(11) Número de Publicação: **PT 2242759 E**

(51) Classificação Internacional:
C07D 498/10 (2011.01) ***A61K 31/357*** (2011.01)
A61P 11/06 (2011.01) ***A61P 11/08*** (2011.01)

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

(22) Data de pedido: **2009.02.04**

(30) Prioridade(s): **2008.02.06 GB 0802192**
2008.12.09 GB 0822437

(43) Data de publicação do pedido: **2010.10.27**

(45) Data e BPI da concessão: **2012.09.12**
242/2012

(73) Titular(es):
ASTRAZENECA AB
151 85 SÖDERTÄLJE **SE**
PULMAGEN THERAPEUTICS (SYNERGY) LIMITED **GB**

(72) Inventor(es):
ANDREW BAILEY **GB**
LILIAN ALCARAZ **GB**
TIMOTHY JOHNSON **GB**
RICHARD JAMES BULL **GB**
NICHOLAS DAVID KINDON **GB**

(74) Mandatário:
ANTÓNIO INFANTE DA CÂMARA TRIGUEIROS DE ARAGÃO
RUA DO PATROCÍNIO, Nº 94 1399-019 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **COMPOSTOS**

(57) Resumo:
DERIVADOS DE DIAZAESPIRO[5.5]UNDECANO E COMPOSTOS RELACIONADOS COMO ANTAGONISTAS DO RECEPTOR MUSCARÍNICO E AGONISTAS DO RECEPTOR ADRENÉRGICO BETA PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS PULMONARES.

RESUMO

"COMPOSTOS"

Derivados de diazaespiro[5.5]undecano e compostos relacionados como antagonistas do receptor muscarínico e agonistas do receptor adrenérgico beta para o tratamento de distúrbios pulmonares.

DESCRIÇÃO

"COMPOSTOS"

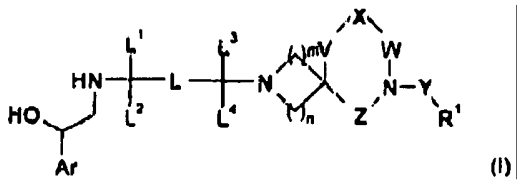
A presente invenção refere-se a derivados de amida espirocíclicos, um processo para a sua preparação, composições farmacêuticas que os contêm, um processo para preparar tais composições farmacêuticas, sua utilização em terapia e intermediários para serem utilizados na sua preparação.

O tratamento de primeira linha para uma diversidade de distúrbios pulmonares, incluindo doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD) e asma, é através da utilização de broncodilatadores. Os antagonistas do receptor muscarínico (anticolinérgicos) são broncodilatadores que exercem a sua eficácia reduzindo o tónus colinérgico vagal, a componente reversível principal de constrição das vias aéreas na COPD. Os agonistas do receptor adrenérgico β também são broncodilatadores devido à sua aptidão para antagonizar funcionalmente as respostas broncoconstritoras a uma gama de mediadores, incluindo acetilcolina.

Além de melhorar a função pulmonar, estes agentes melhoram a dispneia (dificuldades de respiração), qualidade de vida, tolerância ao exercício físico e reduzem as exacerbações. Vários estudos clínicos demonstraram que a administração associada de um anticolinérgico e um agonista do receptor β_2 é mais eficaz do que qualquer dos componentes individualmente (van Noord, J.A., Aumann, J-L., Janssens. E., Smeets, J.J., Verhaert, J., Disse, B., Mueller. A. & Cornelissen, P.J.G., 2005. "Comparison of

tiotropium once daily, formoterol twice daily and both combined once daily in patients with COPD", *Eur. Respir. J.*, vol 26, pp 214-222.). Uma única molécula possuindo actividades nos receptores muscarínico e β_2 (MABA) pode proporcionar vantagens adicionais para os doentes com COPD em termos de eficácia e perfil de efeitos secundários em relação a qualquer agente isolado. Além do mais, uma molécula possuindo actividade dupla pode também oferecer vantagens em termos de casos de utilização e adesão à terapêutica pelo doente em relação à co-administração das terapias separadas. Um único agente também pode ser vantajoso na perspectiva de formulação em comparação com dois compostos separados, oferecendo também o potencial, se associado a outro terapêutico, para terapias de acção tripla.

De acordo com um primeiro aspecto da invenção, as requerentes proporcionam agora um composto de fórmula I



O documento WO2007/102771 (AstraZeneca) divulga derivados de fenetanolamina úteis como agonistas do receptor adrenérgico beta2

em que Ar representa um grupo de ligação ao receptor adrenérgico β;

L representa uma unidade de ligação compreendendo um cadeia hidrocarbilo linear ou ramificada de até 15 átomos de carbono;

em que até três dos átomos de carbono na cadeia estão opcionalmente substituídos com até quatro substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)_{0-2}R^{56}$, $NR^{57}R^{58}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, $C(O)OR^{63}$, $NR^{64}S(O)_2R^{65}$, $NR^{66}C(O)R^{67}$, $NR^{68}C(O)OR^{69}$, $NR^{70}C(O)NR^{71}R^{72}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

em que até cinco átomos de carbono da cadeia podem estar substituídos com grupos independentemente seleccionados de O, NR^{45}, S, S(O), $S(O)_2$, C(O)O, OC(O), $NR^{46}C(O)$, $C(O)NR^{47}$, $NR^{48}S(O)_2$, $S(O)_2NR^{49}$, $NR^{50}C(O)NR^{51}$, $NR^{52}S(O)_2NR^{53}$, $OC(O)NR^{54}$, $NR^{55}C(O)O$, com a condição de que quaisquer desses grupos na cadeia estão separados por pelo menos 2 átomos de carbono; e

em que até seis átomos de carbono da cadeia podem fazer parte de um anel alifático, heteroalifático, aromático ou heteroaromático mono- ou bicíclico possuindo até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, compreendendo o referido anel até 10 átomos endocíclicos, e em que o anel está opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)O_{0-2}R^{56}$, $NR^{57}R^{58}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, $C(O)OR^{63}$, $NR^{64}S(O)_2R^{65}$, $NR^{66}C(O)R^{67}$, $NR^{68}C(O)OR^{69}$, $NR^{70}C(O)NR^{71}R^{72}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

e a cadeia pode compreender até três desses anéis, cada, independentemente seleccionado;

em que R^{56}, R^{65} e R^{69} representam, cada, independentemente alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; e

R^{45}, R^{46}, R^{47}, R^{48}, R^{49}, R^{50}, R^{51}, R^{52}, R^{53}, R^{54}, R^{55}, R^{57}, R^{58}, R^{59}, R^{60}, R^{61}, R^{62}, R^{63}, R^{64}, R^{66}, R^{67}, R^{68}, R^{70}, R^{71}, R^{72} e R^{73} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; ou qualquer de R^{57} e R^{58}, R^{59} e R^{60}, R^{61} e R^{62} ou R^{71} e R^{72}, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático de 4 a 8 membros, em que o anel heterocíclico pode compreender até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O e S, em que o anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6}; e

em que a cadeia pode compreender adicionalmente até três ligações duplas carbono-carbono;

em que a cadeia pode compreender adicionalmente até três ligações triplas carbono-carbono;

L^1 e L^2 representam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6};

L^3 e L^4 representam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

além disso L^1 e/ou L^3 podem estar ligados aos átomos de carbono da cadeia hidrocarbilo na unidade de ligação L para formar anéis alifáticos de até 6 átomos endocíclicos, em que cada anel pode compreender até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O e S;

R^1 representa um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel alifático de 3 a 8 membros ou um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-7} ou cicloalquilo C_{3-8} (em que cada de alquilo C_{1-7} e cicloalquilo C_{3-8} pode estar opcionalmente substituído com até seis substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}), um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros, possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel de fenilo, anel heteroalifático de 4 a 8

membros, anel alifático de 3 a 8 membros ou anel heteroarilo de 5 a 6 membros pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, ciano, nitro, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

ou R^1 representa um anel alifático fundido, heteroalifático fundido, aromático fundido ou heteroarilo fundido de até 10 átomos e possuindo até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)R^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

ou R^1 representa ainda uma cadeia alquilo C_{1-6} em que um ou dois dos átomos de carbono podem estar substituídos com O, S ou N e

em que R^1 pode estar substituído com até três cadeias alquilo C_{1-3} e duas dessas cadeias podem ser ligadas para formar uma cadeia cicloalquilo C_{3-8} em que o alquilo C_{1-3} e as cadeias cicloalquilo C_{3-8} podem estar opcionalmente substituídas com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$,

