

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0712572-0 A2**

(22) Data de Depósito: 15/05/2007
(43) Data da Publicação: 21/11/2012
(RPI 2185)



(51) Int.Cl.:

C07K 5/06
C07K 5/08
A61K 38/55
A61P 11/00
A61P 11/06
A61P 11/10

(54) Título: COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEASE ATIVADORA DE CANAL

(30) Prioridade Unionista: 23/05/2006 US 60/808,014

(73) Titular(es): Irm LLC

(72) Inventor(es): Arnab K. Chatterjee, Badry Bursulaya , David. C. Tully, Glen Spraggon, Hank Michael James Petrassi

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemens, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007068987 de 15/05/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/140117de 06/12/2007

(57) Resumo: COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEASE ATIVADORA DE CANAL. A presente invenção refere-se compostos e composições farmacêuticas deste, que são úteis para modular protease ativadora de canal, e métodos para utilizar tais compostos para tratar, melhorar ou prevenir uma condição associada como uma protease ativadora de canal, incluindo porém não limitada à prostasina, PRSS22, TNPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTPS-2), matriptase (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A, ou neutrófilo elastase.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEASE ATIVADORA DE CANAL**".

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

5 Este pedido reivindica o benefício de pedidos provisórios dos Estados Unidos número de série 60/808.014, depositado em 23 de maio de 2006; e número de série 60/860.622, depositado em 22 de novembro de 2006. Cada destes pedidos é incorporado aqui por referência em sua totalidade.

10 Campo Técnico

A presente invenção geralmente refere-se aos inibidores de protease ativadora de canal (CAP).

Técnica Antecedente

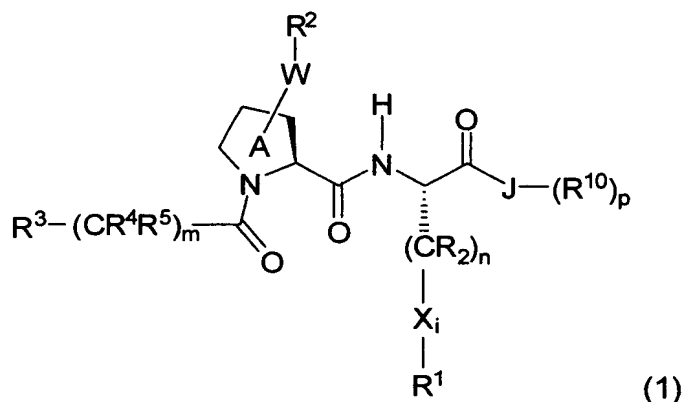
15 A Prostatina é uma serina protease semelhante à tripsina que está presente em uma variedade de tecidos mamíferos. Ela é uma protease ancorada à membrana que é expressa na membrana extracelular de células, porém pode também ser secretada em fluidos corporais tais como sêmen, urina e líquido de superfície das vias aéreas. Prostatina (PRSS8), juntamente com proteases tais como matriptase, CAP2, CAP3, tripsina, PRSS22, 20 TMPRSS11, catepsina A, e elastase de neutrófilo, pode estimular atividade a atividade do canal de sódio epitelial sensível à amilorida (ENaC). A inibição destas enzimas pode induzir alterações em transportes de íon epitelial e, portanto, homeostasia de fluido através de membranas epiteliais. Por exemplo, a inibição de CAP no rim é suposta promover diurese, embora a inibição de 25 CAP nas vias aéreas promova a depuração de muco e esputo no pulmão. A inibição do CAP no rim pode, portanto, ser utilizada terapeuticamente para tratar de hipertensão. A inibição de CAP nas vias aéreas prevenir a estagnação de secreções respiratórias que de outro modo tende a tornar os sofrendores vulneráveis às infecções bacterianas secundárias.

30 Descrição da Invenção

A presente invenção fornece compostos, composição farmacêuticas e métodos de utilização de tais compostos para modular protease ativa-

dora de canal (CAP). Por exemplo, os compostos e composições da invenção podem ser utilizados para modular prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptase (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A, e elastase de neutrófilo.

Em um aspecto, a presente invenção fornece compostos de fórmula (1):



e sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos, solvatos e estereoisômeros destes,

em que

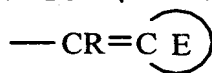
J é um anel carbocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 12 membros, arila, heteroarila ou anel heterocíclico contendo N, O e/ ou S;

R¹ é -(CR₂)_l-NR₂, -(CR₂)_l-NRC(=NR)-NR₂, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR₂ ou um anel heterocíclico não aromático contendo nitrogênio de 5 a 7 membros;

W-R² é um substituinte em qualquer posição no anel A;

W é ou -O(CR₂)_k-, -S(CR₂)_k-, -S(O)(CR₂)_k-, -SO₂(CR₂)_k- ou -OC(O)(CR₂)_k-;

R² é C₁₋₆ alquila, C₂₋₆ alquenila, C₂₋₆ alquinila, R⁶, -CR⁹=CR⁹-R⁶, ou



em que o anel E é um anel carbocíclico ou heterocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 7 membros opcionalmente substituído; ou W-R² juntos formam

uma C₁₋₆ alquila, de 5 a 7 membros ou

-OC(O)NR⁷R⁸;

R³ é NR⁷R⁸ ou R⁶;

R⁴ e R⁵ são independentemente H, C₁₋₆ alquila, OH, ou C₁₋₆ alcóxi;

R^7 e R^8 são independentemente H, C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, C_{2-6} alquinila ou $-(CR_2)_l-R^6$; ou R^7 e R^8 juntamente com N podem formar um anel heterocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 7 membros opcionalmente substituído;

R^9 é H ou C_{1-6} alquila;

- 5 R^{10} é halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, OR^{11} ou $-(CR_2)_l-R^{11}$;

R^6 , R^{11} e X são independentemente um anel carbocíclico de 5 a 7 membros opcionalmente substituído, anel heterocíclico, arila ou heteroarila; ou R^{11} é H ou C_{1-6} alquila;

- 10 cada R é H, ou C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, ou C_{2-6} alquinila, em que um carbono pode opcionalmente ser substituído ou trocado com NR, O ou S;

i é 0 a 1;

k e l são independentemente 0 a 6;

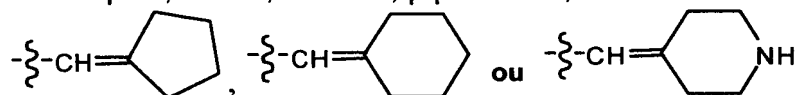
m e n são independentemente 1 a 6; e

p é 0 a 3.

- 15 Na fórmula (1) acima, R^1 é $-(CH_2)_l-NH_2$, $-(CH_2)_l-NHC(=NH)-NH_2$ ou $-(CH_2)_l-C(=NH)-NH_2NH_2$, em que cada l é 0 a 1; ou R^1 é piperidinila. Em exemplos particulares, R^1 é $-(CH_2)_l-NH_2$, $-(CH_2)_l-NHC(=NH)-NH_2$ ou $-(CH_2)_l-C(=NH)-NH_2NH_2$.

- 20 Na fórmula (1) acima, W é $-O(CR_2)_k$, $-S(CR_2)_k$, $-S(O)(CR_2)_k$, $-SO_2(CR_2)_k$ ou $-OC(O)(CR_2)_k$; e k é 1. Em exemplos particulares, W é $-O(CR_2)_k$.

Em algumas modalidades, R^2 é uma fenila opcionalmente substituída, C_{5-7} cicloalquila, tienila, furanila, piperidinila, metilenocicloexila,

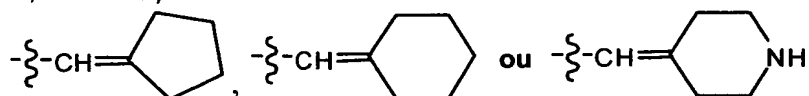


Em exemplos particulares, R^2 é fenila ou C_{5-7} cicloalquila.

- 25 Em outras modalidades, R^3 é uma fenila opcionalmente substituída, piridila, tiazolila, piperidinila, ou NR^7R^8 ; em que R^7 e R^8 são ambos H, ou R^7 e R^8 juntamente com N formam uma piperidinila opcionalmente substituída. Em alguns exemplos, R, R^4 , R^5 , R^7 e R^8 são cada qual H.

- 30 Em todavia outras modalidades, R^6 é uma fenila opcionalmente substituída, C_{3-7} cicloalquila, piridila, tiazolila, piperidinila, cicloexanol, imida-

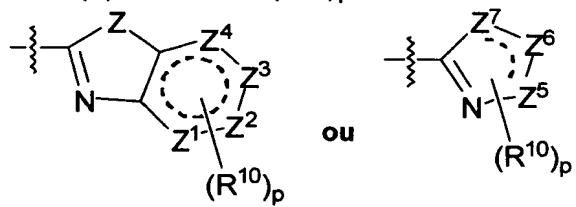
zolila, tienila, furanila,



Em exemplos particulares, R^6 é uma fenila opcionalmente substituída, C_{3-7} cicloalquila, piridila, tiazolila ou piperidinila.

- 5 Todavia em outras modalidades, X é cicloexila, fenila ou piperidinila, cada dos quais pode ser opcionalmente substituído com C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, halo, ou ou uma combinação destes. Em alguns exemplos, X é cicloexila ou fenila.

Na fórmula (1) acima, $-J-(R^{10})_p$ ao mesmo tempo pode ser



Z é O ou S;

- 10 Z^1, Z^2, Z^3 ou Z^4 são independentemente N, CH, ou C quando ligados a R^{10} ; Z^5, Z^6 ou Z^7 são independentemente N, O, S, CH, ou C quando ligados a R^{10} ;

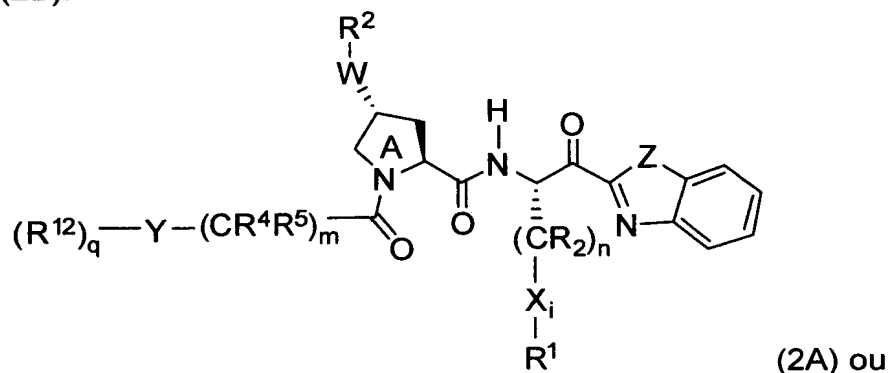
R^{10} é C_{1-6} alquila ou $-(CR_2)_l-R^{11}$;

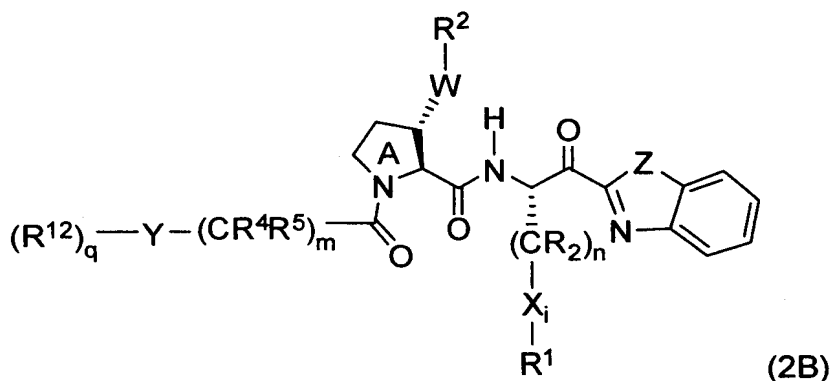
R^{11} é fenila ou C_{5-7} cicloalquila; e

- 15 p é 0-1.

Em alguns exemplos, J é benzotiazolila, benzoxazolila, tiazolila, ou oxadiazolila.

Em uma modalidade, a invenção fornece compostos de fórmula (2A) ou (2B):





em que Z é O ou S;

R^1 é NH_2 , $-NHC(=NH)-NH_2$ ou $-C(=NH)-NH_2$;

W é $-O(CH_2)_k-$ ou $-S(O)(CH_2)_k-$;

R^2 é uma fenila opcionalmente substituída, ou W- R^2 juntos formam C_{1-6} alquila ou uma fenila opcionalmente substituída;

R, R^4 e R^5 são independentemente H;

Y é um anel arila, heteroarila ou heterocíclico de 5 a 7 membros contendo N, O ou S;

R^{12} é halo, C_{1-6} alquila ou $-L-(CH_2)_l-R^{13}$;

L é uma ligação, O, SO_2 , $NHCO$, $NHSO_2$ ou SO_2NH ;

R^{13} é C_{1-6} alquila opcionalmente halogenada, ou uma C_{3-7} cicloalquila opcionalmente substituída, ou um anel arila, heteroarila ou heterocíclico de 5 a 7 membros ;

i é 0;

k é 1;

l é 0 a 1;

m e n são independentemente 1 a 4; e

q é 0 a 3.

Na Fórmula (2A) ou (2B) acima , Y pode ser fenila, piridila, tiazolila ou piperidinila. Em alguns exemplos, R^{12} é $-L-(CH_2)_l-R^{13}$; e R^{13} é uma C_{1-6} alquila opcionalmente halogenada, C_{3-7} cicloalquila, morfolinila, fenila ou piperidinila.

Em outro aspecto, a presente invenção fornece composições farmacêuticas compreendendo um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B), e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

A presente invenção também fornece métodos para modular uma protease ativadora de canal, compreendendo administrar a um sistema ou um indivíduo em necessidade deste, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B), ou sais farmaceticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, desse modo modulando a referida protease ativadora de canal.

Todavia em outro aspecto, a invenção fornece métodos para melhorar uma condição mediada por uma protease ativadora de canal, compreendendo administrar a um sistema ou indivíduo em necessidade de tal tratamento uma quantidade eficaz de um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B), ou sais farmaceticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, e opcionalmente em combinação com um segundo agente terapêutico, desse modo tratando a referida condição. Exemplos de um segundo agente terapêutico que pode ser utilizado com os compostos da invenção incluem, porém não estão limitados a um anti-inflamatório, broncodilatador, anti-histamina, antitussígeno, antibiótico ou DNase.

Exemplos de protease ativadora de canal que pode ser modulada utilizando os compostos da invenção incluem, porém não estão limitados a prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptase (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A, ou neutrófilo elastase. Em exemplos particulares, a invenção fornece métodos para modular prostasina, ou métodos para tratar uma condição mediada por prostasina.

Nos métodos acima para utilizar os compostos da invenção, um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B) pode ser administrado a um sistema compreendendo células ou tecidos. Por exemplo, um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B) pode ser contactado com células epiteliais brônquicas, que podem ser células humanas. Em outras modalidades, um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B) pode ser administrado a um indivíduo humano ou animal.

Em uma modalidade, a invenção fornece métodos para melhorar uma condição associada com o movimento de fluido através de epitélios de

transporte de íon ou o acúmulo de muco ou esputo em tecidos respiratórios, ou uma combinação destes. Por exemplo, a condição pode ser fibrose cística, discinésia ciliar primária, carcinoma de pulmão, bronquite crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma ou uma infecção do trato respiratório.

5 Além disso, a presente invenção fornece o uso de um composto de fórmula (1), (2A) ou (2B), ou sais farmaceuticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, e opcionalmente em combinação com um segundo agente terapêutico, para modular uma protease ativadora de canal (por exemplo, para inibir prostasina). A presente invenção também fornece o
10 uso de um composto tendo a Fórmula (1), (2A) ou (2B), ou sais farmaceuticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, e opcionalmente em combinação com um segundo agente terapêutico, na fabricação de um medicamento para tratar uma condição mediada por uma protease ativadora de canal (por exemplo, uma condição mediada por prostasina).

15 Definições

“Alquila” refere-se a uma porção, e como um elemento estrutural de outros grupos, por exemplo alquila e alcóxi halossubstituída, e pode ser de cadeia linear ou ramificada. Uma opcionalmente substituída alquila, alquenila, ou alquenila como aqui utilizada pode ser opcionalmente halogenada (por exemplo, CF_3), ou pode ter um ou mais carbonos que são substituído
20 ou trocado com um heteroátomo, tal como NR, O ou S (por exemplo, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, alquiltióis, tioalcóxi, alquilaminas, etc).

“Arila” refere-se a um anel aromático monocíclico ou bicíclico fundido contendo átomos de carbono. Por exemplo, arila pode ser fenila ou
25 naftila. “Arileno” significa um radical divalente derivado de um grupo arila.

“Heteroarila” como aqui utilizado é como definido para arila acima, onde um ou mais dos membros de anel é um heteroátomo. Exemplos de heteroarila incluem, porém não estão limitados a piridila, indolila, indazolila, quinoxalinila, quinolinila, benzofuranila, benzopiranila, benzotiopiranila, benzo[1,3]dioxol, imidazolila, benzo-imidazolila, pirimidinila, furanila, oxazolila,
30 isoxazolila, triazolila, tetrazolila, pirazolila, tienila etc.

Um “anel carbocíclico” como aqui utilizado refere-se a um anel

saturado ou parcialmente insaturado, monocíclico, bicíclico fundido ou policíclico em ponte contendo átomos de carbono, que pode opcionalmente ser substituído, por exemplo, com =O. Exemplos de anéis carbocíclicos incluem, porém não estão limitados a ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, cicloexila, ciclopropileno, cicloexanona etc.

Um “anel heterocíclico” como aqui utilizado é como definido para um anel carbocíclico acima, em que um ou mais carbonos de anel é um heteroátomo. Por exemplo, um anel heterocíclico pode conter N, O, S, -N=, -S-, -S(O), -S(O)₂-, ou -NR- em que R pode ser hidrogênio, C₁₋₄ alquila ou um grupo de proteção. Exemplos de anéis heterocíclicos incluem, porém não estão limitados a morfolino, pirrolidinila, pirrolidinil-2-ona, piperazinila, piperidinila, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]dec-8-ila etc.

Os termos “coadministração” ou “administração combinada” ou similares como aqui utilizado são entendidos abranger a administração do agente terapêutico selecionado a um único paciente, e são destinados a incluir regimes de tratamento em que os agentes não são necessariamente administrados pela mesma rotina de administração ou ao mesmo tempo.

O termo “combinação farmacêutica” como aqui utilizado refere-se a um produto obtido de mistura ou combinação de ingredientes ativos, e inclui combinações tanto fixas quanto não-fixas dos ingredientes ativos. O termo “combinação fixa” significa que os ingredientes ativos, por exemplo, um composto de fórmula (1), (2A) ou (2B) e um coagente, são ambos administrados a um paciente simultaneamente na forma de uma única entidade ou dosagem. O termo “combinação não-fixa” significa que os ingredientes ativos, por exemplo, um composto de fórmula (1), (2A) ou (2B) e um coagente, são ambos administrados a um paciente como entidades separadas ou simultaneamente, concomitantemente ou seqüencialmente sem nenhum limite de tempo específico, em que tal administração fornece níveis terapeuticamente eficazes dos ingredientes ativos no corpo do paciente. O último também aplica-se à terapia de coquetel, por exemplo, a administração de três ou mais ingredientes ativos.

O termo “quantidade terapeuticamente eficaz” significa a quanti-

dade do composto objeto que eliciará uma resposta biológica ou médica em uma célula, tecido, órgão, sistema, animal ou ser humano que está sendo pesquisado pelo pesquisador, veterinário, médico ou outro clínico.

O termo "administração" e/ou "administrando" o composto objeto
5 deve ser entendido método para fornecer um composto da invenção e pró-fármacos deste, para o indivíduo em necessidade de tratamento.

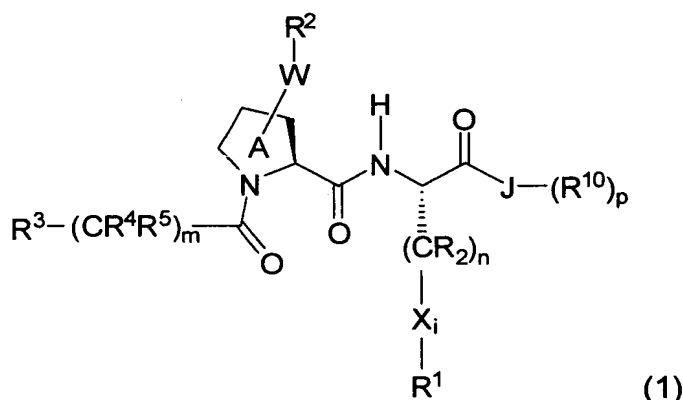
Como aqui utilizado, os termos "tratar", "tratando" e "tratamento" referem-se a um método de aliviar ou mitigar uma doença e/ou seus sintomas acompanhantes.

O termo "prostasina" pode também ser referido como: protease
10 ativadora de canal humano (hCAP); protease-1 ativadora de canal; e PRSS8, MERPOPS ID S01.159.

Modos de Realizar a Invenção

A presente invenção fornece compostos, composições farma-
15 cêuticas e métodos de utilização de tais compostos para modular a protease ativadora de canais (CAP).

