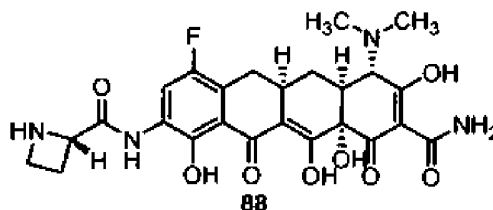


No Esquema 4, R representa heteroarilo e R^2 é R^{A} conforme definido na Fórmula Estrutural (A). Para certos compostos fabricados pelo Esquema 4 e descritos abaixo, R^{Z} é hidrogénio e R^{X} e R^{Y} são tomados em conjunto com os átomos de carbono e azoto ao qual são respetivamente ligados para formar um heterociclilo opcionalmente substituído de 4-7 membros saturado. Será prontamente aparente para um perito na especialidade, no entanto, que

este Esquema 4 também será útil para sintetizar compostos onde R^X , R^Y e R^Z são R^B , R^D e R^E , respectivamente, como definido em Fórmula Estrutural (A).

Os seguintes compostos foram preparados de acordo com Esquema 4.

Composto de Referência **88**



A uma suspensão de ácido 1-Fmoc-L-azetidina-2-carboxílico (135 mg, 0,42 mmol, 2,9 equiv), e (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio) (164 mg, 0,43 mol, 3 equiv) em THF (1,5 ml) foi adicionada trietilamina (60 μ l, 0,43 mmol, 3 equiv). Após 30 min, anilina 2-6 (106 mg, 0,14 mmol, 1 equiv) foi adicionada. Após 18 h, a mistura de reação foi concentrada sob pressão reduzida. HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 μ m, 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H₂O com 0,1 % de HCO₂H; Solvente B: CH₃CN com 0,1 % de HCO₂H; volume de injeção: 3 x 2,0 ml (CH₃CN), gradiente: 80→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 10,35-12,0 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 131 mg de um pó amarelo.

A uma solução do intermediário acima em CH₂Cl₂ (2 ml) foi adicionada piperidina (500 μ l). Após 30 min, a solução de reação foi vertida em tampão fosfato aquoso pH 7 e extraída com EtOAc (3 x 20 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄), filtradas e concentradas sob pressão reduzida. A purificação do óleo em bruto resultante via cromatografia de coluna *flash* em sílica gel

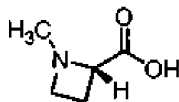
(Siliciclo, 5 g, 0 a 5 a 10 a 50 % de EtOAc em hexano gradiente) forneceu 47,6 mg do intermediário.

Metade do intermediário acima (24 mg) foi dissolvido em acetonitrilo (1 ml), e uma solução aquosa de HF (50 %, 200 μ l) foi adicionada. Após 18,5 h, a solução de reação foi vertida numa solução aquosa de K_2HPO_4 (2,5 g em 20 ml) e extraída com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas sob pressão reduzida.

Paládio sobre carbono (10 %, 12,5 mg) foi adicionado a uma solução do intermediário acima em dioxano:MeOH (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação durante três minutos, e a mistura de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 4,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando um Polimerx 10 μ RP-y 100 R coluna [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 3,0 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 0-30 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 9,8-11,25 min, foram colhidas e liofilizadas. O pó impuro resultante foi purificado via HPLC preparativa de fase reversa como acima com eluição de gradiente com 15-50 % de B ao longo de 12 min, posteriormente mantido a 100 % durante 3 min; colheita de fração dirigida por massa. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,5-8,0 min, foram colhidas e liofilizadas para render 2,0 mg de composto **88** (5 %): 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) 8 8,25 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 5,29-5,24 (m, 1 H), 4,20-4,11

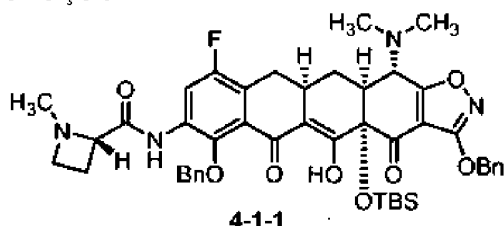
(m, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,19-2,89 (m, 10 H), 2,69-2,56 (m, 1 H), 2,33-2,19 (m, 2 H), 1,68-1,56 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 531,30 (M+H).

Ácido *N*-metil-L-azetidina-2-carboxílico



A uma suspensão de ácido L-azetidina-2-carboxílico (290 mg, 2,87 mmol, 1 equiv) em MeOH (3,6 ml), foi adicionada solução aquosa de formaldeído (37 %, 235 µl, 3,15 mmol, 1,1 equiv) e paládio sobre carbono (10 %, 76 mg). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. A reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 19 h, e foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio. A solução resultante foi concentrada sob pressão reduzida, concentrada de tolueno três vezes e seca sob vácuo para dar ácido *N*-metil-L-azetidina-2-carboxílico: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 4,50 (t, $J = 9,5$ Hz, 1 H), 3,96 (dt, $J = 4,3, 9,8$ Hz, 1 H), 3,81 (q, $J = 9,8$ Hz, 1 H), 2,86 (s, 3 H), 2,71-2,60 (m, 1 H), 2,50-2,38 (m, 1 H).

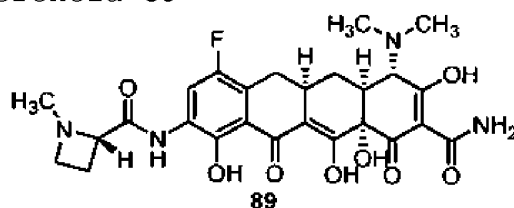
Composto de Preparação 4-1-1



A uma suspensão de anilina 2-6 (302 mg, 0,408 mmol, 1 equiv) e *N*-metil-L-azetidina-2-carboxílico ácido (148 mg, 1,28 mmol, 3,1. equiv) em CH_2Cl_2 (6 ml) foi adicionada tetrafluoroborato de *O*-(Benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (395 mg, 1,23 mmol, 3 equiv) e DIEA (285 µl, 1,64 mmol, 4 equiv). Após 16,5 h, a solução laranja resultante foi concentrada sob pressão reduzida e purificada via HPLC preparativa de fase reversa num sistema

de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 μ m, 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H₂O com 0,1 % de HCO₂H; Solvente B: CH₃CN com 0,1 % de HCO₂H; volume de injeção: 4 x 2,5-3,0 ml (CH₃CN); gradiente: 50-90 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Dois conjuntos de frações com a MM desejada, eluindo a 4,6-6,5 min e 6,5-9,4 min, foram colhidas separadamente e liofilizadas para proporcionar 147 mg de **4-1-1** (43 %): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 16,04 (s, 1 H), 10,10 (s, 1 H), 8,48 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 7,54-7,48 (m, 4 H), 7,40-7,32 (m, 5 H), 5,36 (s, 2 H), 4,99 (d, *J* = 9,8 Hz, 1 H), 4,90 (d, *J* = 9,8 Hz, 1 H), 3,96 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 3,54 (t, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 3,39-3,34 (m, 1 H), 3,25-3,19 (m, 1 H), 3,05-2,92 (m, 2 H), 2,58-2,36 (m, 10 H), 2,23-2,06 (m, 4 H), 0,81 (s, 9 H), 0,28 (s, 3 H), 0,11 (s, 3 H); MS (ESI) *m/z* 837,37 (M+H).

Composto de Referência **89**



A uma solução de **4-1-1** (147 mg, 0,175 mmol, 1 equiv) em dioxano (3,5 ml) foi adicionada uma solução aquosa de HF (50 %, 750 μ l). Após 4 h, a solução de reação foi vertida numa solução aquosa de K₂HPO₄ (9 g em 90 ml) e extraída com EtOAc (2 x 50 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄), filtradas e concentradas sob pressão reduzida para proporcionar 128,4 mg de uma espuma amarela em bruto.

O produto de desproteção de HF (144 mg, 0,199 mmol, 1 equiv) foi dissolvido em dioxano:MeOH (1:1, 4 ml), e paládio sobre carbono (10 %, 43,5 mg) foi adicionado. O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação durante três

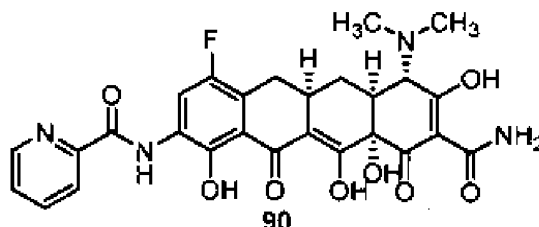
minutos, e a mistura de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 3,25 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. HPLC preparativa de fase reversa deste óleo foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 2 x 3,2 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 10→35 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,10-8,40 min e 6,9-9,4 min, respetivamente durante cada execução, foram combinadas. O pH da solução a 0 °C foi ajustado (pH 1,8 a pH 7,4) via adição gota a gota de 0,5 M de solução aquosa de NaOH (aproximadamente 7,8 ml) e monitorização cuidadosa com um pHmetro eletrónico. A solução aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ (3 x 60 ml) e as camadas orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄), filtradas e concentradas sob pressão reduzida para proporcionar 79,7 mg de composto 89 como a base livre (0,146 mmol, 73 %). Este sólido amarelo foi dissolvido em MeOH (3 ml), e MeSO₃H (19 μ l, 0,292 mmol, 2 equiv) foi adicionado. A solução foi concentrada sob pressão reduzida, seca sob vácuo, e liofilizada de água para proporcionar 105 mg de 89 como o sal dimesilato. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 8,22 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 5,16 (t, *J* = 8,6 Hz, 1 H), 4,21-4,12 (m, 1 H), 4,09-4,02 (m, 2 H), 3,17-2,85 (m, 10 H), 2,68 (s, 6 H, mesilato H), 2,64-2,59 (m, 1 H), 2,34-2,15 (m, 2 H), 1,70-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 545,18 (M+H).

Procedimentos Gerais para a Preparação de Compostos de Referência **90 - 94**

A uma solução de anilina **2-6** (1 equiv) em THF (0,05-0,09M) foi adicionado um cloreto ácido (3 equiv). A solução de reação foi filtrada através de celite e concentrada sob

pressão reduzida. O óleo resultante foi dissolvido em dioxano (1 ml) e uma solução aquosa de HF (50 %, 200 µl) foi adicionada. Após a conclusão, a reação foi vertida numa solução aquosa de K_2HPO_4 (2,6 g em 30 ml) e extraída com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Paládio sobre carbono (10 %) foi adicionado a uma solução deste óleo em bruto em dioxano:MeOH (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio, e posteriormente a solução foi desgasificado com borbulhamento de hidrogénio durante 2 minutos. A reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 2 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. Os produtos em bruto foram purificados por meio de HPLC preparativa de fase reversa.

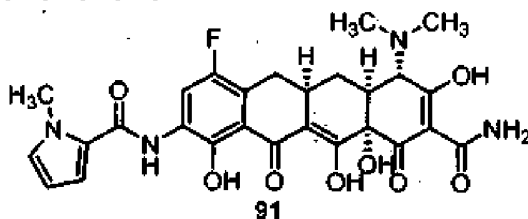
Composto de Referência 90



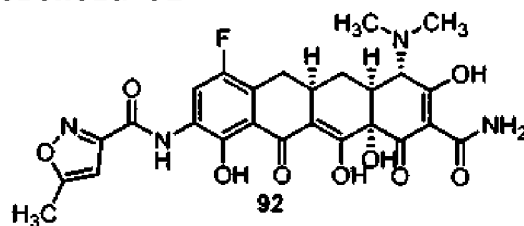
Preparado através do procedimento geral acima com os seguintes reagentes: anilina **2-6** (21,1 mg, 0,028 mmol, 1 equiv), cloreto de picolinoilo cloridrato (15,8 mg, 0,088, 3 equiv), com trietilamina (11,7 µl, 0,084 mmol, 3 equiv), e 10 % de Pd-C (10 mg), forneceu um óleo em bruto. HPLC preparativa de fase reversa do produto em bruto foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 µ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 2,5 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 10–60 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada,

eluindo a 14,8-16,4 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 5,8 mg do composto desejado **90** (37 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,73-8,69 (m, 1 H), 8,58-8,52 (m, 1 H), 8,27-8,21 (m, 1 H), 8,08-8,00 (m, 1 H), 7,66-7,60 (m, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,29-2,92 (m, 9 H), 2,38-2,18 (m, 2 H), 1,72-1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 553,27 (M+H).

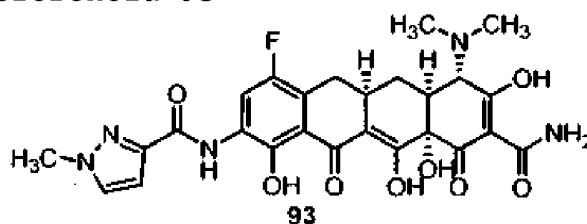
Composto de Referência **91**



Preparado através do procedimento geral acima com os seguintes reagentes: anilina **2-6** (31,0 mg, 0,042 mmol, 1 equiv), cloreto de 1-metilpirrol-2-carbonilo (22 mg, 0,15 mmol, 3 equiv), e 10 % de Pd-C (10 mg). HPLC preparativa de fase reversa do produto em bruto foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 2,0 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 20→70 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas e repurificada através do mesmo sistema com o gradiente: 10→60 % de B ao longo de 20 min. Frações com a MM desejada, eluindo a 15,5-16,5 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 2,5 mg do composto desejado **91** (11 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,20 (d, $J = 11,6$ Hz, 1 H), 6,98-6,86 (m, 2 H), 6,17-6,10 (m, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,94 (s, 3 H), 3,19-2,90 (m, 9 H), 2,33-2,18 (m, 2 H), 1,80-1,56 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 555,32 (M+H).

Composto de Referência **92**

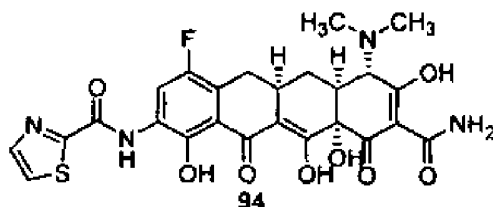
Preparado através do procedimento geral acima com os seguintes reagentes: anilina **2-6** (31,0 mg, 0,042 mmol, 1 equiv), cloreto de 5-metilisoxazol-3-carbonilo (19,0 mg, 0,13 mmol, 3 equiv), e 10 % de Pd-C (10 mg). HPLC preparativa de fase reversa do produto em bruto foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 2,8 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 10–60 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 14,5–15,5 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 4,0 mg do composto desejado **92** (17 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) **8** 8,32 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 6,59 (s, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,19–2,90 (m, 9 H), 2,52 (s, 3 H), 2,34–2,18 (m, 2 H), 1,71–1,58 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 557,26 (M+H).

Composto de Referência **93**

Preparado através do procedimento geral acima com os seguintes reagentes: anilina **2-6** (30,0 mg, 0,041 mmol, 1 equiv), cloreto de 1-metil-1H-pirazol-3-carbonilo (16,8 mg, 0,12 mmol, 3 equiv), e 10 % de Pd-C (20 mg). HPLC preparativa de fase reversa do produto em bruto foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10

mícron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 3,2 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 10→60 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 12,5-14,5 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 11,2 mg do composto desejado **93** (49 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,38 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 7,68 (s, 1 H), 6,82-6,76 (m, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,99 (s, 3 H), 3,16-2,90 (m, 9 H), 2,31-2,16 (m, 2 H), 1,70-1,56 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 556,31 (M+H).

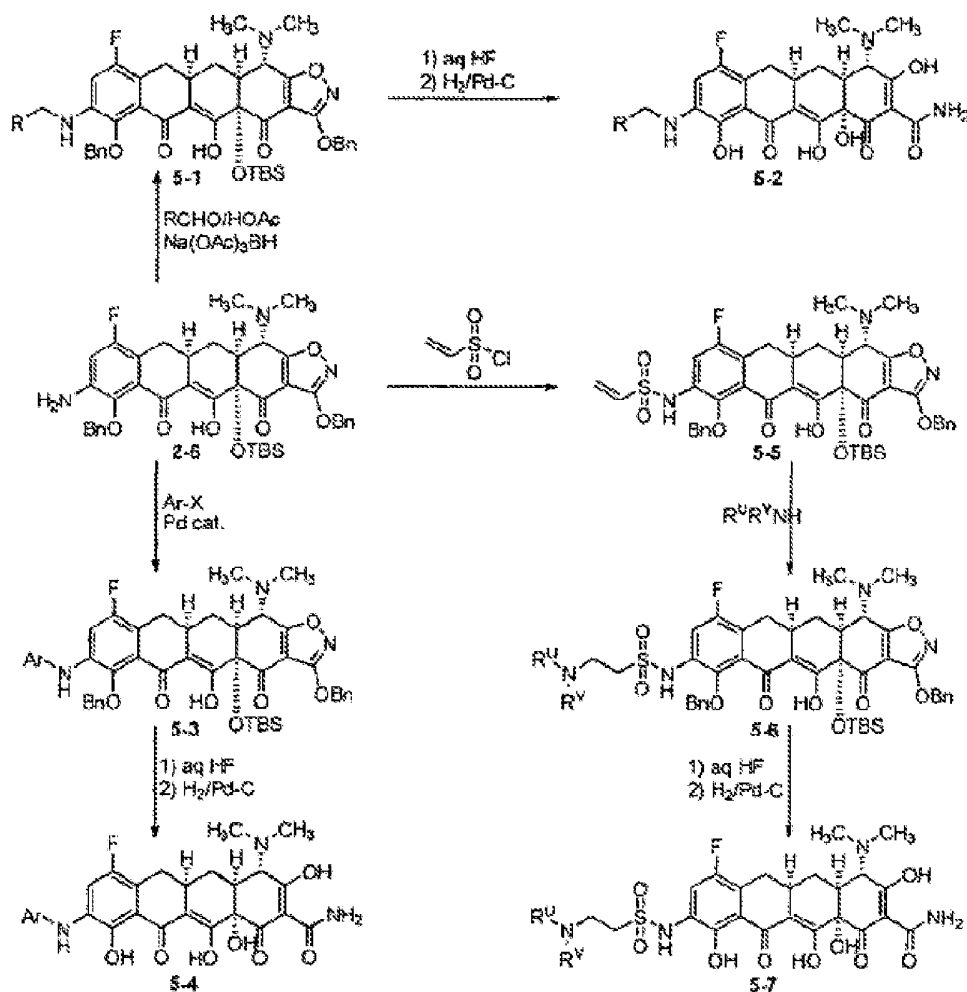
Composto de Referência **94**



Preparado através do procedimento geral acima com os seguintes reagentes: anilina 2-6 (30,0 mg, 0,041 mmol, 1 equiv), cloreto de 1,3-tiazol-2-carbonilo (17,8 mg, 0,12 mmol, 3 equiv), e 10 % de Pd-C (15 mg). HPLC preparativa de fase reversa do produto em bruto foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 mícron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 3,2 ml (0,05 N de HCl em água); gradiente: 10→60 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 14,6-17,0 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 5,4 mg do composto desejado **94** (23 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,38 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 8,02 (d, *J* = 3,0 Hz, 1 H), 7,95 (d, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,20-2,90 (m, 9 H), 2,34-2,17 (m, 2 H), 1,70-1,56 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 559,23 (M+H).