$C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, e

em que a cadeia alquilo C_{1-6} está ainda opcionalmente substituída com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel alifático de 3 a 8 membros, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, e em que cada anel está opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-7} ou cicloalquilo C_{3-7} (em que cada de alquilo C_{1-7} e cicloalquilo C_{3-7} pode estar opcionalmente substituído com até seis substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}), um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel alifático de 3 a 8 membros, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros, possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel de fenilo, anel heteroalifático de 4 a 8 membros, anel alifático de 3 a 8 membros ou anel heteroarilo de 5 a 6 membros pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} pode estar, cada, opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

ou a cadeia alquilo C_{1-6} pode estar substituída com um anel alifático fundido, heteroalifático fundido, aromático fundido ou heteroarilo fundido de até 10 átomos e possuindo até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

R^5, R^{14} e R^{18} representam independentemente alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$; e

R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{19}, R^{20}, R^{21} e R^{22} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} pode estar opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$; ou qualquer de R^6 e R^7, R^8 e R^9, R^{10} e R^{11}, ou R^{20} e R^{21} em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático de 4 a 8 membros, em que o anel heterocíclico pode estar opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{1-6} e alcoxilo C_{1-6}, em que

o alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{1-6} ou alcoxilo C_{1-6} pode estar opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

X representa O, S, S(O)$_o$ ou $CR^{25}R^{26}$;

m= 0, 1, 2 ou 3;

n = 1, 2, 3 ou 4; com a condição de que m + n é maior ou igual a 2

o= 1, 2;

W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$ ou $CR^{31}R^{32}CR^{33}R^{34}CR^{35}R^{36}$;

V e Z representam independentemente uma ligação, $CR^{37}R^{38}$ ou $CR^{39}R^{40}CR^{41}R^{42}$, com a condição de que quando X representa O, S ou S(O)$_o$ então m, V e Z são de tal forma que todos os heteroátomos nos anéis estão separados por pelo menos dois átomos de carbono (*e. g.*, quando V é uma ligação então m não é 0, Z não é uma ligação);

Y representa CO, $CONR^{43}$, SO_2 ou SO_2NR^{44};

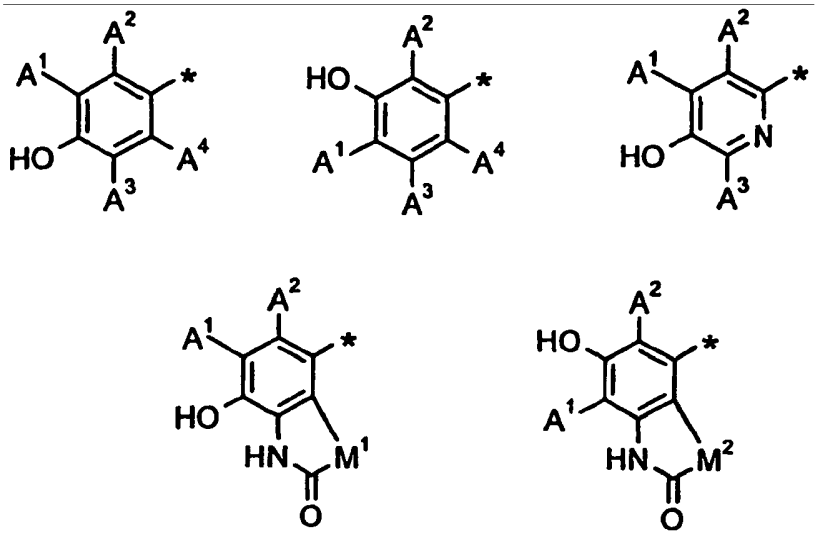
R^{25}, R^{26}, R^{21}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37}, R^{38} R^{39}, R^{40}, R^{41}, R^{42}, representam, cada, independentemente hidrogénio, flúor ou alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}; e quando não representam hidrogénio ou flúor, R^{25} e R^{26}, R^{27} e R^{28}, R^{29} e R^{30}, R^{31} e R^{32}, R^{33} e R^{34}, R^{35} e R^{36}, R^{37} e R^{38}, R^{39} e R^{40} ou R^{41} e R^{42}, em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ambos ligados, podem formar adicionalmente um anel alifático de 3 a 6 membros;

R^{43} e R^{44} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}

e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Por "grupo de ligação ao receptor adrenérgico β", as requerentes significam um grupo capaz de ligar um receptor adrenérgico β; por exemplo, tal como delineado no artigo de revisão "β-adrenergic receptors in Comprehensive Medicinal Chemistry", 1990, B.E. Main, p187 (Pergamon Press). Tais grupos também são conhecidos a partir, por exemplo, dos documentos WO/2005092841, US/20050215542, WO/2005070872, WO/2006023460, WO/2006051373, WO/2006087315, WO/2006032627.

Os exemplos de grupos de ligação ao receptor adrenérgico β convenientes incluem



M^1 é S, C(O), NA^5, CA^6A^7, CH_2CH_2, CH=CH, CH_2O ou OCH_2;

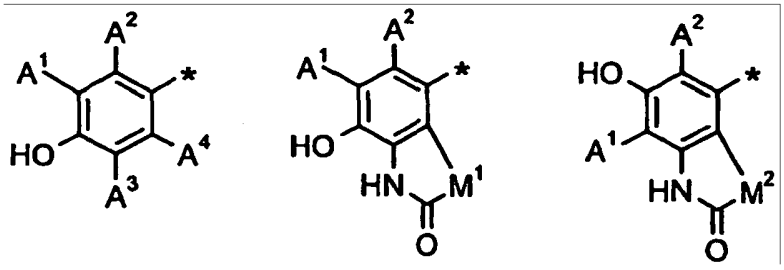
M^2 é S, C(O), NA^5, CA^6A^7, CH_2CH_2, CH=CH, CH_2O ou OCH_2;

A^1, A^2, A^3 e A^4 são, independentemente, hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, ciano, carboxilo, hidroxilo, nitro $S(O)_2A^8$, $NA^9S(O)_2A^{10}$, $C(O)NA^{11}A^{12}$, $NA^{13}C(O)A^{14}$, alquil C_{1-6}, alcoxilo C_{1-6}, C(O)(alquilo C_{1-6}) ou C(O)Oalquilo C_{1-6};

A^3 também pode ser CH_2OH, NHCHO, $NHS(O)_2NA^{15}A^{16}$ ou $NHSO_2A^{17}$;

A^5, A^6, A^7, A^9, A^{11}, A^{12}, A^{13}, A^{14}, A^{15} ou A^{16} são, independentemente, hidrogénio ou alquilo C_{1-6}; A^8, A^{10} e A^7 são, independentemente, alquilo C_{1-6};

Mais convenientemente, o grupo Ar de ligação ao receptor adrenérgico β é seleccionado de



em que

M^1 é S, CH=CH, CH_2O ou OCH_2;

M^2 é S, CH=CH, CH_2O ou OCH_2;

A^1, A^2, e A^4 são, independentemente, hidrogénio, halogéneo, alquilo C_{1-6}, alcoxilo C_{1-6};

A^3 também pode ser CH_2OH, NHCHO, $NHS(O)_2NA^{15}A^{16}$ ou $NHSOA^{17}$;

A^{15} ou A^{16} são independentemente seleccionados de hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6};

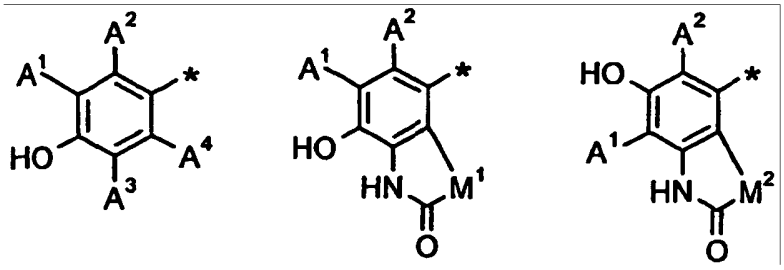
A^{17} é alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6};

Os exemplos de alquilo C_{1-6} incluem alquilo C_{1-4} e alquilo C_{1-2}.

Exemplos de ciclolalquilo C_{3-6} incluem ciclolalquilo C_{3-5} e ciclolalquilo C_{3-4}.

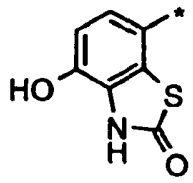
Exemplos de alcoxilo C_{1-6} incluem alcoxilo C_{1-4} e alcoxilo C_{1-2}.

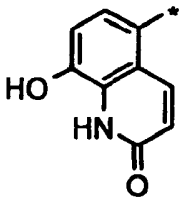
Mais convenientemente, o grupo Ar de ligação ao receptor adrenérgico β é seleccionado de:

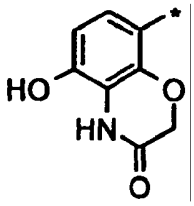


em que A^1, A^2 e A^4 são todos hidrogénio, A^3 é CH_2OH, NHCHO, M^1 é S, CH=CH, ou OCH_2; M^2 é S, CH=H ou OCH_2.