Em um aspecto, a presente invenção fornece compostos de fórmula (1):



e sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos, solvatos e estereoisômeros
20 destes, em que

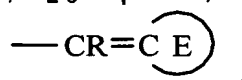
J é um anel carbocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 12 membros, arila, heteroarila ou anel heterocíclico contendo N, O e/ ou S;

R¹ é -(CR₂)_i-NR₂, -(CR₂)_i-NRC(=NR)-NR₂, -(CR₂)_i-C(=NR)-NR₂ ou um anel heterocíclico não aromático contendo nitrogênio de 5 a 7 membros;

25 W-R² é um substituinte em qualquer posição no anel A;

W é ou $-O(CR_2)_{k-}$, $-S(CR_2)_{k-}$, $-S(O)(CR_2)_{k-}$, $-SO_2(CR_2)_{k-}$ ou $-OC(O)(CR_2)_{k-}$;

R^2 é C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, C_{2-6} alquinila, R^6 , $-CR^9=CR^9-R^6$, ou



em que o anel E é um anel carbocíclico ou heterocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 7 membros opcionalmente substituído; ou W- R^2 juntos formam

5 C_{1-6} alquila, uma arila de 5 a 7 membros ou $-OC(O)NR^7R^8$;

R^3 é NR^7R^8 ou R^6 ;

R^4 e R^5 são independentemente H, C_{1-6} alquila, OH, ou C_{1-6} alcóxi;

R^7 e R^8 são independentemente H, C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, C_{2-6} alquinila ou $-(CR_2)_l-R^6$; ou R^7 e R^8 juntamente com N podem formar um anel heterocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 7 membros opcionalmente substituído;

10 R^9 é H ou C_{1-6} alquila;

R^{10} é halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, OR^{11} ou $-(CR_2)_l-R^{11}$;

R^6 , R^{11} e X são independentemente um anel carbocíclico de 5 a 7 membros

opcionalmente substituído, anel heterocíclico, arila ou heteroarila; ou R^{11} é H

15 ou C_{1-6} alquila;

cada R é H, ou C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, ou C_{2-6} alquinila, em que um carbono pode opcionalmente ser substituído ou trocado com NR, O ou S;

i é 0 a 1;

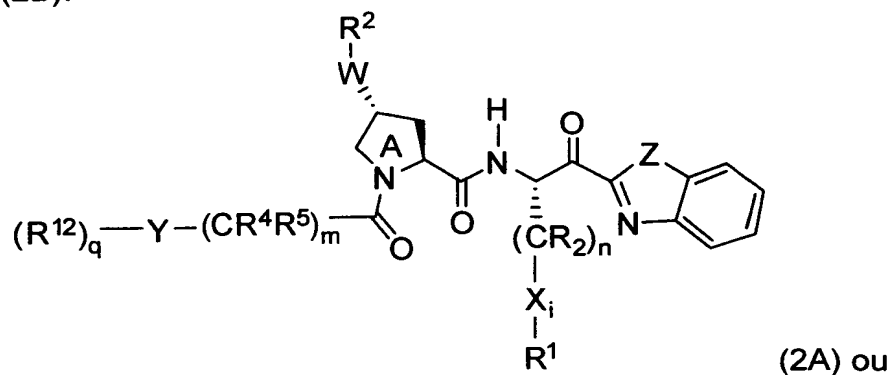
k e l são independentemente 0 a 6;

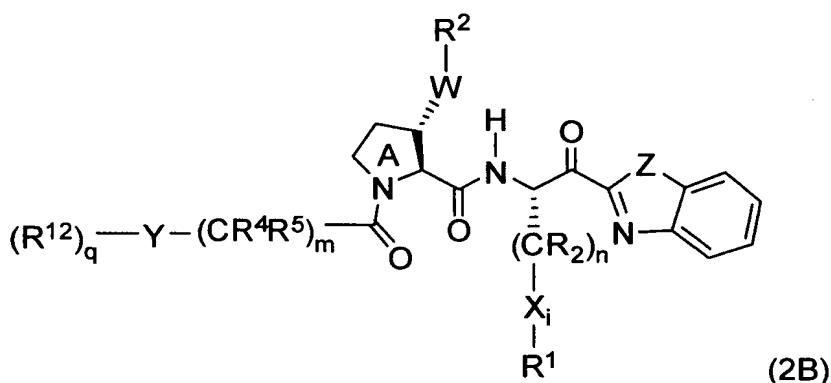
20 m e n são independentemente 1 a 6; e

p é 0 a 3.

Em uma modalidade, a invenção fornece compostos de fórmula

(2A) ou (2B):





em que Z é O ou S;

R^1 é NH_2 , $-NHC(=NH)-NH_2$ ou $-C(=NH)-NH_2$;

W é $-O(CH_2)_k-$ ou $-S(O)(CH_2)_k-$;

R^2 é uma fenila opcionalmente substituída, ou W- R^2 juntos formam C_{1-6} alquila ou uma fenila opcionalmente substituída;

R, R^4 e R^5 são independentemente H;

Y é um anel arila, heteroarila ou heterocíclico de 5 a 7 membros contendo N, O ou S;

R^{12} é halo, C_{1-6} alquila ou $-L-(CH_2)_l-R^{13}$;

L é uma ligação, O, SO_2 , $NHCO$, $NHSO_2$ ou SO_2NH ;

R^{13} é C_{1-6} alquila opcionalmente halogenada, ou uma C_{3-7} cicloalquila opcionalmente substituída, ou um anel arila, heteroarila ou heterocíclico de 5 a 7 membros ;

i é 0;

k é 1;

l é 0 a 1;

m e n são independentemente 1 a 4; e

q é 0 a 3.

Em cada das fórmulas acima, X, R^6 e R^{11} podem alternativamente ser uma C_{3-7} cicloalquila opcionalmente substituída.

Em cada das fórmulas acima, R^1 pode ser $NR'R''$, $NH-C(NR'R'')=NH$, $NH-C(NHR')=NR''$, $NH-C(R')=NR''$, $S-C(NR'R'')-NH$, $S-C(NHR')-NR''$, $C(NR'R'')=NH$, $C(NHR')=NR''$ ou $CR=NR''$; onde $R'R''$ são iguais ou diferente e são H, C_{1-6} alquila, C_{1-3} arilalquila, arila ou onde $R'R''$ forma uma anel cíclico contendo $(CH_2)_p$ onde p é um número inteiro de 2 a 5.

Em cada das fórmulas acima, cada porção opcionalmente substituída pode ser substituída com halo, =O, amino, guanidinila, amidino, C₁₋₆ alcóxi; C₁₋₆ alquila, C₂₋₆ alquenila ou C₂₋₆ alquinila, cada dos quais podem opcionalmente ser halogenado ou podem opcionalmente ter um carbono que
 5 pode ser substituído ou trocado com N, O ou S; CO₂R¹¹, O-(CR₂)_m-C(O) - R¹¹; -(CR₂)_m-R¹¹, -(CR₂)_m-C(O) - R¹¹, ou -(CR₂)_m-SO₂-R¹¹; ou uma combinação destes, em que cada R¹¹ é H, C₁₋₆ alquila, ou um anel carbocíclico opcionalmente substituído, anel heterocíclico, arila ou heteroarila.

Os compostos e composições da invenção podem ser úteis para
 10 modular uma protease ativadora de canal. Exemplos de protease ativadora de canais que podem ser modulados utilizando os compostos e composições da invenção incluem, porém não estão limitados a prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptase (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina,
 15 cathepsina A, ou neutrófilo elastase. Os novos compostos desta invenção podem também inibir a atividade de proteases que estimula a atividade de canais de íon, tal como o canal de sódio epitelial, e podem ser úteis no tratamento de doenças associadas a CAP.

Farmacologia e Utilidade

20 Compostos da invenção modulam a atividade de protease ativadora de canal, por exemplo, serina proteases semelhantes à tripsina tal como prostasina, e como tal, são úteis para tratar doenças ou distúrbios em que a prostasina contribui para a patologia e/ou sintomalogia da doença.

Doenças mediadas por inibição de uma protease ativadora de
 25 canal, por exemplo, por uma serina protease semelhante à tripsina tal como prostasina, incluem doenças associadas com a regulação de volumes fluídos através de membranas epiteliais. Por exemplo, o volume de líquido da superfície das vias aéreas é um regulador chave de depuração mucociliar e a manutenção de saúde do pulmão. A inibição de uma protease ativadora de
 30 canal promoverá o acúmulo de fluido sobre o lado mucosal do epitélio das vias aéreas, desse modo promovendo a depuração do muco e prevenindo o acúmulo de muco e esputo em tecidos respiratórios (incluindo vias aéreas do

pulmão). Tais doenças incluem doenças respiratórias tal como fibrose cística, discenesia ciliar primária, bronquite crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD), asma, infecções do trato respiratório (aguda e crônica; viral e bacteriana) e carcinoma de pulmão. Doenças mediadas por inibição de protease ativadora de canais também incluem doenças exceto doenças respiratórias que estão associadas com regulação de fluido anormal através de um epitélio, talvez envolvendo fisiologia anormal dos líquidos de superfície protetora na sua superfície, por exemplo, xerostomia (boca seca) ou ceratoconjutivite seca (olho seco). Além disso, a regulação de CAP de ENaC nos rim pode ser usada para promover diurese e desse modo induzir um efeito hipotensivo.

Doença pulmonar obstrutiva crônica inclui bronquite crônica ou dispnéia associada com ela, enfisema, bem como exacerbação de hiperatividade das vias aéreas conseqüente à outra terapia de fármaco, em particular à outra terapia de farmaco inalado. A presente invenção é também aplicável ao tratamento de bronquite de qualquer que seja o tipo ou gênero incluindo, por exemplo, bronquite aguda, araquídica, catarral, crupal, crônica ou fitinóide.

Os compostos da invenção podem ser utilizado para tratamento de asma, incluindo, porém não limitado a asma intrínseca (não alérgica) e asma extrínseca (alérgica), asma branda, asma moderada, asma severa, asma bronquítica, asma induzida por exercício, asma ocupacional e asma induzida seguindo infecção bacteriana. Tratamento de asma é também entendido como abrangendo tratamento de indivíduos, por exemplo, de menos de que 4 ou 5 anos de idade, exibindo sintomas de respiração asmática e diagnosticados ou diagnosticáveis como "crianças asmáticas", uma categoria de paciente estabelecida de maior preocupação médica e atualmente freqüentemente identificada como incipiente, ou asmáticos de fase precose, ou como "síndrome infantil asmática".

A adequabilidade de uma protease ativadora de inibidor de canal tal como um inibidor de prostasina para o tratamento de uma doença mediada pela inibição de uma protease ativadora de canal, pode ser testada de-

terminando-se o efeito inibidor da protease ativadora de inibidor de canal de acordo com os ensaios descritos abaixo e seguindo métodos conhecidos na técnica.

De acordo com os anteriores, a presente invenção também fornece um método para prevenir ou tratar quaisquer das doenças ou distúrbios descritos acima em um indivíduo em necessidade de tal tratamento, cujo método compreende administrar ao referido indivíduo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de fórmula (1), (2A) ou (2B), ou um sal farmaceuticamente aceitável deste. Para qualquer das utilizações acima, a dosagem requerida variará dependendo do modo de administração, da condição particular a ser tratada e do efeito desejado.

Administração e Composições Farmacêuticas

Em geral, compostos da invenção serão administrados em quantidades terapêuticamente eficazes por meio de qualquer dos modos usuais e aceitáveis conhecidos na técnica, singularmente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos.

Inibidores de protease ativadora de canal da invenção são também úteis como agentes coterapêuticos para uso em combinação com outras substâncias de fármaco tal como substâncias de fármaco anti-inflamatórias, broncodilatadoras, anti-histamina ou antitussígenas, particularmente no tratamento de fibrose cística ou doenças das vias aéreas obstrutivas ou inflamatórias tal como aquelas mencionadas anteriormente, por exemplo, como potenciadores de atividades terapêuticas de tais fármacos ou como um método de reduzir a dosagem requerida ou efeitos colaterais potenciais de tais fármacos.

A protease ativadora de inibidor de canal pode ser misturada com a outra substância de fármaco em uma composição farmacêutica fixa ou pode ser administrada separadamente, antes, simultaneamente com, ou após a outra substância de fármaco.

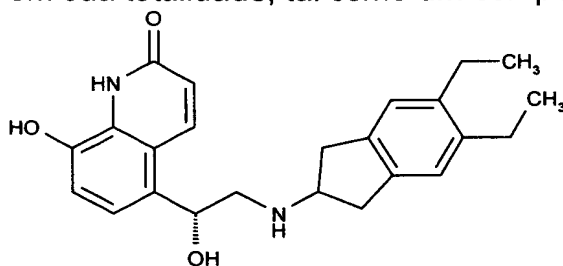
Conseqüentemente, a invenção pode incluir uma combinação de protease ativadora de inibidor de canal com um anti-inflamatório, broncodilatador, anti-histamina, antitussígeno, antibiótico ou substância de fármaco

DNase, a referida protease ativadora de inibidor de canal e a referida substância de fármaco estando na mesma ou diferente composição farmacêutica.

Os fármacos anti-inflamatórios adequados incluem esteróides, em particular glucocorticosteróides tal como budesonida, dipropionato de beclametasona, propionato de fluticasona, ciclesonida ou furoato de mometasona, ou esteróides descritos no pedido de patente internacional WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (por exemplo, nos exemplos 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 e 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 e WO 04/66920; agonistas de receptor de glicocorticóide não esteroidal, tal como aqueles descritos em DE 10261874, WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 e WO 04/26248; antagonistas LTD₄ tal como montelukast e zafirlukast; PDE4 inibidores tais como cilomilast (ARIFLO[®] GlaxoSmithKline), ROFLUMILAST[®] (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), AROFILLINE[®] (Almirall Prodesfarma), PD189659 / PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SelCID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), e aqueles descritos em WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 e WO 04/037805; e antagonistas de receptor de adenosina A_{2B} tal como aqueles descritos em WO 02/42298, cada dos quais é incorporado aqui em sua totalidade.

Fármacos broncodilatadores adequados incluem agonistas de adrenoceptor beta-2 tal como albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, salmeterol, fenoterol, procaterol, formoterol, ou carmoterol e sais farmacêuticamente aceitáveis destes, e compostos de fórmula (1) como descritos

em WO 00/75114 (em forma livre ou de sal ou solvato), que é incorporado aqui por referência em sua totalidade, tal como um composto de fórmula:



e sais farmaceuticamente aceitáveis deste; compostos de fórmula (1) de WO 04/16601; bem como compostos de EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, US 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, 5 WO 02/66422, WO 02/ 70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618 WO 04/46083 e 10 WO 04/80964, cada qual em forma livre ou de sal ou solvato. Cada destas publicações é incorporada aqui em sua totalidade.

Fármacos broncodilatadores adequados também incluem agentes anticolinérgicos ou antimuscarínicos, em particular brometo de ipratrópio, brometo de oxitrópio, sais de tiotrópio e CHF 4226 (Chiesi), glicopirrolato, e 15 também aqueles descritos nos EP 424021, US 3714357, US 5171744, WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 e WO 04/05285, cada dos quais é incorporado aqui em sua totalidade.

Fármacos anti-inflamatórios e broncodilatadores duais adequa- 20 dos incluem agonistas de adrenoceptor beta-2 / antagonistas muscarínicos duais tal como aqueles descritos nos US 2004/0167167, WO 04/74246 e WO 04/74812, cada dos quais é incorporado aqui em sua totalidade.

Substâncias de fármaco anti-histamina adequadas incluem cloridrato de cetirizina, acetaminofeno, fumarato de clemastina, prometazina, 25 loratidina, desloratidina, difenidramina e cloridrato de fexofenadina, activastina, astemizol, azelastina, ebastina, epinastina, mizolastina e tefenadina bem como aqueles descritos nos JP 2004107299, WO 03/099807 e WO

04/026841, cada dos quais é incorporado aqui em sua totalidade.

Antibióticos adequados incluem antibióticos macrolídeos, por exemplo tobramicina (TOBI®).

5 Substâncias de fármaco de DNases adequada incluem dornase alfa (PULMOZYME®), uma solução altamente purificada de deoxirribonuclease I humana recombinante (rhDNase), que seletivamente cliva o DNA. Dornase alfa é utilizado para tratar fibrose cística.

10 Outras combinações úteis de inibidores de protease ativadora de canal com fármacos anti-inflamatórios são aqueles com antagonistas de receptores de quimiosina, por exemplo, CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 e CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, particularmente antagonistas de CCR-5 tal como antagonistas de Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 e SCH-D, antagonistas de Takeda tal como cloreto de N-[[4-[[[6,7-diidro-2-(4-metil-fenil)-5H-benzociclopten-8-il]carbonil]amino]fenil]-metil]tetraidro-N,N-dimetil-2H-piran-4-
15 amínio (TAK-770), e antagonistas de CCR-5 descritos nos US 6166037, WO 00/66558, WO 00/66559, WO 04/018425 e WO 04/026873, cada dos quais é incorporado aqui em sua totalidade.

20 No tratamento de uma doença mediada pela inibição de Prosta-sina de acordo com a invenção, uma protease ativadora de inibidor de canal da invenção em forma livre ou em forma de sal farmaceuticamente aceitável, pode ser administrada por qualquer rotina apropriada, por exemplo oralmente, por exemplo, em comprimido, cápsula ou forma líquida; parenteralmente, por exemplo na forma de uma solução ou suspensão injetável; intranasal-
25 mente, por exemplo na forma de um aerossol outra formulação atomizável utilizando um dispositivo de liberação intranasal apropriado, por exemplo, um *spray* nasal tal como aqueles conhecidos na técnica; ou por inalação, tal como uso com um nebulizador.

30 A protease ativadora de inibidor de canal pode ser administrada em uma composição farmacêutica juntamente com um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável. Tais composições podem ser, por exemplo pós secos, comprimidos, cápsulas e líquidos, porém também soluções de inje-

ção, soluções de infusão ou suspensões de inalação, que podem ser preparadas utilizando outros ingredientes de formulação e técnicas conhecidas na técnica.

5 A dosagem da protease ativadora de inibidor de canal em forma livre ou em forma de sal farmaceuticamente aceitável pode depender de vários fatores, tal como a atividade e duração de ação do ingrediente ativo, a severidade da condição a ser tratada, o modo de administração, a espécie, sexo, origem étnica, idade e peso do indivíduo e/ou condição individual. Em um caso normal, a dose diária para administração, por exemplo, administração
10 ção oral a um animal de sangue quente, particularmente um ser humano pesando cerca de 75 kg, é estimada ser de aproximadamente 0,7 mg a aproximadamente 1400 mg; ou em alguns exemplos, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg. Aquela dose pode ser administrada em uma única dose ou em doses de diversas partes, por exemplo, de 5 a 200
15 mg.

Quando a composição compreende uma formulação aerossol, ela pode conter um Propelente de hidro-fluoro-alcano (HFA) tal como HFA134a ou HFA227 ou uma mistura destes; um ou mais co-solventes conhecidos na técnica tal como etanol (até 20% em peso); um ou mais tensoativos tal como ácido oléico ou trioleato de sorbitano; e/ou um ou mais agentes de volume tal como lactose. Quando a composição compreende uma
20 formulação de pó seco, ela pode conter, por exemplo, a protease ativadora de inibidor de canal tendo um diâmetro de particular até 10 microns, opcionalmente juntamente com um diluente ou veículo, tal como lactose, da distribuição de tamanho de particular desejada e um composto que ajuda a proteger contra a deterioração do desempenho do produto, devido à umidade (por exemplo, estearato de magnésio). Quando a composição compreende
25 uma formulação nebulizada, ela pode conter, por exemplo, a protease ativadora de inibidor de canal ou dissolvida, ou suspensa, em um veículo contendo água, um co-solvente tal como etanol ou propileno glicol e um estabilizante, que pode ser um tensoativo.

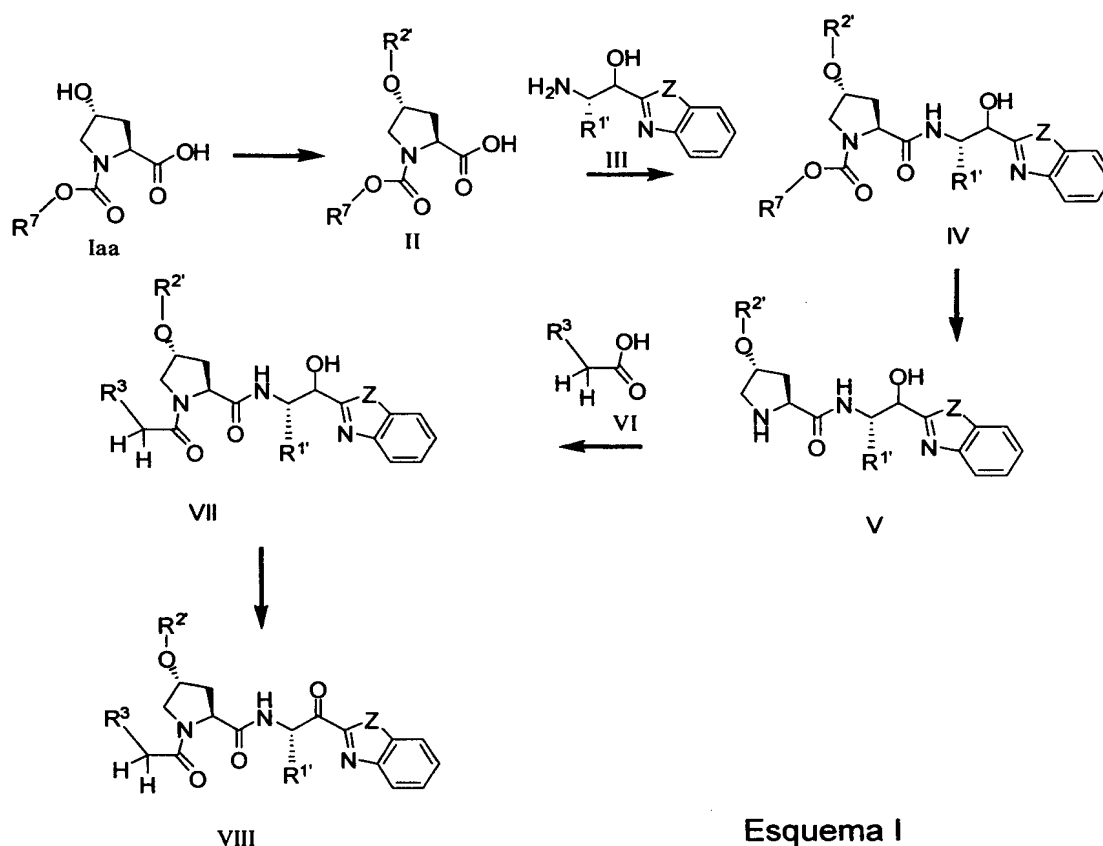
A presente invenção inclui (A) um composto da invenção em

- forma inalável, por exemplo, em um aerossol outra composição atomizável ou em um particulado inalável, por exemplo, forma micronizada; (B) um medicamento inalável compreendendo um composto da invenção em forma inalável; (C) um produto farmacêutico compreendendo um composto da invenção em forma inalável em associação com um dispositivo de inalação; e (D) um dispositivo de inalação contendo um composto da invenção em forma inalável.

Processos para Preparação de Compostos da Invenção

- A presente invenção também inclui processos para a preparação de compostos da invenção. Em uma reação descrita, grupos funcionais reativos, onde desejado no produto final (por exemplo, grupos hidróxi, amino, imino, tio ou carbóxi), podem ser protegidos utilizando grupos de proteção conhecidos na técnica, para evitar sua participação indesejada nas reações. Grupos convencionais de proteção podem ser utilizados de acordo com prática padrão, por exemplo, veja T.W. Greene e P. G. M. Wuts em "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley e Sons, 1991.