Exemplo de Referência 5. Síntese de Compostos de Referência de Fórmula Estrutural (A), em que Y é -N(R^A)(R^B), ou -NH-SO₂-(CH₂)₂-N(R^A)(R^B).

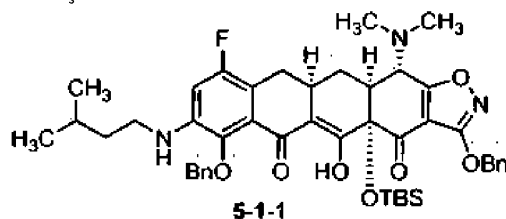
Esquema 5



No Esquema 5, R representa $-(C_1-C_6)$ alquilo, $-(C_0-C_5)$ alquileno-carbociclilo, $-(C_0-C_5)$ alquileno-arilo, $-(C_0-C_5)$ alquileno-heterociclilo, $-(C_0-C_5)$ alquileno-heteroarilo, $-(C_1-C_3)$ alquileno- $N(R^A)(R^B)$; Ar representa um grupo arilo ou um heteroarilo; e R^U e R^V são R^A e R^B, respetivamente, conforme definido na Fórmula Estrutural (A).

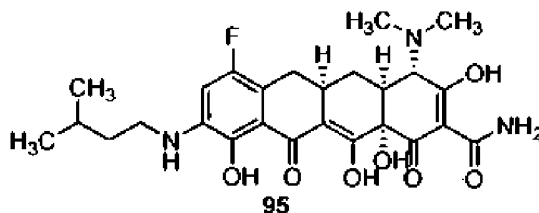
Os seguintes compostos de Referência foram preparados de acordo com o Esquema 5.

Composto de Preparação 5-1-1



Composto 2-6 (150 mg, 0,203 mmol, 1,0 equiv) foi dissolvido em 1,2-dicloroetano (3 ml). HOAc (58,1 μ l, 1,01 mmol, 5 equiv.) e isovaleraldeído (32,9 μ l, 0,304 mmol, 1,5 equiv) foram adicionados. A mistura foi agitada durante 1 h. Na(OAc)₃BH (129 mg, 0,609 mmol, 3,0 equiv) foi adicionado e a mistura resultante foi agitada durante outra hora. A mistura foi lavada com H₂O (10 ml) e concentrada para dar o produto em bruto 5-1-1 (250 mg), que foi utilizado na seguinte etapa sem purificação adicional: MS (ESI) m/z 810,59 (M+H).

Composto de Referência 95



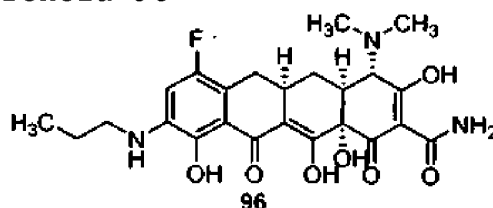
HF Aquoso (0,3 ml, 48-50 %) foi adicionado a uma solução de CH₃CN (1,5 ml) de 5-1-1 (250 mg de produto em bruto) num frasco de plástico a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 18 h. A mistura resultante foi vertida numa solução aquosa (10 ml) de K₂HPO₄ (2 g). A solução foi extraída com EtOAc (3 x 15 ml). Os extratos de EtOAc combinados foram secos em sulfato de sódio e concentrados para dar o intermediário em bruto (155 mg).

10 % de Pd-C (20 mg) foi adicionado a uma solução de dioxano/ MeOH (4 ml, 1:1) do intermediário em bruto anterior. HCl/ MeOH (0,5 ml, 0,5 N) foi também adicionado. A mistura de reação foi agitada sob H₂ (balão) a 25 °C durante 2 h e filtrada através de uma almofada de Celite. O filtrado foi concentrado para dar o produto em bruto 144

mg. O produto em bruto foi purificado por meio de HPLC numa coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl, solvente B: CH₃CN, sample em 2,0 ml (0,05 N de HCl), eluição de gradiente com 10→100 % de B ao longo de 15 min, colheita de fração dirigida por massa] para render o produto desejado 95 como um sólido amarelo (82 mg, 78 %, 2 etapas): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,44 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 4,12 (s, 1 H), 3,42-3,37 (m, 2 H), 3,05 (s, 3 H), 2,97 (s, 3 H), 3,21 -2,97 (m, 3 H), 2,39-2,30 (m, 1 H), 2,29-2,22 (m, 1 H), 1,79-1,59 (m, 4 H), 0,98 (d, J = 6,4 Hz, 6 H); MS (ESI) m/z 518,43 (M+H).

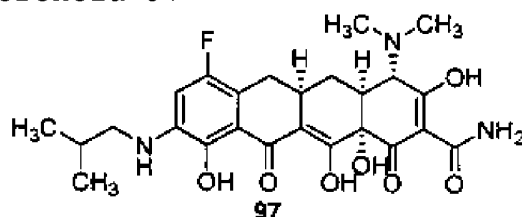
Os Compostos de Referência 96 - 101 foram preparados de forma semelhante ao composto 95 utilizando os correspondentes aldeídos na etapa de alquilação redutora.

Composto de Referência 96

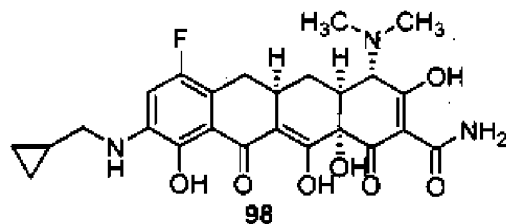


¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,39 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,34 (t, J = 7,8 Hz, 2 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 3,21 -2,95 (m, 3 H), 2,35 (t, J = 13,7 Hz, 1 H), 2,27-2,20 (m, 1 H), 1,82-1,72 (m, 2H), 1,71-1,60 (m, 1 H), 1,05 (t, J = 7,4 Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 490,32 (M+H).

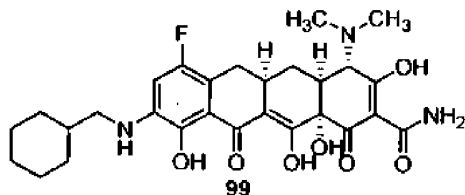
Composto de Referência 97



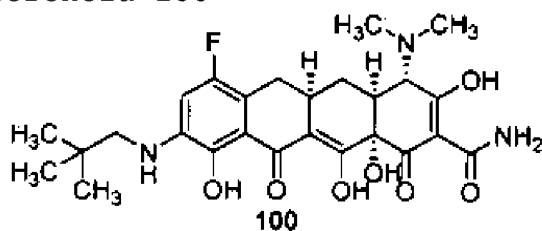
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,34 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,34 (t, J = 7,8 Hz, 2 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 3,24 -2,95 (m, 11 H), 2,33 (t, J = 13,7 Hz, 1 H), 2,27-2,20 (m, 1 H), 2,11-1,98 (m, 1 H), 1,71-1,60 (m, 1 H), 1,08 (d, J = 6,9 Hz, 6 H); MS (ESI) m/z 504,46 (M+H).

Composto de Referência **98**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,43 (d, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,34 (t, $J = 7,8$ Hz, 2 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 3,28–2,95 (m, 11 H), 2,41–2,31 (m, 1 H), 2,27–2,20 (m, 1 H), 2,11–1,98 (m, 1 H), 1,72–1,60 (m, 1 H), 1,20–1,11 (m, 1 H), 0,74–0,68 (m, 2 H), 0,43–0,38 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 502,40 (M+H).

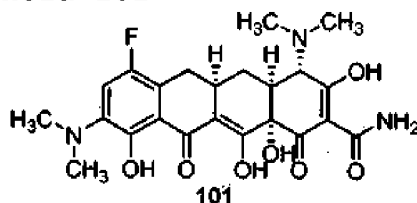
Composto de Referência **99**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,97–6,89 (m, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,34 (t, $J = 7,8$ Hz, 2 H), 3,03 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 3,14–2,92 (m, 11 H), 2,30–2,15 (m, 2 H), 1,89–1,59 (m, 7 H), 1,38–1,20 (m, 3 H), 1,11–1,00 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 544,50 (M+H).

Composto de Referência **100**

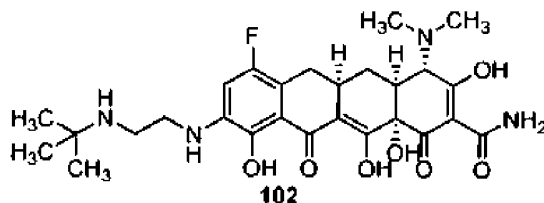
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,83 (d, $J = 10,5$ Hz, 1 H), 4,06 (s, 1 H), 3,34 (t, $J = 7,8$ Hz, 2 H), 3,03 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 3,11–2,93 (m, 5 H), 2,27–2,14 (m, 2 H), 1,67–1,57 (m, 1 H), 1,04 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 518,48 (M+H).

Composto de Referência 101



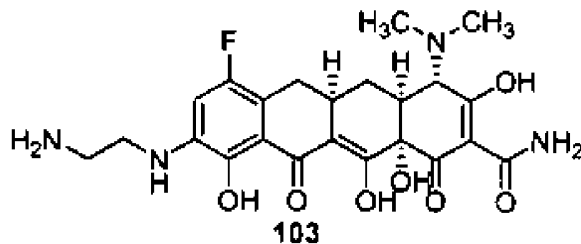
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,46–7,42 (m, 1 H), 4,15 (s, 1 H), 3,33 (s, 6 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 3,17 – 2,95 (m, 3 H), 2,44–2,34 (m, 1 H), 2,29–2,22 (m, 1 H), 1,71–1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 476,29 (M+H).

Composto de Referência 102



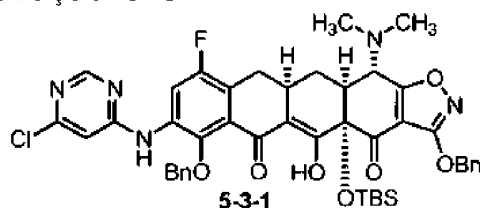
Preparado de forma semelhante a 95 utilizando $t\text{BuN}(\text{Cbz})\text{CH}_2\text{CHO}$: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,72 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,54–3,46 (m, 2 H), 3,26–3,19 (m, 2 H), 3,03 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 3,14–2,92 (m, 3 H), 2,23–2,14 (m, 2 H), 1,67–1,55 (m, 1 H), 1,38 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 547,51 (M+H).

Composto de Referência 103

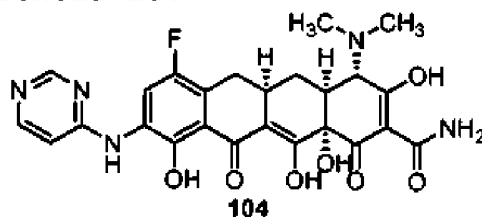


O composto 103 foi também isolado da preparação de 102: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,71 (d, $J = 11,0$ Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,47 (t, $J = 6,0$ Hz, 2 H), 3,17 (t, $J = 6,0$ Hz, 2 H), 3,03 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 3,13–2,92 (m, 3 H), 2,23–2,12 (m, 2 H), 1,66–1,54 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 491,42 (M+H).

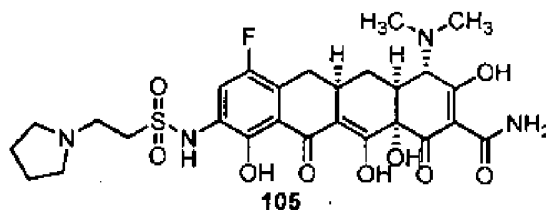
Composto de Preparação 5-3-1



Um recipiente contendo anilina 2-6 (18,2 mg, 0,024 mmol, 1 equiv), Pd₂dba₃ (3,0 mg, 0,0033 mmol, 0,13 equiv), Xantphos (3,4 mg, 0,0059 mmol, 0,25 equiv), K₃PO₄ (40 mg, 0,188 mmol, 7,8 equiv) e 4,6-dicloropirimidina (6,5 mg, 0,044 mmol, 1,8 equiv) foi evacuado e preenchido de novo com azoto gás três vezes. Dioxano (500 µl) foi adicionado, e a mistura de reação agitada vigorosamente e aquecida a 80 °C durante 4,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite e concentrada sob pressão reduzida. HPLC preparativa de fase reversa do óleo amarelo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 µm, 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H₂O com 0,1 % de HCO₂H; Solvente B: CH₃CN com 0,1 % de HCO₂H; volume de injeção: 1,8 ml (CH₃CN); gradiente: 80→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 9,2-9,8 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 7,5 mg de composto **5-3-1** (37 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 15,97 (s, 1 H), 8,48 (s, 1 H), 8,33 (d, *J* = 5,5 Hz, 1 H), 7,52-7,46 (m, 2 H), 7,40-7,28 (m, 8 H), 7,07 (s, 1 H), 6,11 (s, 1 H), 5,34 (s, 2 H), 4,97 (d, *J* = 11,6 Hz, 1 H), 4,88 (d, *J* = 11,0 Hz, 1 H), 3,95 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 3,28-3,19 (m, 1 H), 3,09-2,98 (m, 1 H), 2,61-2,54 (m, 1 H), 2,54-2,39 (m, 8 H), 2,16 (d, *J* = 14,6 Hz, 1 H), 0,83 (s, 9 H), 0,28 (s, 3 H), 0,14 (s, 3 H); MS (ESI) *m/z* 852,57 (M+H).

Composto de Referência **104**

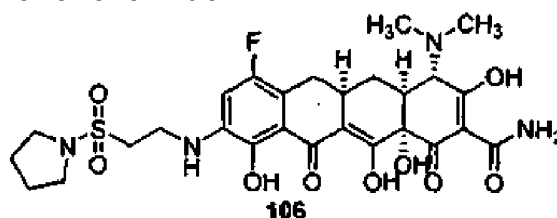
A uma solução de **5-3-1** (7,5 mg, 0,0088 mmol, 1 equiv) em dioxano (1,4 ml) foi adicionada uma solução aquosa de HF (50 %, 200 μ l). Após 15,5 h, a solução de reação foi vertida numa solução aquosa de K_2HPO_4 (2,4 g em 20 ml) e extraída com EtOAc (2 x 20 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4) filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Paládio sobre carbono (10 %, 10 mg) foi adicionado a uma solução deste óleo em dioxano:MeOH (1:1, 1 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio. Gás de hidrogénio foi borbulhado através da solução de reação durante três minutos, e a mistura de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 2,5 h. A mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 micron, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 2,0 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 10–50 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,90–7,80 min, foram colhidas e liofilizadas para proporcionar 2,2 mg de **104** (48 %). 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,83 (s, 1 H), 8,37–8,25 (m, 1 H), 8,18–8,05 (m, 1 H), 7,30–7,20 (m, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,20–2,90 (m, 9 H), 2,40–2,29 (m, 1 H), 2,27–2,19 (m, 1 H), 1,72–1,58 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 526,31 (M+H).

Composto de Referência **105**

A uma solução de anilina **2-6** (30,0 mg, 0,041 mmol, 1 equiv) em 1,2-dicloroetano (500 μ l) foi adicionada piridina (16,3 μ l, 0,20 mmol, 5 equiv) e cloreto de 2-cloroetanossulfonilo (21 μ l, 0,20 mmol, 5 equiv). A reação recipiente foi selada e aquecida até 45 °C. Após uma hora, a reação foi um gel sólido amarelo, e outros 500 μ l 1,2-dicloroetano foi adicionado para formar uma suspensão e a reação foi selada e aquecida até 45 °C. Após 18,5 h pirrolidina (68 μ l, 0,82 mmol, 20 equiv) foi adicionada e a reação aquecida até 45 °C durante 2,5 horas. A solução foi vertida em tampão fosfato aquoso pH 7 (8 ml) e extraída com EtOAc (2 x 25 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas sob pressão reduzida. A uma solução deste óleo em bruto em CH_3CN (1,8 ml) foi adicionada uma solução aquosa de HF (50 %, 300 μ l). Após 15 h, a solução de reação foi vertida numa solução aquosa de K_2HPO_4 (3,6 g em 30 ml) e extraída com EtOAc (3 x 15 ml). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4), filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Paládio sobre carbono (10 %, 8,4 mg) foi adicionado a uma solução deste óleo em dioxano: MeOH (1:1, 1,2 ml). O balão foi equipado com um septo e evacuado e preenchido de novo três vezes com gás de hidrogénio, e a mistura de reação foi agitada sob uma atmosfera (balão) de gás de hidrogénio durante 1,5 h. Outros 10 mg de catalisador de paládio foi adicionado e a reação foi evacuada e preenchida de novo com gás de hidrogénio como antes. Após 6 h, a mistura de reação foi filtrada através de celite para remover o catalisador de paládio e concentrada sob pressão reduzida. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa do

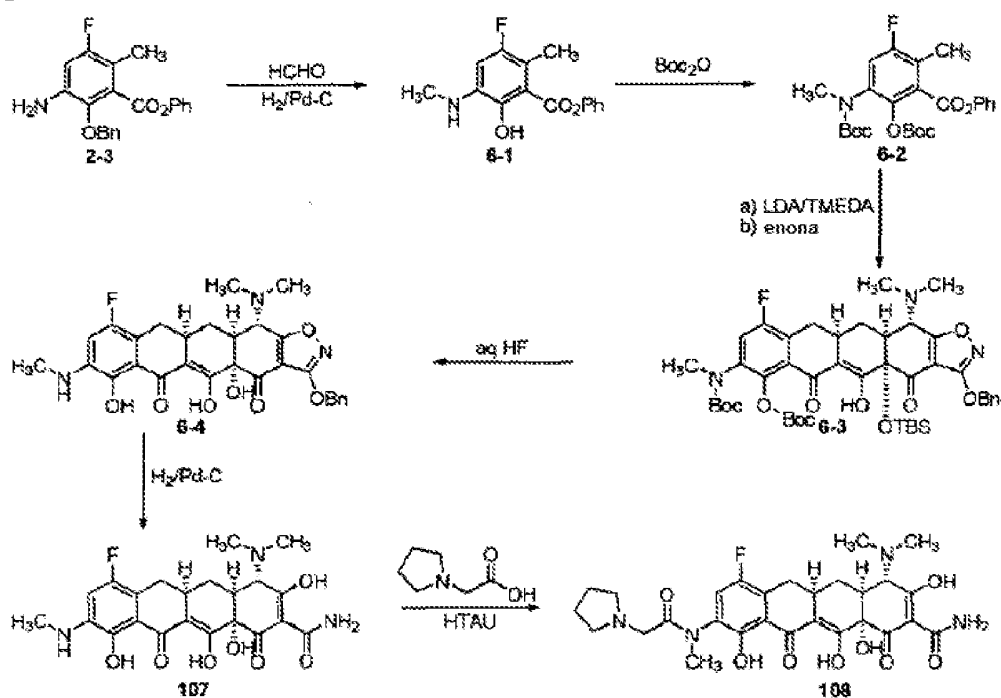
óleo resultante foi realizada num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Polimerx 10 μ RP-y 100 R [30 x 21,20 mm, 10 μ m, solvente A: 0,05 N de HCl em água, solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 3,5 ml (0,05 N de HCl em água); eluição de gradiente com 0→100 % de B ao longo de 10 min, posteriormente mantido a 100 % durante 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Dois conjuntos de frações com a MM desejada, eluindo a 6,3-7,1 min e 8,7-9,3 min, foram colhidas separadamente e liofilizadas para proporcionar 9,7 mg de composto em bruto **105**. A purificação via HPLC preparativa de fase reversa com eluição de gradiente com 20→70 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa] forneceu 3,3 mg de produto puro **105** (13 %): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,44 (d, J = 9,8 Hz, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,79-3,65 (m, 4 H), 3,63-3,56 (m, 2H), 3,18-2,90 (m, 11H), 2,35-2,26 (m, 1H), 2,26-2,10 (m, 3 H), 2,10-1,96 (m, 2 H), 1,69-1,59 (m, 1H); MS (ESI) m/z 609,36 (M+H).