Mais convenientemente, o grupo Ar de ligação ao receptor adrenérgico β é seleccionado de:







Convenientemente, L representa uma unidade de ligação compreendendo uma cadeia hidrocarbilo linear ou ramificada de até 12 átomos de carbono ou de até 10 átomos de carbono ou de até 8 átomos de carbono;

em que até dois dos átomos de carbono na cadeia estão opcionalmente substituídos com até quatro substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)_{0-2}R^{56}$, $NR^{57}R^{58}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, $C(O)OR^{63}$, $NR^{64}S(O)_2R^{65}$, $NR^{66}C(O)R^{67}$, $NR^{68}C(O)OR^{69}$, $NR^{70}C(O)NR^{71}R^{72}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6}

Convenientemente, até dois átomos de carbono da cadeia podem estar substituídos com grupos independentemente seleccionados de O, NR^{45}, S, S(O), $S(O)_2$, C(O)O, OC(O), $NR^{46}C(O)$, $C(O)NR^{47}$, $NR^{48}S(O)_2$, $S(O)_2NR^{49}$, $NR^{50}C(O)NR^{51}$, $NR^{52}S(O)_2NR^{53}$; ou independentemente seleccionados de O, S, S(O), $S(O)_2$, $NR^{46}C(O)$, $C(O)NR^{47}$; com a condição de que, em cada caso, quaisquer desses grupos na cadeia estão separados por pelo menos 2 átomos de carbono;

Convenientemente, até quatro átomos de carbono da cadeia podem fazer parte de um anel alifático, heteroalifático, aromático ou heteroaromático mono- ou bicíclico possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, compreendendo o referido anel até 10 átomos endocíclicos, e em que o anel está opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)_{0-2}R^{56}$, $NR^{57}R^{58}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, $C(O)OR^{63}$, $NR^{64}S(O)_2R^{65}$, $NR^{66}C(O)R^{67}$, $NR^{68}C(O)OR^{69}$, $NR^{70}C(O)NR^{71}R^{72}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-4};

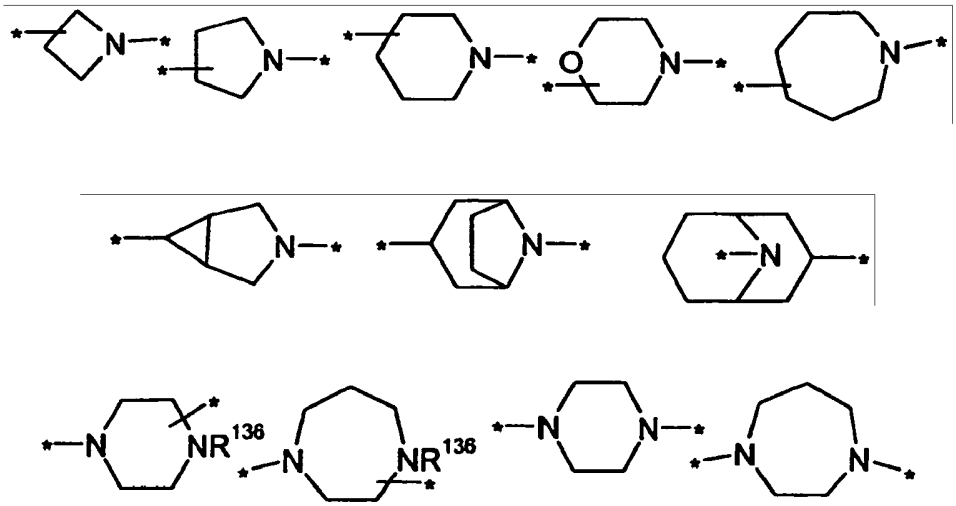
Convenientemente, a cadeia pode compreender até dois ou um desses anéis, cada, deles independentemente seleccionado;

Convenientemente, R^{56}, R^{65} e R^{69} representam, cada, independentemente alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-4} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-4}; e

Convenientemente, R^{45}, R^{46}, R^{47}, R^{48}, R^{49}, R^{50}, R^{51}, R^{52}, R^{53}, R^{54}, R^{55}, R^{57}, R^{58}, R^{59}, R^{60}, R^{61}, R^{62}, R^{63}, R^{64}, R^{66}, R^{67}, R^{68}, R^{70}, R^{71}, R^{72} e R^{73} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-4} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-4}; ou qualquer de R^{57} e R^{58}, R^{59} e R^{60}, R^{61} e R^{62} ou R^{71} e R^{72}, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático de 4

a 8 membros, em que o anel heterocíclico pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-4} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-4};

Os exemplos de sistemas de anel convenientes que podem estar presentes como parte da unidade de ligação hidrocarbilo incluem



em que o anel heterociclilo está não substituído ou substituído com 1 ou 2 substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, alquilo C_{1-4} (opcionalmente substituído com OR^{121}, $NR^{122}R^{123}$ ou $NR^{124}C(O)R^{125}$), OR^{126}, $NR^{127}R^{128}$, $C(O)NR^{129}R^{130}$, $NR^{131}C(O)R^{132}$, CN, $S(O)R^{133}$ ou $S(O)_2NR^{134}R^{135}$;

R^{133} representa alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente

substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; e

R^{121}, R^{122}, R^{123}, R^{124}, R^{125}, R^{126}, R^{127}, R^{128}, R^{129}, R^{130}, R^{131}, R^{132}, R^{134}, R^{135} e R^{136} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; ou qualquer um R^{122} e R^{123}, R^{127} e R^{128}, R^{129} e R^{130} ou R^{134} e R^{135}, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático de 4 a 8 membros, em que o anel heterocíclico pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo e hidroxilo;

Convenientemente, a cadeia pode compreender adicionalmente até duas ligações duplas carbono-carbono ou uma única ligação dupla carbono-carbono.

Convenientemente, a cadeia pode compreender adicionalmente até duas ligações triplas carbono-carbono ou uma única ligação tripla carbono-carbono.

Convenientemente, cada de L^1, L^2, L^3 e L^4 representam independentemente hidrogénio, um grupo alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-4} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo e hidroxilo; além

disso L^1 e/ou L^3 podem estar ligados a um átomo de carbono da cadeia hidrocarbilo na unidade de ligação L para formar um anel alifático de até 6 átomos endocíclicos, em que o anel pode compreender até dois heteroátomos independentemente seleccionados de N, O e S.

Quando quatro átomos de carbono da cadeia fazem parte de um anel alifático, heteroalifático, aromático ou heteroaromático mono- ou bicíclico possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, o referido anel pode, se for um sistema de anel alifático, compreender até 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 ou 3 átomos endocíclicos; se for um sistema de anel aromático, então este pode compreender 10, 9, 6 ou 5 átomos endocíclicos; cada independentemente seleccionado;

R^1 representa um anel de fenilo ou um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo, cada, até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, ou R^1 representa um anel alifático fundido, heteroalifático fundido, aromático fundido ou heteroarilo fundido de até 10 átomos e possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-7} ou cicloalquilo C_{3-8} (em que cada de alquilo C_{1-7} e cicloalquilo C_{3-8} pode estar opcionalmente substituído com até seis substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}), um anel de fenilo, opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo,

ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, ciano, nitro, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

R^5, R^{14} e R^{18}, representam alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo ou alcoxilo C_{1-6};

R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12} e R^{22} representam, cada, independentemente hidrogénio ou alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; ou qualquer de R^8 e R^9, ou R^{10} e R^{11} em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático 4 a 6 membros, em que o anel heterocíclico pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6} e alquilo C_{1-6};

X representa O, S, ou $S(O)_2$.

m = 0, 1, 2 ou 3;

n = 1, 2 ou 3;

W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$ ou $CR^{31}R^{32}CR^{33}R^{34}CR^{35}R^{36}$.

V e Z representam independentemente uma ligação, $CR^{37}R^{38}$ ou $CR^{39}R^{40}CR^{41}R^{2}$.

Quando X representa O, S, ou $S(O)_2$, então m, V e Z são de tal forma que todos os heteroátomos nos anéis estão separados por pelo menos dois átomos de carbono (*e. g.*, quando V é uma ligação, então m não é 0, Z não é uma ligação).

Y representa CO, $CONR^{43}$, SO_2.

R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{31}, R^{32}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37}, R^{38}, R^{39}, R^{40}, R^{41} e R^{42} representam, cada, independentemente hidrogénio, flúor, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}.