Os compostos da invenção podem ser preparados seguindo o esquema de reação I abaixo:



Esquema I

em que R^{1'} é (CR₂)_n-X_i-R¹;

R^{2'} é (CR₂)_k-R²;

R¹, R², R³, X, Z, i, k e n são como definidos na Fórmula (1);

R⁷ é um grupo de proteção de carbamato de alquila (por exemplo, metila, etila, t-butila ou benzila e similares).

O composto intermediário II pode ser sintetizado reagindo-se o composto intermediário Iaa com um reagente alquila do tipo R^{2'}-Y onde Y é um grupo de saída, na presença de uma base adequada e um solvente adequado. Exemplos de grupos de saída em reagentes alquila R^{2'}-Y incluem, porém não estão limitados a haletos tal como cloretos e brometos, ou um grupo de saída de tosilato, mesilato, ou besilato, e similares. Estas reações podem prosseguir em uma faixa de temperatura de cerca de 0°C a cerca de 60°C e podem demorar cerca de 24 horas para completar.

O composto intermediário IV pode ser sintetizado reagindo-se o composto intermediário II com o reagente III com um reagente de acoplamento de peptídeo adequado e uma base adequada na presença de um sol-

5 vente adequado. Bases adequadas para esta reação incluem porém não estão limitadas a trietilamina, DIEA, piridina, 2,4,6-colidina, e outras bases adequadas dentro do conhecimento daqueles versados na técnica. A reação pode prosseguir em uma faixa de temperatura de cerca de 0°C a cerca de 40°C e pode demorar até cerca de 24 horas para completar.

10 No esquema de reação acima I, o composto intermediário V pode ser sintetizado removendo-se grupo de proteção de carbamato (por exemplo, onde R⁷ é t-butila) de composto intermediário IV com um ácido adequado, e opcionalmente na presença de um solvente adequado. Ácidos adequados incluem, porém não estão limitados a TFA, p-TsOH, TfOH, HCl, HBr, HF, HBF₄, e outros ácidos adequados dentro do conhecimento daqueles versados na técnica. A reação pode prosseguir em uma faixa de temperatura de cerca de -20°C a cerca de 40°C e pode demorar até cerca de 24 horas para completar.

15 Alternativamente, o composto intermediário V pode ser sintetizado removendo-se grupo de proteção de carbamato de composto intermediário IV (por exemplo, onde R⁷ é benzila ou qualquer derivado benzílico) com gas de hidrogênio na presença de um catalisador adequado e um solvente adequado ou água. Exemplos de catalisadores adequados incluem, porém
20 não estão limitados a Pd/C, Pt, PtO₂, Pt/C, Rh/C, e outros catalisadores adequados dentro do conhecimento daqueles versados na técnica. A reação pode prosseguir em uma faixa de temperatura de cerca de 0°C a cerca de 80°C, com pressões de hidrogênio de cerca de 1,05 kg/cm² (15 psi) a cerca de 5,62 kg/cm² (80 psi), e pode demorar até cerca de 48 horas para completar.
25 tar.

30 Alternativamente, um composto de fórmula V pode ser sintetizado removendo-se grupo de proteção de carbamato de um composto de fórmula IV (por exemplo, onde R⁷ é derivado de alila ou qualquer alílico), reagindo um composto de fórmula IV com um recuperador alílico adequado (por exemplo, Et₂NH, morfolina, piperidina, pirrolidina, NaBH₄, e similares) na presença de um catalisador adequado (por exemplo Pd₂(dba)₃, PdCl₂, Pd(PPh₃)₄ e similares) na presença de um solvente adequado (por exemplo

água, metanol, etanol, isopropanol, *t*-butanol, *n*-propanol, *n*-butanol, cicloexanol, e misturas destes e similares).

O composto intermediário VII pode ser sintetizado reagindo-se o composto intermediário V com o reagente VI na presença de um reagente de acoplamento de peptídeo adequado e uma base adequada (Et₃N, DIEA, piridina, 2,4,6-colidina, e similares) na presença de um solvente adequado. A reação pode prosseguir em uma faixa de temperatura de cerca de 0°C a cerca de 40°C, e pode demorar até cerca de 24 horas para completar.

O composto final VIII pode ser sintetizado reagindo um composto de fórmula VII com a adequado oxidante na presença de um solvente adequado ou água. Oxidantes adequados incluem, porém não estão limitados a periodinano Dess-Martin, ácido 2-iodobenzóico com oxona, TEMPO com ácido triclorisocianúrico, TEMPO com NaOCl, DMSO com cloreto de oxalila, clorocromato de piridínio, MnO₂, CrO₂, e outros oxidantes adequados dentro do conhecimento daqueles versados na técnica. A reação pode prosseguir em uma faixa de temperatura de cerca de 0°C a cerca de 40°C, e pode demorar até cerca de 24 horas para completar.

Reagentes de acoplamento de peptide adequados para utilização em uma reação descrita no Esquema de reação I incluem, porém não estão limitados a DCC, DIC, HATU, BOP, PyBOP, EDC e outros reagentes de acoplamento dentro do conhecimento daqueles versados na técnica.

Bases adequadas para utilização em uma reação descrita no Esquema de reação I incluem, porém não estão limitados a hidróxidos tal como NaOH, KOH, ou LiOH; carbonatos tais como K₂CO₃ ou CsCO₃; hidretos tais como NaH ou KH, e similares. Outras bases adequadas são aminas, DIEA, piridina, 2,4,6-colidina, e outras bases adequadas dentro do conhecimento daqueles versados na técnica.

Solventes orgânicos adequados para uso em uma reação descrita no Esquema de reação I incluem, porém não estão limitados a DMSO, THF, DMF, DMAc, acetonitrila, acetona, 2-propanona, butanona, HMPA, NMP, diclorometano, clorofórmio, 1,2-dicloroetano, éter dietílico, metanol, etanol, *t*-butanol, isopropanol, propanol, *n*-butanol, cicloexanol, acetonitrila,

dioxano, MTBE, benzeno, tolueno, e misturas destes, e outros solventes adequados dentro do conhecimento daqueles versados na técnica.

Processos Adicionais para Preparar Compostos da Invenção

Um composto da invenção pode ser preparado como um sal de
5 adição de ácido farmaceuticamente aceitável reagindo-se a forma de base livre do composto com um ácido inorgânico ou orgânico farmaceuticamente aceitável. Alternativamente, um sal de adição de base farmaceuticamente aceitável de um composto da invenção pode ser preparado reagindo-se a
10 forma de ácido livre do composto com uma base inorgânico ou orgânica farmaceuticamente aceitável.

Alternativamente, as formas de sal dos compostos da invenção podem ser preparadas utilizando-se sais dos materiais de partida ou intermediários.

As formas de ácido livre ou base livre dos compostos da invenção
15 ção podem ser preparadas da forma de sal de adição de base ou sal de adição ácido correspondente, respectivamente, por exemplo, um composto da invenção em uma forma de sal de adição ácido pode ser convertido na base livre correspondente por tratamento com uma base adequada (por exemplo, solução de hidróxido de amônio, sodium hidróxido, e similares). Um compo-
20 to da invenção em uma forma de sal de adição de base pode ser convertido no ácido livre correspondente tratando-se com um ácido adequado (por exemplo, ácido clorídrico etc.).

Compostos da invenção em forma não-oxidada podem ser preparados de N-óxidos de compostos da invenção por tratamento com um a-
25 gente de redução (por exemplo, enxofre, dióxido de enxofre, trifenil fosfina, boroidreto de lítio, boroidreto de sódio, tricloreto de fósforo, tribrometo, ou similar) em um solvente orgânico inerte adequado (por exemplo, acetonitrila, etanol, dioxano aquoso, ou similar) a 0 a 80°C.

Derivados de pró-fármaco dos compostos da invenção podem
30 ser preparados por métodos conhecidos por aqueles versados na técnica (por exemplo, para maiores detalhes, veja Saulnier e outro, (1994), Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). Por exemplo, pró-

fármacos apropriados podem ser preparados reagindo-se um composto não-derivatizado da invenção com um agente de carbamilação adequado (por exemplo, 1,1-aciloxialquilcarbanocloridrato, carbonato de *para*-nitrofenila, ou similar).

5 Derivados protegidos dos compostos da invenção podem ser preparados por métodos conhecidos por aqueles versados na técnica. Uma descrição detalhada de técnicas aplicáveis para a criação de grupos de proteção e sua remoção pode ser encontrada em T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edição, John Wiley e Sons, Inc., 1999.

10 Compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados, ou formados durante o processo da invenção, como solvatos (por exemplo, hidratos). Hidratos de compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados por recristalização de uma mistura solven-
te aquosa/orgânica, utilizando solventes orgânicos tal como dioxina, tetra-
15 drofurano ou metanol.

 Compostos da invenção podem ser preparados como seus este-
reoisômeros individuais reagindo uma mistura racêmica do composto com
um agente de resolução oticamente ativo para formar um par de compostos
diastereoisoméricos, separando os diastereômeros e recuperando os enan-
20 tiômeros oticamente puros. Resolução de enantiômeros pode ser realizada
utilizando derivados diastereoméricos covalentes dos compostos da inven-
ção, ou utilizando complexos dissociáveis (por exemplo, sais diastereoméri-
cos cristalinos). Diastereômeros têm propriedades físicas distintas (por e-
xemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade etc.),
25 e podem ser facilmente separados tirando vantagem destas dissimilaridades.
Os diastereômeros podem ser separados por cromatografia, ou por técnicas
de separação/resolução com base nas diferenças de solubilidade. O enanti-
ômero oticamente puro é em seguida recuperado, juntamente com o agente
de resolução, por qualquer método prático que não resultaria em racemiza-
30 ção. Uma descrição mais detalhada das técnicas aplicáveis à resolução de
estereoisômeros de compostos de sua mistura racêmica pode ser encontra-
da em Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Race-

mates e Resoluções”, John Wiley e Sons, Inc., 1981.

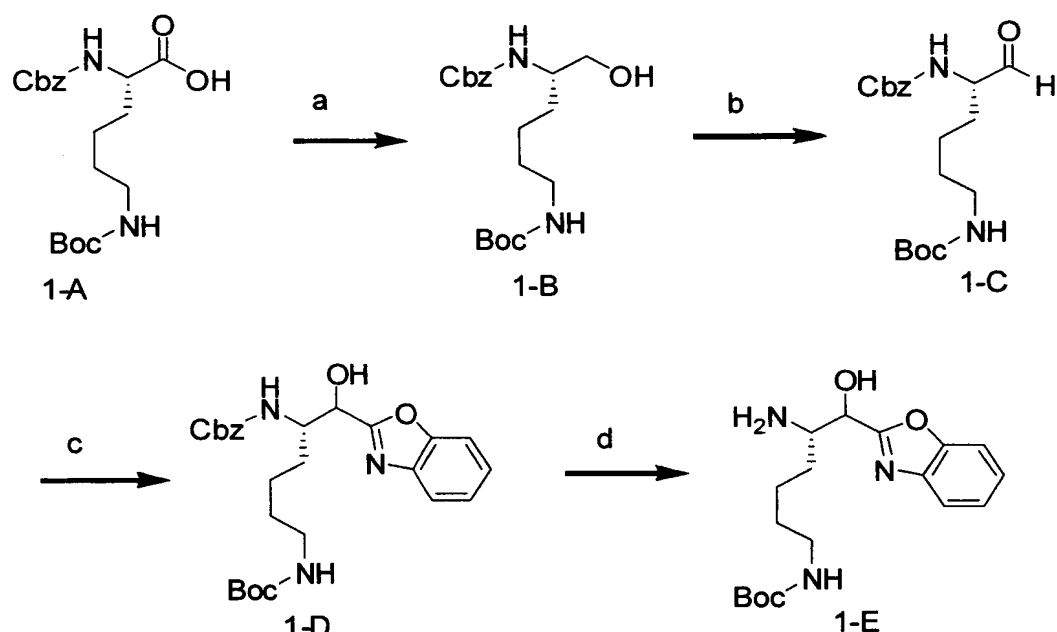
Em resumo, os compostos de fórmula (1) podem ser preparados por um processo, que envolve:

- (a) aquele do Esquema de reação I;
- 5 (b) opcionalmente convertendo um composto da invenção em um sal farmacologicamente aceitável;
- (c) opcionalmente convertendo uma forma de sal de um composto da invenção em uma forma de não-sal;
- (d) opcionalmente convertendo uma forma não-oxidada de um composto da invenção em um N-óxido farmacologicamente aceitável;
- 10 (e) opcionalmente convertendo uma forma de N-óxido de um composto da invenção em sua forma não-oxidada;
- (f) opcionalmente resolvendo um isômero individual de um composto da invenção de uma mistura de isômeros;
- 15 (g) opcionalmente convertendo um composto não-derivatizado da invenção em um derivado de pró-fármaco farmacologicamente aceitável; e
- (h) opcionalmente convertendo um derivado de pró-fármaco de um composto da invenção em sua forma não-derivatizada.

À medida que a produção dos materiais de partida não é particularmente descrita, os compostos são conhecidos ou podem ser preparados analogamente aos métodos conhecidos na técnica ou como descrito nos exemplos a seguir. Alguém versado na técnica apreciará que as transformações acima sejam apenas representativas de métodos para a preparação dos compostos da presente invenção, e que outros métodos bem conhecidos possam similarmente ser utilizados. A presente invenção é também exemplificada, porém não limitada, pelos seguintes intermediários (compostos de referência) e exemplos que ilustram a preparação dos compostos da invenção.

Nas metodologias sintéticas abaixo, as seguintes abreviações comuns conhecidas na técnica são utilizadas: DCM (diclorometano); THF (tetraidrofurano); e DIEA (diisopropiletilamina).

Composto de Referência 1



Esquema 1

No esquema de reação acima, os reagentes e condições são:
 (a) *iso*-BuOCOCl, Et₃N, THF; NaBH₄, H₂O. (b) periodinano Dess-Martin, CH₂Cl₂; (c) *iso*-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 minutos, em seguida 1-C, -20°C até a temperatura ambiente. (d) H₂ 2,81 kg/cm², (40 psi), EtOH, Pd/C 10%, rt, 18 horas.

1-B: O material de partida bruto, Z-Lys(Boc)OH 1-A (320 g, 842 mmols) é dissolvido em THF (2.5 L), e a solução é resfriada para -10 °C seguido pela adição de trietilamina (115,2 mL, 1,0 eq) e adição gota a gota de *iso*-butilcloroformiato (118,7 mL, 1,1 eq). A suspensão resultante é agitada por 2 horas a 0 °C. A mistura reacional é filtrada e resfriada para -10 °C. NaBH₄ (64,6 g, 2,1 eq) é dissolvido em água (500 mL) a 0 °C, e a solução é adicionada porção a porção à solução de THF (evolução de CO₂ pesado). A mistura reacional é deixada aquecer para a temperatura ambiente e agitada por uma hora. A mistura reacional é acidificada com solução de HCl a 1N, e a fase aquosa é extraída diversas vezes com EtOAc. As camadas orgânicas combinadas são lavadas com água, solução de NaHCO₃ aquosa saturada, e salmoura; secadas sobre MgSO₄, e o solvente é removido em vácuo. O produto é purificado por cromatografia de coluna *intantânea* (hexanos/acetato de etila) para fornecer o produto desejado como uma espuma branca.

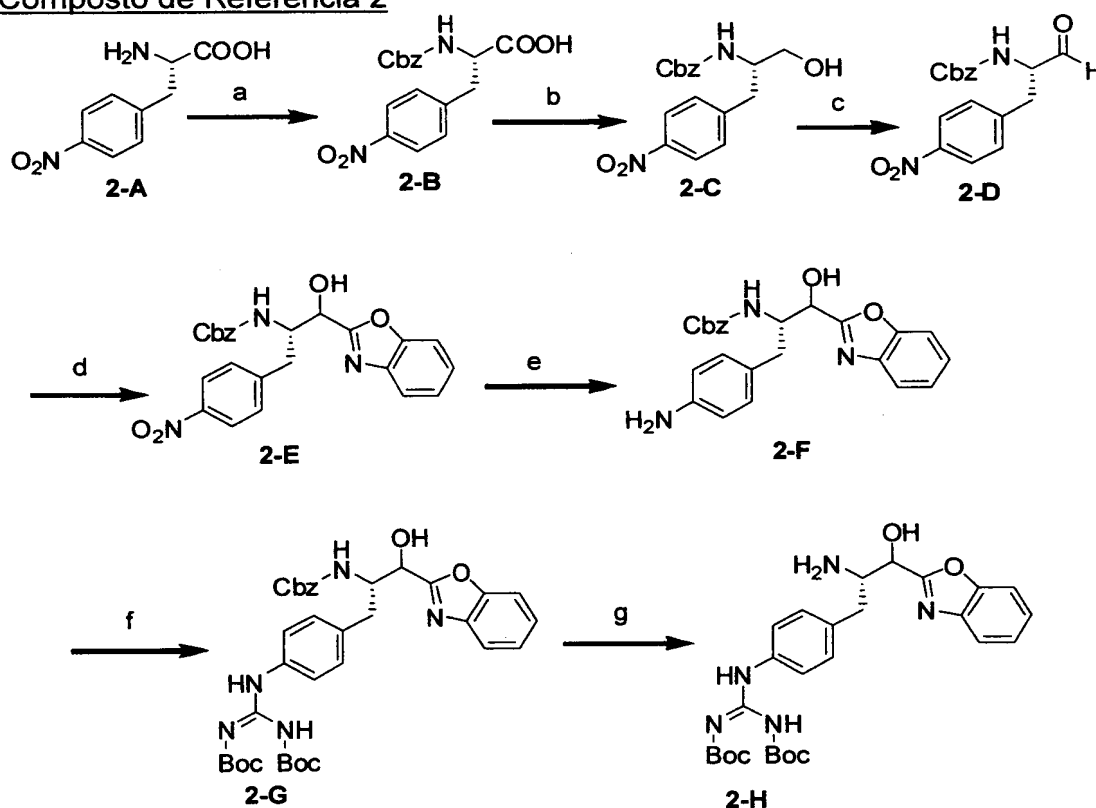
1-C: O álcool 1-B (200 g, 545,8 mmols) é dissolvido em DCM (2,0 L) e resfriado para 0 °C. Uma solução do reagente Dess-Martin (231g, 1,0 eq) em DCM (2,0 L) é adicionada porção a porção. A suspensão é deixada aquecer para a temperatura ambiente e agitada até completa conversão (1 a 4 horas). Uma mistura de 1:1 de solução de NaHCO₃ aquosa saturada e uma solução de Na₂S₂O₃ a 1M é adicionada, e o sistema bifásico resultante é agitado vigorosamente durante 20 minutos. A camada orgânica é separada e a camada aquosa é extraída uma vez com DCM. As camadas orgânicas combinadas são destiladas em vácuo, e o óleo resultante é apreendido em EtOAc e lavado seis vezes com a mistura de NaHCO₃/Na₂S₂O₃, água, e salmoura; secado sobre MgSO₄, e o solvente é removido em vácuo para fornecer o aldeído bruto como um óleo amarelado. O material é diretamente utilizado na próxima etapa sem outra purificação.

1-D: A uma solução de cloreto de isopropil-magnésio (1,67 eq. vs aldeído, 390 ml de uma solução de THF a 2M de Sigma-Aldrich) em THF (1,5 L) é adicionado benzoxazol (92,8g, 1,67 eq) em THF (1,0 L) a -20 °C. A mistura reacional é agitada a -20 °C durante 30 min (mudança de cor para vermelho intenso), e uma solução do aldeído 1-C (170 g, 466 mmol) em THF (1,5 L) é lentamente adicionada sob temperatura controlada a -20 °C a -15 °C. A mistura reacional é deixada aquecer para a temperatura ambiente e agitada até conclusão. A mistura reacional é saciada com solução de NH₄Cl aquosa saturada e o solvente é removido em vácuo. A fase aquosa é extraída três vezes com EtOAc, e as camadas orgânicas combinadas são excessivamente lavadas com solução de HCl a 1N, água, e salmoura; secadas sobre MgSO₄, e o solvente é removido em vácuo para fornecer o benzoxazol bruto como um óleo vermelho intenso. Purificação sobre sílica com EtOAc/hexanos (1:5 a 1:1) forneceu o benzoxazol como um sólido amarelo.

1-E: Uma solução de intermediário 1-D (25,0 g, 51,7 mmols) é dissolvida em etanol (150 mL). Pd/C (10%, úmido, tipo Degussa) é adicionado, e o frasco é colocado em um agitador Parr durante a noite e submetido a gás hidrogênio a 2,81 kg/cm² (40 psi). O catalisador é filtrado por meio de Celite, e o solvente é removido em vácuo. O material bruto é purificado por cromatografia *in-*

5 *tantânea* utilizando primeiro um gradiente de hexanos/EtOAc para remover impurezas coloridas e menos polares, então seguido por um gradiente de DCM/MeOH para eluir o composto desejado. O solvente é removido em vácuo, e o composto é triturado diversas vezes em éter para fornecer o composto desejado de referência 1, como um pó branco. ^1H -RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 7,73 - 7,70 (2H, m), 7,40 - 7,34 (2H, m), 6,78 - 6,73 (1H, m), 4,55 - 4,51 (1H, m), 3,05 - 3,01 (1H, m), 2,92 - 2,83 (2H, m), 1,48 - 1,18 (14H, m). LCMS: 350,5 (M+H) $^+$.

Composto de Referência 2



10

Esquema 2

No esquema 2 acima, os reagentes e condições são: a) Cbz-OSu, Et₃N, THF, H₂O, rt, 18h, (b) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH₄, H₂O; (c) periodinano Dess-Martin, CH₂Cl₂; (d) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 minutos, em seguida 2-D, -20°C até temperatura ambiente; (e) Índio, NH₄Cl, EtOH, refluxo, 5h; (f) N,N-Bis (terc-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamida, DIEA, MeOH; (g) H₂, (2,81 kg/cm²), 10% Pd/C, EtOH.

15

2-B: Cloridrato de L-nitrofenilalanina (4,45 g, 18,0 mmols) e N-

(Benziloxicarboniloxi)succinimida (Cbz-OSu) (4,49 g, 18,0 mmols) são adicionados a um frasco de base redonda contendo THF (60 mL) e água (20 mL). A mistura é agitada em temperatura ambiente e Et₃N (10,1 mL, 72,0 mmols) é adicionado, e a reação é agitada durante a noite em temperatura ambiente. A solução clara é diluída com EtOAc (200 mL) e lavada com HCl a 1N (3 × 100 mL) e salmoura (1 × 100 mL), e secada com MgSO₄. O solvente é evaporado em vácuo para fornecer 2-B como sólido branco, que é utilizado sem outra purificação.