Composto de Referência **106**

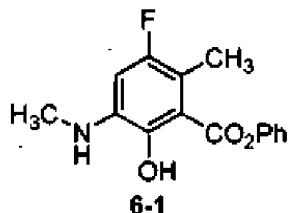


Composto **106** (1,7 mg, 7 %) foi também isolado a partir da preparação de composto **105**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,71 (d, J =11,0 Hz, 1 H), 4,06 (s, 1 H), 3,67-3,60 (m, 2 H), 3,38-3,33 (m, 4 H), 3,09-2,90 (m, 9H), 2,24-2,13 (m, 2 H), 1,95-1,91 (m, 5 H), 1,90-1,85 (m, 1 H), 1,68-1,55 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 609,36 (M+H).

Exemplo de Referência 6. Síntese de Compostos de Referência **107 e **108****

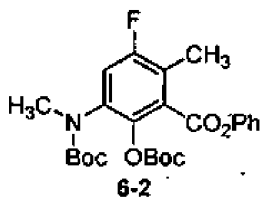
Esquema 6

Os seguintes compostos foram preparados de acordo com Esquema 6.

Composto de Preparação 6-1

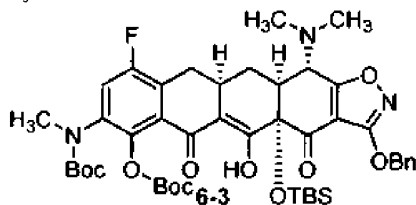
Aos composto **2-3** (5,0 g, 14,25 mmol, 1,0 equiv) em MeOH (20 ml) foi adicionada uma solução aquosa de HCHO (2,3 g, 37 %, 28,50 mmol, 2,0 equiv) e paládio sobre carbono (0,5 g, 10 % em peso). A reação foi purgada com hidrogénio e agitada sob H₂ (balão) a temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura de reação foi filtrada através de celite e concentrada para dar 1,3 g de composto em bruto **6-1** como um sólido amarelo.

Composto de Preparação 6-2



Ao composto 6-1 (0,9 g, 3,27 mmol, 1,0 equiv) em DCM foi adicionado Boc_2O (2,14 g, 9,81 mmol, 3,0 equiv) gota a gota. DMAP (135 mg, 15 % em peso) foi adicionado à mistura e a reação foi agitada a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente a mistura de reação foi aquecida até refluxo durante 1 hora. A mistura de reação foi concentrada. O composto em bruto foi purificado por meio de coluna cromatografia em sílica gel eluída com (PE:EA= 200: → 100: 1) para render composto **6-2** (1,16 g, 73,4 %) como um sólido amarelo claro. ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 7,60 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 7,53-7,44 (m, 2 H), 7,36-7,31 (m, 1 H), 7,28-7,22 (m, 2 H), 3,06 (s, 3 H), 2,33 (d, J = 2,0 Hz, 3 H), 1,38 (s, 9 H), 1,34 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 476,2 (M+H).

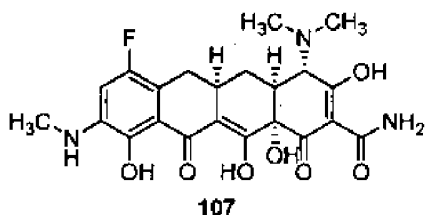
Composto de Preparação 6-3



À diisopropilamina (0,28 ml, 3,2 mmol, 10,0 equiv) em THF a -78°C foi adicionada $n\text{BuLi}$ (0,8 ml, 2,50 M/hexano, 3,2 mmol, 10,0 equiv) e TMEDA (0,40 ml, 5,0 mmol, 10,0 equiv) a -78°C gota a gota. A reação foi agitada a -78°C durante 40 min. Composto 6-2 (480 mg, 1,0 mmol, 3,0 equiv) em THF foi adicionada à mistura de reação gota a gota a -78°C . A solução vermelho escuro resultante foi agitada a -78°C 60 min, a enona (160 mg 0,33 mmol, 1,0 equiv) em THF foi adicionada à mistura gota a gota a -78°C . A solução vermelho escuro foi gradualmente aquecida com agitação

desde -78 °C até -20 °C ao longo de um período de 1 h. A solução laranja resultante foi levada a 0°C, e extinta com cloreto de amônio aquoso saturado (100 ml). A mistura amarelo-esverdeada foi extraída com EtOAc duas vezes. Os extractos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para render o produto em bruto. Cromatografia de coluna *flash* em sílica gel com 0 %, 5 %, 10 %, EtOAc/hexano em sequência rendeu o produto desejado **6-3** como um sólido amarelo claro (42 mg, 14,8 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 15,70 (s, 1 H), 7,52-7,50 (m, 2 H), 7,42-7,33 (m, 3 H), 7,16 (d, *J* = 8,4 Hz, 1 H), 5,37 (s, 2 H), 3,95 (d, *J* = 10,8 Hz, 1 H), 3,28-3,23 (m, 1 H), 3,14 (s, 3 H), 3,10-3,05 (m, 1 H), 2,58-2,47 (m, 9 H), 2,16 (d, *J* = 14,0 Hz, 1 H), 1,53 (s, 9 H), 1,42 (s, 9 H), 0,89 (s, 9 H), 0,29 (s, 3 H), 0,15 (s, 3 H); MS (ESI) *m/z* 864,43 (M+H).

Composto de Referência **107**

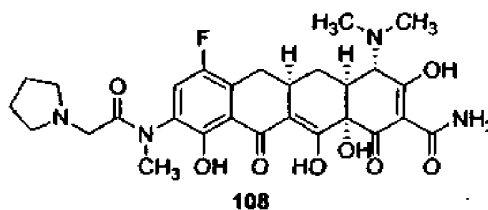


Composto **6-3** (120 mg, 0,14 mmol) foi dissolvido em THF (5 ml) e HF aquoso (40 %, 2 ml) foi adicionado gota a gota. A solução amarela foi agitada a temperatura ambiente durante a noite. A solução vermelho escuro resultante foi lentamente adicionada numa solução aquosa de K₂HPO₄ com agitação. O pH da mistura foi ajustado por meio de solução aquosa de K₂HPO₄ a cerca de 8. A mistura amarela foi extraída com EtOAc duas vezes. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para render o produto em bruto.

O anterior composto em bruto (120 mg, em em bruto, ~0,14 mmol, 1,0 equiv) foi dissolvido em MeOH grau HPLC

(10 ml) e 10 % Pd-C (25 mg, 0,03 mmol, 0,2 equiv) foram adicionados. A mistura foi purgada com hidrogénio por meio de borbulhamento de hidrogénio com agitação suave durante 5 min. A reação foi posteriormente agitada vigorosamente sob balão de hidrogénio a temperatura ambiente durante 2 h. A análise de LC-MS indicou que a reação estava completa. O catalisador foi retirado por meio de filtração e a mistura foi concentrada, o resíduo foi purificado por meio de HPLC de fase reversa para dar o composto desejado **107** (50 mg, 78 %) como um sólido amarelo. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,462 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 4,14 (s, 1 H), 3,21-2,93 (m, 9 H), 3,10 (s, 3 H), 2,38-2,25 (m, 2 H), 1,68-1,62 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 462,2 (M+H).

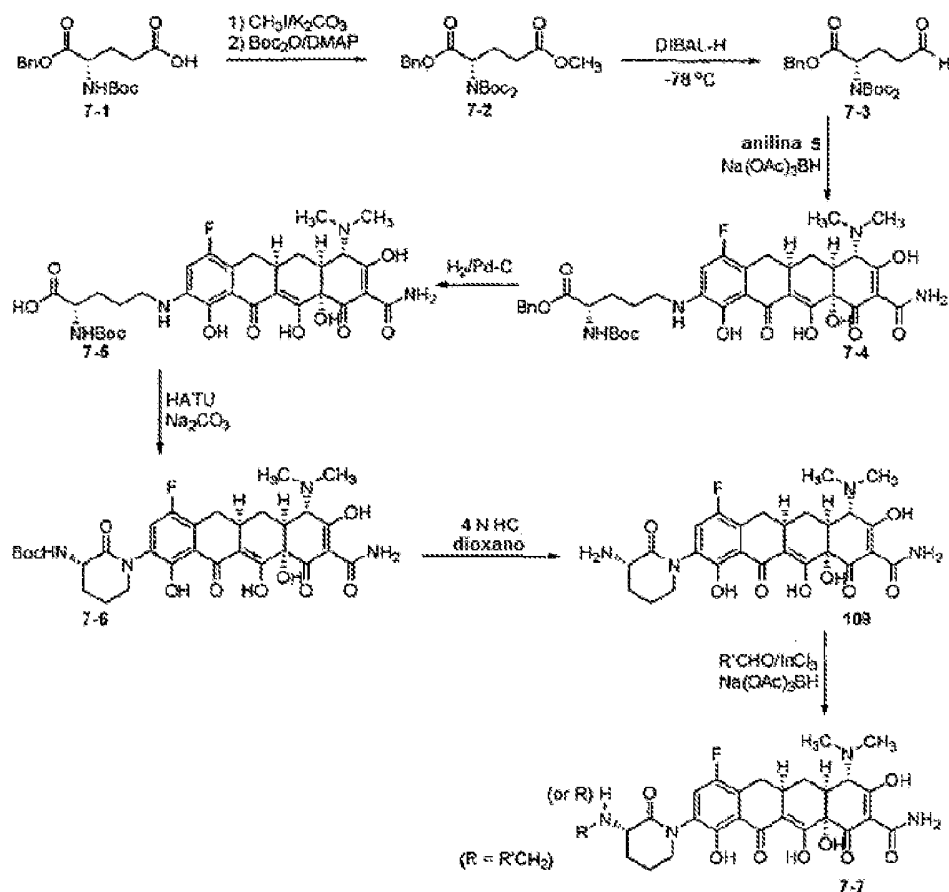
Composto de Referência **108**



Composto **107** (15 mg, 0,033 mmol, 1,0 equiv) em THF (2 ml) foi adicionado com ácido pirrolidín-1-il-acético (10,2 mg, 0,066 mmol, 2,0 equiv), Na_2CO_3 (10,2 mg, 0,066 mmol, 2,0 equiv) e HATU (25,5 mg, 0,066 mmol), 2,0 equiv). A mistura de reação foi agitada a temperatura ambiente durante 48 horas. A análise de LC-MS indicou que a reação estava completa. A mistura de reação foi concentrada sob vácuo, o produto em bruto foi purificado por meio de HPLC de fase reversa para dar o composto desejado **108** (2,1 mg) como um sólido amarelo. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,44-7,40 (m, 1 H), 4,02-3,97 (m, 2 H), 3,83-3,76 (m, 1 H), 3,60-3,58 (m, 2 H), 3,15 (d, J = 6,4 Hz, 3 H), 3,03-2,83 (m, 11 H), 2,31-2,13 (m, 2 H), 2,03-1,85 (m, 4 H), 1,61-1,52 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 572,9 (M+H).

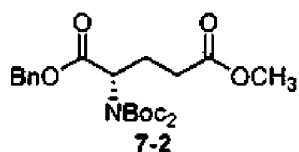
Exemplo de Referência 7. Síntese de Compostos de Referência 109-112

Esquema 7



Os seguintes compostos foram preparados de acordo com o Esquema 7.

Composto de Preparação 7-2

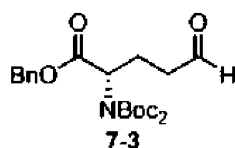


Ao éster 1-benzílico de ácido Boc-L-glutâmico (7-1) (3,00 g, 8,89 mmol, 1,0 eq) em DMF (20 ml) a ta foi adicionado carbonato de potássio (1,84 g, 13,33 mmol, 1,5 eq) e iodeto de metilo (0,67 ml, 10,74 mmol, 1,2 eq). A mistura foi diluída com EtOAc (200 ml), lavada com água (200 ml), bicarbonato de sódio saturado aquoso (100 ml x

2), e salmoura (100 ml x 1). A solução de EtOAc foi seca em sulfato de sódio e concentrada in vacuo: R_f 0,33 (20 % de EtOAc/ hexano).

Boc₂O (2,91 g, 13,33 mmol, 1,5 eq), DMAP (54 mg, 0,44 mmol, 0,05 eq), e DIEA (3,10 ml, 17,80 mmol, 2 eq) foram adicionados ao intermediário anterior em acetonitrilo (20 ml). A solução foi agitada a ta durante 60 h, adicionada com bicarbonato de sódio saturado aquoso (100 ml), e extraída com EtOAc (100 ml x 1, 50 ml x 2). Os extratos de EtOAc foram combinados, secos em sulfato de sódio e concentrados in vacuo para render o produto desejado **7-2** como um líquido pálido (quantitativo): R_f 0,45 (20 % de EtOAc/hexano); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,25-7,35 (m, 5 H), 5,14 (s, 2 H), 4,95 (dd, J = 4,9, 9,8 Hz, 1 H), 3,65 (s, 3 H), 2,43-2,52 (m, 1 H), 2,37-2,42 (m, 2 H), 2,15-2,25 (m, 1 H), 1,42 (s, 18 H); MS (ESI) m/z 452,3 (M+H).

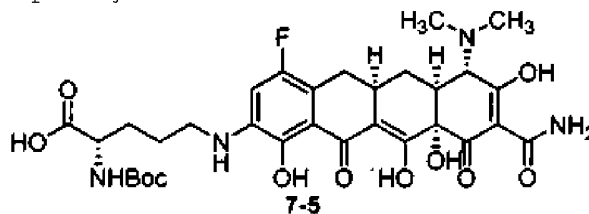
Composto de Preparação **7-3**



Ao composto **7-2** (8,89 mmol, 1 eq) em éter dietílico anidro (40 ml) at - 78 °C foi adicionado DIBAL-H (12,33 ml, 1 M/hexano, 12,33 mmol, 1,25 eq) gota a gota. A reação foi agitada a -78 °C durante 2 h. DIBAL-H adicional (1,20 ml, 1 M/hexano, 1,20 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada a -78 °C durante outra 1 h e extinta com HOAc (2,80 ml) a -78 °C. A reação foi aquecida até ta e adicionada com 10 % de carbonato de sódio aquoso (75 ml). A mistura foi agitada durante 15 min e extraída com cloreto de metileno (200 ml x 1, 50 ml x 2). Os extratos de cloreto de metileno foram combinados, secos em sulfato de sódio e concentrados in vacuo para render o produto desejado **7-3** (quantitativo): R_f 0,40 (20 % de EtOAc/hexano); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,75 (s, 1 H), 7,25-7,35 (m, 5 H), 5,14 (s, 2 H), 4,87-4,92 (m, 1 H), 2,45-2,65 (m, 3 H), 2,12-2,22 (m, 1 H), 1,42 (s, 18

H); MS (ESI) m/z 422,3 (M+H).

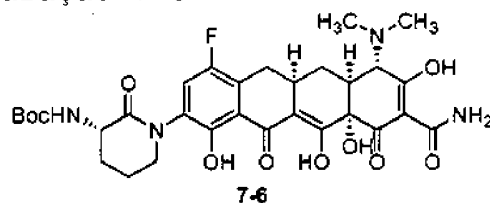
Composto de Preparação **7-5**



A anilina **9** (90 mg, 0,20 mmol, sal bis-HCl, 1 eq) em anidro DMF (2 ml) foi adicionada aldeído **7-3** (101 mg, 0,24 mmol, 1,2 eq), trietilamina (0,028 ml, 0,20 mmol, 1 eq), e Na(OAc)₃BH (64 mg, 0,30 mmol, 1,5 eq). A solução foi agitada a ta durante 1 h e adicionada lentamente em éter dietílico (50 ml) com rápida agitação. O sólido amarelo foi colhido, lavado com mais éter dietílico (5 ml x 3), e seco sob vácuo para dar o intermediário **7-4**.

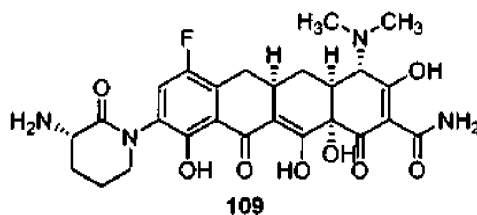
O intermediário **7-4** foi dissolvido em dioxano/metanol (5 ml, 1:4 v/v, contendo 0,1 N de HCl), 10 % de Pd-C (85 mg, 0,04 mmol, 0,2 eq) foi adicionada. A mistura foi purgada com hidrogénio e agitada sob 1 atm hidrogénio a ta durante 1 h. O catalisador foi filtrado com uma almofada pequena de Celite e lavado com metanol (2 ml x 3). O filtrado foi concentrado in vacuo. O produto em bruto foi purificado por meio de HPLC preparativa de fase reversa utilizando metanol e 0,05 N de HCl/água como fases móveis. Liofilização rendeu a maior parte do produto desprotegido por Boc como um sólido castanho (25 mg, 22 %, 2 etapas), que foi novamente protegido por meio de tratamento com Boc₂O (11 mg, 0,050 mmol, 1,1 eq) e DIEA (0,039 ml, 0,22 mmol, 5 eq) em THF/ água (5 ml, 1:1 v/v) a ta durante 1 h. Concentração rendeu o produto desejado **7-5** como um sólido amarelo: MS (ESI) m/z 663,2 (M+H), que foi utilizado diretamente nas etapas subsequentes sem purificação adicional.