Quando não representam hidrogénio ou flúor, R^{27} e R^{28}, R^{29} e R^{30}, R^{31} e R^{32}, R^{33} e R^{34}, R^{35} e R^{36}, R^{37} e R^{38}, R^{39} e R^{40} ou R^{41} e R^{42} em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel alifático de 3 a 6 membros; e

R^{43} representa, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}

Mais convenientemente:

L representa uma unidade de ligação compreendendo uma cadeia hidrocarbilo linear ou ramificada de até 8 átomos de carbono, tal como de até 7, 6, 5 ou 4 átomos de carbono. Os exemplos de tais cadeias incluem aquelas de 4-7, 4-6, 4-5, 5-7, 6-7 e 5-6 átomos de carbono.

L representa uma cadeia alquilo C_{4-8} opcionalmente substituída com até quatro (tal como até três, dois ou um) grupos flúor ou metilo;

Convenientemente, até dois átomos de carbono da cadeia podem estar substituídos com grupos independentemente seleccionados de O, S, $S(O)_2$, $NR^{46}C(O)$, $C(O)NR^{47}$, $NR^{48}S(O)_2$, $S(O)_2NR^{49}$ com a condição de que, em cada caso, quaisquer desses grupos na cadeia estão separados por pelo menos 2 átomos de carbono;

Convenientemente, até quatro átomos de carbono, tal como até três ou até dois átomos de carbono da cadeia podem fazer parte de um anel aromático ou heteroaromático mono- ou bicíclico possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, compreendendo o referido anel até 10 átomos endocíclicos, e em que o anel está opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)_{0-2}R^{56}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

Convenientemente, a cadeia pode compreender um anel desse tipo;

Convenientemente, R^{56} representa alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-4} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-4}; e

Convenientemente, R^{46}, R^{47}, R^{48}, R^{49}, R^{59}, R^{60}, R^{61}, R^{62} e R^{73} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-4} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-4}; ou qualquer um R^{59} e R^{60}, ou R^{61} e R^{62}, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático 4 a 6 membros, em que o anel heterocíclico pode estar opcionalmente substituído com até dois substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alquilo C_{1-4} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-4} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituído com um substituinte independentemente seleccionado de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-4};

L^1, L^2, L^3 e L^4 representam independentemente hidrogénio ou metilo;

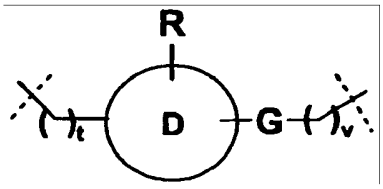
R^1 representa fenilo ou um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-7} ou cicloalquilo C_{3-8}, em que o alquilo C_{1-7} e o cicloalquilo C_{3-8} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, hidroxilo ou alcoxilo C_{1-3};

ou R^1 representa um anel aromático fundido ou heteroarilo fundido de até 10 átomos possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes

independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, hidroxilo ou alcoxilo C_{1-3}; R^{12} e R^{22} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} pode estar opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de halogéneo, hidroxilo ou alcoxilo C_{1-3};

Os substituintes de anel mais convenientes incluem halogéneo, por exemplo flúor e, por exemplo, cloro.

Mais convenientemente, a espécie -L- é representada por



em que anel D representa um anel de fenilo, tiofeno, furano ou tiazole;

R representa até três substituintes de anel, cada, independentemente seleccionado de H, F, Cl, alquilo C_{1-4}, e CF_3 ; t= 0 ou 1; G=O, $CR^{43}R^{44}$ ou S; quando G=O ou S então v = 1 ou 2; quando G=C então v = 0, 1 ou 2, e em que a espécie -L- está ligada aos átomos adjacentes em qualquer orientação.

Mais convenientemente, a espécie -L- é seleccionada de

-(fen-1,4-ileno)OCH_2-, em que o fenilo está opcionalmente substituído com 3, 2 ou 1 grupos metilo;

-(fen-1,4-ileno)OCH_2CH_2-;

-CH_2(fen-1,4-ileno)OCH_2- em que o fenilo está opcionalmente substituído com 3, 2 ou 1 de Cl ou F (independentemente seleccionado);

-CH_2(fen-1,4-ileno)-;

-CH_2(fen-1,4-ileno)CH_2-;

-$(CH_2)_7$-;

-CH_2(fen-1,3-ileno)- em que o anel de fenilo está opcionalmente substituído com até três de alquilo C_{1-3}, F, Cl e CF_3 (independentemente seleccionado);

-CH_2(tien-2,5-ileno)CH_2-;

-CH_2(tien-2,5-ileno)-;

-CH_2(tien-3,5-ileno)-;

-CH_2(tien-2,4-ileno)- ;

-CH_2O(fen-1,3-ileno)-; e

-CH_2S(fen-1,3-ileno)-.

Outras unidades de ligação convenientes incluem:

-(naft-1,5-ileno)-

-$C(CH_3)_2$-(fenil-1,3-ileno)-

-(fen-1,3-ileno)OCH_2CH_2-

-(fen-1,3-ileno)

-$C(CH_3)_2$-$(CH_2)_4$-

-$C(CH_3)_2$-(CH_2)-

-CH_2(fen-1,3-ileno)OCH_2-;

-$CH_2S(CH_2)_5$-;

Cada das unidades de ligação acima tomada isolada representa um aspecto independente da invenção.

Mais convenientemente, a espécie -L- é seleccionada de:

-CH_2(tien-2,5-ileno)-;

-CH_2(fen-1,3-ileno)- em que o fenilo pode estar monossubstituído com F;

-CH_2(tien-2,4-ileno)-; e

-CH_2(tien-3,5-ileno)-;

mais convenientemente L^1, L^2, L^3 e L^4 = H

Mais convenientemente, R^1 é seleccionado de qualquer uma das espécies particulares como proporcionadas nos Exemplos a seguir.

X representa O ou S.

m = 1 ou 2;

n = 1 ou 2;

W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$ ou $CR^{31}R^{32}CR^{33}R^{34}CR^{35}R^{36}$.

V e Z representam independentemente uma ligação ou $CR^{37}R^{38}$.

V e Z são de tal forma que todos os heteroátomos nos anéis estão separados por pelo menos dois átomos de carbono (*e. g.*, quando V é uma ligação então Z é $CR^{37}R^{38}$).

Y representa CO, $CONR^{43}$, SO_2; tal como CO ou SO_2, por exemplo CO.

R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37} e R^{38} representam, cada, independentemente hidrogénio, flúor ou alquilo C_{1-3} ou cicloalquilo C_3.

Quando estes não representam hidrogénio ou flúor, R^{27} e R^{28}, R^{29} e R^{30}, R^{31} e R^{32}, R^{33} e R^{34}, R^{35} e R^{36}, ou R^{37} e R^{38} em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel alifático de 3 a 6 membros.

R^{43} representam, cada, independentemente hidrogénio ou alquilo C_{1-3} ou cicloalquilo C_3.

Mais convenientemente, o espirociclo abrangido pelo sistema de anel bicíclico compreendendo -N-(^)m-C-V-X-W-N(Y-R^1)-Z-(C)-(^)n- é um em que:

(i) m e n = 2, v = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2

(ii) m e n = 2, v = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CF_2CH_2

(iii) m e n = 1, v = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2

(iv) m e n = 2, v = ligação, Z = CH_2CH_2, X = O e W = CH_2CH_2

Mais convenientemente, o espirociclo é seleccionado de (i) e (ii) acima.

Mais convenientemente, R^1 é seleccionado de tiofeno ou tiazole ou benzofurano, cada, opcionalmente substituído com um ou dois substituintes. Um dos substituintes opcionais é convenientemente seleccionado de H, Cl, F e alquilo C_{1-3}. O outro substituinte opcional é seleccionado de metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo;

Cada composto da invenção exemplificado representa um aspecto particular e independente da invenção.

Os compostos convenientes da invenção incluem os compostos dos Exemplos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 19, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 36, 37, 38, 40, 42, 44, 45, 47, 48, 52, 56, 57, 58, 66, 67, 70, 71, 75, 76, 82, 83, 84, 86, 87, 88, 91, 93, 99, 105, 109, 111, 115, 265, 266, 278 e 280.

Os compostos convenientes da invenção incluem os compostos dos Exemplos 22, 23, 36, 40, 42, 44, 47, 48, 57, 66, 82, 83, 84, 86, 87, 99, 265 e 266.

Os compostos convenientes da invenção incluem os compostos dos Exemplos 40, 42, 47, 48, 82, 84, 99 e 278.