2-C a 2-E: Estes intermediários são preparados seguindo métodos análogos àqueles descritos para preparar intermediários 1-B a 1-D de composto de referência 1, respectivamente.

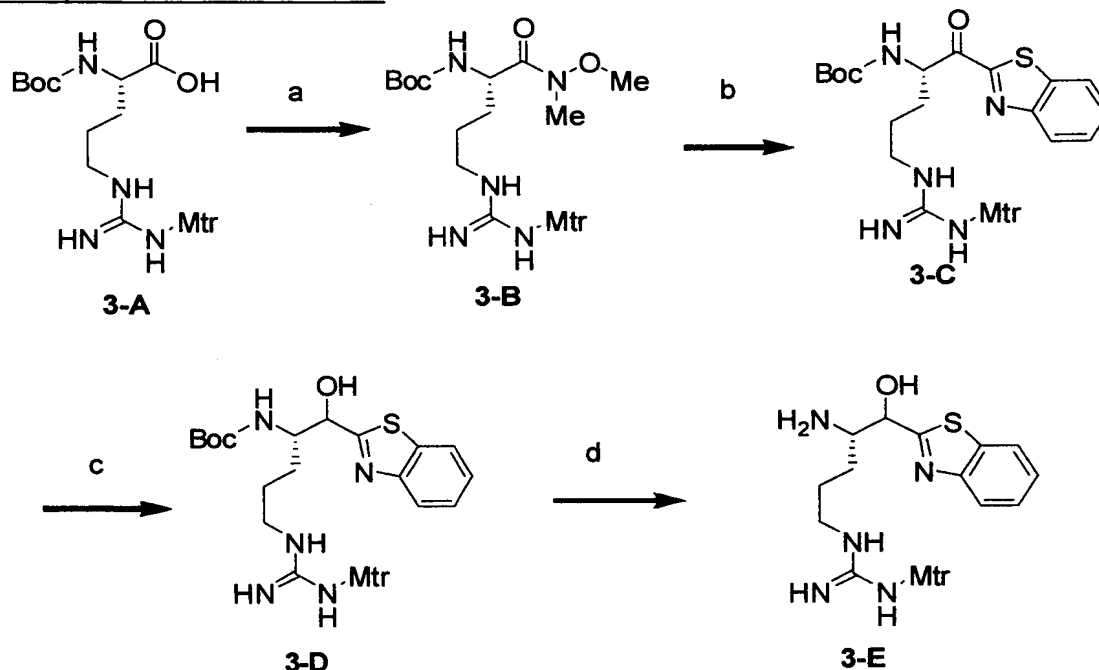
2-F: O análogo de nitrofenila 2-E (1,85 g, 4,15 mmols) é dissolvido em EtOH (50 mL) e aquecido até o refluxo. NH₄Cl (5 mL) aquoso saturado é adicionado, seguido por índio em pó (3,2 g, 27,9 mmols). A mistura reacional é agitada em temperatura de refluxo durante 5 h, resfriada para a temperatura ambiente, e o solvente é removido em vácuo. O material bruto é suspenso em EtOAc (100 mL) e lavado com NaHCO₃ saturado (3 × 100 mL), secado com MgSO₄, e filtrado por meio de Celite. O solvente é removido em vácuo para fornecer a anilina 2-F como um sólido ceroso não totalmente branco, que é utilizado sem outra purificação.

2-G: Anilina 2-F (1,52 g, 3,67 mmols) é dissolvida em MeOH (10 mL), e DIEA (0,7 mL, 4,4 mmols) e N,N-Bis (terc-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamidina (1,37 g, 4,4 mmols) são adicionados, e a mistura reacional é agitada em temperatura ambiente. Após 4 horas, mais 0,5 equivalente de N,N-Bis (terc-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamidina (0,685 g, 2,2 mmol) é adicionado, e a reação é em seguida agitada durante a noite em temperatura ambiente. EtOAc (100 mL) é adicionado, e a camada orgânica é lavada com água, e salmoura; e secada sobre MgSO₄. O solvente é removido em vácuo e o material bruto é purificado por cromatografia de sílica gel com EtOAc/hexanos (gradiente de 0 a 100%) para fornecer o produto desejado 2-G como um óleo.

2-H: Este composto é preparado de 2-G utilizando métodos análogos àque-

les descritos para a preparação do intermediário 1-E para o composto de referência 1.

Composto de Referência 3



Esquema 3

- 5 No esquema acima 3, os reagentes e condições são: (a) HN(OMe)Me·HCl, BOP, Et₃N, DMF, 0°C a rt; (b) n-BuLi (2,5M em hexanos), benzotiazol, THF, -78°C, em seguida 3-B, THF, -70°C a rt; (c) NaBH₄, Me-OH; (d) p-TsOH, CH₂Cl₂, 6h.

- 10 **3-B**: BOP (50 g, 112 mmols) é adicionada em uma porção a uma solução em agitação de 3-A (49,92 g, 102,6 mmols), cloridrato de N,O-dimetilidroxilamina (30,4 g, 224 mmols), e trietilamina (88 mL, 616 mmols) em DMF seco (200 mL) sob argônio a 0°C. A mistura reacional é deixada lentamente aquecer para a temperatura ambiente durante 2 horas, filtrada através de terra diatomácea, e concentrada em vácuo. O resíduo é dissolvido em acetato de etila, lavado com H₂O, 1M de KHSO₄ aquoso, NaHCO₃ aquoso saturado, e salmoura; secado e concentrada em vácuo. O resíduo é purificado por coluna para fornecer o composto 3-B.

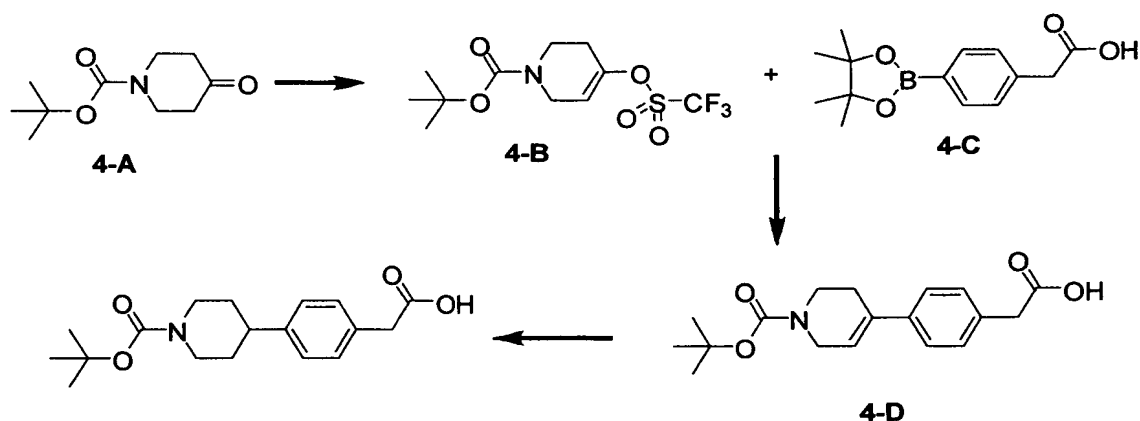
3-C: n-Butil lítio (2,5 M em hexanos, 272,2 mL, 681,4 mmols) é adicionado gota a gota a -78°C sob argônio a uma solução em agitação de benzotiazol

(115,72 g, 850,7 mmols) em THF seco (1660 mL) em uma taxa que manteve a temperatura de reação abaixo de -64°C . Na conclusão da adição, a mistura reacional é agitada por 30 minutos a -70°C , e uma solução de composto 3-B (45 g, 85,7 mmols) em THF seco (300 mL) é adicionada em uma taxa que manteve a temperatura de reação abaixo de -70°C . A reação é agitada por 15 minutos, saciada com NH_4Cl aquoso saturado, e agitada por 16 horas em temperatura ambiente. A camada orgânica resultante é separada, diluída com acetato de etila, lavada com água e salmoura; secada e concentrada em vácuo, e purificada por cromatografia de sílica-gel para fornecer o composto 3-C.

3-D: A uma solução de 3-C (33,7 g, 55,82 mmols) em MeOH (407 mL) a 0°C é adicionado NaBH_4 (9,98 g). A mistura reacional é lentamente aquecida até a temperatura ambiente durante 1 hora, em seguida aquecida até 45°C durante 1 hora, e em seguida resfriada novamente para a temperatura ambiente. A reação é saciada com acetona (60 mL), e concentrada em vácuo. O resíduo é dissolvido em acetato de etila, lavado com salmoura, e secado em MgSO_4 . O material bruto é purificado por cromatografia de sílica-gel para fornecer o produto 3-D.

3-E: p-TsOH é adicionado a uma solução em agitação de composto 3-D (28,2 g) em CH_2Cl_2 (300 mL) em temperatura ambiente até a solução ser saturada. A reação é agitada em temperatura ambiente durante 6 horas. Água é adicionada, e a camada orgânica é extraída com EtOAc, lavada com mistura de 1:1 (V/V) de salmoura e Na_2CO_3 aquoso a 10%, secada em Na_2SO_4 , e purificada por cromatografia de sílica-gel para fornecer o produto 3-E.

25 Composto de Referência 4



Esquema 4

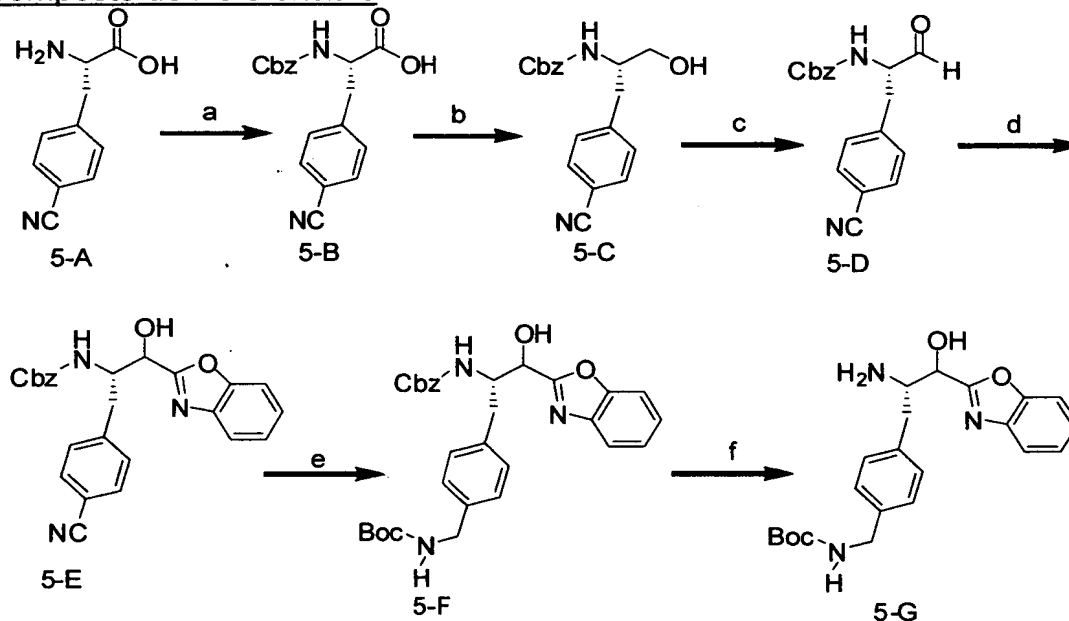
Para preparar o intermediário **4-B**, n-Butil lítio (1,6 M em hexanos, 11,3 mL, 17,9 mmols) é adicionada gota a gota a uma solução de $i\text{-Pr}_2\text{NH}$ (2,53 mL, 17,9 mmols) em THF (25 mL) resfriada para -78°C e agitada por 10 minutos. Cetona **4-A** (3,25 g, 16,3 mmol) é adicionada gota a gota e a solução continuada agitar a -78°C durante mais 25 minutos. N-fenil-bis-(trifluorometanossulfonamida) (6,26 g, 17,5 mmols) dissolvido em THF (25 mL) é adicionado gota a gota, e a mistura reacional é colocada em um banho de água/gelo a 0°C e agitada por 4 horas. O solvente é evaporado, e o resíduo bruto apreendido em em uma quantidade mínima de hexanos e em seguida filtrado através de um tampão de alumina utilizando hexanos:EtOAc/9:1 como o eluente. O solvente é removido em vácuo para fornecer o triflato desejado **4-B**.

Os Intermediários **4-B** (715 mg, 2,16 mmols) e **4-C** (514 mg, 1,96 mmol) são dissolvidos em dioxano (10 mL) em um frascote de reação de microondas. K_3PO_4 (874 mg, 4,12 mmols) dissolvido em água (2,5 mL) é adicionado, e a solução é desgaseificada por três ciclos de congelamento-bomba-descongelamento de nitrogênio líquido. O catalisador $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (143 mg, 0,196 mmol) é adicionado, e o frascote purgado com nitrogênio e selado. A reação é aquecida em um reator de microondas Emrys Personal Chemistry até 150°C durante 25 minutos. O dioxano é evaporado em vácuo, e o resíduo apreendido e dividido entre EtOAc (50 mL) e ácido cítrico aquoso a 10% (50 mL). As camadas são separadas, e a fase orgânica é lavada com ácido cítrico aquoso a 10% (2×50 mL) e salmoura (50 mL). A camada or-

gânica é secada com Na_2SO_4 e evaporada, e o resíduo bruto purificado por cromatografia de sílica-gel (gradiente de hexanos/EtOAc) para fornecer o intermediário **4-D**.

O intermediário **4-D** (45 mg, 0,142 mmol) é dissolvido em EtOH (10 mL) em um frasco de 25 mL equipado com um septo de borracha. Uma quantidade catalítica de Pd/C (10 %) é adicionada, e gas de hidrogênio é introduzido de um balão equipado com uma agulha inserida através do septo. A reação é agitada em temperatura ambiente até o material de partida ser consumido (como indicado por LCMS). O catalisador é em seguida filtrado, e o solvente evaporado até a secura para fornecer o Composto de referência 4.

Composto de Referência 5



Esquema 5

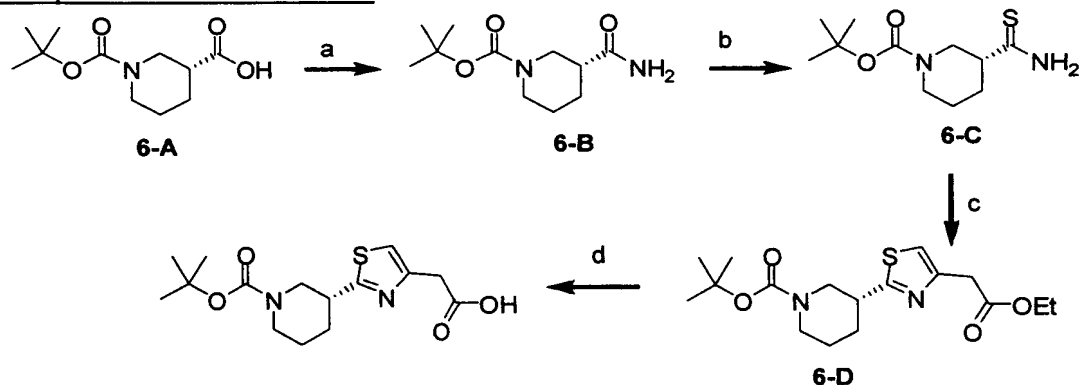
No esquema acima 5, os reagentes e condições são: a) Cbz-OSu, Et_3N , THF, H_2O , rt, 18h; (b) i. iso-BuOCOC Cl , Et_3N , THF; ii. NaBH_4 , H_2O ; (c) Periodinano Dess-Martin, CH_2Cl_2 ; (d) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C , 30 minutos, em seguida 5-D, -20°C até rt; (e) NaBH_4 , NiCl_2 , Boc_2O , MeOH, 0°C , (f) H_2 , (2,81 kg/cm 2), 10% Pd/C, EtOH.

5-B a 5-E: Este composto é preparado de L-4-cianofenilalanina (5-A) utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário

ário 2-B para o composto de referência 2. Os intermediários 5-C a 5-E são preparados seguindo métodos análogos àqueles descritos para preparar intermediários 1-B a 1-D de composto de referência 1, respectivamente.

- 5-F:** Nitrila 5-E (3,68 g, 8,64 mmols) é dissolvido em metanol (60 mL), e resfriado para 0°C. Boc₂O (3,77 g, 2 eq) é adicionado, seguido por NiCl₂ (210 mg, 0,1 eq). A mistura é agitada e NaBH₄ (2,29 g, 7 eq) é adicionado lentamente em pequenas porções. A mistura é deixada aquecer para a temperatura ambiente e agitada por 1 hora. Dietileno triamina (0,94 mL, 1 eq) é adicionada, e a mistura agitada por mais 30 minutos, e em seguida o solvente é evaporado em vácuo. O resíduo é dissolvido em EtOAc, e lavado com NaHCO₃ saturado (2 × 100 mL). A solução é secada com MgSO₄ e o solvente é evaporado em vácuo. O material bruto é purificado por cromatografia *intan-*
tânea de sílica-gel com gradiente de 0 a 100% de EtOAc e hexanos para fornecer o composto do título como um óleo.
- 5-G:** Este composto é preparado de 5-F utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-E para o composto de referência 1.

Composto de Referência 6



Esquema 6

- 6-B:** Ácido (R)-Boc-nipecótico (2,50 g, 10,9 mmols) e HOBt (1,77 g, 13,1 mmol) são dissolvidos em DMF (50 mL), e EDC (2,30 g, 12,0 mmols) é adicionado. A mistura reacional é agitada por 1h, e amônia aquosa a 30% (2,8 mL) é adicionada, e a reação é agitada por mais 2 horas. A reação é em seguida diluída com EtOAc (200 mL) e dividida com água (100 mL). A camada orgânica é lavada com NaHCO₃ aquoso saturado (3 × 200 mL), e em segui-

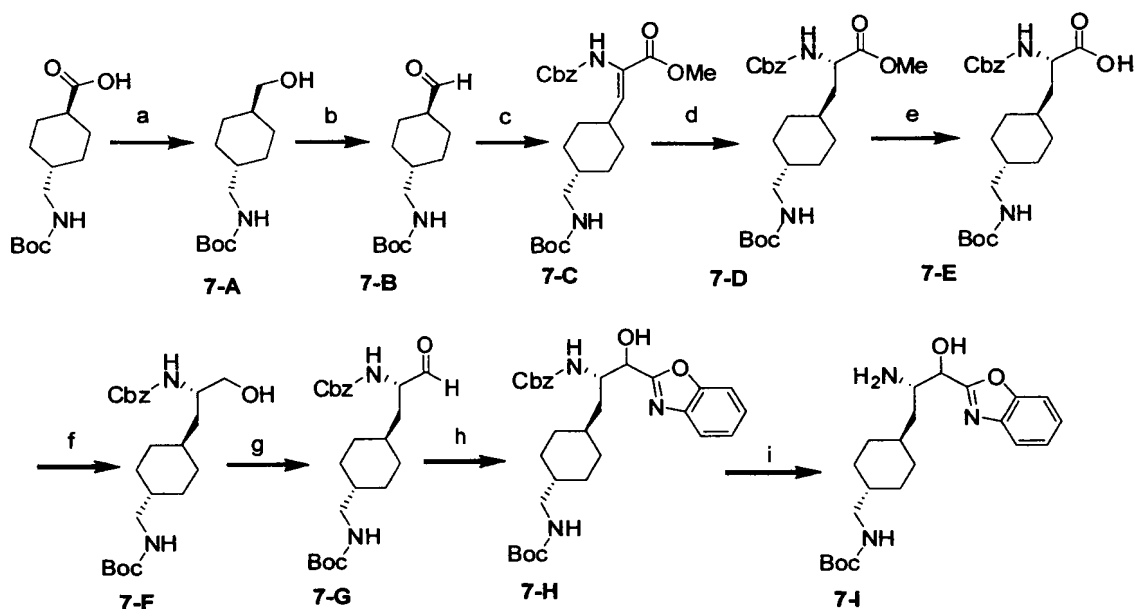
da secada com MgSO_4 . O solvente é removido em vácuo para fornecer a amida 6-B como um sólido ceroso.

5 6-C: Amida 6-B (2,40, 10,5 mmols) é dissolvido em THF (50 mL). Reagente de Lawesson (2,64 g, 6,54 mmols) é adicionada, e a mistura reacional agitada em temperatura ambiente durante 4 horas. O solvente é evaporado, e o material bruto é purificado por cromatografia de sílica-gel utilizando um gradiente de 0 a 5% MeOH em CH_2Cl_2 como eluente. O solvente é evaporado para fornecer a tioamida desejada.

10 6-D: Tioamida 6-C (1,27 g, 5,20 mmols) é dissolvido em CH_2Cl_2 (50 mL). Etil-4-cloroacetoacetato (0,8 mL, 5,72 mmols) é adicionado, e a solução é agitada em temperatura ambiente para 5 horas. O solvente é removido em vácuo, e o resíduo bruto é em seguida dissolvido em EtOH (50 mL). Peneiras moleculares em pó ativadas (1,2 g) são adicionadas e a mistura reacional é aquecida ao refluxo durante 18 horas. A mistura é em seguida resfriada para
15 a temperatura ambiente e filtrada por meio de Celite. NaHCO_3 aquoso saturado (50 mL) é adicionado à solução filtrada, e em seguida extraída com EtOAc (3×50 mL). A camada orgânica combinada é lavada com salmoura (100 mL) e secada (MgSO_4). O solvente é evaporado em vácuo e o material bruto é purificado por cromatografia *instantânea* de sílica-gel utilizando um
20 gradiente de 0 a 100% de EtOAc e hexanos para fornecer tiazol 6-D.

Composto de referência 6: $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (65 mg, 1,55 mmol) é dissolvido em água (5 mL) e adicionado gota a gota a uma solução em agitação de etil ester 6-D dissolvido em dioxano (20 mL). A reação é agitada por 2 horas, e dioxano é evaporado. O resíduo bruto é dividido entre EtOAc e 1M
25 NaHSO_4 ; a camada orgânica combinada é secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo; e o material bruto é purificado por HPLC de fase reversa ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ fase móvel).

Composto de Referência 7



Esquema 7

No esquema acima 7, os reagentes e condições são: a) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH₄, H₂O; (b) ácido tricloroisocianúrico, TEMPO, 0°C até a temperatura ambiente, CH₂Cl₂, (c) éster trimetílico de Cbz- α -fosfonoglicina, DBU, DCM; (d) H₂ 4,21 kg/cm² (60 psi), (S,S)-Me-BPE-Rh(COD)⁺OTf⁻, MeOH, 96h; (e) LiOH, Dioxano, água; (f) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH₄, H₂O; (g) Periodinano Dess-Martin, CH₂Cl₂; (h) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 minutos, em seguida 7 - G, -20°C até a temperatura ambiente; (i) H₂, (2,81 kg/cm² (40 psi), 10% Pd/C, EtOH. .