Composto de Preparação 7-6



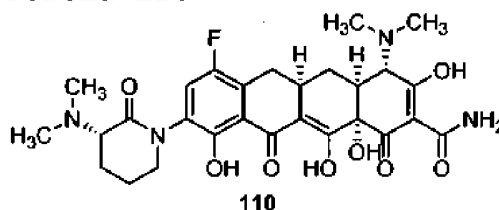
A uma suspensão de composto **7-5** (0,044 mmol, 1 eq) e carbonato de sódio (7 mg, 0,066 mmol, 1,5 eq) em THF a ta foi adicionada HATU (20 mg, 0,053 mmol, 1,2 eq). A mistura foi rapidamente agitada a ta durante 2 h. Metanol (5 ml) foi adicionado. Os sólidos foram retirados por meio de filtração. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida para render o produto em bruto **7-6** como um sólido amarelo: MS (ESI) m/z 645,1 (M+H).

Composto de Referência 109

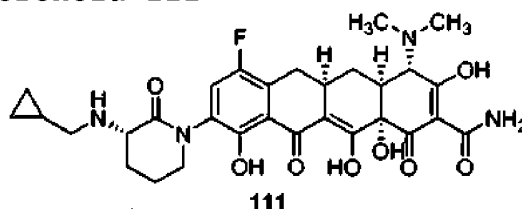


O composto **7-6** (0,044 mmol) foi tratado com 4 N de HCl/dioxano (5 ml) a ta durante a noite e concentrado in vacuo. O resíduo foi redissolvido em metanol (1 ml) e adicionado gota a gota em éter dietílico (50 ml) com rápida agitação. Os precipitados amarelos foram colhidos, lavados com mais éter dietílico (5 ml x 3), e secos sob vácuo para dar o produto em bruto **109** como um sólido castanho.

Um quinto do produto em bruto anterior foi purificado por meio de HPLC de fase reversa para render puro **109** como um sólido amarelo (1,5 mg, 31 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,36 (d, 9,2 Hz, 1 H), 4,09-4,15 (m, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,70-3,80 (m, 1 H), 3,58-3,68 (m, 1 H), 2,90-3,50 (m, 12 H), 2,30-2,45 (m, 2 H), 2,70-2,25 (m, 3 H), 1,95-2,10 (m, 1 H), 1,58-1,70 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 545,1 (M+H).

Composto de Referência **110**

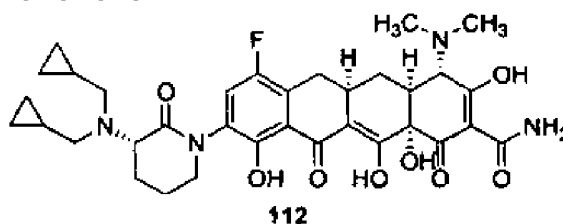
A 2/5 de produto em bruto **109** (0,018 mmol, 1 eq) em DMF (1 ml) foi adicionado formaldeído aquoso (0,007 ml, 36,5 %/ água, 0,094 mmol, 5 eq), InCl_3 (0,4 mg, 0,002 mmol, 0,1 eq), e $\text{Na(OAc)}_3\text{BH}$ (15 mg, 0,071 mmol, 4 eq). A reação foi agitada a ta durante 2 h e extinta com 0,5 N de HCl/metanol (1 ml). A solução foi adicionada gota a gota em éter dietílico (100 ml) com rápida agitação. Os precipitados foram colhidos, lavados com mais éter dietílico (2 ml x 4), e purificados por meio de HPLC de fase reversa para dar o composto desejado **110** como um sólido amarelo (1,8 mg, 18 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,7.44 (d, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 4,37 (dd, $J = 6,1, 11,6$ Hz, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,60–3,75 (m, 2 H), 2,92–3,50 (m, 15 H), 2,86 (s, 3 H), 2,10–2,50 (m, 6 H), 1,60–1,72 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 573,3 (M+H).

Composto de Referência **111**

A 2/5 de produto em bruto **109** (0,018 mmol, 1 eq) em DMF (1 ml) foi adicionado ciclopropanocarboxaldeído (1,4 μl , 0,018 mmol, 1 eq), InCl_3 (0,4 mg, 0,002 mmol, 0,1 eq), e $\text{Na(OAc)}_3\text{BH}$ (6 mg, 0,028 mmol, 1,5 eq). A reação foi agitada a ta durante a noite e extinta com 0,5 N de HCl/metanol (1 ml). A solução foi adicionada gota a gota em éter dietílico (100 ml) com rápida agitação. Os precipitados foram colhidos, lavados com mais éter dietílico (2 ml x 4), e purificados por meio de HPLC de

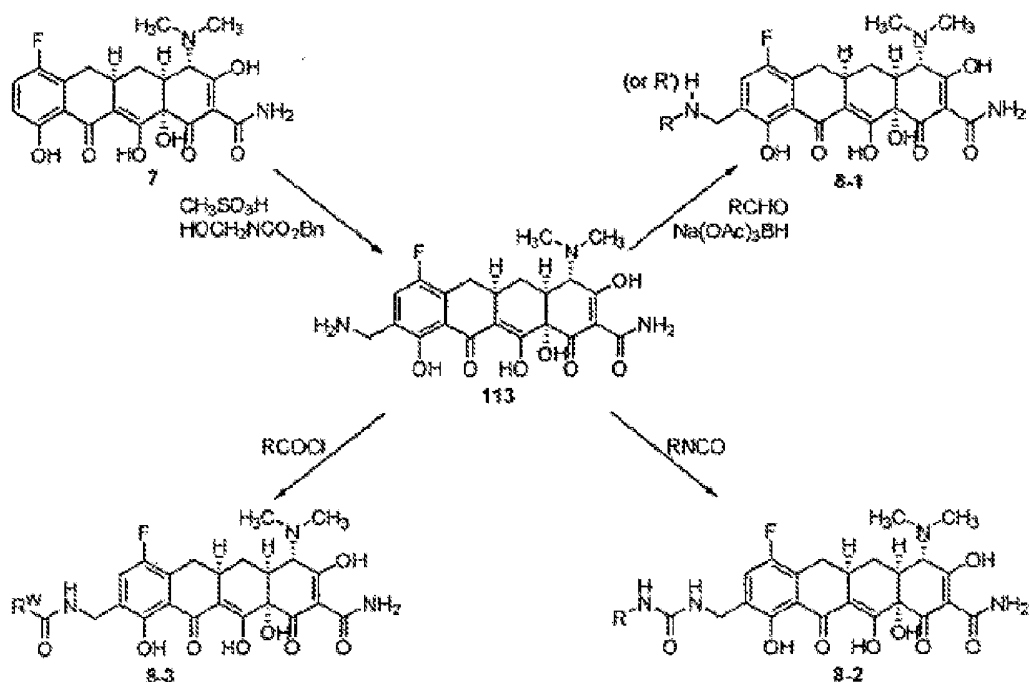
fase reversa para dar o composto desejado **111** como um sólido amarelo (1,3 mg, 12 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,38 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 4,22 (dd, $J = 6,1, 11,6$ Hz, 1 H), 4,09 (d, 1 H), 3,60-3,78 (m, 2 H), 2,85-3,50 (m, 12 H), 2,00-2,50 (m, 6 H), 1,60-1,72 (m, 1 H), 1,10-1,20 (m, 1 H), 0,70-0,75 (m, 2 H), 0,40-0,50 (m, 2 H); MS (ESI) m/z 599,4 (M+H).

Composto de Referência **112**



O produto dialquilado **112** foi também isolado a partir da preparação de composto **111** (1,0 mg, sólido amarelo, 9 %): ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,42 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 4,70-4,80 (m, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 3,55-3,80 (m, 3 H), 2,95-3,50 (m, 13 H), 2,10-2,50 (m, 6 H), 1,55-1,75 (m, 1 H), 1,20-1,30 (m, 2 H), 0,68-0,90 (m, 4 H), 0,38-0,58 (m, 4 H); MS (ESI) m/z 653,3 (M+H).

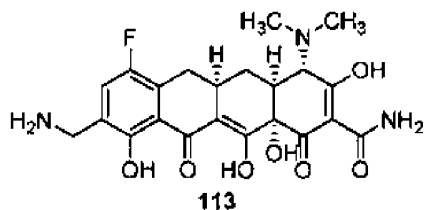
Exemplo de Referência 8. Síntese dos compostos de Referência da Fórmula Estrutural (A), em que Y é $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ alquilenos- $\text{N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$, ou $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ alquilenos- $\text{N}(\text{R}^{\text{F}})-\text{C}(\text{O})-[\text{C}(\text{R}^{\text{D}})(\text{R}^{\text{E}})]_{0-4}-\text{N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$,

Esquema 8

No Esquema 8, R e R' é R^B e R^A , respetivamente, como definido em Fórmula Estrutural (A) e R^W representa $[\text{C}(\text{R}^D)(\text{R}^E)]_{1-4}-\text{N}(\text{R}^A)(\text{R}^B)$.

Os seguintes compostos de Referência foram preparados de acordo com o Esquema 8.

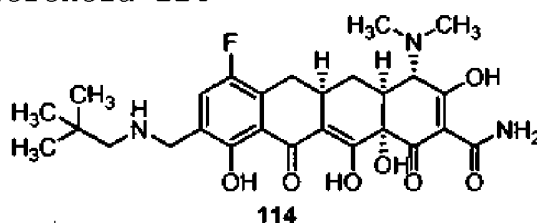
Composto de Referência **113**



N-(hidroximetil)carbamato de benzilo (92 mg, 0,51 mmol, 2,0 equiv) foi adicionado a uma solução de TFA/ $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ (1 ml/1 ml) de composto 7 (110 mg, 0,25 mmol) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 30 min. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Fenomenex Polimerx 10 m RP-1 100A [10 μm , 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl;

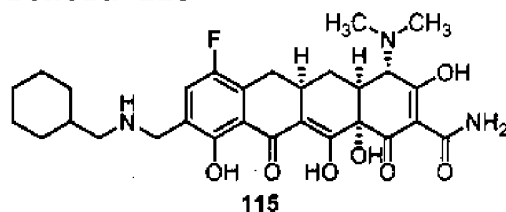
Solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 4,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 0→30 % de B ao longo de 20 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas para render 23 mg de produto puro **113**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,47 (d, *J*= 9,2 Hz, 1 H), 4,16 (s, 2 H), 4,13 (s, 1 H), 3,21-2,94 (m, 3 H), 3,06 (s, 3 H), 2,97 (s, 3), 2,37-2,22 (m, 2 H), 1,70-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 462,26 (M+H).

Composto de Referência **114**

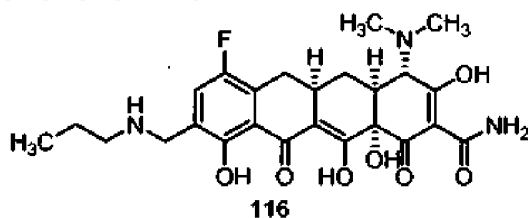


Et₃N (2 ml, 0,0136 mmol, 2,0 equiv) foi adicionado a uma mistura de **113** (3 mg, 0,0065 mmol) e pivaldeído (0,8 µl, 0,00715 mmol, 1,1 equiv) em DMF (0,1 ml) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 15 min. NaBH(OAc)₃ (3 mg, 0,013 mmol) e HOAc (2 µl) foi adicionado à mistura resultante. A reação foi agitada a 25 °C durante 1 h. Purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Fenomenex Polimerx 10 µ RP-1 100A [10 µm, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl; Solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 4,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 0→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas para render 1 mg de **114**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,52 (d, *J* = 9,1 Hz, 1 H), 4,30 (s, 2 H), 4,09 (s, 1 H), 3,23-2,93 (m, 5 H), 3,04 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 2,40-2,19 (m, 2 H), 1,71-1,60 (m, 1 H), 1,05 (s, 9 H); MS (ESI) *m/z* 532,27 (M+H).

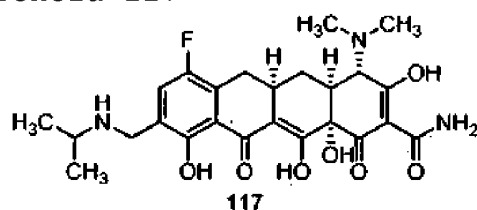
Os compostos de Referência **115** - **118** foram preparados de forma semelhante ao composto **114** utilizando os correspondentes aldeídos.

Composto de Referência **115**

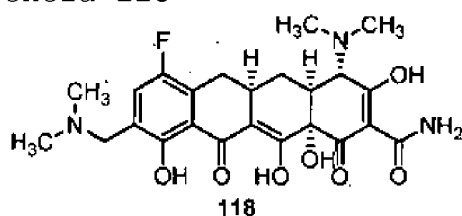
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,51 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 4,25 (s, 2 H), 4,10 (s, 1 H), 3,25–2,90 (m, 5 H), 3,05 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,40–2,21 (m, 2 H), 1,90–1,60 (m, 7 H), 1,42–0,95 (m, 5 H); MS (ESI) m/z 558,31 (M+H).

Composto de Referência **116**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1 H), 4,24 (s, 2 H), 4,09 (s, 1 H), 3,25–2,90 (m, 5 H), 3,07 (s, 3 H), 2,94 (s, 3 H), 2,40–2,21 (m, 2 H), 1,82–1,58 (m, 3 H), 1,01 (t, $J = 6,7$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 504,22 (M+H).

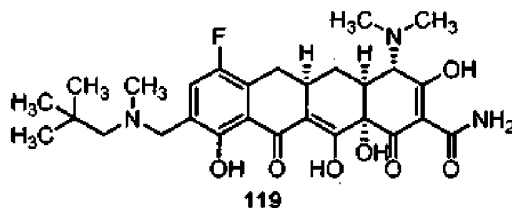
Composto de Referência **117**

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,51 (d, $J = 8,9$ Hz, 1 H), 4,23 (s, 2 H), 4,09 (s, 1 H), 3,25–2,92 (m, 4), 3,02 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 2,40–2,19 (m, 2 H), 1,71–1,60 (m, 1 H), 1,40 (d, $J = 7,0$ Hz, 6 H); MS (ESI) m/z 504,23 (M+H).

Composto de Referência **118**

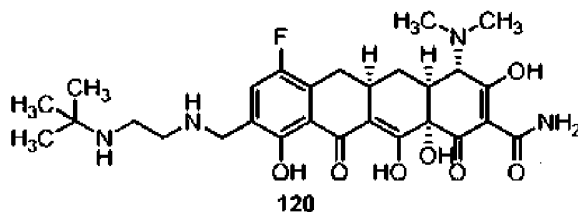
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,54 (d, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 4,37 (s, 2 H), 4,10 (s, 1 H), 3,20-2,85 (m, 3 H), 3,05 (s, 3 H), 2,97 (s, 3 H), 2,91 (s, 3 H), 2,90 (s, 3 H), 2,42-2,20 (m, 2 H), 1,72-1,60 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 490,19 (M+H).

Composto de Referência **119**

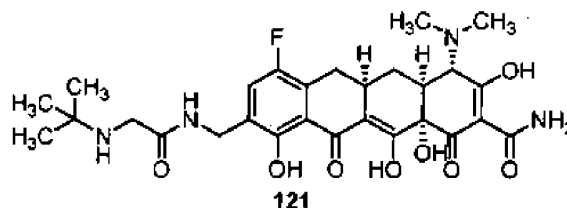


Preparado a partir do composto **114** por meio de alquilação redutora utilizando formaldeído sob condições semelhantes: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,57 (d, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 4,61 (d, $J = 12,8$ Hz, 1 H), 4,27 (dd, $J = 12,8$, 6,4 Hz, 1 H), 4,10 (s, 1 H), 3,25-2,90 (m, 5), 3,03 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,95 (s, 3 H), 2,42-2,33 (m, 1 H), 2,29-2,20 (m, 1 H), 1,72-1,61 (m, 1 H), 1,10 (d, $J = 6$ Hz, 9 H); MS (ESI) m/z 546,30 (M+H).

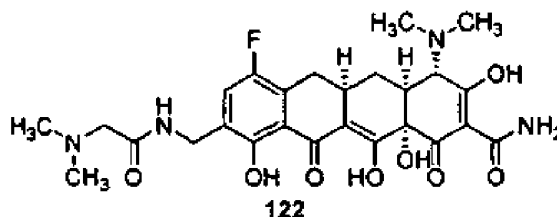
Composto de Referência **120**



Preparados de forma semelhante a **114** por meio de alquilação redutora de **113** com $t\text{-Bu-N}(\text{Cbz})\text{-CH}_2\text{CHO}$ seguido por hidrogenação: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,59 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 4,38 (s, 2 H), 4,09 (s, 1 H), 3,60-2,95 (m, 7 H), 3,03 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,41-2,30 (m, 1 H), 2,28-2,20 (m, 1 H), 1,72-1,60 (m, 1 H), 1,44 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 561,31 (M+H).

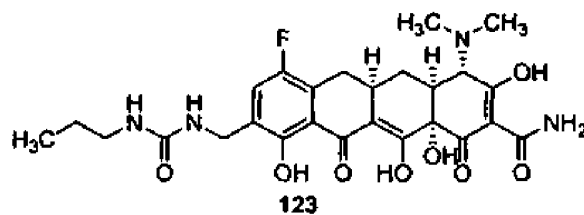
Composto de Referência **121**

2-*t*-Butilaminoacetilcloreto cloridrato (5,8 mg, 0,031 mmol, 1,2 equiv) foi adicionado a uma solução de DMF (0,2 ml) de **113** (12 mg, 0,026 mmol) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 30 min. A mistura de reação foi diluída com 0,05 N de HCl (2 ml) e injetada num sistema de autopurificação Waters equipado com uma coluna Fenomenex Polimerx 10 μ RP-1 100A [10 μ m, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl; Solvente B: CH₃CN; gradiente: 0–100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas para render 3,0 mg de produto puro **121**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,34 (d, *J* = 9,6 Hz, 1 H), 4,46 (s, 2 H), 4,08 (s, 1 H), 3,81 (s, 2 H), 3,18–2,92 (m, 3 H), 3,03 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,32–2,18 (m, 2 H), 1,69–1,60 (m, 1 H), 1,38 (s, 9 H); MS (ESI) *m/z* 575,30 (M+H).

Composto de Referência **122**

Preparados de forma semelhante ao composto **121**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,33 (d, *J* = 9,9 Hz, 1 H), 4,46 (s, 2 H), 4,08 (s, 1 H), 4,00 (s, 2 H), 3,23–2,91 (m, 3), 3,04 (s, 3 H), 2,97 (s, 3 H), 2,95 (s, 6 H), 2,32–2,18 (m, 2 H), 1,70–1,58 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 547,23 (M+H).