Entender-se-á que determinados compostos da presente invenção podem existir nas formas solvatada, por exemplo hidratada, bem como não solvatada. É para ser entendido que a presente invenção abrange todas essas formas solvatadas. Determinados compostos de fórmula (I) são capazes de existir em formas estereoisoméricas. Entender-se-á que a invenção abrange todos os isómeros geométricos e ópticos dos compostos de fórmula (I) e as suas misturas, incluindo racematos. Os tautómeros e as suas misturas também formam um aspecto da presente invenção.

Convenientemente o centro quiral no átomo de carbono substituído com hidroxilo adjacente ao grupo de ligação ao receptor adrenérgico β tem estereoquímica R.

É também para ser entendido que a presente invenção abrange a substituição de qualquer carbono quaternário, mais especificamente o carbono quaternário presente no sistema espirocíclico, com um átomo de silício, por exemplo como divulgado em "Silicon switches of Marketed Drugs: Mini-reviews in Med. Chem.", 2006, 6, 1169-1177.

No contexto da presente descrição o termo “heteroaromático” denota um grupo ou parte de um grupo compreendendo uma unidade orgânica monocíclica ou multicíclica aromática opcionalmente substituída desde 5 a 14 átomos endocíclicos, de um modo

preferido desde 5 a 10 átomos endocíclicos, na qual até quatro dos átomos endocíclicos é/são elemento(s) que não carbono, por exemplo azoto, oxigénio ou enxofre. Os exemplos desses grupos incluem os grupos benzimidazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, furilo, imidazolilo, indolilo, indolizinilo, isoxazolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, pirazinilo, piridazinilo, pirazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, tetrazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo e triazolilo. O grupo heteroarilo pode estar substituído com um ou mais grupos substituintes. O grupo heteroarilo pode estar ligado ao resto do composto da invenção por qualquer átomo de carbono ou azoto disponível.

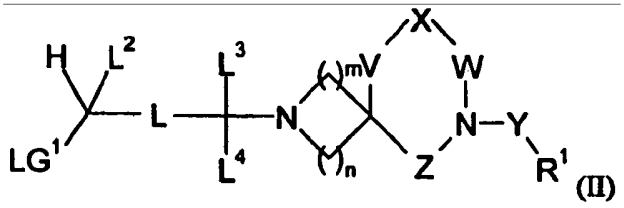
A expressão "Anel heterocíclico alifático" denota anéis não aromáticos compreendendo pelo menos um heteroátomo seleccionado do grupo consistindo de azoto, oxigénio e enxofre. Os exemplos de anéis heterocíclicos alifáticos 4-8 membros de acordo com a presente invenção incluem pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, homopiperazinilo, homopiperidinilo e azetidinilo.

Salvo indicação em contrário, no contexto da presente descrição, os grupos e unidades alquilo podem ser de cadeia linear ou ramificada e incluem, por exemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*propilo, *n*-butilo, *iso*-butilo ou *terc*-butilo. Os grupos cicloalquilo são monocíclicos, por exemplo ciclopentilo ou ciclo-hexilo. Halogéneo é, por exemplo, fluoreto, cloreto ou brometo.

No contexto da presente descrição, quando é especificado que um grupo pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes, o grupo pode estar não substituído ou substituído; quando substituído o grupo estará geralmente substituído com um, dois ou três substituintes. Em geral, uma unidade hidroxilo não estará ligada a um átomo de carbono que é adjacente a um átomo de azoto, outro átomo de oxigénio ou um átomo de enxofre.

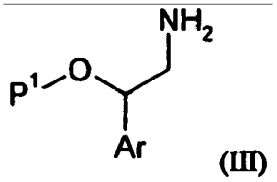
A invenção proporciona ainda um processo para a preparação de um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como definido acima, o qual compreende:

(a) quando L^1 representa hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (II), ou um seu sal adequado,



(II)

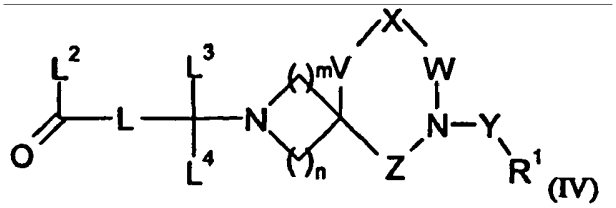
em que LG^1 representa um grupo de saída (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato) e L, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), com um composto de fórmula (III), ou um seu sal adequado (*e. g.*, bromidrato, acetato ou cloridrato),



(III)

em que Ar é como definido na fórmula (I) e P^1 é hidrogénio ou um grupo de protecção (*e. g.*, *terc*-butildimetilsililo) na presença de uma base (*e. g.*, carbonato de potássio, trietilamina ou diisopropiletilamina), seguida de remoção do grupo de protecção (*e. g.*, utilizando complexo de ácido fluorídrico-piridina); ou

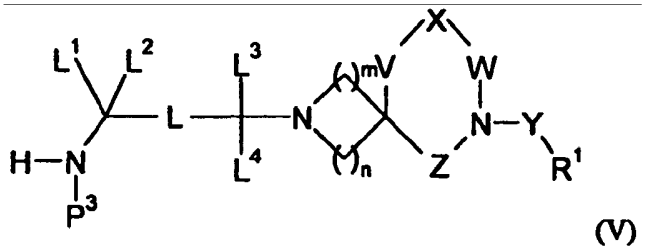
(b) quando L^1 representa hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (IV), ou um seu sal adequado,



(IV)

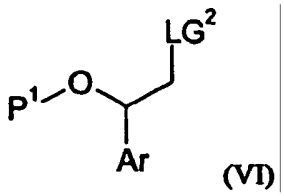
em que L, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), com um composto de fórmula (III) ou um seu sal adequado na presença de um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio ou hidrogénio na presença de um catalisador de paládio sobre carvão ou óxido de platina adequado); ou

(c) fazer reagir um composto de fórmula (V), ou um seu sal adequado,



(V)

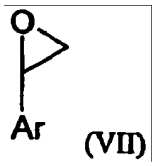
em que L, L^1, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), P^3 representa hidrogénio ou um grupo de activação (*e. g.*, 3-nitrofenilsulfonilo) com um composto de fórmula (VI), ou um seu sal adequado,



(VI)

em que Ar é como definido na fórmula (I), LG^2 representa um grupo de saída (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato) e P^1 é como definido na fórmula (III) na presença de uma base (*e. g.*, quando P^3 é hidrogénio, carbonato de potássio, trietilamina, diisopropiletilamina e, quando P^3 é 3-nitrofenilsulfonilo, hidreto de sódio ou di-*iso*-propilamida de lítio), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, utilizando complexo de ácido fluorídrico-piridina, tiofenol, ácido tioacético); ou

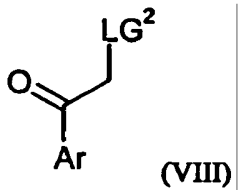
com um composto de fórmula (VII), ou um seu sal adequado,



(VII)

em que Ar é como definido na fórmula (I) na presença de uma base (*e. g.*, quando P^3 é hidrogénio, carbonato de potássio, trietilamina, diisopropiletilamina e, quando P^3 é 3-nitrofenilsulfonilo, hidreto de sódio ou di-*iso*-propilamida de lítio), seguida de remoção dos grupos de

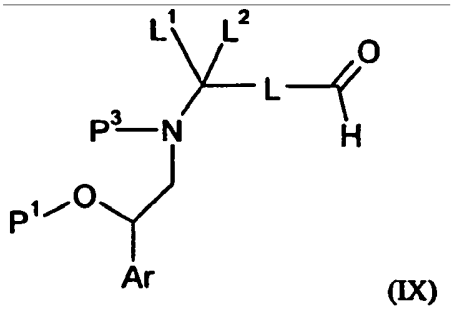
protecção (*e. g.*, ácido trifluoroacético, tiofenol, ácido tioacético); ou com um composto de fórmula (VIII), ou um seu sal adequado,



(VIII)

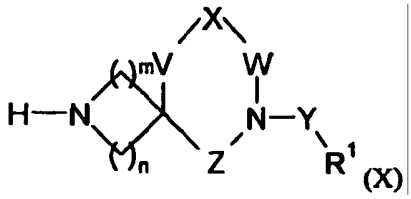
em que Ar é como definido na fórmula (I), LG^2 representa um grupo de saída (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato) na presença de uma base (*e. g.*, quando P^3 é hidrogénio, carbonato de potássio, trietilamina, diisopropiletilamina e, quando P^3 é 3-nitrofenilsulfonilo, hidreto de sódio ou di-*iso*-propilamida de lítio), seguida de redução da cetona (*e. g.*, utilizando boro-hidreto de sódio ou um complexo de borano/catalisador quiral), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, ácido trifluoroacético, tiofenol, ácido tioacético); ou

(d) quando L^3 e L^4 representa, cada, hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (IX), ou um seu sal adequado,