10 **7-A:** Este composto é preparado de ácido *trans*-4-(terc-butoxicarbonilaminometil) cicloexanocarboxílico (7-A) utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-B para o composto de referência 1 no Esquema 1.

15 **7-B:** Álcool 7-A (4,14 g, 17,0 mmols) é dissolvido em CH₂Cl₂ (35 mL) e a solução é resfriada para 0°C. Ácido tricloroisocianúrico (4,15 g, 17,8 mmols) é adicionado, seguido por TEMPO (28 mg, 0,17 mol). A reação é em seguida aquecida até a temperatura ambiente e agitada por mais 15 minutos em temperatura ambiente. Um precipitado formou-se, e a mistura reacional foi filtrada por meio de Celite e lavada com CH₂Cl₂. A solução de CH₂Cl₂ combinada (~100 mL) é lavada com NaHCO₃ aquoso saturado (2 × 50 mL), 1M
20 de HCl (2 × 50 mL), e salmoura (50 mL), secada (MgSO₄) e solvente evapo-

rado, e utilizado diretamente na próxima etapa sem outra purificação.

7-C: Éster trimetílico de N-benziloxycarbonil- α -fosfonoglicina (5,63 g, 17 mmols) é dissolvido em CH_2Cl_2 (35 mL); DBU (5,1 mL, 34 mmols) é adicionado e a solução é agitada por 20 minutos. O aldeído 7-B (4,09 g, 17 mmols) é adicionado gota a gota como uma solução em CH_2Cl_2 (10 mL). A reação é agitada durante a noite, em seguida o solvente é evaporado e o resíduo dissolvido em EtOAc (100 mL) e lavado com 1M de NaHSO_4 (2×50 mL) e salmoura, em seguida secada (MgSO_4) e evaporada em vácuo. O material bruto é purificado por cromatografia *instantânea* utilizando um gradiente de 0-100% EtOAc/hexanos para fornecer o produto desejado como sólido branco.

7-D: A olefina 7-C (2,04 g, 4,56 mmols) é dissolvida em MeOH (100 mL), e a solução é desgaseificada antes da adição do catalisador, sulfonato de (-)-1,2-Bis-((2S,3S)-2,5-dimetilfosfolano)etano(ciclooctadieno)-ródio(I)-trifluorometano (28 mg, 1 mol%). A mistura reacional é colocada em um agitador Parr e agitada sob $4,21 \text{ kg/cm}^2$ (60 psi) de H_2 durante 4 dias. O solvente é em seguida evaporado em vácuo, e o material bruto é purificado por cromatografia *instantânea* utilizando um gradiente de 0 a 100% EtOAc/hexanos para fornecer o produto desejado como sólido branco.

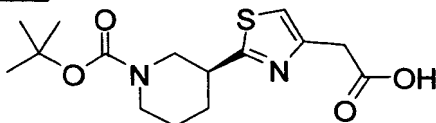
7-E: O éster metílico 7-D (1,81 g, 4,04 mmols) é dissolvido em dioxano (50 mL) e agitado a 0°C . LiOH (203 mg, 4,84 mmols) dissolvido em água (10 mL) é adicionado gota a gota, e a solução é em seguida aquecida até a temperatura ambiente. Após o material de partida ter desaparecido (por LCMS), o solvente é evaporado, e o material bruto é dissolvido em EtOAc (100 mL), lavado com NaHSO_4 a 1 N (2×50 mL) e salmoura (50 mL), e secada (MgSO_4). O solvente é removido em vácuo e o produto é utilizado diretamente na próxima etapa sem outra purificação.

7-F a 7-H: Os intermediários 7-F a 7-H são preparados seguindo métodos análogos àqueles descritos para preparar os intermediários de composto de referência 1.

7-I: Este composto é preparado de 7-H utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-E para o composto de referência 1. MS m/z 404,2 ($M + 1$); ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,66 - 7,64

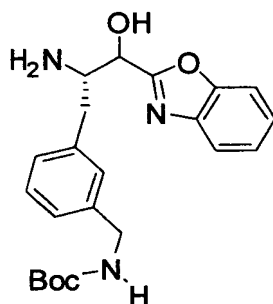
(1H, m), 7,49 - 7,47 (1H, m), 7,31 - 7,26 (2H, m), 4,85 - 4,64 (1H, m), 3,44 - 3,16 (1H, m), 2,96 - 2,88 (2H, m), 1,80 - 1,55 (4H, m), 1,39 - 1,14 (13H, m), 0,89 - 0,72 (4H, m).

Composto de Referência 8



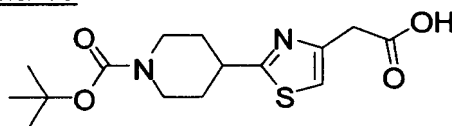
5 O composto de referência 8 é preparado de ácido (S)-Boc-nipecótico utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de composto de referência 6.

Composto de Referência 9

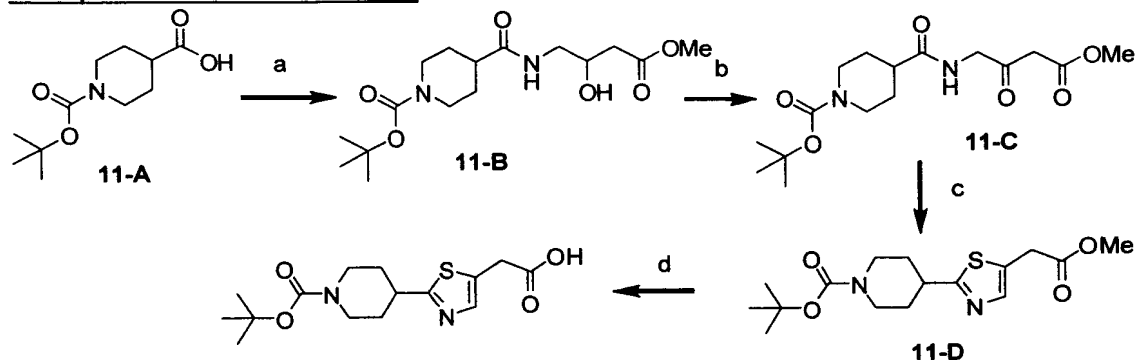


10 O composto de referência 9 é preparado iniciando de 3-cianofenilalanina utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de composto de referência 5.

Composto de Referência 10



15 O composto de referência 10 é preparado iniciando de ácido Boc-isonipecótico utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de composto de referência 6.

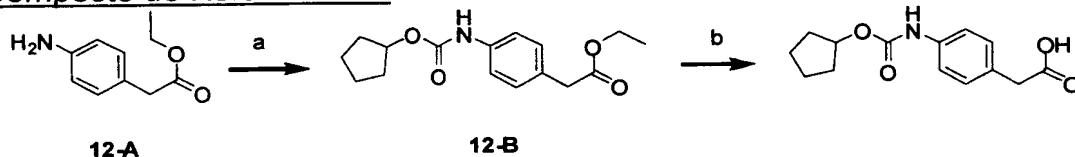
Composto de Referência 11

Cloridrato de éster metílico de ácido Boc-isonipeecótico (3,24 g, 14,1 mmols), ácido DL-4-Amino-3-hidróxi-butírico (2,40 g, 14,1 mmols), e DIEA (7,0 mL, 42,3 mL) são dissolvidos em CH₂Cl₂ (50 mL). HATU (5,9 g, 15,5 mmols) é adicionado, e a mistura reacional é agitada em temperatura ambiente durante 2 horas. O solvente é evaporado, e o resíduo bruto é apreendido em EtOAc (100 mL). A fase orgânica é lavada com HCl a 0,1 M (2 × 100 mL) e salmoura (100 mL), secada com MgSO₄, e evaporada em vácuo. O material bruto é purificado por cromatografia *instantânea* de sílica-gel (Gradiente EtOAc/Hexanos) para fornecer o intermediário **11-B**.

11-C: Álcool 11-B é oxidado na cetona utilizando condições análogas àsquelas utilizadas para a preparação de Exemplo 1-F.

11-D: Cetona 11-C (1,10 g, 3,21 mmols) é dissolvida em THF (100 mL). Reagente de Lawesson (650 mg, 1,61 mmol) é adicionado, e a mistura reacional é agitada em temperatura ambiente durante 48 horas. O solvente é removido em vácuo, e o material bruto é purificado por cromatografia *instantânea* de sílica-gel (gradiente EtOAc/Hexanos 0:100).

11: O éster metílico 11-D é saponificado utilizando métodos análogos àsquelas descritos para a preparação de composto de referência 6.

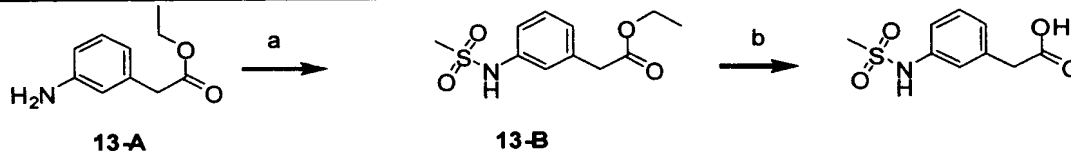
20 Composto de Referência 12

Os reagentes e condições na reação acima para o composto de referência 12 são: a) (cicloexilcarboniloxi)succinimida, piridina, DMAP, rt, THF; (b) NaOH a 1N em água.

Éster etílico de ácido (4-amino-fenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmols) e N-(cicloexilcarboniloxi)succinimida (1,051 g, 5,0 mmols) são adicionadas a um frasco de base redonda contendo THF (20 mL), piridina (0,60 mL) e DMAP (10 mg). A mistura é agitada em temperatura ambiente durante a noite. A solução clara é diluída com EtOAc (200 mL), lavado com HCl a 1N (3 × 100 mL) e salmoura (100 mL), e secada com MgSO₄. O solvente é evaporado em vácuo para fornecer o intermediário **12-B** como sólido branco que é utilizado sem outra purificação.

O éster etílico **12-B** (1,46 g, 5 mmols) é dissolvido em NaOH a 1N (15 mL, 15 mmols). Após o material de partida ter desaparecido (por LCMS), a reação é acidificada com HCl a 1 N, para fornecer o composto de referência 12 como um precipitado branco.

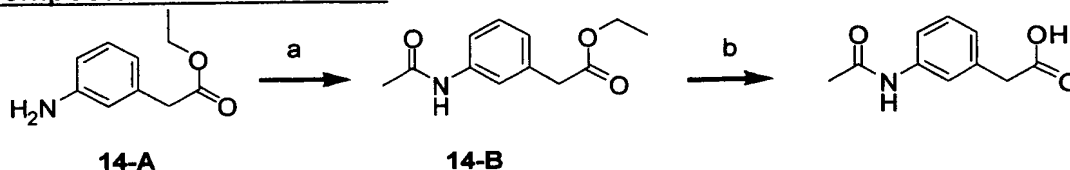
Composto de Referência 13



Os reagentes e condições na reação acima para o composto de referência 13 são: a) MeSO₂Cl, Piridina, rt, THF; (b) NaOH a 1N em água.

Éster etílico de ácido (3-amino-fenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmols) e (0,281 mL, 5,0 mmols) são adicionadas a um frasco de base redonda contendo THF (20 mL) e piridina (0,60 mL). A mistura é agitada em temperatura ambiente durante a noite. A solução clara é diluída com EtOAc (200 mL), lavada com HCl a 1N (3 × 100 mL) e salmoura (100 mL), e secada com MgSO₄. O solvente é evaporado em vácuo para fornecer o intermediário **13-B** como sólido branco. O éster etílico **13-B** é saponificado seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação para o composto de referência 12, para fornecer o composto de referência 13.

Composto de Referência 14

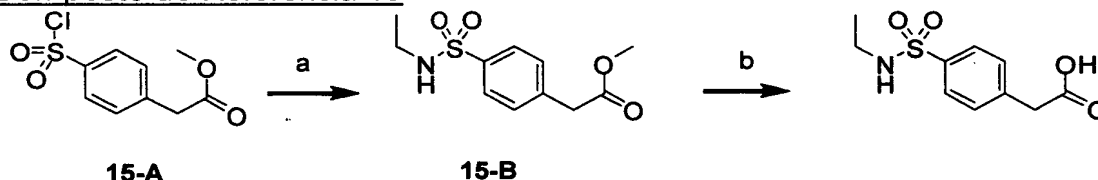


Os reagentes e condições na reação acima para o composto de

referência 14 são: a) CH_3COCl , Piridina, DMAP, rt, THF; (b) NaOH a 1N em água.

Éster etílico de ácido (3-amino-fenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmols) e cloreto de acetila (0,26 mL, 5,0 mmols) são adicionadas a um frasco de base redonda contendo THF (20 mL), piridina (0,60 mL) e DMAP (10 mg). A mistura é agitada em temperatura ambiente durante a noite. A solução clara é diluída com EtOAc (200 mL), lavado com HCl a 1N (3×100 mL) e salmoura (100 mL), e secada com MgSO_4 . O solvente é evaporado em vácuo para fornecer o intermediário **14-B** como sólido branco que é utilizado sem outra purificação. O éster etílico **14-B** é saponificado seguindo métodos análogos àqueles descritos acima, para fornecer o composto de referência 14.

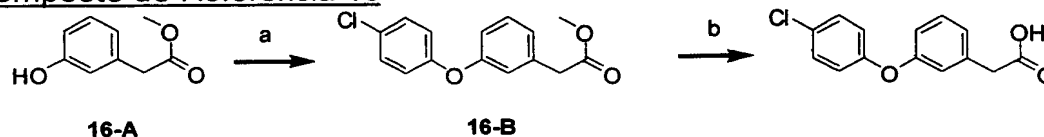
Composto de Referência 15



Os reagentes e condições na reação acima para o composto de referência 15 são: a) EtNH_2 , CH_2Cl_2 , DMAP; (b) NaOH a 1N em água.

Éster metílico de ácido (4-clorosulfonil-fenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmols) e dietilamina (1 mL) são adicionadas a um frasco de base redonda contendo CH_2Cl_2 (20 mL) e DMAP (10 mg). A mistura é agitada em temperatura ambiente durante a noite. A solução clara é diluída com EtOAc (200 mL), lavada com HCl a 1N (3×100 mL) e salmoura (1×100 mL), e secada com MgSO_4 . O solvente é evaporado em vácuo para fornecer o intermediário **15-B**, que é purificado a partir de uma mistura reacional utilizando uma coluna de sílica. O éster etílico **15-B** é saponificado seguindo métodos análogos àqueles descritos acima, para fornecer o composto de referência 15.

25 Composto de Referência 16

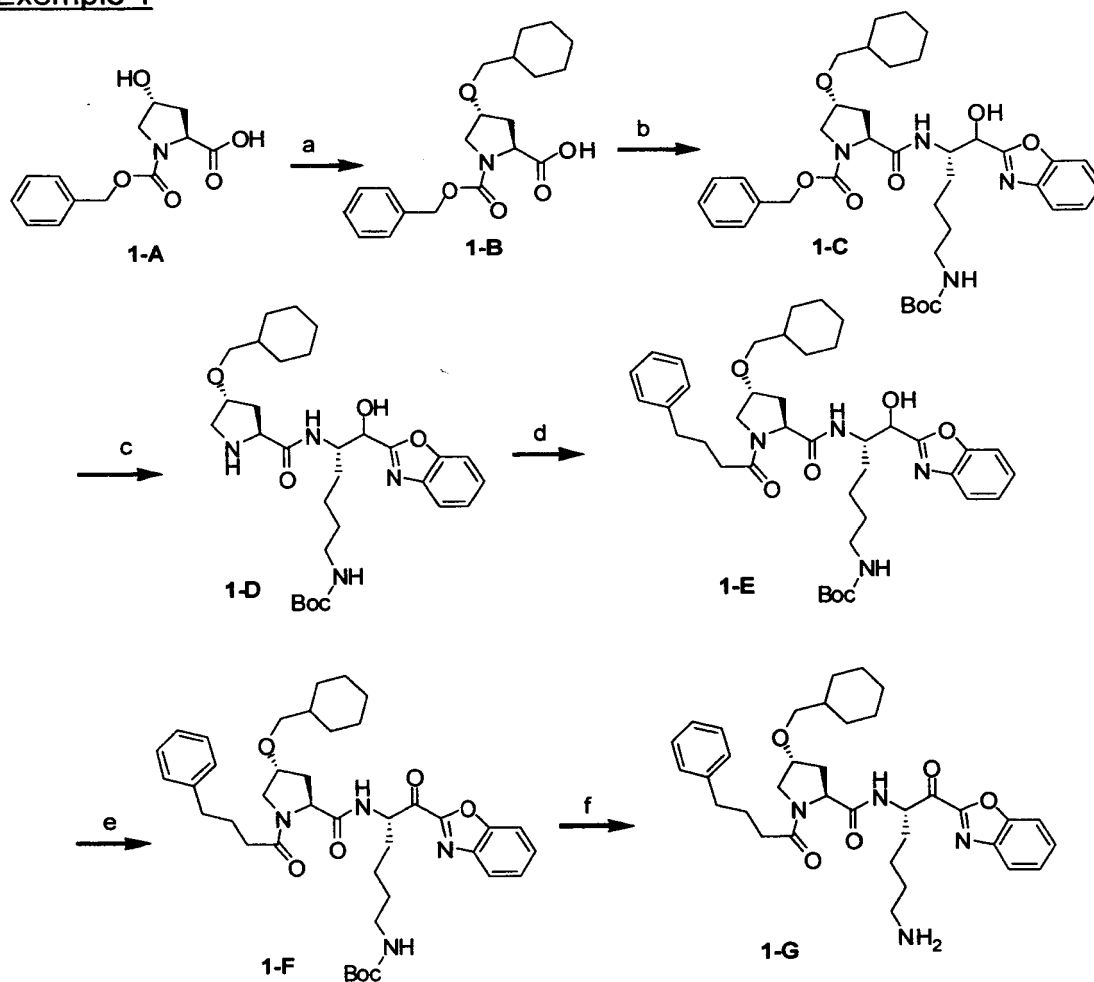


Os reagentes e condições na reação acima para o composto de

referência 16 são: a) 4-Cl-PhB (OH)₂, C₂H₄Cl₂, Cu(OAc)₂, piridina, peneiras moleculares 4Å; (b) NaOH a 1N em água.

Éster metílico de ácido (3-hidróxi-fenil)-acético (0,268 g, 1,6 mmol), 4- ácido clorofenil borônico (755 mg, 4,84 mmols), piridina (0,388 mL, 4,8 mmols) e copper(II) acetato (477 mg, 2,4 mmols) são adicionadas a um frasco de base redonda contendo 1,2-dicloroetano (10 mL) e 4Å peneiras moleculares (300 mg). A mistura é agitada em temperatura ambiente durante a noite. A solução clara é diluída com EtOAc (200 mL), lavado com HCl a 1N (3 × 100 mL) e salmoura (100 mL), e secada com MgSO₄. O solvente é evaporado em vácuo para fornecer o intermediário **16-B**, que é purificado a partir de uma mistura reacional utilizando uma coluna de sílica. O éster metílico **16-B** é saponificado seguindo métodos análogos àqueles descritos acima, para fornecer o composto de referência 16.

Exemplo 1



1-B: KOH em pó fino (35 g, 0,622 mol) é dissolvido em DMSO e agitado em temperatura ambiente por 20 min e em seguida resfriado para 0°C. N-Cbz-trans-4-hidróxi-L-prolina (Cbz-Hyp-OH, 1-A) (10 g, 43,3 mmols) é dissolvido em DMSO (10 mL) e adicionada, e a mistura reacional é agitada por mais 10 minutos a 0°C. Em seguida, bromometilcicloexano (33 g, 0,204 mol) é adicionado, e a mistura reacional é agitada a 0°C por mais 15 minutos, após cujo o ponto o banho gelado é removido e a mistura reacional é deixada aquecer para a temperatura ambiente e agitada por 4 horas. A mistura reacional é vertida em água (300 mL), e um vaso de reação é enchaguado com uma alíquota adicional de água (300 mL). A camada aquosa combinada é extraída com éter (2 × 300 mL) e descartada. A camada aquosa é acidificada com 87 % H₃PO₄ a pH 2,3, e em seguida extraída com éter (3 × 300 mL). Os extratos de éter combinados são lavados com água (2 × 400 mL) e salmoura (2 × 400 mL), secados sobre MgSO₄, filtrados, e concentrados em vácuo. O resíduo é purificado por cromatografia sobre sílica-gel para produzir o composto 1-B como um óleo claro.

1-C: Um frascote de 40 mL é carregado com 1-B (250 mg, 0,695 mmol), composto de referência 1-E (243 mg, 0,695 mmol, 1. eq), HATU (291 mg, 0,765 mmol, 1,1 eq), iPr₂EtN (0,15 mL, 0,834 mmol, 1,2 eq) e CH₂Cl₂ (4mL). A reação é agitada em temperatura ambiente durante 1 hora. Os reagentes voláteis são removidos sob pressão reduzida, e a mistura reacional é dissolvida em EtOAc. As camadas orgânicas são lavadas com NaHSO₄, água, NaHCO₃ saturado, e salmoura. As camadas orgânicas são em seguida secadas com MgSO₄, e o produto purificado a partir de uma mistura reacional por meio de cromatografia de sílica-gel para fornecer o composto 1-C que é utilizado na preparação de 1-D.

1-D: Um vaso de reação Parr é carregado com 1-C (2,5 g, 3,6 mmols), Pd/C (3,6 g, 0,36 mmol, 1 eq.), t-BuOH (20 mL) e água (5 mL). O vaso é colocado em um aparato Parr e é agitado durante 18 horas sob uma pressão de 3,51 kg/cm² (50 psi) de gas de H₂. A mistura reacional é filtrada através de uma almofada de Celite para fornecer o composto 1-D, que é utilizado diretamente na preparação de 1-E.