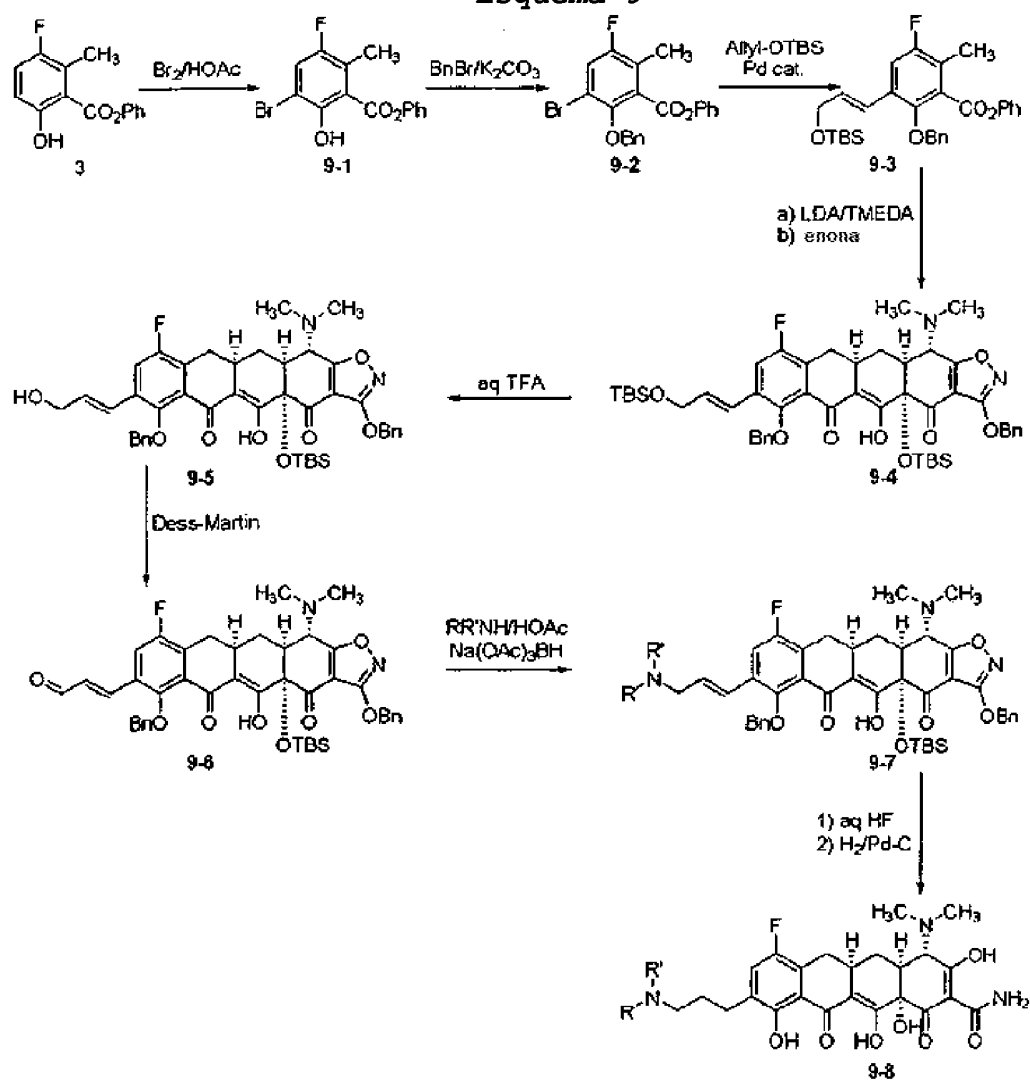
Composto de Referência 123



Preparados de forma semelhante a **121** utilizando isocianato de n-propilo: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,24 (d, $J = 9,8$ Hz, 1 H), 4,31 (s, 2 H), 4,08 (s, 1 H), 3,18-2,93 (m, 3 H), 3,10 (t, $J = 6,7$ Hz, 2 H), 3,03 (s, 3H), 2,96 (s, 3H), 2,32-2,18 (m, 2 H), 1,69-1,58 (m, 1 H), 1,55-1,46 (m, 2 H), 0,92 (t, $J = 6,7$ Hz, 3 H); MS (ESI) m/z 584,01 (M+H).

Exemplo de Referência 9. Síntese dos Compostos de Referência de Fórmula Estrutural (A), em que Y é $-(\text{CH}_2)_3\text{-N}(\text{R}^{\text{A}})(\text{R}^{\text{B}})$.

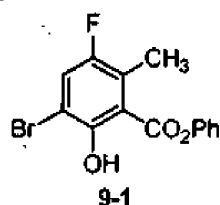
Esquema 9



No Esquema 9, R e R' são R^{A} e R^{B} respetivamente, como definido na Fórmula Estrutural (A).

Os seguintes compostos foram preparados de acordo com o Esquema 9.

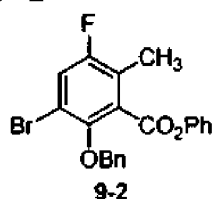
Composto de Preparação 9-1



Br_2 (2,7 ml, 52,0 mmol, 1,2 equiv) foi adicionado a uma solução de **3** (10,6 g, 43,3 mmol) em ácido acético (100

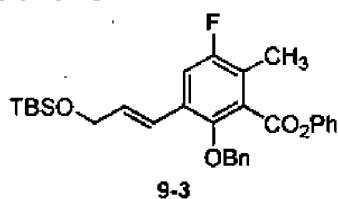
ml) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 12 h. A mistura resultante foi adicionada gota a gota a água com gelo (400 ml). A mistura foi permitida aquecer até 25 °C ao longo de 1 h. A suspensão resultante foi filtrada através de uma almofada de Celite. O sólido foi retirado por lavagem com EtOAc. A camada orgânica combinada foi seca (Na_2SO_4) e concentrada para dar 14 g de produto em bruto **9-1**.

Composto de Preparação **9-2**



Carbonato de potássio (8,9 g, 64,5 mmol, 1,5 equiv) e brometo de benzilo (11,5 ml, 96,8 mmol, 2,25 equiv) foram adicionados a uma solução de acetona (100 ml) de produto em bruto **9-1** (14 g, 43 mmol) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 12 h e concentrada. A mistura resultante foi dividida entre H_2O e EtOAc. A camada aquosa foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para render o produto em bruto **9-2**. Cromatografia *flash* em sílica gel (de 100:1 a 30:1 de hexanos/EtOAc) rendeu 15,4 g de composto **9-2** (87 % para 2 etapas).

Composto de Preparação **9-3**



$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (227 mg, 1,0 mmol, 0,2 equiv) e $\text{P}(\text{O-Tol})_3$ (462 mg, 1,5 mmol, 0,3 equiv) foram adicionados a uma solução de DMF (10 ml) de **9-2** (2,1 g, 5,06 mmol). A reação foi purgada com N_2 durante 5 min. Et_3N (3,5 ml, 25,3 mmol, 5 equiv) e aliloxi-t-butildimetilsilano (2,2 ml, 10,1 mmol, 2 equiv) foram adicionados à reação. A reação foi aquecida

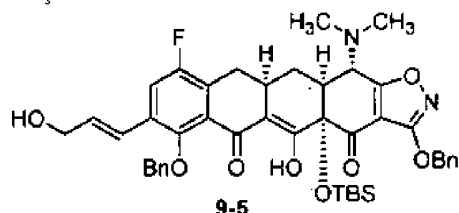
CN(C)[C@H]1[C@@H](OC(=O)c2cc(O)ccc2C(=O)[C@H]1c3cc(F)c(BrCC=CCTBS)c(c3)Br)C(=O)O

9-4

147

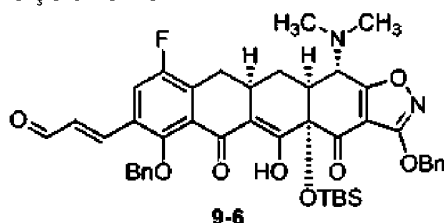
Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para dar 200 mg de **9-4** (59 %).

Composto de Preparação **9-5**



TFA (0,5 ml) foi adicionado a um THF/ H_2O (2 ml/0,5 ml) solução de **9-4** a 25°C. A reação foi agitada a 25 °C durante 1 h. A reação foi extinta com solução sat. de NaHCO_3 . A reação foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para dar em bruto **9-5**. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 μm , 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H_2O com 0,1 % de HCO_2H ; Solvente B: CH_3CN com 0,1 % de HCO_2H ; volume de injeção: 4,0 ml (CH_3CN); gradiente: 80→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e concentradas num RotaVap a 25 °C para remover a maior parte do acetonitrilo. A solução maioritariamente aquosa resultante foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para dar 80 mg de **9-5** (46 %).

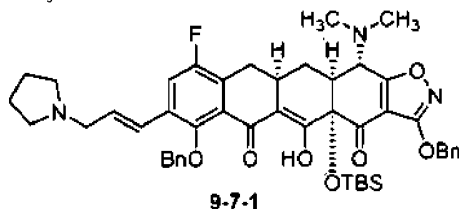
Composto de Preparação **9-6**



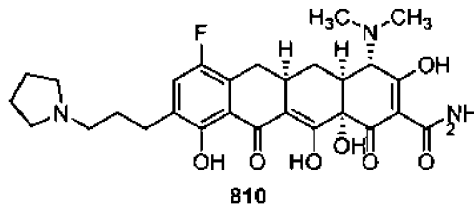
Periodinano de Dess-Martin (18 mg, 0,043 mmol, 1,2 equiv) foi adicionado a uma solução de CH_2Cl_2 (1 ml) de **9-5** (28 mg, 0,036 mmol) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 30 min e diluída com H_2O . A mistura resultante foi extraída com CH_2Cl_2 . Os extratos combinados de CH_2Cl_2 foram

secos (Na_2SO_4) e concentrados para dar o produto em bruto
9-6.

Composto de Preparação **9-7-1**



Pirrolidina (15 µl, 0,18 mmol, 5 equiv) foi adicionada a uma solução de dicloroetano (1 ml) de produto em bruto **9-6** (0,036 mmol) a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 10 min. HOAc (15 µl) e NaBH(OAc)₃ (15 mg, 0,072 mmol, 2 equiv) foram adicionados à reação. A mistura de reação foi agitada a 25 °C durante 1 h e extinta com H₂O. A mistura resultante foi extraída com CH₂Cl₂. Os extratos combinados de CH₂Cl₂ foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para dar em bruto **9-7-1**. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 µm, 19 x 50 mm, taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H₂O com 0,1 % de HCO₂H; Solvente B: CH₃CN com 0,1 % de HCO₂H; volume de injeção: 4,0 ml (CH₃CN); gradiente: 0→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e concentradas num RotaVap a 25 °C para remover a maior parte do acetonitrilo. A solução maioritariamente aquosa resultante foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para dar 6 mg de **9-7-1** (20 % para 2 etapas). Composto de Referência **124**



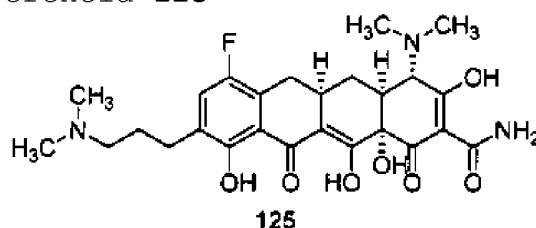
HF aquoso (0,3 ml, 48 %) foi adicionado a uma solução de CH₃CN (2 ml) de **9-7-1**. (6 mg, 0,007 mmol) num tubo de

polipropileno a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 18 h. A mistura resultante foi vertida numa solução aquosa de K_2HPO_4 (2 g, dissolvido em 15 ml água). A mistura foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados para render o produto em bruto desililo.

Paládio sobre carbono (2 mg, 10 % em peso) foi adicionado a um HCl/solução de MeOH (0,5N, 2 ml) do produto em bruto desililo. A reação foi purgada com hidrogénio e agitada sob H_2 (balão) a 25 °C durante 4 h. A mistura de reação foi filtrada através de uma tampa pequena de Celite. O filtrado foi concentrado para render o produto em bruto. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Fenomenex Polimerx 10 μ RP-1 100A [10 μ m, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl/água; Solvente B: CH_3CN ; volume de injeção: 4,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 0→50 % de B ao longo de 7 min, 50→100 % ao longo de 3 min, e 100 % ao longo de 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada, eluindo a 6,4-8,2 min, foram colhidas e liofilizadas para render 1,5 mg de composto **124**: 1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,28 (d, J = 9,7 Hz, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,71-3,63 (m, 2 H), 3,32-2,95 (m, 7 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,81-2,73 (m, 2 H), 2,32-1,98 (m, 8 H), 1,70-1,59 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 544,18 (M+H).

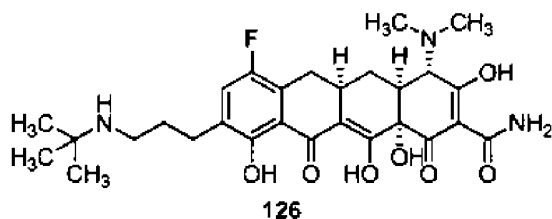
Compostos de Referência **125** - **127** foram preparados de forma semelhante ao composto **124** utilizando as correspondentes aminas na etapa de aminação redutiva.

Composto de Referência **125**



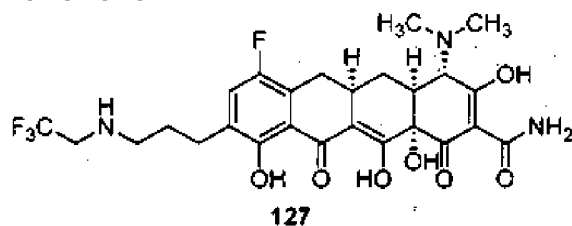
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,28 (d, $J = 9,7$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,25-2,94 (m, 5 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,89 (s, 6 H), 2,80-2,70 (m, 2 H), 2,32-2,18 (m, 2 H), 2,10-2,00 (m, 2 H), 1,70-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 518,26 (M+H).

Composto de Referência **126**



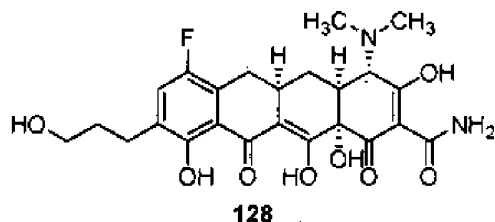
^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,27 (d, $J = 9,6$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 1 H), 3,20-2,93 (m, 5 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,82-2,72 (m, 2 H), 2,33-2,19 (m, 2 H), 2,04-1,94 (m, 2 H), 1,70-1,58 (m, 2 H), 1,37 (s, 9 H); MS (ESI) m/z 546,20 (M+H).

Composto de Referência **127**



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,28 (d, $J = 9,7$ Hz, 1 H), 4,09 (s, 1 H), 4,04 (q, $J = 9,0$ Hz, 2 H), 3,25-2,95 (m, 5 H), 3,04 (s, 3 H), 2,97 (s, 3 H), 2,84-2,75 (m, 2 H), 2,32-2,20 (m, 2 H), 2,13-2,03 (m, 2 H), 1,70-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) m/z 572,22 (M+H).

Composto de Referência **128**

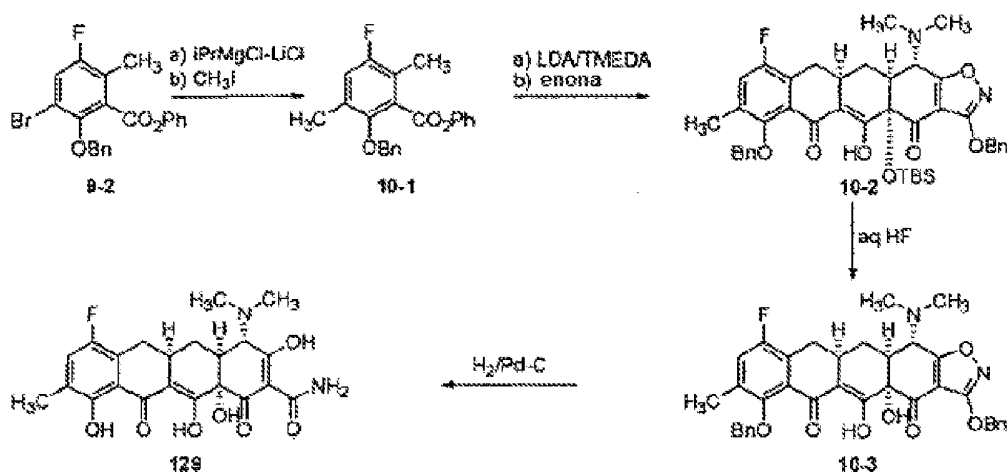


Composto **128** foi preparado a partir do composto **9-5** por tratamento de HF seguido por hidrogenação sob condições semelhantes: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,21 (d, $J = 9,87$

Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,63-3,57 (m, 2 H), 3,20-2,90 (m, 5 H), 3,04 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,75-2,68 (m, 2 H), 2,32-2,17 (m, 2 H), 1,89-1,79 (m, 2 H), 1,70-1,57 (m, 1 H), 1,25 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H); MS (ESI) m/z 491,18 (M+H).

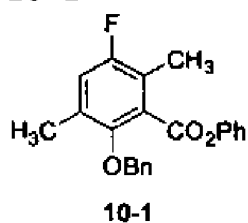
Exemplo de Referência 10. Síntese de Composto de Referência 129

Esquema 10



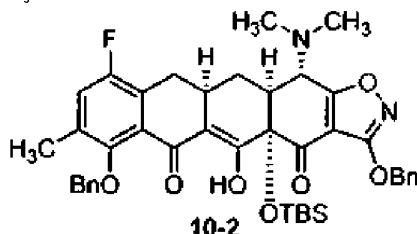
Os seguintes compostos foram preparados de acordo com o Esquema 10.

Composto de Preparação 10-1



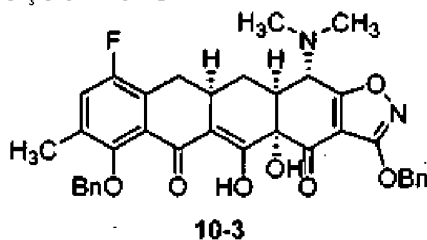
iPrMgCl·LiCl (0,68 ml, 1,2 M, 0,82 mmol, 2 equiv) foi adicionado a uma solução em THF (5 ml) de **9-2** (170 mg, 0,41 mmol) a 0 °C. A reação foi agitada a 0 °C durante 30 min. MeI (0,2 ml, 1,64 mmol, 4 equiv) foi adicionado à mistura de reação. A reação foi agitada a 0 °C durante 30 min e permitida aquecer até 25 °C ao longo de 1 h. A reação foi extinta com NH₄Cl solução e extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para dar em bruto **10-1**. Cromatografia *flash* em sílica gel

(30:1 hexanos/EtOAc) rendeu 31 mg de composto **10-1** (22 %).
Composto de Preparação **10-2**



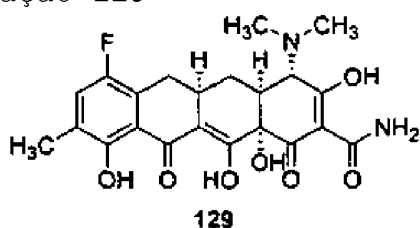
Uma solução em THF (1 ml) de **10-1**. (31 mg, 0,088 mmol, 1,7 equiv) foi adicionado a uma solução em THF (1 ml) de LDA (0,1.3 ml, 1,3 M, 0,176 mmol, 3,3 equiv) e TMEDA (39 µl, 0,26 mmol, 4,9 equiv). A reação foi agitada a -78 °C durante 10 min. Uma solução em THF (1 ml) de enona (26 mg, 0,053 mmol) foi adicionada à reação a -78 °C. A reação foi agitada a -78 °C durante 30 min e permitida que aquecesse até 25 °C ao longo de 1 h, extinta com solução saturada de NH₄Cl, e extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para render o produto em bruto **10-2**. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Sunfire Prep C18 OBD [5 µm, 19 x 50 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: H₂O com 0,1 % de HCO₂H; Solvente B: CH₃CN com 0,1 % de HCO₂H; volume de injeção: 4,0 ml (CH₃CN); gradiente: 80→100 % de B ao longo de 15 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e concentradas num RotaVap a 25 °C para remover a maior parte do acetonitrilo. A solução maioritariamente aquosa resultante foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para dar 10 mg de **10-2** (26 %).