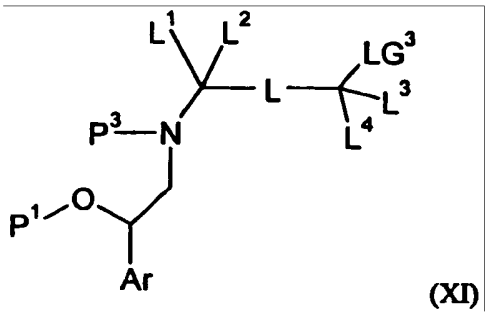
(IX)

em que Ar, L, L^1 e L^2 são como definidos na fórmula (I), P^1 é como definido na fórmula (III), P^3 representa um grupo de protecção (*e. g.*, *terc*-butilcarbamato ou 3-nitrofenilsulfonilo) com um composto de fórmula (X), ou um seu sal adequado,



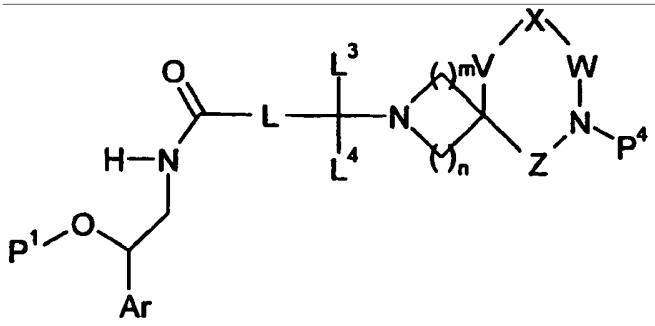
em que R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), na presença de um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio, ou hidrogénio na presença de um catalisador de paládio sobre carvão ou óxido de platina adequado), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, tratamento com ácido clorídrico ou trifluoroacético, tiofenol, ácido tioacético); ou

(e) quando um ou ambos de L^3 e L^4 representam hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (XI), ou um seu sal adequado,



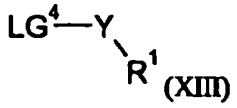
em que Ar, L, L^1 e L^2 são como definidos na fórmula (I), P^1 é como definido na fórmula (III), P^3 representa um grupo de protecção (*e. g.*, terc-butilcarbonilo ou 3-nitrofenilsulfonilo), LG^3 representa um grupo de saída (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato), com um composto de fórmula (X) ou um seu sal adequado, na presença de uma base (*e. g.*, carbonato de potássio, trietilamina, diisopropiletilamina), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, ácido trifluoroacético, tiofenol, ácido tioacético); ou

(f) quando L^1 e L^2 representam, cada, hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (XII), ou um seu sal adequado,



(XII)

em que Ar, L, L^3, L^4, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I) e P^1 é como definido na fórmula (III) e P^4 é um grupo de protecção de azoto adequado (*e. g.*, *terc*-Butilcarbonato) com um agente de redução adequado (*e. g.*, complexo de borano tetra-hidrofurano), seguida de remoção do grupo de protecção (*e. g.*, utilizando complexo de ácido fluorídrico-piridina) e reacção com um composto de fórmula (XIII), ou um seu sal adequado,



(XIII)

em que R^1 e Y são como definidos na fórmula (I) e LG^4 representam hidroxilo ou um grupo de saída (*e. g.*, halogeneto, cloreto), ou um seu sal adequado, seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, utilizando complexo de ácido fluorídrico-piridina, ácido clorídrico ou ácido trifluoroacético).

Quando LG^4 representa hidroxilo, a reacção é convenientemente realizada na presença de um reagente de activação, por exemplo, carbonildiimidazole, anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (T3P) ou hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (HATU), num solvente orgânico, por exemplo, *N,N*-dimetilformamida ou diclorometano, opcionalmente na presença de uma base (*e. g.*, trietilamina), a uma temperatura, por exemplo na gama desde 0 a 60 °C,

Quando LG^4 representa um halogeneto (*e. g.*, cloreto), a reacção é convenientemente realizada na presença de uma base, por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina ou piridina num solvente orgânico, por exemplo, diclorometano ou tetra-hidrofurano a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 0 a 25 °C; e

opcionalmente após (a), (b), (c), (d), (e) ou (f) realizar uma ou mais das seguintes:

converter o composto obtido num outro composto da invenção

preparar um sal farmaceuticamente aceitável do composto.

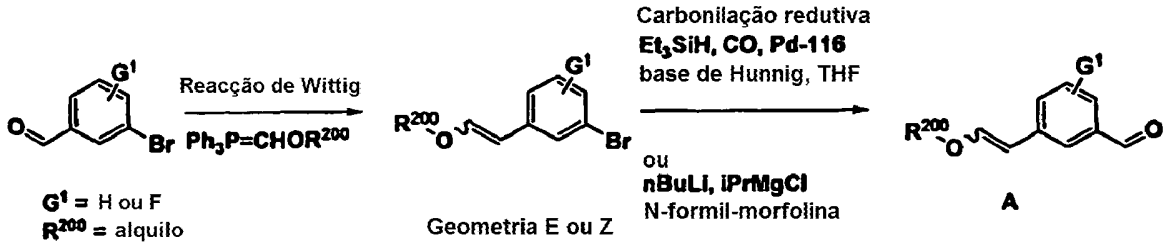
Nos processos (a), (c) e (e), a reacção pode ser convenientemente realizada num solvente orgânico, tais como N,N-dimetilformamida, etanol, *n*-butanol ou dimetilsulfóxido, a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 50 a 140 °C.

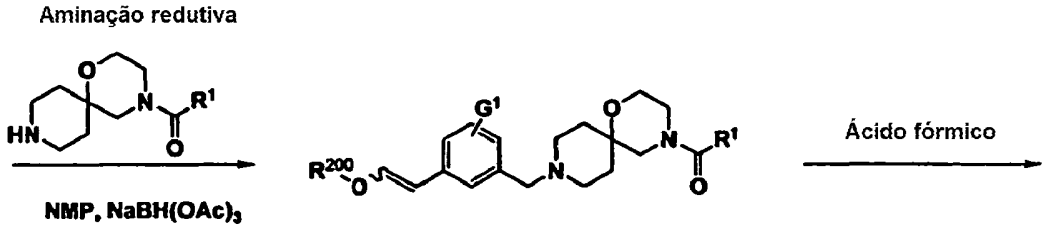
Nos processos (b) e (d), a reacção pode ser convenientemente realizada num solvente orgânico, tais como metanol, etanol, diclorometano, ácido acético *N*-metilpirolidinona ou *N,N*-dimetilformamida, contendo até 10% em peso de água e ácido acético.

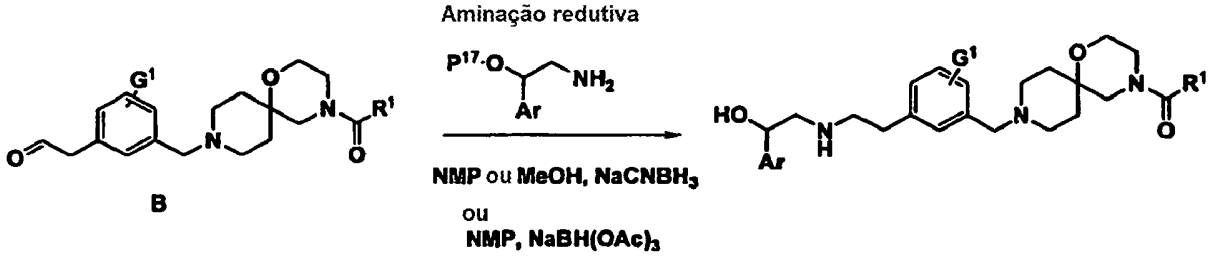
Nos processos (f), a reacção pode ser convenientemente realizada num solvente orgânico tal como tetra-hidrofurano, a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 0 a 80 °C.