- 1-E:** Um frasconete de 40 mL é carregado com 1-D (100 mg, 0,18 mmol), ácido 4-fenilbutírico (30 mg, 0,18 mmol, 1. eq), HATU (75 mg, 0,20 mmol, 1,1 eq), $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ (0,04 mL, 0,22 mmol, 1,2 eq) e CH_2Cl_2 (2mL). A reação é agitada em temperatura ambiente durante 1 hora. Os reagentes voláteis são removidos sob pressão reduzida e a mistura reacional é dissolvida em EtOAc. As camadas orgânicas são lavadas com NaHSO_4 , água, NaHCO_3 saturado, e salmoura. As camadas orgânicas são em seguida secadas com MgSO_4 , e o produto é purificado a partir de uma mistura reacional por meio de cromatografia de sílica-gel 1-E, que é utilizado na preparação de 1-F.
- 1-F:** Álcool 1-E (127 mg, 0,18 mmol) é dissolvido em DCM (2 mL) e periodinano Dess-Martin (85 mg, 0,2 mmol) é adicionado. A mistura reacional é agitada durante a noite em temperatura ambiente. O solvente é removido em vácuo, e o bruto é purificado por cromatografia *instantânea* (4 g de coluna de sílica-gel) utilizando um gradiente de EtOAc:hexanos para fornecer a cetona 1-F como uma espuma branca que é utilizada na preparação de 1-G.
- 1-G:** Cetona 1-F (128 mg, 0,18 mmol) é dissolvida em DCM (1 mL) e TFA a 50% em DCM (5 mL) é adicionado. A reação é agitada em temperatura ambiente durante 2 horas e o solvente é removido em vácuo. O material bruto é purificado por HPLC de fase reversa, e o solvente é liofilizado para fornecer 1-G como um pó branco.

Exemplos 2-7

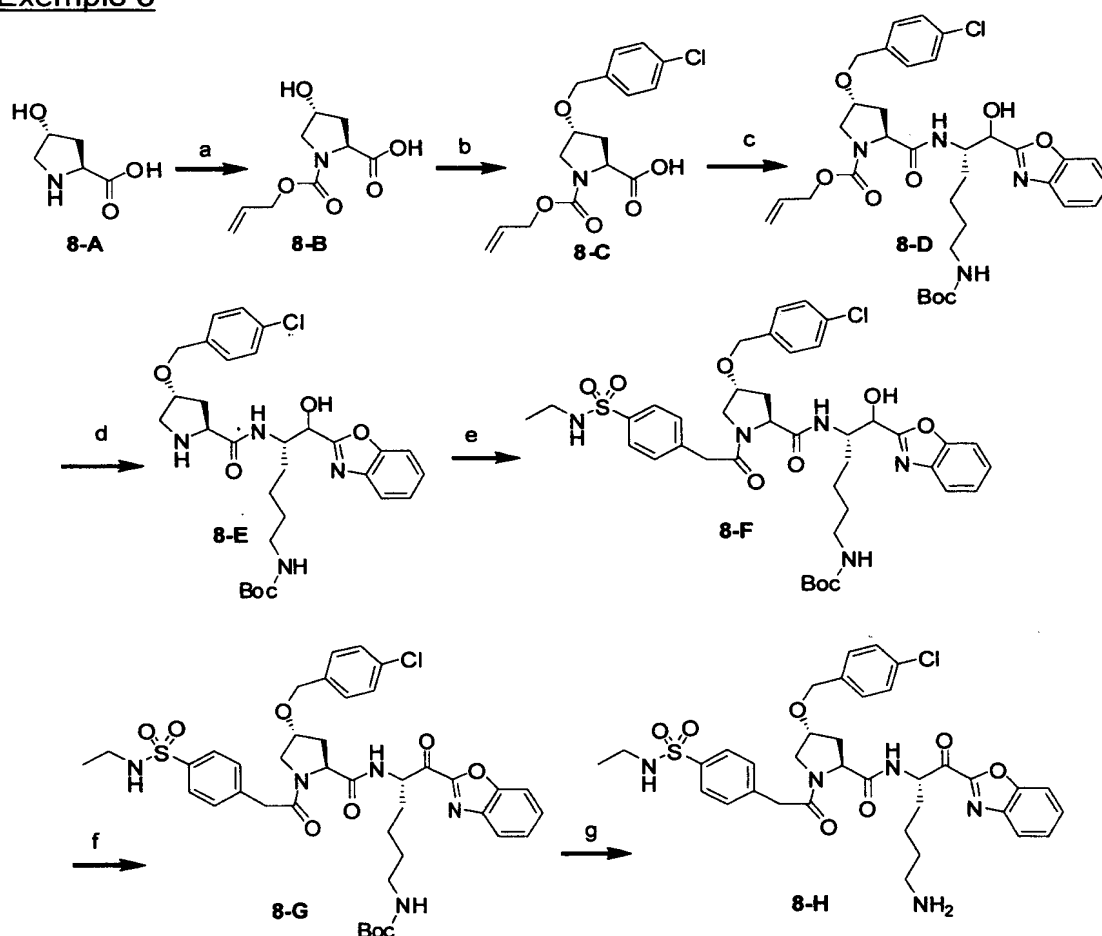
- O exemplo 2 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 1, utilizando ácido 3-terc-butoxicarbonilamino-propiónico para fornecer o intermediário 2-E.
- O exemplo 3 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 1, utilizando Composto de referência 13 para fornecer o intermediário 3-E.
- O exemplo 4 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 1, utilizando Composto de referência 14 para fornecer o intermediário 4-E.
- O exemplo 5 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 1, utilizando ácido (4-etanossulfonilamino-fenil)-

acético (preparado de uma maneira análoga àquela descrita para o composto de referência 13) para fornecer o intermediário 5-E.

O exemplo 6 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 1, utilizando Composto de referência 12 para fornecer o intermediário 6-E.

O exemplo 7 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 1, utilizando ácido 4-(metanossulfonilamino)fenilacético para fornecer o intermediário 7-E.

Exemplo 8



- 10 **8-B:** *trans*-4-Ildroxirolina (Hyp-OH) (7,90 g, 60,1 mmols) e N-(aliloxicarboni-
lói)succinimida (12,0 g, 60,1 mmols) são adicionadas a um frasco de base
redonda contendo THF (220 mL), trietilamina (21 mL, 150,3 mmols) e água
(55 mL). A mistura é agitada em temperatura ambiente durante a noite. A
solução clara é acidificada com HCl a 1N (100 mL) e extraída com EtOAc (4
15 × 150 mL). A camada orgânica combinada é lavada com salmoura (100 mL)

e secada com MgSO_4 . O solvente é evaporado em vácuo para fornecer o produto desejado como sólido branco, que é utilizado sem outra purificação.

8-C: Este composto é preparado por alquilação de 8-B e 1-cloro-4-clorometilbenzeno utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-B no Exemplo 1.

8-D: Este composto é preparado por Acoplamento de HATU de 8-C e composto de referência 1-E utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-C no Exemplo 1.

8-E: Um frasco de base resonda de 50 mL é carregado com álcool 8-D (780 mg, 1,16 mmol), Et_2NH (1,8 mL, 17,43 mmols, 15 eq), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (55 mg, 0,06 mmol 0,05 eq), ligando fosfina dppe (26 mg, 0,06 mmol, 0,05 eq) e THF (5 mL). Os reagentes são agitados em temperatura ambiente durante 15 minutos e em seguida concentrados até a secura. O produto (como uma mistura de diastereômeros) é purificado a partir de uma mistura reacional por meio de cromatografia de sílica-gel utilizando gradiente de 2-9% de MeOH em CH_2Cl_2 . A amina 8-E é em seguida utilizada na preparação de 8-F.

8-F: seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-E no Exemplo 1, composto 8-F é preparado por acoplamento de HATU de 8-E e ácido (4-etanossulfonilamino-fenil)-acético (preparado de uma maneira análoga àquela descrita para a preparação do ácido 4-(metanossulfonilamino)fenilacético, que foi preparado utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de composto de referência 13).

8-G: Este composto é preparado por oxidação de 8-F utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação do intermediário 1-F no Exemplo 1.

8-H: Este composto é preparado por desproteção de 8-G utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação Exemplo 1.

Exemplos 9-30

O exemplo 9 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando Composto de referência 15 para fornecer o intermediário 9-F.

O exemplo 10 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (4-metóxi-fenil)-acético para fornecer o intermediário 10-F.

5 O exemplo 11 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido piridin-4-il-acético para fornecer o intermediário 11-F.

O exemplo 12 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (3-cloro-fenil)-acético para fornecer o intermediário 12-F.

10 O exemplo 13 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido [4-(morfolina-4-sulfonil)-fenil]-acético para fornecer o intermediário 13-F.

O exemplo 14 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (3,5-dicloro-fenil)-acético para
15 fornecer o intermediário 14-F.

O exemplo 15 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (4-fenil-fenil)-acético para fornecer o intermediário 15-F.

O exemplo 16 é preparado seguindo métodos análogos àqueles
20 descritos para o exemplo 8, utilizando (2-cloro-fenil)-acético ácido para fornecer o intermediário 16-F.

O exemplo 17 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (3-fenóxi-fenil)-acético para fornecer o intermediário 17-F.

25 O exemplo 18 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (2-fenil-tiazol-4-il)-acético para fornecer o intermediário 18-F.

O exemplo 19 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido (4-fenilmetanossulfonilamino-fenil)-acético (preparado de uma maneira análoga àquela descrita para a
30 preparação do composto de referência 13) para fornecer o intermediário 19-F.

O exemplo 20 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido [4-(piperidina-1-sulfonil)-fenil]-acético para fornecer o intermediário 20-F.

5 O exemplo 21 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido [3-(4-cloro-fenóxi)-fenil]-acético composto de referência 16 para fornecer o intermediário 21-F.

O exemplo 22 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8, utilizando ácido [4-(trifluoro-etanossulfonilamino)-fenil]-acético (seguindo métodos análogos àqueles descritos para
10 o composto de referência 13) para fornecer o intermediário 22-F.

O exemplo 23: Este composto é preparado de ácido 1-Boc-piperidin-4-il-propionico seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

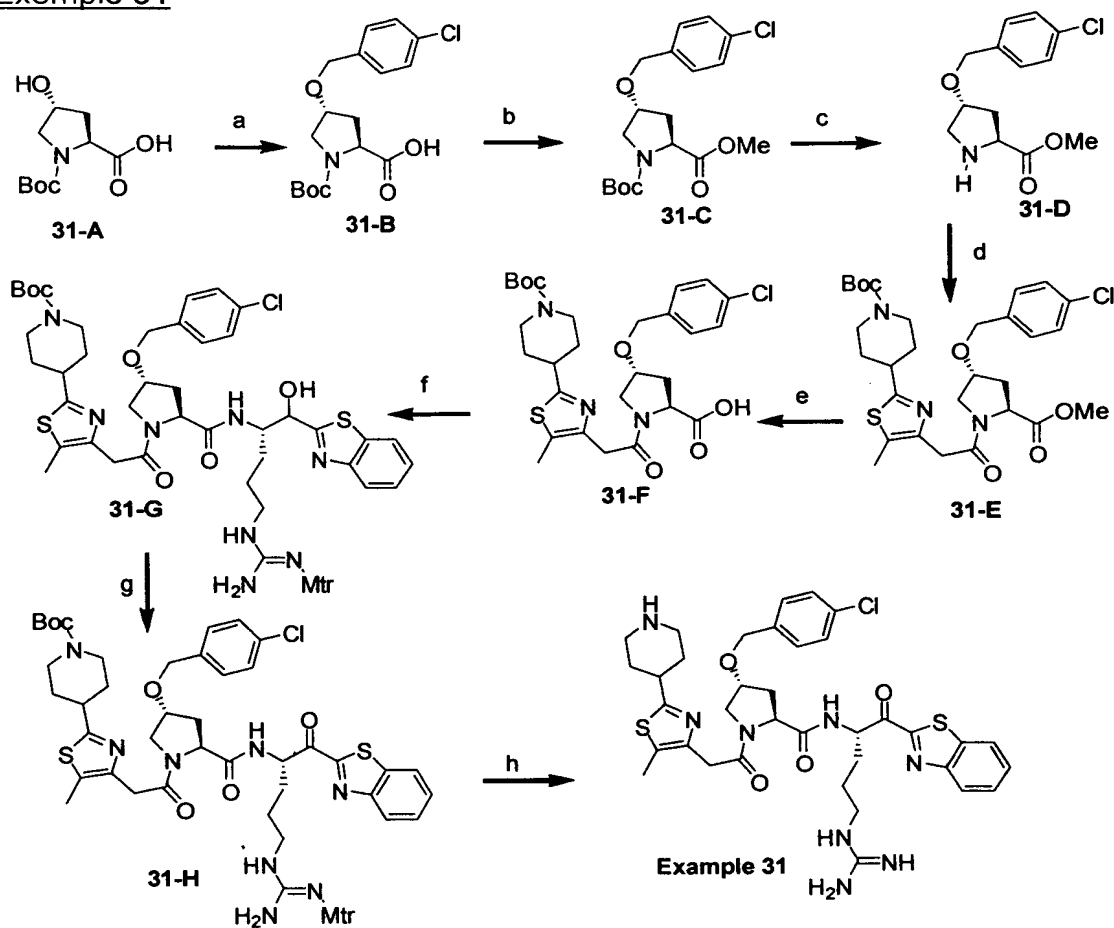
O exemplo 24: Este composto é preparado de ácido N-Boc-4-
15 piperidin-4-il-butírico seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

O exemplo 25: Este composto é preparado de ácido 1-Boc-piperidin-4-il-acético seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

20 O exemplo 26: Este composto é preparado de ácido 1-Boc-piperidin-3-il-acético seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

O exemplo 27: Este composto é preparado de ácido 1-Boc-piperidin-3-il-propionico seguindo métodos análogos àqueles descritos para
25 a preparação de Exemplo 8.

O exemplos 28-30 são preparados seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

Exemplo 31

- 31-B:** KOH em pó fino (19,4 g, 0,346 mol) é dissolvido em DMSO e agitado em temperatura ambiente durante 20 minutos e em seguida resfriado para 0°C. N-Boc-trans-4-hidróxi-L-prolina (Boc-Hyp-OH, 1-A) (10g, 43,3 mmols) é dissolvido em DMSO (10 mL) e adicionado, e a mistura reacional é agitada por mais 10 minutos a 0°C. Em seguida, cloreto de 4-clorobenzila (33 g, 0,204 mol) é adicionado, e a mistura reacional é agitada a 0°C durante mais 15 minutos, após cujo ponto o banho gelado é removido e a mistura reacional é deixada aquecer para a temperatura ambiente e agitada durante 4 horas. A mistura reacional é vertida em água (300 mL), e um vaso de reação é enxaguado com uma alíquota adicional de água (300 mL). A camada aquosa combinada é extraída com éter (2 × 300 mL) e descartada. A camada aquosa é acidificada com 87 % H₃PO₄ a pH 2,3, e em seguida extraída com éter (3 × 300 mL). Os extratos de éter combinados são lavados com água (2 × 400 mL) e salmoura (2 × 400 mL), secados sobre MgSO₄, filtrados e concen-

trados em vácuo. O resíduo é purificado por cromatografia sobre sílica-gel com EtOAc/Hexanos (gradiente 0 a 100%) para produzir o composto 1-B como um óleo claro. MS m/z 256,1 (M + 1 - Boc); ¹H RMN (DMSO-D₆, 400 MHz) δ 7,39 - 7,31 (4H, m), 4,52 - 4,40 (2H, m), 4,16 - 4,10 (2H, m), 3,48 - 3,41 (2H, m), 2,40 - 2,30 (1H, m), 2,03 - 1,94 (1H, m), 1,39 - 1,34 (9H, m).

31-C: Uma solução de (trimetilsilil)diazometano (2M em dietiléter) (4,7 mL, 9,45 mmols) é adicionada a ácido carboxílico 1-B (2,4 g, 8,6 mmols) dissolvida em DCM/MeOH (5:1, 25 mL). Quando material de partida foi consumido, como determinado por LCMS, a mistura reacional é concentrada em vácuo, e o resíduo bruto é purificado por cromatografia *instantânea* (gradiente EtOAc:Hexanos) para fornecer o éster metílico como um óleo claro.

31-D: Um frasco de base redonda é carregado com uma barra agitadora e 1-C (510 mg, 1,38 mmol). TFA (50%) em DCM (6 mL) é adicionada e a solução é agitada por 1 hora em temperatura ambiente. O solvente é removido em vácuo, hexanos é adicionado e em seguida evaporado novamente em vácuo até a secura, e repetido se necessário para azeotropar o TFA restante. O material bruto é utilizado diretamente na próxima etapa sem outra purificação.

31-E: Este composto é preparado de 31-D e ácido {2-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético comercialmente disponível utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 1-E.

31-F: Este composto é preparado de 31-E por saponificação de acordo com os métodos descritos para a preparação de composto de referência 6.

31-G: Este composto é preparado de 31-F e composto de referência 3, utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 1-C.

31-H: Este composto é preparado de 31-G utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 1-F.

31: Composto de referência 31 é preparado de 31-H utilizando métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 1-G.

Exemplos 32 - 43

Exemplo 32 é preparado de composto de referência 10, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 31.

5 Exemplo 33 é preparado seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 31.

Exemplo 34 é preparado de Composto de referência 11, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

Exemplo 35 é preparado de Composto de referência 8, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

10 Exemplo 36 é preparado de Composto de referência 6, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

Exemplo 37 é preparado de Composto de referência 2, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

15 Exemplo 38 é preparado de Composto de referência 2, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

Exemplo 39 é preparado de Composto de referência 2, seguindo métodos análogos àqueles descritos para a preparação de Exemplo 8.

20 Exemplo 40 é preparado de Composto de referência 5 e ácido {2-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8.

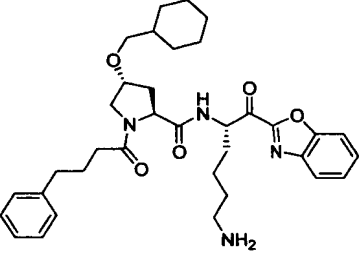
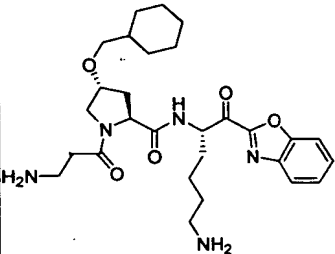
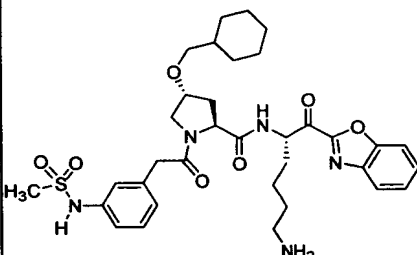
Exemplo 41 é preparado de Composto de referência 9 e ácido {2-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8.

25 Exemplo 42 é preparado de Composto de referência 7 e ácido {2-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8.

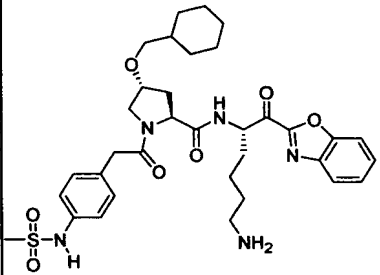
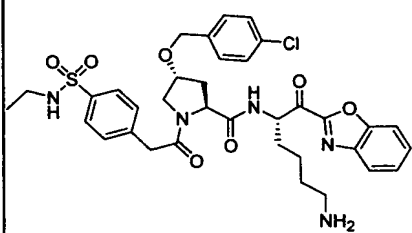
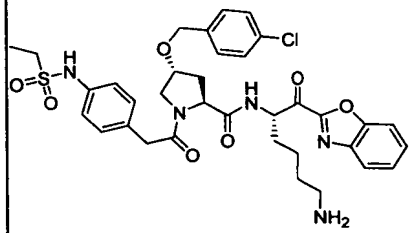
Exemplo 43 é preparado de Composto de referência 2 e ácido {2-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético seguindo métodos análogos àqueles descritos para o exemplo 8.

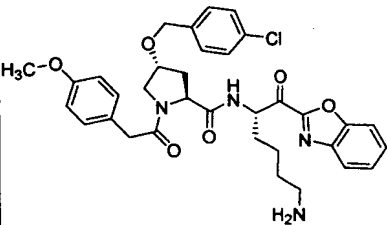
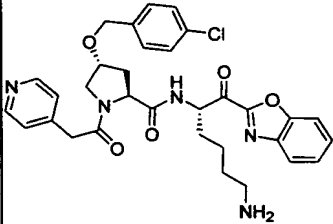
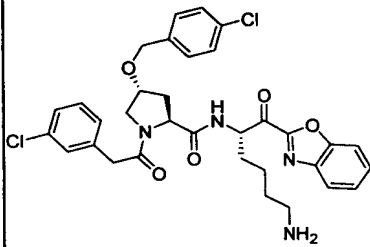
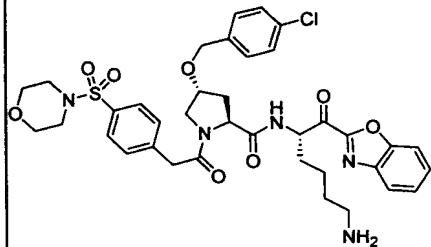
30 A Tabela 1 mostra os compostos de fórmula (1), como descrito nos exemplos 1-42.