Composto de Preparação **10-3**



HF aquoso (0,3 ml, 48 %) foi adicionado a uma solução de CH₃CN (2 ml) de **10-2** (6 mg, 0,008 mmol) num tubo de polipropileno a 25 °C. A reação foi agitada a 25 °C durante 18 h. A mistura resultante foi vertida numa solução aquosa de K₂HPO₄ (2 g, dissolvido em 15 ml água). A mistura foi extraída com EtOAc. Os extratos de EtOAc combinados foram secos (Na₂SO₄) e concentrados para render o produto em bruto **10-3**.

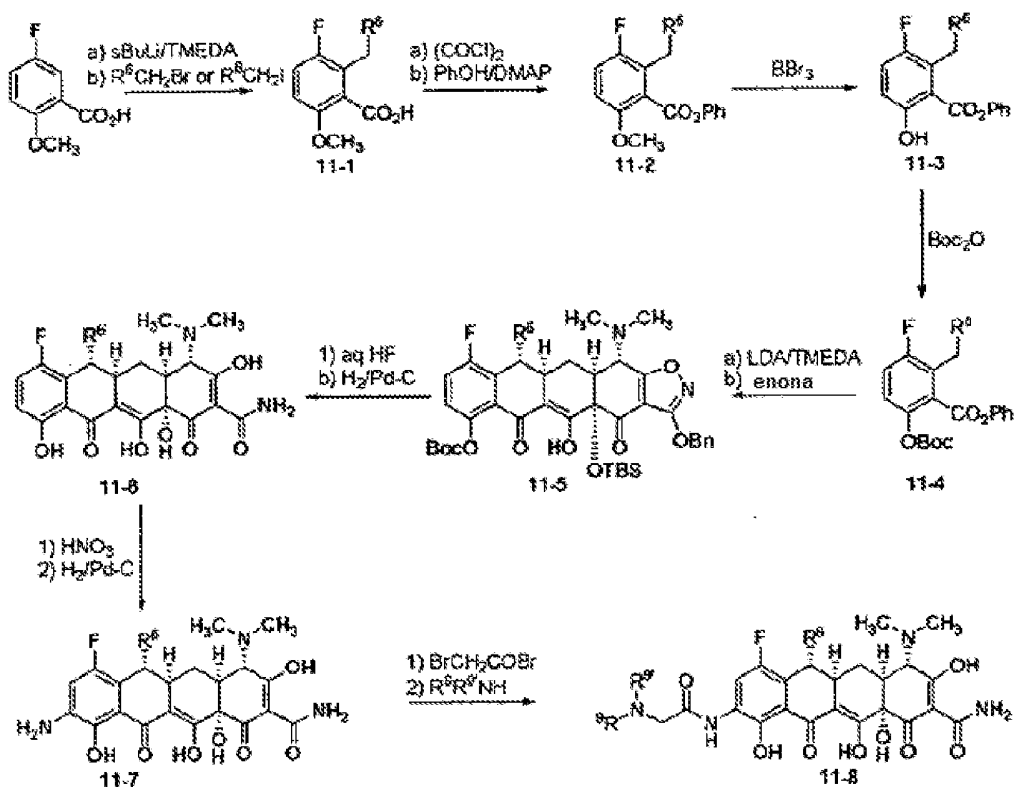
Composto de Preparação **129**



Paládio sobre carbono (2 mg, 10 % em peso) foi adicionado a um HCl/solução de MeOH (0,5N, 2 ml) do produto em bruto **10-3**. A reação foi purgada com hidrogénio e agitada sob H₂ (balão) a 25 °C durante 4 h. A mistura de reação foi filtrada através de uma tampa pequena de Celite. O filtrado foi concentrado para render o produto em bruto. A purificação por meio de HPLC preparativa de fase reversa num sistema de autopurificação Waters utilizando uma coluna Fenomenex Polimerx 10 µ RP-1 100A [10 µm, 150 x 21,20 mm; taxa de fluxo, 20 ml/min; Solvente A: 0,05 N de HCl/água; Solvente B: CH₃CN; volume de injeção: 4,0 ml (0,05 N de HCl/água); gradiente: 0→70 % de B ao longo de 7 min, 70→100 % ao longo de 3 min, e 100 % ao longo de 5 min; colheita de fração dirigida por massa]. Frações com a MM desejada foram colhidas e liofilizadas para render 1,5 mg de composto **129**: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,19 (d, *J* = 9,7 Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,20-2,93 (m, 3 H), 3,03 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H), 2,31-2,17 (m, 2 H), 2,22 (s, 3 H), 1,69-1,58 (m, 1 H); MS (ESI) *m/z* 447,23 (M+H).

Exemplo de Referência 11. Síntese de Compostos de Referência 130-132

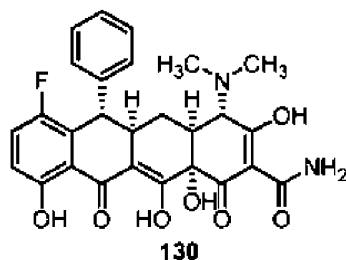
Esquema 11



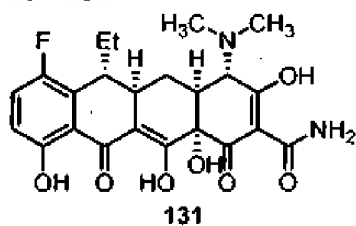
No Esquema 11, R⁶, R⁹, e R^{9'} é X, R^B, e R^A, respectivamente, como definido em Fórmula Estrutural (A).

Compostos de Referência 130 - 132 foram preparados de acordo com o Esquema 11.

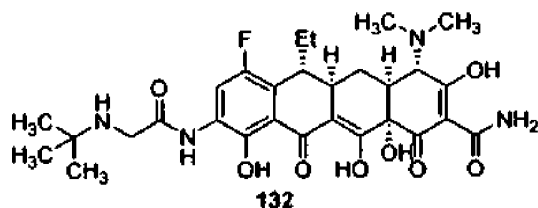
Composto de Referência 130



Composto de Referência 131

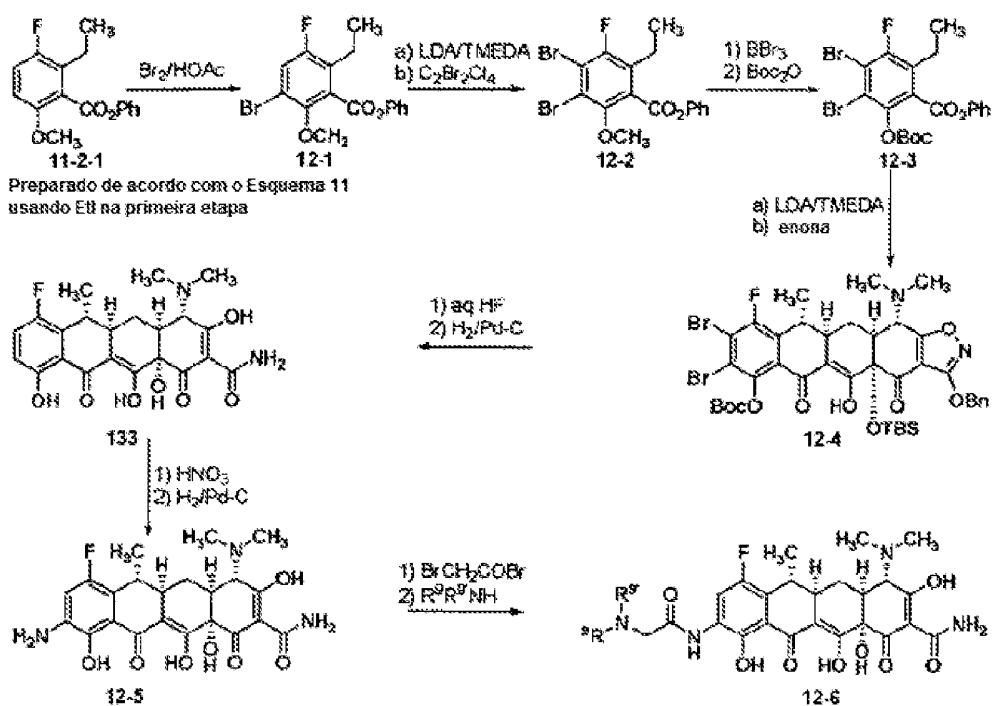


Composto de Referência 132



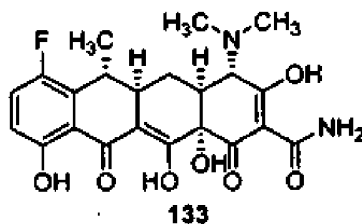
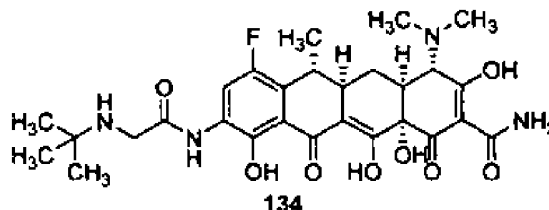
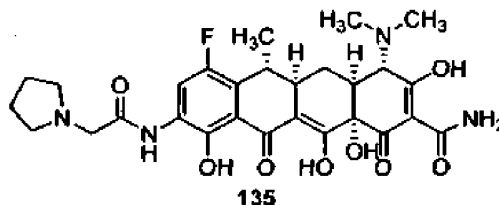
Exemplo de Referência 12. Síntese de Compostos de Referência 133-135

Esquema 12



No Esquema 12, R^9 e $R^{9'}$ é R^B , e R^A , respetivamente, conforme definido em Fórmula Estrutural (A).

Os compostos de Referência 133 - 135 foram preparados de acordo com o Esquema 12.

Composto de Referência **133**Composto de Referência **134**Composto de Referência **135**

Exemplo 13

As atividades antibacterianas para os compostos divulgados no presente documento foram estudadas de acordo com os seguintes protocolos.

Ensaio de Concentração inibitória mínima

Estirpes bacterianas congeladas foram descongeladas e subcultivadas em caldo de Mueller Hinton (MHB) ou outro meio adequado (*Streptococcus* requer sangue e *Haemophilus* requer hemina e NAD). Após a incubação durante a noite, as estirpes foram subcultivadas em Agar Mueller Hinton e de novo incubadas durante a noite. Colónias foram observadas para a morfologia de colónia adequada e ausência de contaminação. As colónias isoladas foram selecionadas para preparar um inóculo de partida equivalente a um 0,5 padrão de McFarland. O inóculo de partida foi diluído 1:125 utilizando MHB para utilização adicional. Compostos de teste foram preparados por meio de diluição em água estéril a uma concentração final de 5,128mg/ml. Antibióticos

(armazenados congelados, descongelados e utilizados em 3 horas do descongelamento) e compostos foram adicionalmente diluídos às concentrações de trabalho desejadas.

Os ensaios foram executados como segue. Cinquenta µl de MHB foram adicionados a poços 2-12 de uma placa de 96 poços. Cempl de antibióticos diluídos adequadamente foram adicionados ao poço 1. Cinquenta µl de antibióticos foram removidos do poço 1 e adicionado ao poço 2 e o conteúdo do poço 2 misturado por pipetagem para cima e para baixo cinco vezes. Cinquenta µl da mistura no poço 2 foram removidos e adicionados ao poço 3 e misturados como acima. Diluições em série foram continuadas da mesma maneira até o poço 12. Cinquenta µl foram removidos do poço 12 de modo que tudo conteve 50 µl. Cinquenta µl do inóculo de trabalho foram então adicionados a todos os poços de teste. Um poço de controlo de crescimento foi preparado pela adição de 50 µl de inóculo de trabalho e 50 µl de MHB a um poço vazio. As placas foram então incubadas a 37 °C durante a noite, removido do incubador e cada poço foi lido num espelho de leitor de placas. A menor concentração (MIC) do composto de teste que inibiu o crescimento das bactérias foi registrado.

Exemplo:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
[Abt]	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015
Cresc.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
[abt] = concentração de antibiótico no poço												
Cresc. = crescimento bacteriano (turvação)												

Interpretação: MIC = 2 µg/ml

Protocolo para Determinar a Concentração Inóculo (Contagem de Viáveis)

Noventa µl de NaCl a 0,9 % estéril foram pipetados nos poços 2-6 de uma placa de microtitulação de 96 poços. Cinquenta µl do inóculo foram pipetados no poço 1. Dez µl foram removidos do poço 1 e adicionados ao poço 2 seguido

por mistura. Dez µl foram removidos do poço dois e misturados com o conteúdo de poço 3 e assim por diante criando diluições em série até ao poço 6. Dez µl foram removidos de cada poço e inoculados numa placa de agar adequada. A placa foi colocada num incubador de CO₂ durante a noite. As colónias em pontos que contêm distintas colónias foram contadas. A contagem de viáveis foi calculada através da multiplicação do número de colónias pelo fator de diluição.

Ponto do Poço	1	2	3	4	5	6
Fator de diluição	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷

Estirpes bacterianas

Quinze estirpes bacterianas, listadas a seguir, foram examinadas em ensaios de concentração inibitória mínima (MIC).

ID	Organismo	Fonte	Resistência	Comentários	Gram Rx
SA100	<i>S. aureus</i>	ATCC 13709	MSSA	estirpe Smith (modelo animal)	positiva
SA101	<i>S. aureus</i>	ATCC 29213	MSSA	controle	positiva
SA158	<i>S. aureus</i>	MR, SK75	resistente a tet.: tetK (efluxo)		positiva
SA161	<i>S. aureus</i>	Micromyx, LLC	resistente a tet.: tet(M) ribosomal protecção		positiva
EF103	<i>E. faecalis</i>	ATCC 29212	intermediário/resistente a tet. - mecanismo não especificado	controle	positiva
EF159	<i>E. faecalis</i>	MR, DS160	resistente a tet.: tetM (protecção de estria)	cip-R, ery-1	positiva

SP106	<i>S. pneumoniae</i>	ATCC 49619	wt	controle	positiva
SP160	<i>S. pneumoniae</i>	MR, 54	resistente a tet.:tet M (protecção de estria)	pen-R, ery-R	positiva
EC107	<i>E. coli</i>	ATCC 25922	wt	controle	negativa
EC155	<i>E. coli</i>	MR, 10	resistente a tet.:tetA (efluxo)		negativa
KP109	<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 13883	wt		negativa
KP153	<i>K. pneumoniae</i>	MR, 1	resistente a tet.:tetA (efluxo)	cip-R, gen-R	negativa
EC108	<i>E. cloacae</i>	ATCC 13047	wt		negativa
AB110	<i>A. baumannii</i>	ATCC 19606	wt		negativa
PA111	<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	wt	controle	negativa
MSSA = <i>S. aureus</i> susceptível a meticilina wt = tipo selvagem ATCC = Coleção Americana de Culturas Celulares MR = Marilyn Roberts, University de Washington tet = tetraciclina cip = ciprofloxacina R = resistente gen = gentamicina cry = eritromicina pen = penicilina					

Resultados

Valores de concentração de inibição mínima (MIC) para os compostos divulgados no presente documento são proporcionados nos Quadros 1a, 1b, 2a, 2b e 3. O Composto 66 é o composto da invenção. Os outros compostos são compostos de referência.