Alternativamente, os compostos de Fórmula I (representados nos esquemas abaixo como fórmulas A, B e C) podem ser preparados como se segue:

Via A:

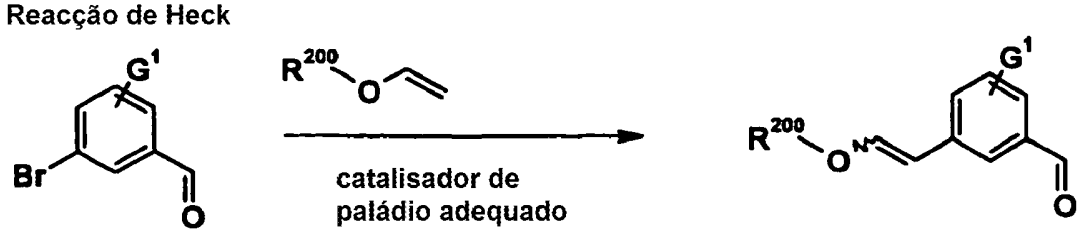




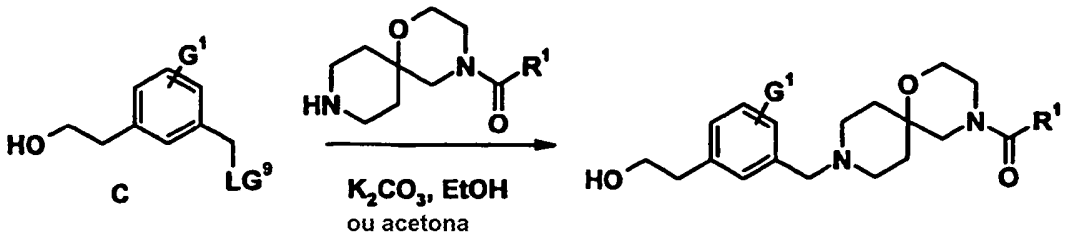


P17 é H ou um grupo de protecção adequado que é removido após a aminação redutiva

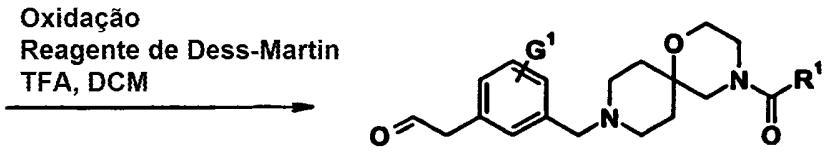
Método alternativo para preparar o composto A



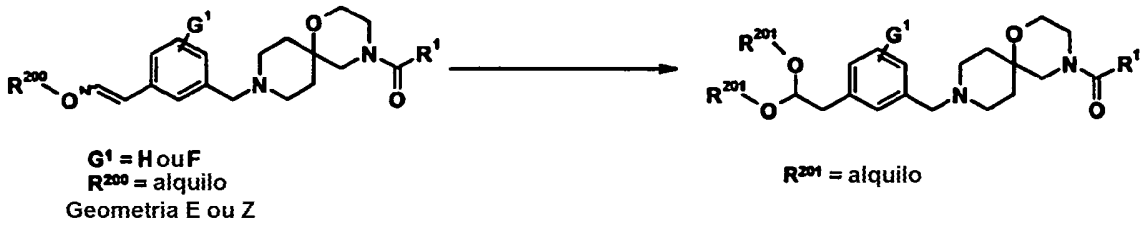
Método alternativo para preparar o composto B



LG^9 = grupo de saída adequado, tais como Br, Cl, OM, OT

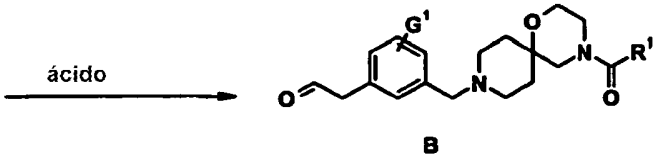


Método alternativo para preparar o composto B



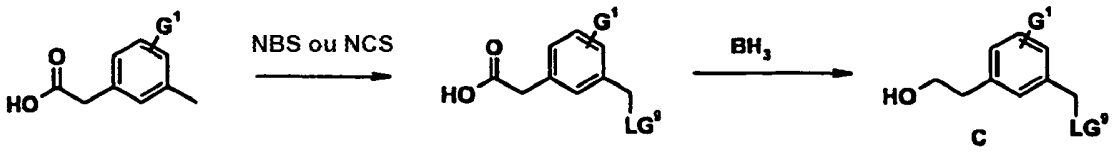
G^1 = H ou F
R^{200} = alquilo
Geometria E ou Z

R^{201} = alquilo



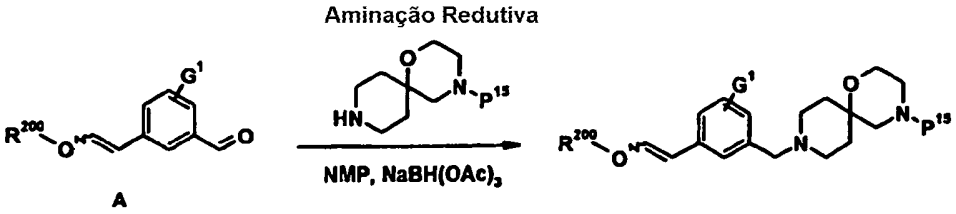
B

Método para preparar o composto C quando LG^9 é Cl ou Br



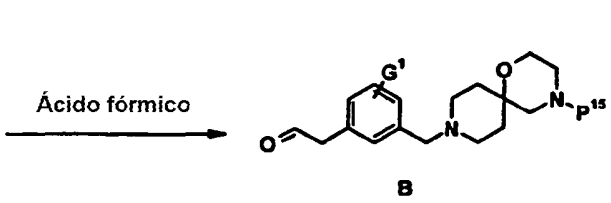
LG^9 = Br, Cl

Via B

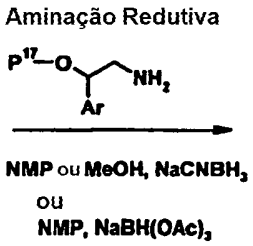


A

P^{15} é um grupo de protecção adequado tal como $CF_3C(O)$

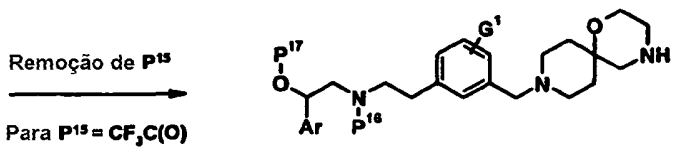


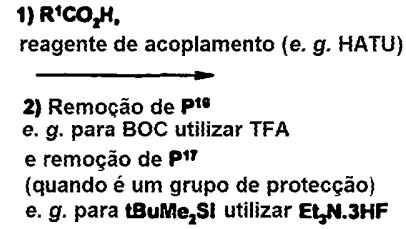
B

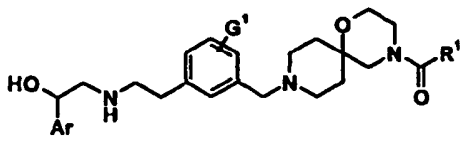


P^{17} é H ou um grupo de protecção adequado

P^{16} é um grupo de protecção adequado tal como BOC

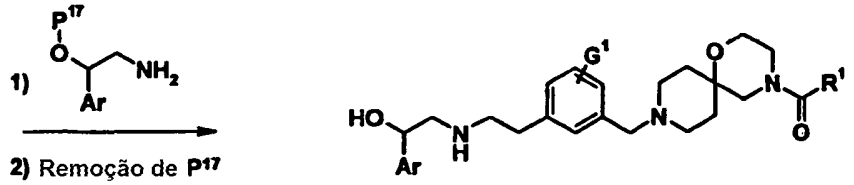






Via C

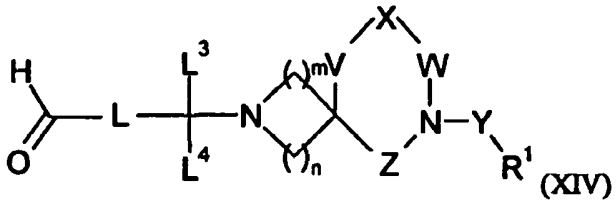
LG^{10} é um grupo de saída adequado, tais como halogéneo, OM, OT



2) Remoção de P^{17} (quando é um grupo de protecção) *e. g.* para $tBuMe_2Si$ utilizar $NEt_3.3HF$

P^{17} é H ou um grupo de protecção adequado

Os compostos de fórmula (II) podem ser preparados fazendo reagir um composto de fórmula (XIV), ou um seu sal adequado,



(XIV)

em que L, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (II), com um composto de fórmula (XV)

$$L^2\text{-Mt} \qquad \text{(XV)}$$

em que L^2 é como definido na fórmula (II) e Mt representa um metal, tais como lítio ou magnésio, ou alumínio ou boro (*e. g.*, metil-lítio, brometo de metil-magnésio, hidreto de alumínio lítio, boro-hidreto de sódio) num solvente orgânico, por

exemplo, tetra-hidrofurano ou éter, a uma temperatura, por exemplo na gama desde 0 a 60 °C, seguida de conversão do grupo hidroxilo resultante num grupo de saída adequado (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato).