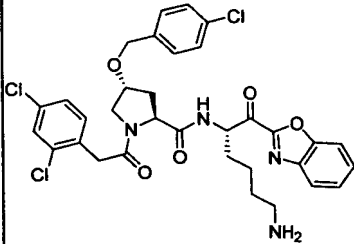
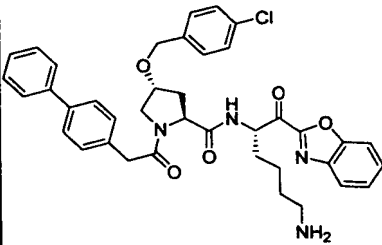
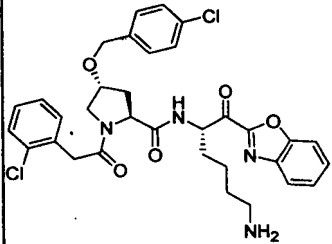
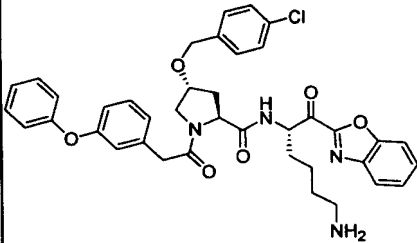
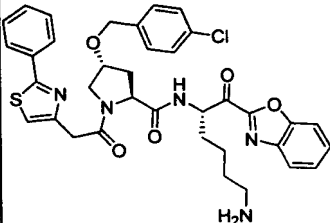
Tabela 1

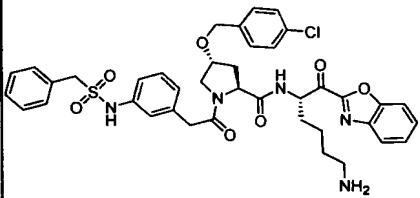
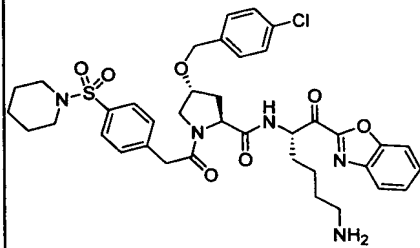
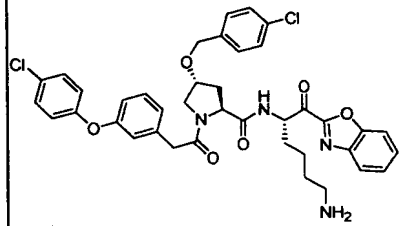
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elemental, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
1		MS <i>m/z</i> 603,4 (<i>M</i> + 1); ¹ H RMN δ 8,08 (s, 2H), 7,90 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,66 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,53 - 7,57 (m, 1H), 7,45 - 7,49 (m, 2H), 7,14 - 7,19 (m, 3H), 5,70 - 5,71 (m, 1H), 4,47 - 4,51 (m, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,63 - 3,66 (m, 3H), 3,38 - 3,41 (m, 1H), 3,01 - 3,22 (m, 3H), 3,02 (s, 2H), 2,60 - 2,65 (m, 2H), 2,23 - 2,28 (m, 4H), 2,06 - 2,13 (m, 1H), 1,85 - 1,89 (m, 3H), 1,46 - 1,51 (m, 2H), 1,11 - 1,23 (m, 4H), 0,85 - 0,89 (m, 3H).
2		MS <i>m/z</i> 528,4 (<i>M</i> + 1); ¹ H RMN δ 7,90 - 7,48 (m, 8H), 5,62 - 5,71 (m, 1H), 4,49 - 4,51 (m, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,82 - 4,00 (m, 1H), 3,66 - 3,74 (m, 1H), 3,30 (s, 1H), 3,00 - 3,22 (m, 4H), 2,51 - 2,61 (m, 2H), 2,00 - 2,40 (m, 3H), 1,43 - 1,81 (m, 12H), 1,1 - 1,26 (m, 3H), 0,80 - 0,92 (m, 3H)
3		MS <i>m/z</i> 668,4 (<i>M</i> + 1); ¹ H RMN δ 8,04 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,80 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,68 - 7,72 (m, 1H), 7,60 - 7,64 (m, 1H), 7,49 - 7,53 (m, 3H), 7,32 (d, 2H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,27 (s, 1H), 7,13 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 4,63 - 4,67 (m, 1H), 4,32 (s, 1H), 3,98 - 4,01 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,35 - 3,37 (m, 2H), 3,27 - 3,31 (m, 2H), 3,11 - 3,19 (m, 10H), 4,83 (s, 1H), 2,42 - 2,48 (m, 1H), 2,34 - 2,35 (m, 1H), 2,24 - 2,30 (m, 1H), 1,26 - 1,41 (m, 4H), 0,99 - 1,07 (m, 3H).

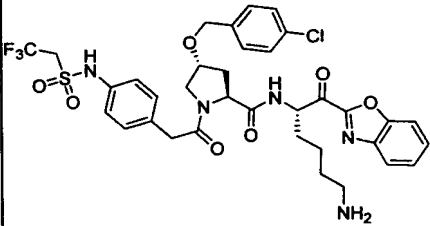
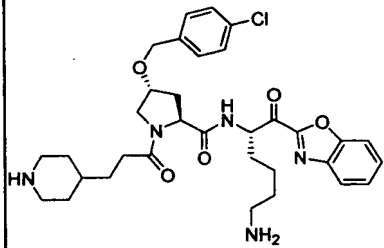
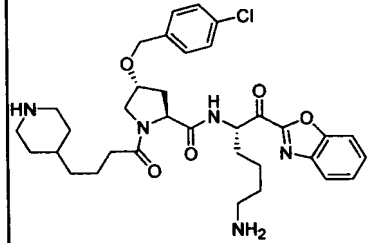
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
4		MS <i>m/z</i> 632,4 (M + 1); ¹ H RMN δ 8,30 (s, 1H), 7,91 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,67 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,47 - 7,59 (m, 2H), 7,37 (s, 1H), 7,30 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,17 - 7,19 (m, 3H), 7,97 - 7,99 (m, 1H), 5,71 - 5,77 (m, 1H), 4,40 - 4,44 (m, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,84 - 3,87 (m, 2H), 3,16 - 3,26 (m, 2H), 2,844 (s, 1H), 2,69 (s, 1H), 2,23 - 2,37 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,14 - 1,27 (m, 4H), 0,86 - 0,97 (m, 3H).
5		MS <i>m/z</i> 682,4 (M + 1); ¹ H RMN δ 7,92 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,76 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,61 - 7,65 (m, 1H), 7,52 - 7,55 (m, 1H), 7,20 - 7,23 (m, 6H), 5,58 - 5,61 (m, 1H), 4,51 - 4,55 (m, 1H), 4,10 - 4,14 (m, 2H), 3,66 - 3,79 (m, 5H), 3,19 - 3,23 (m, 2H), 3,06 - 3,13 (m, 5H), 2,92 - 2,95 (m, 2H), 2,66 (s, 1H), 2,32 - 2,37 (m, 1H), 2,17 - 2,24 (m, 1H), 1,94 - 2,01 (m, 1H), 1,27 - 1,32 (m, 7H), 0,84 - 0,98 (m, 3H).
6		MS <i>m/z</i> 702,4 (M + 1); ¹ H RMN δ 7,91 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,76 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,61 - 7,65 (m, 1H), 7,52 - 7,55 (m, 1H), 7,34 - 7,41 (m, 3H), 7,20 (d, 2H <i>J</i> = 8,0Hz), 5,61 - 5,64 (m, 1H), 5,12 - 5,15 (m, 1H), 4,48 - 4,53 (m, 3H), 4,08 (s, 1H), 3,63 - 3,78 (m, 5H), 3,11 - 3,15 (m, 1H), 2,98 - 3,01 (m, 1H), 2,91 - 2,94 (m, 3H), 2,66 (s, 1H), 2,31 - 2,34 (m, 1H), 2,18 - 2,26 (m, 1H), 1,82 - 1,99 (m, 4H), 1,38 - 1,42 (m, 2H), 1,14 - 1,29 (m, 5H), 0,81 - 0,94 (m, 3H).

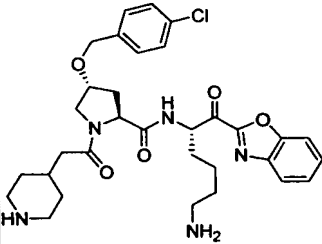
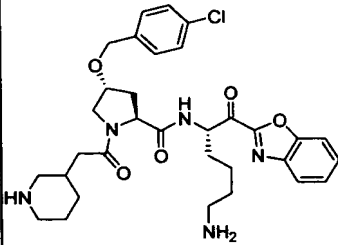
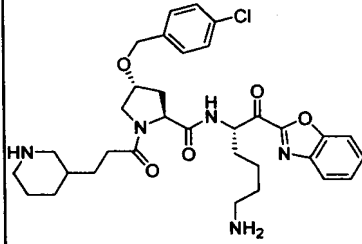
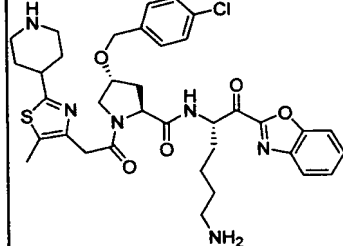
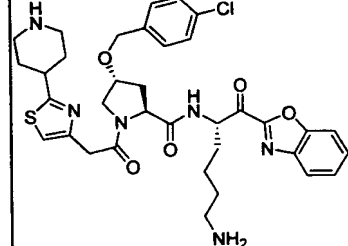
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
7		MS <i>m/z</i> 668,3 (M + 1)
8		MS <i>m/z</i> 710,4 (M + 1); ¹ H RMN δ 7,95 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,78 - 7,81 (m, 2H), 7,63 - 7,67 (m, 1H), 7,51 - 7,58 (m, 2H), 7,46 - 7,49 (m, 2H), 7,38 - 7,41 (m, 2H), 7,31 (d, 2H <i>J</i> = 8,0 Hz), 6,84 (s, 2H), 5,54 - 5,61 (m, 1H), 4,43 - 4,52 (m, 2H), 4,27 - 4,29 (m, 1H), 3,83 (s, 2H), 3,75 (s, 2H), 2,89 (d 3H, <i>J</i> = 8,0Hz), 2,30 - 2,36 (m, 1H), 2,10 - 2,19 (m, 1H), 2,01 - 2,08 (m, 1H), 1,57 - 1,75 (m, 4H), 1,03 - 1,07 (m, 2H).
9		MS <i>m/z</i> 710,4 (M + 1); C ₃₇ H ₄₁ ClF ₃ N ₅ O ₉ S (M+ TFA) C calculada, 53,91 encontrada, 50,06; H calculada, 5,01 encontrada, 4,74; N calculada, 8,50 encontrada, 7,64; ¹ H RMN δ 7,91 - 7,96 (m, 1H), 7,75 - 7,80 (m, 1H), 7,63 - 7,67 (m, 1H), 7,50 - 7,57 (m, 1H), 7,37 - 7,41 (m, 2H), 7,29 - 7,32 (m, 2H), 7,24 (s, 4H), 4,43 - 4,51 (m, 2H), 4,28 (s, 1H), 3,70 (s, 2H), 3,06 - 3,12 (m, 2H), 3,80 - 3,92 (m, 3H), 2,29 - 2,32 (m, 1H), 2,12 - 2,16 (m, 1H), 1,58 - 1,76 (m, 4H), 1,27 - 1,31 (m, 3H)

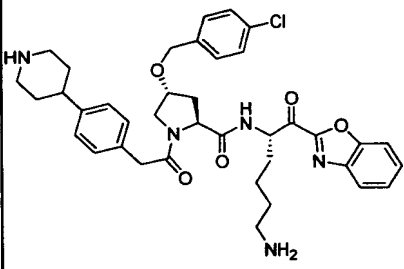
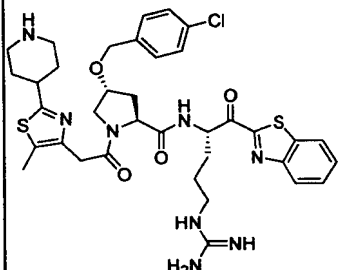
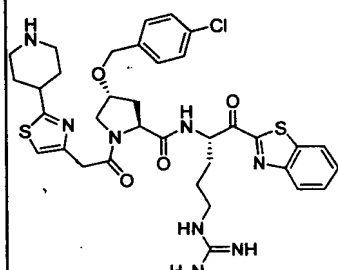
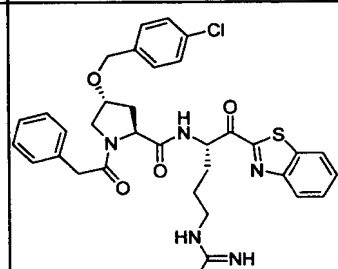
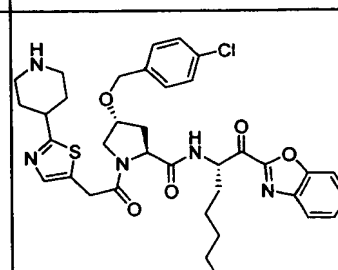
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
10		MS <i>m/z</i> 633,4 (<i>M</i> + 1); ¹ H RMN δ 7,93 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,78 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,62 - 7,66 (m, 1H), 7,52 - 7,59 (m, 2H), 7,35 - 7,41 (m, 2H), 7,27 (d, 2H <i>J</i> = 8,0 Hz), 7,14 - 7,19 (m, 2H), 6,88 (d, 2H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,53 - 7,59 (m, 1H), 4,37 - 4,48 (m, 3H), 4,25 - 4,26 (m, 2H), 4,09 (s, 4H), 3,77 (s, 3H), 4,64 (s, 2H), 2,88 (s, 2H), 2,28 - 2,34 (m, 1H), 2,10 - 2,18 (m, 1H), 1,99 - 2,05 (m, 1H), 1,58 - 1,77 (m, 5H).
11		MS <i>m/z</i> 604,3 (<i>M</i> + 1), ¹ H RMN δ 7,93 (d), 8,72 (s, 1H), 7,78 - 7,81 (m, 1H), 7,50 - 7,67 (m, 2H), 7,34 - 7,41 (m, 3H), 7,02 (s, 2H), 5,47 - 5,53 (m, 1H), 4,46 - 4,56 (m, 2H), 4,29 - 4,31 (m, 1H), 3,95 - 4,02 (m, 2H), 3,73 - 3,82 (m, 2H), 2,86 (s, 2H), 2,54 (s, 2H), 2,31 - 2,37 (1H), 2,06 - 2,15 (m, 1H), 1,52 - 1,74 (m, 3H).
12		MS <i>m/z</i> 637,2 (<i>M</i> + 1)
13		MS <i>m/z</i> 752,3 (<i>M</i> + 1)

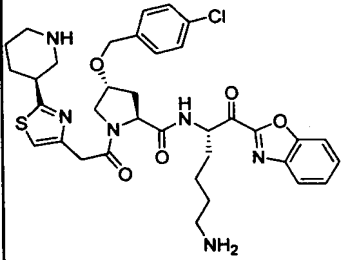
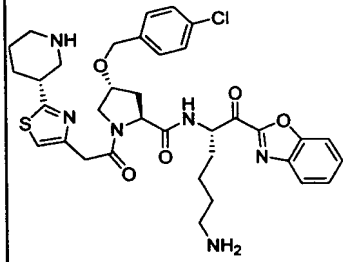
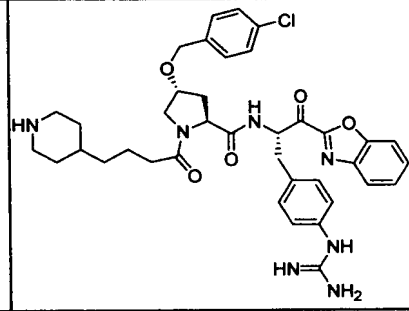
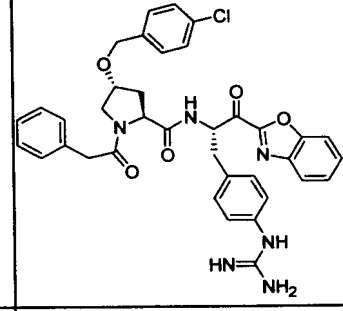
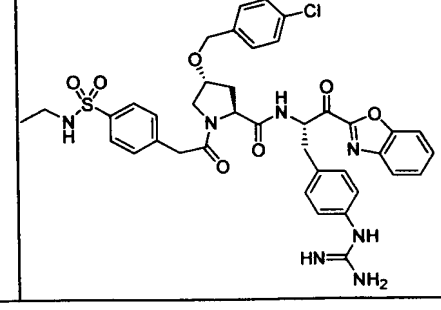
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
14		MS <i>m/z</i> 671,2 (M + 1)
15		MS <i>m/z</i> 679,3 (M + 1)
16		MS <i>m/z</i> 637,2 (M + 1)
17		MS <i>m/z</i> 695,3 (M + 1)
18		MS <i>m/z</i> 686,3 (M + 1); ¹ H RMN δ 7,93 (d), 7,94 - 7,95 (m, 3H), 7,79 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,63 - 7,67 (m, 1H), 7,49 - 7,58 (m, 5H), 7,40 (s, 1H), 7,27 - 7,35 (m, 5H), 7,03 (s, 2H), 7,50 - 7,55 (m, 1H), 4,45 - 4,53 (m, 3H), 4,31 (s, 1H), 4,02 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 3,93 (d, 2H <i>J</i> = 5,2Hz), 3,82 - 3,86 (m, 1H), 2,32 - 2,38 (m, 2H), 2,09 - 2,14 (m, 1H),

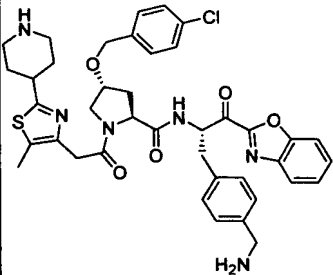
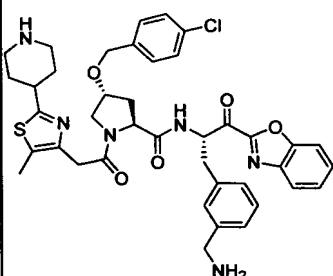
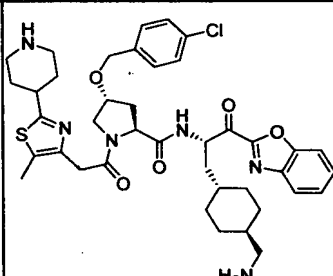
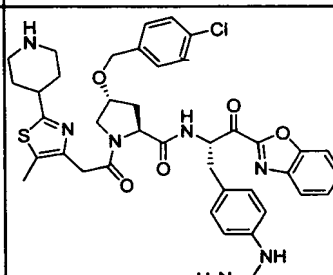
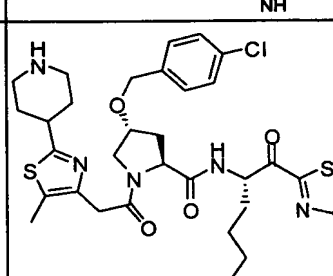
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
		1,63 - 1,78 (m, 7H).
19		MS <i>m/z</i> 772,3(M + 1); ¹ H RMN δ 8.14 (s, 1H), 7.93 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7.75 - 7.78 (m, 2H), 7.61 - 7.66 (m, 1H), 7.52 - 7.56 (m, 1H), 7.37 - 7.38 (m, 6H), 7.30 - 7.32 (m, 5H), 7.18 - 7.25 (m, 6H), 7.50 - 7.55 (m, 1H), 4.44 - 4.52 (m, 3H), 4.37 (s, 3H), 4.27 - 4.27 (m, 1H), 3.75 (d, 2H <i>J</i> = 3,2 Hz), 3.68 (s, 2H), 2.88 (s, 3H), 2.29 - 2.35 (m, 1H), 1.99 - 2.15 (m, 2H), 1.56 - 1.75 (m, 6H).
20		MS <i>m/z</i> 750,3 (M + 1); ¹ H RMN δ 7.93 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7.77 (d, 1H <i>J</i> = 8,4Hz), 7.62 - 7.73 (m, 4H), 7.47 - 7.56 (m, 3H), 7.37 - 7.39 (m, 3H), 7.29 - 7.31 (m, 2H), 5.48 - 5.53 (m, 1H), 4.40 - 4.55 (m, 3H), 4.24 - 4.26 (m, 1H), 3.82 (s, 2H), 3.73 (d, 2H <i>J</i> = 3,2 Hz), 2.30 - 2.36 (m, 1H), 2.01 - 2.17 (m, 2H), 1.66 - 1.79 (m, 3H), 1.57 - 1.62 (m, 8H), 1.36 - 1.41 (m, 3H).
21		MS <i>m/z</i> 729,3 (M + 1); ¹ H RMN δ 7.93 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7.77 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7.72 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7.61 - 7.65 (m, 1H), 7.51 - 7.56 (m, 1H), 7.33 - 7.39 (m, 8H), 7.27 (d, 2H <i>J</i> = 8,0Hz), 6.90 - 7.07 (m, 5H), 5.48 - 5.54 (m, 1H), 4.37 - 4.52 (m, 3H), 4.22 (s, 1H), 3.65 - 3.74 (m, 5H), 3.01 (s, 1H), 2.90 - 2.91 (m, 1H), 2.88 (s, 1H), 2.27 - 2.33 (m, 1H), 2.08 - 2.14 (m, 1H), 1.99 - 2.05 (m, 1H), 1.65 - 1.81

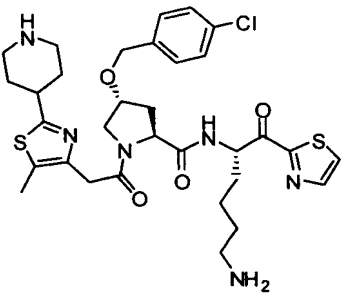
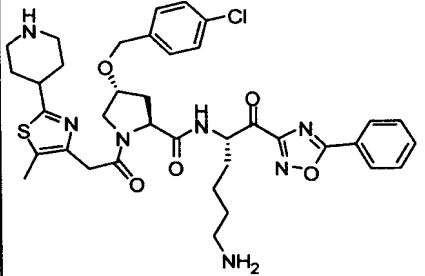
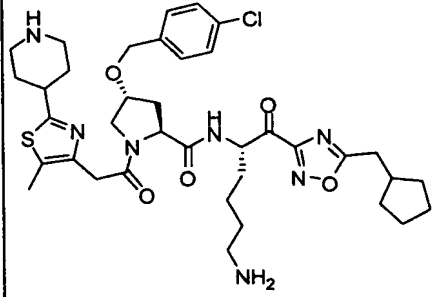
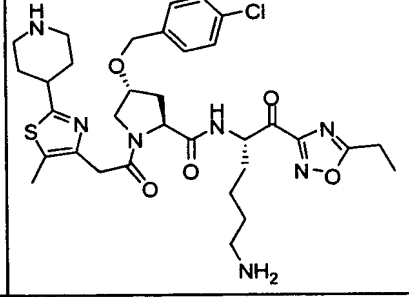
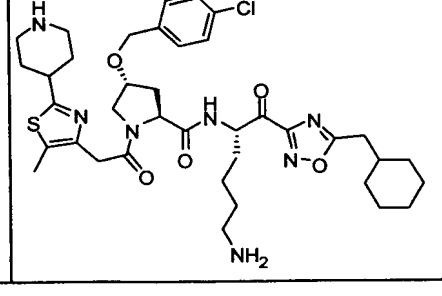
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
		(m, 3H), 1,57 - 1,62 (m, 2H).
22		MS <i>m/z</i> 764,2 (<i>M</i> + 1); ¹ H RMN δ 7,93 (d), 8,94 (s, 1H), 7,94 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,79 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,63 - 7,67 (m, 1H), 7,53 - 7,57 (m, 2H), 7,39 - 7,41 (m, 2H), 7,32 (d, 2H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,28 (s, 4H), 6,99 (s, 1H), 5,51 - 5,6 (m, 1H), 4,45 - 4,53 (m, 3H), 4,28 - 4,30 (m, 1H), 4,07 - 4,14 (m, 2H), 3,72 - 3,77 (m, 4H), 2,85 (s, 2H), 2,53 (s, 1H), 2,27 - 2,35 (m, 2H), 2,02 - 2,17 (m, 3H), 1,62 - 1,74 (m, 3H), 1,55 - 1,60 (m, 2H).
23		MS <i>m/z</i> 624,3 (<i>M</i> + 1)
24		MS <i>m/z</i> 638,3 (<i>M</i> + 1)