Quadro 1a

ID do composto	MICs (µg/ml)							
	SA101	SA100	SA161	SA158	EF103	EF159	SP106	S0160
11	0,125	0,25	0,25	0,0625	0,0625	0,125	≤0,0156	≤0,0156
12	≤0,0156	≤0,0156	0,125	0,5	≤0,0156	0,0625	≤0,0156	≤0,0156
13	≤0,0156	≤0,0156	0,0625	0,25	≤0,0156	0,0625	≤0,0156	≤0,0156
14	0,5	0,25	0,5	0,25	0,125	0,25	0,03	0,125
15	0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	0,016	0,016
16	0,125	0,25	0,25	0,5	0,0625	0,0625	≤0,0156	≤0,0156
17	0,25	0,5	1	2	0,25	1	0,0625	0,0625
18	0,0625	≤0,0156	0,0625	0,125	≤0,0156	0,0313	≤0,0156	≤0,0156
19	0,125	0,25	0,25	0,25	≤0,0156	0,125	≤0,0158	≤0,0156
20	≤0,0156	0,25	0,25	0,5	≤0,0156	0,0625	≤0,0156	≤0,0156
21	0,25	0,25	0,5	4	0,125	1	≤0,0156	0,0625
22	1	1	2	4	2	4	0,5	1
23	≤0,0156	0,5	0,125	0,25	≤0,0156	0,0313	≤0,0156	≤0,0156
24	0,25	0,25	0,125	0,125	≤0,0156	≤0,0156	≤0,0156	≤0,0156
25	0,125	0,125	0,125	0,0313	≤0,0156	0,0625	≤0,0156	≤0,0156
26	1	1	1	1	0,25	0,5	≤0,0156	≤0,0156
27	2	2	4	16	2	4	0,125	0,5
28	1	2	2	1	1	1	0,125	0,0625
29	4	4	4	2	2	2	1	1
30	2	1	4	2	2	2	2	4
31	1	2	2	1	0,5	1	0,25	0,25

Quadro 1b

ID do composto	MICs (µg/ml)						
	EC107	EC155	AB110	PA111	EC108	KP109	KP153
11	0,25	2	0,5	16	1	1	2
12	0,25	8	1	16	1	1	4
13	0,125	4	0,25	16	1	0,5	2
14	0,5	4	0,25	16	2	1	2
15	1	4	0,125	16	4	2	4
16	0,5	8	1	16	1	1	4

17	2	32	0,5	32	8	4	32
18	0,125	4	0,25	16	0,5	0,5	4
19	0,25	4	0,25	16	2	1	4
20	0,25	8	1	8	1	1	4
21	1	16	2	16	4	2	8
22	16	>32	2	>32	>32	32	>32
23	0,125	8	0,125	8	1	0,5	8
24	0,5	8	0,0313	16	2	1	8
25	0,5	8	0,125	32	2	2	8
26	0,5	4	0,25	16	2	2	4
27	4	32	16	>32	16	8	32
28	2	16	0,5	>32	8	4	16
29	8	8	8	>32	8	8	8
30	>32	>32	8	>32	>32	>32	>32
31	2	8	0,5	>32	8	4	8

Quadro 2a

ID do composto	MICs (µg/ml)							
	SA101	SA100	SA161	SA158	EF103	EF159	SP106	SP160
32	0,125	0,5	0,25	0,5	0,0625	0,125	<0,0156	<0,0156
33	0,25	0,5	1	2	0,25	1	<0,0156	0,125
34	<0,0156	0,0625	0,0625	0,125	<0,0156	<0,0156	<0,0156	<0,0156
35	0,25	0,25	0,5	0,5	0,125	0,25	0,016	0,016
36	0,25	0,5	0,5	1	0,25	0,25	<0,0156	<0,0156
37	8	8	>32	>32	16	16	2	4
38	8	8	16	32	8	16	2	8
39	2	2	2	16	2	2	0,25	0,5
40	1	1	1	16	1	1	0,0625	0,5
41	1	1	2	1	1	2	0,125	0,125
42	0,5	1	2	1	0,5	1	0,125	0,0625
43	0,5	0,5	1	0,5	0,25	0,5	<0,0156	<0,0156
44	4	4	8	8	8	8 0,5		1
45	0,5	0,5	1	0,5	0,25	0,5	0,125	0,06
46	0,25	0,25	0,5	0,25	0,25	0,5	0,125	0,125

Quadro 2b

ID do composto	MICs (µg/ml)						
	EC107	EC155	AB110	PA111	EC108	KP109	KP153
32	0,25	8	2	8	1	1	4
33	2	>32	4	>32	16	4	>32
34	0,25	2	0,125	16	1	0,5	2
35	1	16	0,25	>32	8	4	8
36	2	32	0,125	>32	4	4	32
37	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
38	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
39	4	>32	32	>32	16	16	>32
40	4	>32	8	32	4	8	32
41	4	16	0,5	>32	16	8	16
42	4	16	0,5	>32	16	8	16
43	1	4	0,125	32	4	2	4
44	32	>32	8	>32	>32	>32	>32
45	1	2	0,06	>32	4	2	4
46	2	4	0,125	>32	32	4	32

Quadro 3. Valores de MIC para o Composto da invenção (Cmpd 66) e Compostos de Referência com Sanciciclina, Minociclina e Tigeciclina. A = inferior ou igual ao menor MIC entre os três compostos de controle; B = superior ao menor MIC entre os três compostos de controle, mas inferior ao maior MIC entre os três compostos de controle; C = superior a MIC de todos os três compostos de controle. O menor limite concentração do ensaio é 0,016. Assim, valores relatados no ensaio de 0,016 representam um MIC de 0,016 ou inferior.

Cmpd	SA101 29213	SA100 MPSA, 13709	SA161 MPSA, tetM	SA158 tetK	EP103 29212	ZE159 tetM	SP106 49619	SP160 tetM	EC107 25922	EC155 tetA	AB110 19606	PA111 27853	EC 108 13883 13047	KP109 13883	KP153 tetA
11	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	C	B	B	B	B
12	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	C	B	B	B	B
13	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B
14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
15	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B
16	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	C	B	C	A	B
17	B	D	B	B	B	B	B	B	B	B	C	C	B	B	B
18	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B
19	B	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B
20	A	B	B	B	A	B	A	A	B	B	C	A	B	B	B
21	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	C	B	B	B	B
22	C	B	B	B	B	B	C	B	C	C	C	C	C	C	C
23	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B
24	R	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

135	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	C	B	C	B	C	B	B
Minociclina	0,06	0,06	8	0,03	1	16	0,016	2	0,5	8	0,06	16	2	1	8		
Sanciclina	0,5	1		4	8	8	0,25	8	8	32	0,25	>32	8	8	32		
Tigeciclina	0,06	0,06	0,125	0,06	0,03	0,06	0,016	0,016	0,03	0,5	0,25	8	0,25	0,125	1		

Estudo IV de ED₅₀

Compostos divulgados no presente documento foram avaliados para eficácia num modelo de infecção sistêmica em ratinho contra um isolado de *S. aureus* suscetível, ATCC 13709. Ratinhos foram infetados via injeção intraperitoneal com um carga bacteriana que resultaria em 0 % de sobrevivência dentro de 48 horas após infecção. Os ratinhos receberam os compostos de teste 60 minutos após a infecção via injeção intravenosa. Os grupos de controlo da infecção não receberam tratamento. A sobrevivência foi avaliada ao longo de um período de 48 horas. A percentagem de sobrevivência foi calculada e os valores PD₅₀ foram determinados utilizando análise Probit.

Estudo de septicemia Tet-R

O protocolo para estudo de septicemia de resistência a tetraciclina foi semelhante ao protocolo para o estudo de EV₅₀ IV descrito acima exceto que o modelo de infecção utilizado foi *S. aureus* SA161, uma estirpe resistente à tetraciclina.

Septicemia GN

O protocolo para estudo de septicemia GN foi semelhante ao protocolo para o estudo de EV₅₀ IV descrito acima exceto que o modelo de infecção utilizado foi *E. coli* ATCC 25922.

Estabilidade metabólica

Uma solução-mãe dos compostos de teste foi preparada através da dissolução do composto em DMSO até um concentração final de 1,0 mg/ml.

Os analitos e padrão interno foram diluídos e infundidos no sistema de LC/MS para determinar a ionização ótima, polaridade e fragmentação de MS/MS para seleção de transições de MRM específicas (monitorização de reação múltipla). Condições cromatográficas genéricas foram desenvolvidas com tempo de ciclo inferior a 5 minutos.

Ensaio de microssoma humano agrupados foram

conduzidos a 0,2 mg/ml de proteína com um sistema de cofator de geração de NADPH (1,3 mM de NADP⁺, 3,3 mM de glucose-6-fosfato, 0,4 U/ml de glucose-6-fosfato desidrogenase, e 3,3 mM de cloreto de magnésio).

Compostos de teste foram diluídos de soluções-mãe de DMSO a concentrações de reação de 1 µM. Pontos de tempo foram removidos a 0 e 60 minutos. Após uma quebra de proteína com acetonitrilo, as amostras são analisadas por meio de LC/MS/MS. Áreas de pico são comparadas ao momento 0 da amostra, e a percentagem de analito restante é calculada. Uma reação não contendo cofator foi utilizada para controlo para a perda de analito devido a ligação não específica, degradação térmica e solubilidade.

SA MIC₉₀

Vinte isolados clínicos selecionados aleatoriamente de *S. aureus* foram utilizados para determinar a concentração inibidora mínima (MIC) de compostos de teste para 90 % dos isolados (MIC₉₀). MICs foram realizados por diluição em caldo de microtitulação num formato de 96 poços de acordo com as diretrizes do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), conforme descritos acima.

As contagens de viáveis foram determinadas através de diluição em série de 10 vezes. As diluições foram preparadas em NaCl a 0,9 % estéril. Dez microlitros do inóculo e de cada de 5 diluições foram colocados em placa sobre placas de agar sangue ou Mueller Hinton, incubadas durante a noite a 37 °C com 5 % de CO₂, e contadas.

TetR MIC₉₀

Dez isolados selecionados com base na resistência a tetraciclina foram utilizados para determinar o MIC₉₀ conforme descrito acima.

EC MIC₉₀

Vinte isolados clínicos selecionados aleatoriamente de *E. coli* foram utilizados para determinar o MIC₉₀ conforme descrito acima.

Ligação de proteína

Compostos de teste foram preparados como soluções-mãe de 1,0 mg/ml em DMSO. Os analitos e padrão interno foram diluídos e infundidos no sistema de LC/MS para determinar a ionização, polaridade e fragmentação de MS/MS ótimas durante a seleção de transições de MRM específicas (monitorização de reação múltipla). Condições cromatográficas genéricas foram desenvolvidas com tempo de ciclo inferior a 5 minutos.

As soluções-mãe de DMSO foram diluídas a 1 e 10 mg/μl em plasma humano e incubados em dispositivos RED durante 4 horas a 37 °C. O ponto de tempo foi removido no final do período de incubação. Após uma quebra de proteína com acetonitrilo, as amostras foram analisadas por meio de LC/MS/MS. Áreas de pico para as câmaras de tampão (recetor) e amostra (dador) foram comparadas e a fração de proteína ligada é calculada. A análise foi conduzida por duplicado.

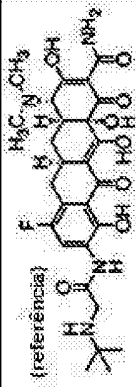
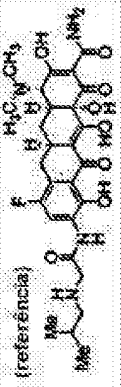
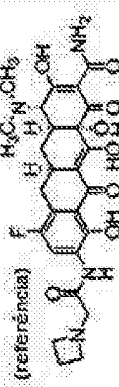
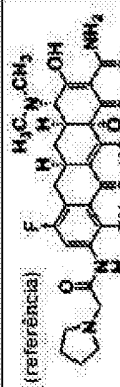
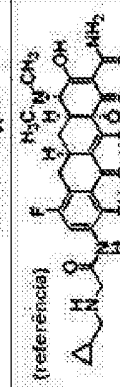
Carga da coxa

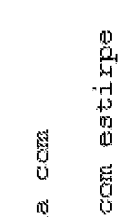
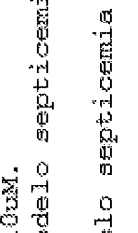
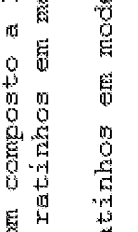
Ratinhos CD-1 fêmeas foram pré-tratados com ciclofosfamida para tornar os ratinhos neutropénicos. Os ratinhos foram infetados com *S. aureus* ATCC 13709 através de injeção no músculo da coxa direita de 0,1 ml por ratinho. Uma hora e meia após a infeção, os ratinhos foram tratados por via IV com compostos de teste em doses variando desde 0,3 até 30 mg/kg ou de 0,3 a 20 mg/kg. Quatro ratinhos foram tratados com cada concentração de fármaco. Vinte e quatro horas após o tratamento, os ratinhos foram sacrificados através de inalação de CO₂. As coxas direitas dos ratinhos foram assepticamente removidas, pesadas, homogeneizadas, diluídas em série, e inoculadas em placa com meio TSA. As placas foram incubadas durante a noite a 37 °C em 5 % de CO₂. Foram calculadas as unidades formadoras de colónia por grama de coxa através da enumeração de colónias na placa e posteriormente ajustando para as diluições em série e peso da coxa.

EP2682387B1

Os resultados para os estudos de atividade biológica descritos acima são listados no Quadro 4.

Quadro 4 (referência)

	ED50 IV	Meta Stab %	SAMIC90	TetRMIC90	EC MIC90	% Lig. Prot.	septicemia Tetr	Septicemia GN	Carga na coxa
 (referência)	0,3	104 %	0,03	2	0,5	90	0,4	6,2	Diminuição de 4,41 log 10
 (referência)	0,55	72 %	0,03	4	1	95,6	3,5	14,3	Diminuição de 5,01 log 10
 (referência)	0,07	85 %	0,03	4	0,5	87,1			
 (referência)	0,3	86 %	0,03	2	0,5	79,4	1	4,36	Diminuição de 5,24 log 10
 (referência)	0,55	65 %	0,03	8	2	87,8			

(referência)	0,3	96 %	0,06	2	1	96,9		
	0,073	109 %	0,06	4	4	93,6	0,62	4,3
(referência) f								Diminuição de 4,12 log 10
	0,97	55 %	0,06	1	0,5	69,1	0,55	2,1
(referência) f								Diminuição de 4,89 log 10
								
(referência) f								

ED₅₀: mg/kg requerido para proteger 50 % de ratinhos em modelo septicemia com estirpe de *S. aureus* Smith.

Meta Stab %: % de composto restante após incubação de 60 min, 37 °C com microsommas de fígado humano.

SA MIC90: concentração (µg/ml) necessária para inibir 90 % de isolados clínicos de *S. aureus* (n=20).

Tetr MIC90: concentração (µg/ml) necessária para inibir 90 % de *S. aureus* resistente a tetraciclina (n=10).

EEC MIC90: concentração (µg/ml) necessária para inibir 90 % de isolados clínicos de *E. coli* (n=20).

Lig. Prot.: % de ligação de proteína em plasma humano com composto a 10µM.

Septicemia TetR: mg/kg necessária para proteger 50 % de ratinhos em modelo septicemia com estirpe de *S. aureus* resistente a tetraciclina.

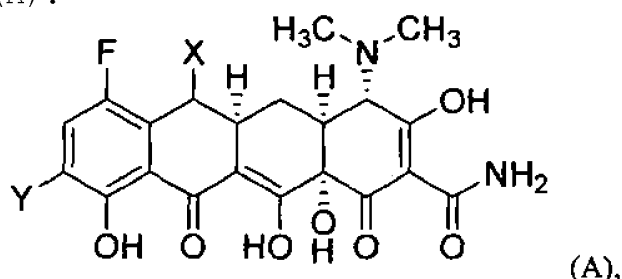
Septicemia GN: mg/kg necessária para proteger 50 % de ratinhos em modelo septicemia com estirpe de *E. coli*.

Carga na coxa: redução máxima de log10 em bactérias em comparação com controle não tratado.

redução máxima de log10: redução de contagem bacteriana máxima (log10) conseguida nas doses de teste.

São descritos aspetos particulares nos seguintes parágrafos numerados.

Parágrafo 1. Um composto representado pela Fórmula Estrutural (A):



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

X é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo;

Y é selecionado a partir de hidrogénio, $-(C_1-C_7)$ alquilo, carbociclilo, $-(C_1-C_4)$ alquilen- $N(R^A)(R^B)$, $-(C_1-C_4)$ alquilen- $N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{0-4}-N(R^A)(R^B)$, $-CH=N-OR^A$, $-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-[C(R^D)(R^E)]_{1-4}-N(R^E)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-C(O)-(C_1-C_6)$ alquilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heterociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -heteroarilo, $-N(R^F)-C(O)$ -carbociclilo, $-N(R^F)-C(O)$ -arilo, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilen- $N(R^A)(R^B)$, $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilen-carbociclilo, e $-N(R^F)-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilen-arilo em que: pelo menos um de X e Y não é hidrogénio;

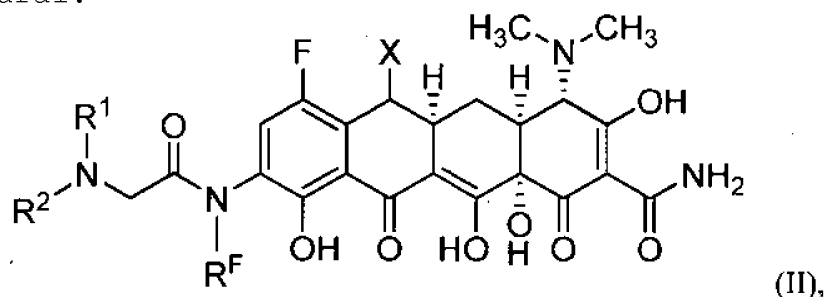
cada R^A e R^B são independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_0-C_6)$ alquilen-carbociclilo, $-(C_0-C_6)$ alquilen-arilo, $-(C_0-C_6)$ alquilen-heterociclilo, $-(C_0-C_6)$ alquilen-heteroarilo, $-(C_1-C_6)$ alquilen- O -carbociclilo, $-(C_1-C_6)$ alquilen- O -arilo, $-(C_1-C_6)$ alquilen- O -heterociclilo, $-(C_1-C_6)$ alquilen- O -heteroarilo, $-S(O)_m-(C_1-C_6)$ alquilo, $-(C_0-C_4)$ alquilen- $S(O)_m$ -carbociclilo, $-(C_0-C_4)$ alquilen- $S(O)_m$ -arilo, $-(C_0-C_4)$ alquilen- $S(O)_m$ -heterociclilo e $-(C_0-C_4)$ alquilen- $S(O)_m$ -heteroarilo; ou

R^A e R^B tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heterociclilo ou heteroarilo, em que o heterociclo ou heteroarilo compreende opcionalmente 1 a 4 heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O; cada R^D e cada R^E é independentemente selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_6) alquilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, ou uma fração de cadeia lateral de aminoácido de ocorrência natural, ou R^D e R^E tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um carbociclilo de 3-7 membros, ou um carbociclilo de 4-7 membros, em que o heterociclilo formado por R^D e R^E compreende adicionalmente um a dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, S e O; R^F é selecionado a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, carbociclilo, arilo e heteroarilo; e m é 1 ou 2, em que:

cada carbociclilo, arilo, heteroarilo ou heterociclilo é opcionalmente e independentemente substituído por um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-OH$, $=O$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilo- $O-(C_1-C_4)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilo halo-substituído, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo halo-substituído, $-C(O)-(C_1-C_4)$ alquilo, $-C(O)-((C_1-C_4)$ alquilo fluoro-substituído), $-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilo, $-N(R^G)(R^G)$, e CN; cada alquilo no grupo representado por R^A , R^B , R^D e R^E é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de halo, $-(C_1-C_4)$ alquilo, $-OH$, $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, $-(C_1-C_4)$ alquilo- $O-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1-C_4) alquilo fluoro-substituído, $-S(O)_m-(C_1-C_4)$ alquilo, e $-N(R^G)(R^G)$, em que cada R^G é hidrogénio ou (C_1-C_4) alquilo, em que cada

alquilo no grupo representado por R^G é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de $-(C_1-C_4)$ alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo, halo, $-OH$, $-O-(C_1-C_4)$ alquilo, e (C_1-C_4) alquilo- $O-(C_1-C_4)$ alquilo.

Parágrafo 2. O composto conforme definido no Parágrafo 1, em que o composto é representado pela seguinte Fórmula Estrutural:



ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, em que:

R^1 e R^2 são cada um independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C_1-C_7) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, $i(C_3-C_6)$ alcoxi (C_1-C_4) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo, arilo, aril (C_1-C_4) alquilo, ariloxi (C_1-C_4) alquilo, ariltio (C_1-C_4) alquilo, arilsufinil (C_1-C_4) alquilo, arilsulfonil (C_1-C_4) alquilo, e $-O-(C_1-C_7)$ alquilo, ou R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo contém opcionalmente um ou dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, O e S; e em que cada fração alquilo, cicloalquilo, alcoxi e cicloalcoxi nos grupos representados por R^1 e R^2 e cada heterociclo representado por NR^1R^2 tomados em conjunto é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo

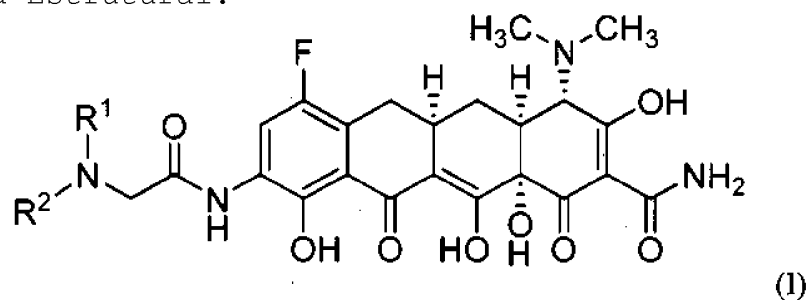
consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, -OH, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alquiltio, (C₁-C₄)alquilsulfinilo, (C₁-C₄)alquilsulfonilo, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, e -N(R³)(R⁴); e

cada fração arilo, ariloxi, ariltio, arilsulfinilo e arilsulfonilo nos grupos representados por R¹ e R² e cada heteroarilo representado por NR¹R² tomados em conjunto é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, -OH, (C₁-C₄)alcoxi, -S-(C₁-C₄)alquilo, -S(O)(C₁-C₄)alquilo, -S(O)₂(C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -N(R³)(R⁴); -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi, e

R³ e R⁴ são cada um independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em -H e (C₁-C₄)alquilo, em que (C₁-C₄)alquilo representado por R³ e R⁴ é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, -OH, (C₁-C₄)alcoxi, e (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo.

Parágrafo 3. O composto conforme definido no Parágrafo 2, em que o composto é representado pela seguinte

Fórmula Estrutural:



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

R¹ e R² são cada um independentemente selecionados a partir de hidrogénio, (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo(C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, i(C₃-C₆)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)

cicloalquilo, arilo, aril(C₁-C₄)alquilo, ariloxi(C₁-C₄)alquilo, ariltio(C₁-C₄)alquilo, arilsufinil(C₁-C₄)alquilo, arilsulfonil(C₁-C₄)alquilo; ou

R¹ e R² tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo contém opcionalmente um ou dois heteroátomos adicionais independentemente selecionados a partir de N, O e S.

Parágrafo 4. O composto conforme definido no Parágrafo 3, em que R¹ é hidrogénio ou um (C₁-C₄)alquilo.

Parágrafo 5. O composto conforme definido nos Parágrafos 3 ou 4, em que R² é selecionado a partir de (C₁-C₇)alquilo, (C₃-C₆) cicloalquilo(C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₇)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, fenilo, fenil(C₁-C₄)alquilo, (C₃-C₆)cicloalquilo e halo(C₁-C₄)alquilo, em que cada fração alquilo, alcoxi e cicloalcoxi nos grupos representados por R² é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo e halo; e cada fração fenilo nos grupos representados por R² é opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halo, (C₁-C₄)alcoxi, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, -CN, halo(C₁-C₄)alquilo, e halo(C₁-C₄)alcoxi.

Parágrafo 6. O composto conforme definido em qualquer um dos Parágrafos 3-5, em que R¹ é selecionado a partir de hidrogénio, metilo e etilo.

Parágrafo 7. O composto conforme definido no Parágrafo 6, em que R² é selecionado a partir do grupo consistindo em ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, fenilo, benzilo, -(CH₂)₂-O-CH₃, -(CH₂)₃-OCH₃, -C(CH₃)₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂C(CH₃)₃,

$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{F}$, e $-(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$; n é 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6; e em que o grupo fenilo ou benzilo representado por R^2 é opcionalmente e independentemente substituído com um ou dois substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, halogénio, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, $-\text{CN}$, halo $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, e halo $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi.

Parágrafo 8. O composto conforme definido no Parágrafo 7, em que R^2 é selecionado a partir de ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, $-(\text{CH}_2)_2\text{O-CH}_3$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2\text{CH}_3$.

Parágrafo 9. O composto conforme definido no Parágrafo 3, em que R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo contém opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado a partir de N, O e S; e o heterociclo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, halo, $-\text{OH}$, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquiltio, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilsulfinilo, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilsulfonilo, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, e $-\text{N}(\text{R}^3)(\text{R}^4)$; e o heteroarilo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, halo, $-\text{OH}$, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi, $-\text{S-}(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, $-\text{S(O)}(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, $-\text{S(O)}_2(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, $-\text{N}(\text{R}^3)(\text{R}^4)$, $-\text{CN}$, halo $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alquilo, e halo $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alcoxi.

Parágrafo 10. O composto conforme definido no Parágrafo 9, em que R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de

azoto ao qual estão unidos formam um heterociclo selecionado a partir do grupo consistindo em azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, octahidrociclopenta[c]pirrol, isoindolina, e azabicciclo[3,1,0]hexano, em que o heterociclo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C₁-C₄)alquilo, halogénio, -OH, (C₁-C₄)alcoxi, -S-(C₁-C₄)alquilo, -S(O)(C₁-C₄)alquilo, -S(O)₂(C₁-C₄)alquilo, (C₁-C₄)alcoxi(C₁-C₄)alquilo, e -N(R³)(R⁴).

Parágrafo 11. O composto definido no Parágrafo 10, em que o heterociclo é opcionalmente substituído com grupo halogénio, metoxi, hidroxí, metoximetilo or dimetilamino.

Parágrafo 12. O composto definido no Parágrafo 3, em que:

- a) R¹ é metilo, e R² é ciclopropilo;
- b) R¹ é hidrogénio, e R² é ciclopropilo;
- c) R¹ é hidrogénio, e R² é ciclobutilo;
- d) R¹ é metilo, e R² é ciclobutilo;
- e) R¹ é hidrogénio, e R² é ciclopropilometilo;
- f) R¹ é hidrogénio, e R² é ciclobutilometilo;
- g) R¹ é hidrogénio, e R² é benzilo;
- h) R¹ é hidrogénio, e R² é metoxipropilo;
- i) R¹ é hidrogénio, e R² é metoxietilo;
- j) R¹ é hidrogénio, e R² é fenilo;
- k) R¹ é metilo, e R² é *t*-butilo;
- l) R¹ é hidrogénio, e R² é *t*-butilo;
- m) R¹ é hidrogénio, e R² é metilo;
- n) R¹ é hidrogénio, e R² é etilo;
- o) R¹ é hidrogénio, e R² é propilo;
- p) R¹ é hidrogénio, e R² é butilo;
- q) R¹ é hidrogénio, e R² é pentilo;
- r) R¹ é hidrogénio, e R² é hexilo;
- s) R¹ é hidrogénio, e R² é heptilo;
- t) R¹ é metilo, e R² é metilo;

- u) R^1 é hidrogénio, e R^2 é isopropilo;
- v) R^1 é hidrogénio, e R^2 é 2,2-dimetilopropilo;
- w) R^1 é hidrogénio, e R^2 é trifluoroetilo;
- x) R^1 é hidrogénio, e R^2 é 2-metilopropilo;
- i) R^1 é hidrogénio, e R^2 é 3-fluoropropilo;
- z) R^1 é etilo, e R^2 é etilo;
- a1) R^1 é metilo, e R^2 é metilo;
- b1) R^1 é hidrogénio, e R^2 é hidrogénio;
- c1) R^1 é hidrogénio, e R^2 é ciclopentilo;
- d1) R^1 é metilo, e R^2 é ciclopentilo; ou
- e1) R^1 é metilo, e R^2 é propilo,

ou um sal farmacêuticamente aceitável de qualquer dos anteriores.

Parágrafo 13. O composto conforme definido no Parágrafo 3, em que R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um grupo selecionado a partir de:

- a) azetidin-1-il;
- b) 3-fluoroazetidin-1-il;
- c) 3-metilazetidin-1-il;
- d) 3-metoxiazetidin-1-il;
- e) pirrolidin-1-il;
- f) morfolin-4-il;
- g) 3-fluoropirrolidin-1-il;
- h) 3-hidroxipirrolidin-1-il;
- i) 3-N,N-dimetilaminopirrolidin-1-il;
- j) 2-metoximetilpirrolidin-1-il;
- k) piperidin-1-il;
- l) octahidrociclopenta[c]pirrol-2-il;
- m) isoindolin-2-il; e
- n) 3-azabíciclo[3,1,0]hexan-3-il,

ou um sal farmacêuticamente aceitável de qualquer dos anteriores.

Parágrafo 14. O composto conforme definido no Parágrafo 3, em que R^1 é hidrogénio ou um (C_1-C_4) alquilo; e

R^2 é selecionado a partir de (C_1-C_7) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, fenilo, fenil (C_1C_4) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo e halo (C_1C_4) alquilo, em que cada fração alquilo, alcoxi e cicloalcoxi nos grupos representados por R^2 é opcionalmente e independentemente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo e halo; e cada fração fenilo nos grupos representados por R^2 é opcionalmente substituída com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, (C_1C_4) alcoxi, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, $-CN$, halo (C_1C_4) alquilo, e halo (C_1-C_4) alcoxi; ou

R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um heteroarilo monocíclico ou bicíclico, ou um heterociclo monocíclico, bicíclico condensado, bicíclico unido por ponte ou espiro-bicíclico, em que o heteroarilo ou heterociclo contém opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado a partir de N, O e S; e o heterociclo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, $-OH$, (C_1C_4) alcoxi, (C_1C_4) alquiltio, (C_1C_4) alquilsulfinilo, (C_1C_4) alquilsulfonilo, (C_1-C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, e $-N(R^3)(R^4)$; e o heteroarilo é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo consistindo em (C_1-C_4) alquilo, halo, $-OH$, (C_1C_4) alcoxi, $-S-(C_1-C_4)$ alquilo, $-S(O)(C_1-C_4)$ alquilo, $-S(O)_2(C_1-C_4)$ alquilo, (C_1C_4) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, $-N(R^3)(R^4)$, $-CN$, halo (C_1C_4) alquilo, e halo (C_1-C_4) alcoxi.

Parágrafo 15. O composto conforme definido no Parágrafo 2, em que

R^1 é hidrogénio, metilo, etilo, metoxi or *terc*-butoxi;
 R^2 é selecionado a partir de (C_1-C_7) alquilo, (C_3-C_6) cicloalquilo (C_1-C_4) alquilo, (C_1-C_7) alcoxi (C_1-C_4) alquilo, fenilo, (C_3-C_6) cicloalquilo, e fluoro (C_1-C_4) alquilo; ou R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um anel selecionado a partir de pirrolidinilo, morfolinilo, azetidínilo, piperidinilo, octahidrociclopenta[c]pirrolilo, isoindolinilo, indazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, e tetrazolilo, em que o anel formado por R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos é opcionalmente substituído com fluoro, -OH, -OCH₃, ou N(CH₃)₂.

Parágrafo 16. O composto conforme definido no Parágrafo 3, em que:

R^1 é hidrogénio, metilo, ou etilo

R^2 é selecionado a partir de metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, 2,2-dimetilpropilo, *t*-butilo, isobutilo, *n*-pentilo, (C_4-C_6) cicloalquilo, (C_3-C_5) cicloalquilmetilo, metoxietilo, e 2-fluoroetilo; ou

R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos formam um anel selecionado a partir de azetidínilo, pirrolidinilo, piperidinilo, tetrazolilo, octahidrociclopenta[c]pirrolilo, e em que o anel formado por R^1 e R^2 tomados em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão unidos é opcionalmente substituído com fluoro.

Parágrafo 17. Uma composição farmacêutica compreendendo um portador ou diluente farmacêuticamente aceitável e um composto conforme definido em qualquer um dos Parágrafos 1-16 ou um sal do mesmo.

Parágrafo 18. Um composto para utilização num método para tratar ou prevenir uma infeção ou colonização num sujeito compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade eficaz de um composto conforme definido em qualquer um dos Parágrafos 1-16 ou um sal do mesmo.

Parágrafo 19. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 18, em que a infecção é causada por um organismo Gram-positivo.

Parágrafo 20. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 19, em que o organismo Gram-positivo é selecionado a partir do grupo consistindo em *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Nocardia* spp., *Clostridium* spp., *Actinobacteria* spp., e *Listeria* spp.

Parágrafo 21. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 18, em que a infecção é causada por um organismo Gram-negativo.

Parágrafo 22. O composto para utilização num método conforme definido em 21, em que o organismo Gram-negativo é selecionado a partir do grupo consistindo em *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Vibrionaceae*, *Pasteurellae*, *Pseudomonadaceae*, *Neisseriaceae*, *Rickettsiae*, *Moraxellaceae*, qualquer espécie de *Proteaeae*, *Acinetobacter* spp., *Helicobacter* spp., e *Campylobacter* spp.

Parágrafo 23. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 18, em que a infecção é causada por um organismo selecionado a partir do grupo consistindo em *Rickettsiae*, *Chlamydiae*, *Legionella* spp., *Mycoplasma* spp., e quaisquer outros agentes patogénicos intracelulares.

Parágrafo 24. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 18, em que a infecção é causada por mais de um organismo.

Parágrafo 25. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 18, em que a infecção é causada por um organismo resistente a um ou mais antibióticos.

Parágrafo 26. O composto para utilização num método

conforme definido no Parágrafo 25, em que a infecção é causada por um organismo resistente a tetraciclina ou qualquer membro de antibióticos de tetraciclina de primeira e segunda geração.

Parágrafo 27. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 25, em que a infecção é causada por um organismo resistente a meticilina ou qualquer antibiótico da classe dos β -lactâmicos.

Parágrafo 28. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 25, em que a infecção é causada por um organismo resistente a vancomicina.

Parágrafo 29. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 25 em que a infecção é causada por um organismo resistente a uma quinolona ou fluoroquinolona.

Parágrafo 30. O composto para utilização num método conforme definido no Parágrafo 25 em que a infecção é causada por um organismo resistente a tigeciclina.

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- EP 0582789 A [0003]
- US 5789395 A [0081] [0102] [0114]
- US 5834450 A [0081]
- US 6277061 B [0081]
- US 5532227 A [0081] [0101] [0115]
- US 5459135 A [0100] [0110] [0115]
- US 5321017 A [0100]
- US 5308839 A [0100] [0110] [0115]
- US 5258371 A [0100] [0115]
- US 4935412 A [0100] [0115]
- US 4704383 A [0100] [0115]
- US 4666897 A [0100] [0110]
- US RE34656 A [0100]
- US 5929055 A [0101]
- US 6231894 B [0102] [0114]
- US 6015804 A [0102] [0115]
- US 5919774 A [0102]
- US 6100248 A [0104]
- US 5843925 A [0104]
- US 5837696 A [0104]
- US 5668122 A [0104]
- US 5231017 A [0110]
- US 5998390 A [0110]
- US 5770588 A [0110]
- US RE34656 E [0110]
- US 4925833 A [0110]

- US 3304227 A [0110]
- US 5977091 A [0112]
- US 6043231 A [0112]
- US 5523297 A [0112]
- US 5773430 A [0112] [0114]
- US 5919775 A [0114]
- US 5827840 A [0115]
- US 6043225 A [0116]
- US 5834449 A [0116]

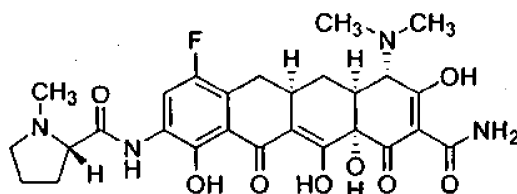
Documentos de não patente citados na descrição

- **VAN DER BOZERT et al.** *Cancer Res.*, 1988, vol. 48, 6686-6690 [0083]
- **S.E. DOWD et al.** *PloS one*, 2008, vol. 3, e3326 [0095]
- **H. WISPLINGHOFF et al.** *Clin. Infect. Dis.*, 2004, vol. 39, 311-317 [0095]
- **LIEDTKE et al.** *Ann. Neurol.*, 1998, vol. 44, 35-46 [0100]
- **CHANDLER et al.** *J. Neuroimmunol.*, 1997, vol. 72, 155-71 [0100]
- **STETLER-STEVENSON et al.** *Annu. Rev. Cell Biol.*, 1993, vol. 9, 541-73 [0100]
- **TRYGGVASON et al.** *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, vol. 907, 191-217 [0100]
- **LI et al.** *Mol. Carcinol.*, 1998, vol. 22, 84-89 [0100]
- **GREENWALD et al.** *Bone*, 1998, vol. 22, 33-38 [0100]
- **RYAN et al.** *Curr. Op. Rheumatol.*, 1996, vol. 8, 238-247 [0100]

Lisboa, 4 de Janeiro de 2016

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto representado pela seguinte fórmula estrutural:



ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

2. Uma composição farmacêutica compreendendo um composto conforme definido na reivindicação 1, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, um portador ou diluente farmacêuticamente aceitável, e opcionalmente um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

3. Um composto conforme definido na reivindicação 1, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, para utilização no tratamento ou prevenção de infecções causadas por bactérias.

4. A utilização de um composto conforme definido na reivindicação 1, ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de infeções causadas por bactérias.

5. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a infecção é causada por um bactéria Gram-positiva selecionada a partir de *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Nocardia spp.*, *Clostridium spp.*, *Actinobacteria spp.*, e *Listeria spp.*.

6. Utilização ou composto para utilização de acordo com a reivindicação 5, em que as bactérias são *Bacillus anthracis*.

7. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a infecção é causada por um bactéria Gram-negativa selecionada a partir de *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Vibrionaceae*, *Pasteurellae*, *Pseudomonadaceae*, *Neisseriaceae*, *Rickettsiae*, *Moraxellaceae*, qualquer espécie de *Proteaeae*, *Acinetobacter spp.*, *Helicobacter spp.*, e *Campylobacter spp.*.

8. Utilização ou composto para utilização de acordo com a reivindicação 7, em que as bactérias são *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Yersinia pestis* ou *Francisella tularensis*.

9. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a infecção é causada por *K. pneumoniae*, *Salmonella*, *E. hirae*, *A. baumannii*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *E. faecium*, *E. coli*, *S. aureus* ou *E. faecalis*.

10. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a infecção é causada por *Rickettsiae*, *Chlamydiae*, *Legionella spp.* ou *Mycoplasma spp.*.

11. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização de acordo com a reivindicação 4, em que a infecção é uma infecção da pele, uma infecção do trato respiratório, uma infecção adquirida no hospital, uma infecção intra-abdominal ou uma infecção do trato urinário.

12. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização de acordo com a reivindicação 4, em que o composto conforme definido na reivindicação 1, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, é administrado por si só.

13. Composto para utilização de acordo com a reivindicação 3, ou utilização conforme definido na reivindicação 4, em que o composto de acordo com a reivindicação 1, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, é administrado em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

14. Um processo para o fabrico de uma composição conforma definido na reivindicação 2, cujo processo compreende misturar o composto conforme definido na reivindicação 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e um portador ou diluente farmaceuticamente aceitável.

Lisboa, 4 de Janeiro de 2016