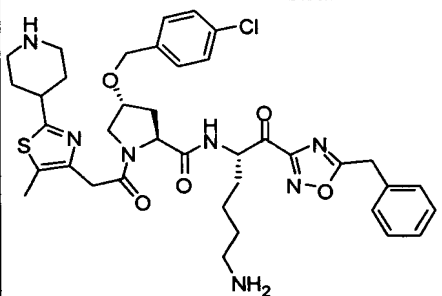
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
25		MS <i>m/z</i> 610,3 (M + 1)
26		MS <i>m/z</i> 610,3 (M + 1)
27		MS <i>m/z</i> 624,3 (M + 1)
28		MS <i>m/z</i> 707,3 (M + 1)
29		MS <i>m/z</i> 693,3 (M + 1)

Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
30		MS <i>m/z</i> 686,3 (M + 1)
31		MS <i>m/z</i> 651,3 (M + 1)
32		MS <i>m/z</i> 637,3 (M + 1)
33		MS <i>m/z</i> 647,2 (M + 1)
34		MS <i>m/z</i> 693,3 (M + 1)

Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
35		MS <i>m/z</i> 693,3 (M + 1)
36		MS <i>m/z</i> 693,3 (M + 1)
37		MS <i>m/z</i> 714,3 (M + 1)
38		MS <i>m/z</i> 679,2 (M + 1)
39		MS <i>m/z</i> 686,2 (M + 1)

Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
40		MS <i>m/z</i> 755,3 (M + 1)
41		MS <i>m/z</i> 755,3 (M + 1)
42		MS <i>m/z</i> 761,3 (M + 1)
43		MS <i>m/z</i> 783,3 (M + 1)
44		MS <i>m/z</i> 723,3 (M + 1)

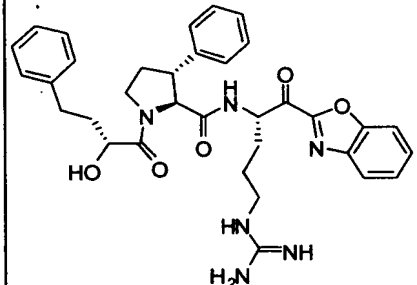
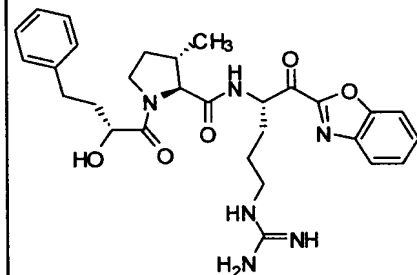
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
45		MS <i>m/z</i> 723,3 (<i>M</i> + 1)
46		MS <i>m/z</i> 734,3 (<i>M</i> + 1)
47		MS <i>m/z</i> 740,4 (<i>M</i> + 1)
48		MS <i>m/z</i> 686,3 (<i>M</i> + 1)
49		MS <i>m/z</i> 754,4 (<i>M</i> + 1)

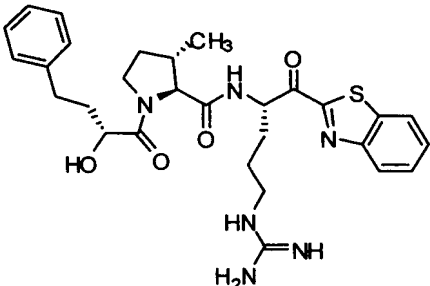
Exemplo	Estrutura	Dados Físicos MS (<i>m/z</i>), Análise Elementar, e ¹ H RMN 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
50		MS <i>m/z</i> 748,4 (<i>M</i> + 1)

Exemplos 51 - 53

- Exemplos 51-53 na Tabela 2 são compostos exemplares da invenção tendo a Fórmula (1) compreendendo prolina substituídas por 3-
 5 alquila ou 3-arila, que podem ser preparadas repetindo os procedimentos descritos nos exemplos acima, utilizando materiais de partida apropriados evidentes para aqueles versados na técnica.

Tabela 2

Exemplo	Estrutura	Dados de MS
51		MS <i>m/z</i> 611,3 (<i>M</i> + 1)
52		MS <i>m/z</i> 549,3 (<i>M</i> + 1)

Exemplo	Estrutura	Dados de MS
53		MS m/z 565,3 (M + 1)

Ensaio

- A adequabilidade de uma protease ativadora de inibidor de canal tal como um inibidor de prostasina para o tratamento de uma doença mediada pela inibição de uma protease ativadora de canal, pode ser testada determinando-se o efeito inibidor da protease ativadora de inibidor de canal sobre: (1) a protease ativadora de canal nativa, isolada, purificada ou recombinante, utilizando um formato de ensaio bioquímico adequado, utilizando o método descrito em Shipway e outro; Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004; 324(2):953-63; e/ou (2) a função de transporte de íon/canal de íon em células isoladas adequadas ou epitélios confluentes, utilizando os métodos descritos nos Bridges e outro; Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2001; 281(1):L16-23; e Donaldson e outro; J. Biol. Chem. 2002; 277(10):8338-45.

Ensaio Bioquímico

- A prostasina humana recombinante e prostasina de cobaia e matriptase são geradas de acordo com os métodos descritos nos Shipway e outro, Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004; 324(2):953-63). As enzimas recombinantes são incubadas em um tampão de eletrólito contendo os compostos teste ou veículo em uma placa de ensaio de múltiplas cavidades adequada tal como uma placa de 96 ou 384 cavidades. Em um tempo definido após a mistura da enzima com o composto ou veículo, um substrato de peptídeo fluorescente adequado é adicionado à mistura de ensaio. Quando o substrato torna-se clivado pela enzima ativa, a fluorescência (medida, utilizando uma leitora de placa de fluorescência adequada) aumenta e a taxa de regeneração do substrato (isto é, atividade de enzima) pode ser quantificada, e desse modo o efeito inibidor de qualquer composto teste. A eficácia

dos compostos teste é expressa como a concentração que induz uma atenuação de 50% na atividade de enzima (K_i).

Em geral, compostos da invenção podem ter valores K_i de 0,1 nM a 5 μ M. Em alguns exemplos, compostos da invenção podem ter valores K_i de 0,1 nM a 500 nM; de 0,1 nM a 50 nM; de 0,1 nM a 5 nM; ou de 0,1 nM a 0,5 nM. Em exemplos particulares, os compostos da invenção podem ter valores K_i de 0,1 nM a 0,5 nM; de 0,5 nM a 5 nM; de 5 nM a 50 nM; de 50 nM a 500 nM; ou de 500 nM a 5 μ M. Todavia em outros exemplos, compostos podem ter valores K_i menores do que 0,1 nM ou mais do que 5 μ M.

10 Transporte de Íon Epitelial

Células epiteliais brônquicas humanas são cultivadas de acordo com os métodos descritos nos Danahay e outro, Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 282(2):L226-36). Quando células epiteliais adequadamente diferenciadas (dias 14-21 após estabilização de uma interface apical-ar) são tratadas com ou veículo, aprotinina (200 μ g/ml) ou composto de teste durante 90 minutos. Epitélios são em seguida colocados inseridos, utilizando câmaras como descrito em Danahay e outro, Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 282(2):L226-36) mantendo a concentração de veículo, aprotinina ou composto de teste sobre o lado apical dos epitélios. Corrente de curto circuito (ISC) é em seguida medido por voltagem grampeando os epitélios em zero millivolts. O ISC sensível à amilorida é em seguida medido pela adição de amilorida (10 μ M) à superfície apical dos epitélios. A potência do composto de teste é expressa como a concentração que induz à 50% de inibição do componente sensível à aprotinina total do ISC sensível à amilorida.

Em geral, os compostos da invenção podem ter valores IC_{50} de 1 nM a 10 μ M. Em alguns exemplos, compostos da invenção podem ter valores IC_{50} de 1 nM a 1 μ M; ou mais particularmente de 1 nM a 100 nM. Todavia em outros exemplos, os compostos da invenção podem ter valores IC_{50} de 100 nM a 1 μ M, ou de 1 μ M a 10 μ M. Em ainda outros exemplos, os compostos podem ter valores IC_{50} menores do que 1 nM ou mais do que 10 μ M.

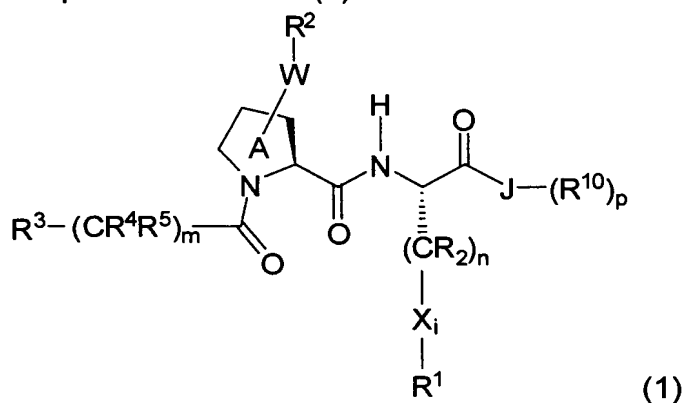
Diferença potencial traqueal (*in vivo*)

Porquinho-da-Índia são anestesiadas, utilizando uma anestesia por inalação de curta ação tal como halotano e N₂O. Ao mesmo tempo que sob anestesia de curta ação, uma agulha de gavagem oral é inserida na traquéia por meio da rotina orofarangeal. Uma vez dentro da traquéia, um pequeno volume (50-200 µl) de veículo ou composto de teste, em diluente com base aquosa adequado, é instilado dentro das vias aéreas. Os animais em seguida recuperam-se e tornam-se totalmente ambulatoriais. Alternativamente, compostos teste podem ser administrados a animais, utilizando aerossol ou dosagem de pó seco. Em um tempo definido após a dosagem, os animais são cirurgicamente anestesiados, utilizando uma anestesia adequada tal como cetamina e xilazina. A traquéia é em seguida exposta e um eletrodo ponte de ágar de plástico é inserido no lúmen traqueal. Um eletrodo de Referência é também inserido nas camadas de músculo no pescoço do animal. A diferença potencial traqueal é em seguida medida, utilizando um voltímetro de impedância elevada adequado como descrito em Takahashi e outro, Toxicol Appl Pharmacol. 1995; 131(1):31-6. A potência do composto de teste é expressa como a dose que induz uma redução de 50% no componente sensível da diferença potencial traqueal.

É entendido que os exemplos e modalidades descritos aqui são para os propósitos ilustrativos apenas, e que várias modificações ou alterações levando em consideração isto, serão sugeridas a pessoas versadas na técnica e devem ser incluídos no espírito e competência deste pedido e escopo das reivindicações anexas. Todas as publicações, patentes, e pedidos de patente citados aqui são pelo presente incorporados por Referência para todos os propósitos.

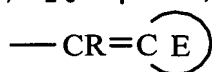
REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula (1):



e sais farmaceuticamente aceitáveis, hidratos, solvatos e estereoisômeros destes, em que

- 5 J é um anel carbocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 12 membros, arila, heteroarila ou anel heterocíclico contendo N, O e/ou S;
 R^1 é $-(CR_2)_l-NR_2$, $-(CR_2)_l-NRC(=NR)-NR_2$, $-(CR_2)_l-C(=NR)-NR_2$ ou um anel heterocíclico não aromático contendo nitrogênio de 5 a 7 membros;
 $W-R^2$ é um substituinte em qualquer posição no anel A;
- 10 W é ou $-O(CR_2)_k-$, $-S(CR_2)_k-$, $-S(O)(CR_2)_k-$, $-SO_2(CR_2)_k-$ ou $-OC(O)(CR_2)_k-$;
 R^2 é C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, C_{2-6} alquinila, R^6 , $-CR^9=CR^9-R^6$, ou



em que o anel E é um anel carbocíclico ou heterocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 7 membros opcionalmente substituído; ou $W-R^2$ juntos formam C_{1-6} alquila, uma arila de 5 a 7 membros ou

- 15 $-OC(O)NR^7R^8$;
 R^3 é NR^7R^8 ou R^6 ;
 R^4 e R^5 são independentemente H, C_{1-6} alquila, OH, ou C_{1-6} alcóxi;
 R^7 e R^8 são independentemente H, C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, C_{2-6} alquil ou $-(CR_2)_l-R^6$; ou R^7 e R^8 juntamente com N podem formar um anel heterocíclico monocíclico ou fundido de 5 a 7 membros opcionalmente substituído;
- 20 R^9 é H ou C_{1-6} alquila;
 R^{10} é halo, C_{1-6} alquila, C_{1-6} alcóxi, OR^{11} ou $-(CR_2)_l-R^{11}$;
 R^6 , R^{11} e X são independentemente um anel carbocíclico de 5 a 7 membros

opcionalmente substituído, anel heterocíclico, arila ou heteroarila; ou R^{11} é H ou C_{1-6} alquila;

cada R é H, ou C_{1-6} alquila, C_{2-6} alquenila, ou C_{2-6} alquinila, em que um carbono pode opcionalmente ser substituído ou trocado com NR, O ou S;

5 i é 0 a 1;

k e l são independentemente 0 a 6;

m e n são independentemente 1 a 6; e

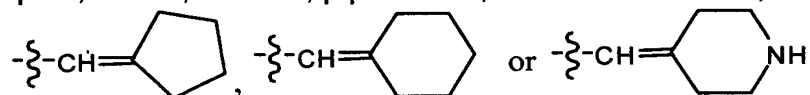
p é 0 a 3.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^1 é -
10 $(CH_2)_l-NH_2$, $-(CH_2)_l-NHC(=NH)-NH_2$ ou $-(CH_2)_l-C(=NH)-NH_2NH_2$, em que cada l é 0 a 1; ou R^1 é piperidinila.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que W é -
 $O(CR_2)_k$, $-S(CR_2)_k$, $-S(O)(CR_2)_k$, $-SO_2(CR_2)_k$ ou $-OC(O)(CR_2)_k$; e k é 1.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^2 é uma
15 fenila opcionalmente substituída,

C_{5-7} cicloalquila, tienila, furanila, piperidinila, metilenocicloexila,

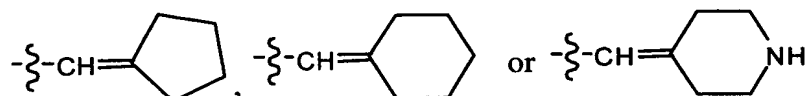


5. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^3 é uma
fenila opcionalmente substituída, piridila, tiazolila, piperidinila, ou NR^7R^8 ; em
que R^7 e R^8 são ambos H, ou R^7 e R^8 juntamente com N formam uma piperi-
20 dinila opcionalmente substituída.

6. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R, R^4 , R^5 ,
 R^7 e R^8 são cada qual H.

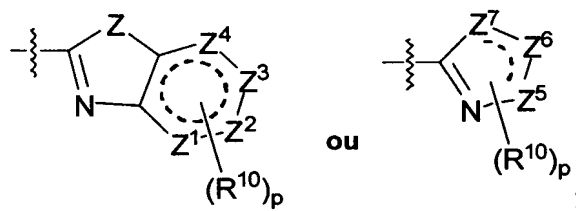
7. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^6 é uma
fenila opcionalmente substituída,

25 C_{3-7} cicloalquila, piridila, tiazolila, piperidinila, cicloexanol, imidazolila, tienila,
furanila,



8. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que X é ciclo-
exila, fenila ou piperidinila.

9. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que $-J-(R^{10})_p$ ao mesmo tempo é



Z é O ou S;

Z^1, Z^2, Z^3 ou Z^4 são independentemente N, CH, ou C quando ligados a R^{10} ;

5 Z^5, Z^6 ou Z^7 são independentemente N, O, S, CH, ou C quando ligados a R^{10} ;

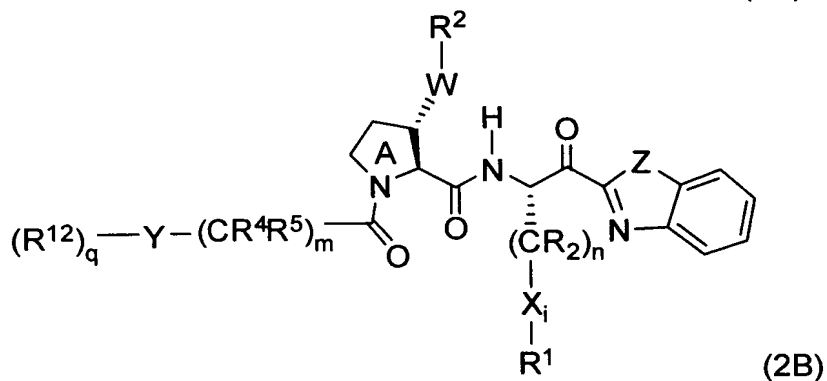
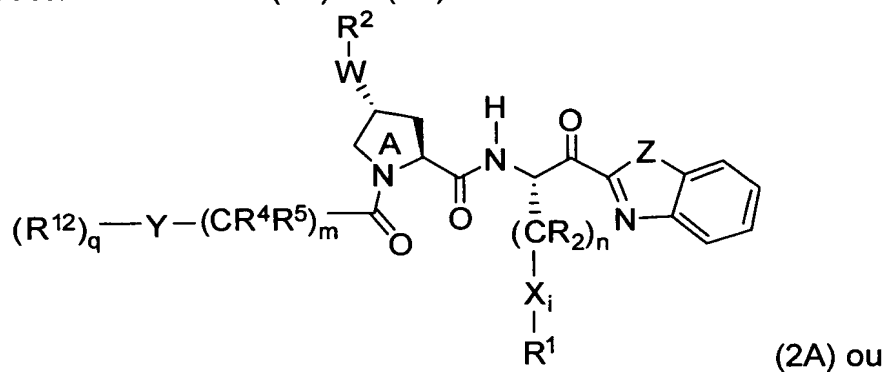
R^{10} é C_{1-6} alquila ou $-(CR_2)_l-R^{11}$;

R^{11} é fenila ou C_{5-7} cicloalquila; e

p é 0-1.

10 10. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que J é ben-
zotiazolila, benzoxazolila, tiazolila, ou oxadiazolila.

11. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que o referi-
do composto é de fórmula (2A) ou (2B):



em que Z é O ou S;

R^1 é NH_2 , $-NHC(=NH)-NH_2$ ou $-C(=NH)-NH_2$;

W é $-O(CH_2)_k-$ ou $-S(O)(CH_2)_k-$;

R^2 é uma fenila opcionalmente substituída, ou W- R^2 juntos formam C_{1-6} alquila ou uma fenila opcionalmente substituída;

5 R , R^4 e R^5 são independentemente H;

Y é uma de um anel arila, heteroarila ou heterocíclico de 5 a 7 membros contendo N, O ou S;

R^{12} é halo, C_{1-6} alquila ou $-L-(CH_2)_l-R^{13}$;

L é uma ligação, O, SO_2 , $NHCO$, $NHSO_2$ ou SO_2NH ;

10 R^{13} é C_{1-6} alquila opcionalmente halogenada, ou uma C_{3-7} cicloalquila opcionalmente substituída, or

um anel arila, heteroarila ou heterocíclico de 5 a 7 membros;

i é 0;

k é 1;

15 l é 0 a 1;

m e n são independentemente 1 a 4; e

q é 0 a 3.

12. Composto de acordo com a reivindicação 11, em que Y é fenila, piridila, tiazolila ou piperidinila.

20 13. O composto de acordo com a reivindicação 11, em que R^{12} é $-L-(CH_2)_l-R^{13}$; e R^{13} é uma C_{1-6} alquila opcionalmente halogenada, C_{3-7} cicloalquila, morfolinila, fenila ou piperidinila.

14. Composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto como definido na reivindicação 1, e
25 um excipiente farmacêuticamente aceitável.

15. Método para modular uma protease ativadora de canal, compreendendo administrar a um sistema ou um indivíduo em necessidade deste, uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto como definido na reivindicação 1, ou sais farmacêuticamente aceitáveis ou composições
30 farmacêuticas deste, desse modo modulando a referida protease ativadora de canal.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, em que a referida

protease ativadora de canal é prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptase (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A, ou neutrófilo elastase.

5 17. Método de acordo com a reivindicação 16, em que a referida protease ativadora de canal é a prostasina.

 18. Método de acordo com a reivindicação 15, compreendendo administrar o composto de acordo com a reivindicação 1, ou sais farmacêuticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas destes, às células ou sistema de tecido, ou a um indivíduo humano ou animal.

10 19. Método de acordo com a reivindicação 18, em que as referidas células são células epiteliais brônquicas.

 20. Método para melhorar uma condição mediada por uma protease ativadora de canal, compreendendo administrar a um sistema ou indivíduo em necessidade de tal tratamento uma quantidade eficaz de um composto como definido na reivindicação 1, ou sais farmacêuticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, e opcionalmente em combinação com um segundo agente terapêutico, desse modo tratando a referida condição.

20 21. Método de acordo com a reivindicação 20, em que as referida protease ativadora de canal é prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptase (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A, ou neutrófilo elastase.

25 22. Método de acordo com a reivindicação 21, em que a referida protease ativadora de canal é prostasina.

 23. Método de acordo com a reivindicação 20, em que a referida condição é associada com o movimento de fluido através dos epitélios de transporte de íon ou o acúmulo de muco e esputo em tecidos respiratórios, ou uma combinação destes.

30 24. Método de acordo com a reivindicação 20, em que a referida condição é fibrose cística, discinesia ciliar primária, carcinoma de pulmão,

bronquite crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma ou uma infecção do trato respiratório.

25. Método de acordo com a reivindicação 20, em que o referido segundo agente terapêutico é um anti-inflamatório, broncodilatador, anti-
5 histamina, antitussígeno, antibiótico ou DNase.

26. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, ou sais farmaceuticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, e opcionalmente em combinação com um segundo agente terapêutico, para modular uma protease ativadora de canal.

10 27. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, ou sais farmaceuticamente aceitáveis ou composições farmacêuticas deste, e opcionalmente em combinação com um segundo agente terapêutico, na fabricação de um medicamento para tratar uma condição mediada por uma protease ativadora de canal.

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DE PROTEASE ATIVADORA DE CANAL"**.

5 A presente invenção refere-se compostos e composições farmacêuticas deste, que são úteis para modular protease ativadora de canal, e métodos para utilizar tais compostos para tratar, melhorar ou prevenir uma condição associada com uma protease ativadora de canal, incluindo porém não limitada à prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por exemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptase
10 (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A, ou neutrófilo elastase.