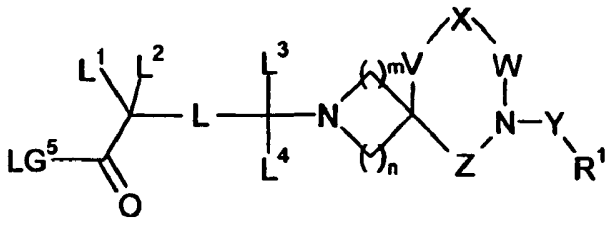
Os compostos de fórmula (IV) podem ser preparados fazendo reagir um composto de fórmula (XIV) com um composto de fórmula (XV) num solvente orgânico, por exemplo, tetra-hidrofurano ou éter, a uma temperatura, por exemplo na gama desde -10 a 60 °C, seguida de oxidação do grupo hidroxilo resultante com um agente oxidante adequado (*e. g.*, reagente de Swem, reagente de Dess-Martin ou clorocromato de piridínio) num solvente orgânico tal como diclorometano, *N,N*-dimetilformamida ou dimetilsulfóxido a uma temperatura, por exemplo na gama desde -78 a 60 °C.

Os compostos de fórmula (V), em que L^1 representa hidrogénio e L, L^2, L^3, L^4, P^3, R^1, m, n, V , W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (V), podem ser preparados

a) fazendo reagir um composto de fórmula (II) com azida de sódio, num solvente orgânico, por exemplo, tetra-hidrofurano, *N,N*-dimetilformamida ou dimetilsulfóxido a uma temperatura, por exemplo na gama desde 25 a 85 °C, seguida de redução do composto azido resultante utilizando um agente de redução adequado (*e. g.*, trifenilfosfina) num solvente orgânico, por exemplo, tetra-hidrofurano e água, e eventualmente seguida de protecção da amina resultante (*e. g.*, tratamento com cloreto de 3-nitrofenilsulfonilo na presença de uma base tal como piridina); ou,

b) fazendo reagir um composto de fórmula (IV) com uma amina (*e. g.*, benzilamina, α-metil-benzilamina, 4-metoxibenzilamina ou 2,4-metoxibenzilamina) seguida de redução da imina resultante utilizando um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio ou triacetoxiboro-hidreto de sódio) num solvente orgânico tal como metanol, etanol, diclorometano, ácido acético, *N*-metilpirolidinona ou *N,N*-dimetilformamida contendo até 10% em peso de água e ácido acético, seguida de remoção do grupo de protecção benzilo resultante utilizando o reagente apropriado (*e. g.*, hidrogénio e um catalisador adequado (Paládio sobre carvão ou hidróxido de paládio), 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ) ou nitrado de amónio e cério (CAN)) num solvente orgânico, por exemplo, etanol, metanol, tetra-hidrofurano, diclorometano, acetonitrilo, água ou uma sua mistura, a uma temperatura que varia desde 25 a 80 °C e, eventualmente, seguida de protecção da amina resultante (*e. g.*, tratamento com cloreto de 3-nitrofenilsulfonilo na presença de uma base tal como piridina);

Os compostos de fórmula (V) em que L, L^1, L^2, L^3, L^4, P^3, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (V) podem ser preparados fazendo reagir um composto de fórmula (XVI), ou um seu sal adequado,



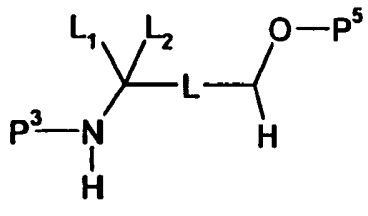
(XVI)

em que LG^5 é um grupo de saída (*e. g.*, hidroxilo ou cloro), L, L^1, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (V), com reagentes, tais como, quando LG^5 é hidroxilo, azida difenilfosfónica, na presença de uma amina (*e. g.*, trietilamina), num solvente orgânico, por exemplo, *terc*-butanol, tetra-hidrofurano, diclorometano, água ou uma sua mistura, a uma temperatura que varia desde 25 a 100 °C, ou quando LG^5 é cloro, azida de sódio, num solvente orgânico, por exemplo, éter, *terc*-butanol, tetra-hidrofurano, água ou uma sua mistura, a uma temperatura que varia desde 25 a 100 °C (Angewandte Chemie, 2005, 54, 5188), eventualmente seguida de protecção da amina resultante (*e. g.*, tratamento com cloreto de 3-nitrofenilsulfonilo na presença de uma base tal como piridina).

Os compostos de fórmula (III), (VI), (VII), (VIII), (XIII) e (XV) são conhecidos na literatura ou podem ser preparados utilizando técnicas conhecidas.

Os compostos de fórmula (IX) podem ser preparados

a) fazendo reagir um composto de fórmula (XVII), ou um seu sal adequado,

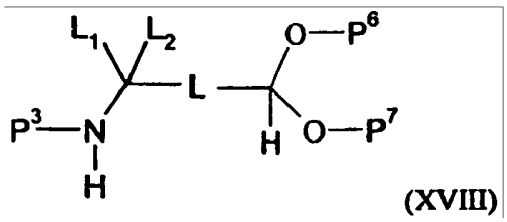


(XVII)

em que P^5 é hidrogénio ou um grupo de protecção (*e. g.*, *terc*-butildimetilsililo, tetra-hidropirano) e P^3, L, L^1 e L^2

são como definidos na fórmula (IX), com um composto de fórmula (VI), (VII) ou (VIII), ou um seu sal adequado, na presença de uma base (*e. g.*, carbonato de potássio, trietilamina ou diisopropiletilamina quando P^3 é hidrogénio e hidreto de sódio ou di-*iso*-propilamida de lítio quando P^3 é 3-nitrofenilsulfonilo) num solvente orgânico tal como *N*,*N*-dimetilformamida, *N*-metilpirolidinona, tetra-hidrofurano, etanol, *n*-butanol ou dimetilsulfóxido, a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 50 a 140 °C. Quando a reacção é realizada com o composto de fórmula (VIII) é necessário um segundo passo envolvendo a redução da cetona (*e. g.*, utilizando boro-hidreto de sódio ou um complexo de borano/catalisador quiral). A remoção selectiva apropriada do grupo de protecção (*e. g.*, complexo de ácido fluorídrico-piridina, fluoreto de tetrabutilamónio, ácido clorídrico diluído ou resina amberlyst-15 em metanol) e oxidação do álcool resultante no aldeído correspondente com um agente oxidante adequado (clorocromato de piridínio, reagente de Dess-Martin ou reagente de Swern) leva ao composto de fórmula (IX); ou,

b) fazendo reagir um composto de fórmula (XVIII), ou um seu sal adequado,

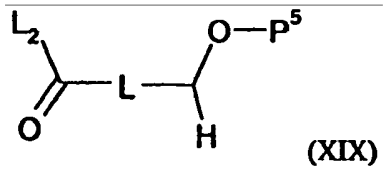


(XVIII)

em que P^6 e P^7 representam um grupo de protecção de carbonilo acíclico ou cíclico (*e. g.*, acetal de dimetoxilo

ou dietoxilo, 1,3-dioxolano ou 1,3-dioxano) e L, L^1, L^1 e P^3 são como definidos na fórmula (IX), com um composto de fórmula (VI), (VII) ou (VIII), ou um seu sal adequado, na presença de uma base (*e. g.*, carbonato de potássio, trietilamina ou diisopropiletilamina quando P^3 é hidrogénio e hidreto de sódio ou di-*iso*-propilamida de lítio quando P^3 é 3-nitrofenilsulfonilo) num solvente orgânico, tais como *N*,*N*-dimetilformamida, *N*-metilpirolidinona, tetra-hidrofurano, etanol, n-butanol ou dimetilsulfóxido, a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 50 a 140 °C. Quando se faz reagir com um composto de fórmula (VIII), esta é seguida de redução da cetona (*e. g.*, utilizando boro-hidreto de sódio ou um complexo de borano/catalisador quiral). A remoção do grupo de protecção (*e. g.*, ácido clorídrico diluído ou resina amberlyst-15 em metanol) leva a um composto de fórmula (IX); ou,

c) quando L^1 representa hidrogénio, fazendo reagir um composto de fórmula (XIX), ou um seu sal adequado,

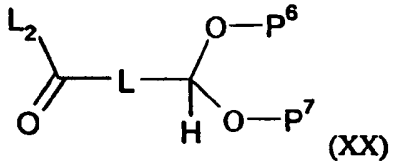


(XIX)

em que P^5 é hidrogénio ou um grupo de protecção (*e. g.*, *terc*-butildimetilsililo, tetra-hidropirano) e L e L^2 são como definidos na fórmula (IX), com um composto de fórmula (III), ou um seu sal adequado, na presença de um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio ou hidrogénio na presença de um catalisador de paládio sobre carvão ou óxido de platina

adequado) num solvente orgânico, tais como metanol, etanol, diclorometano, ácido acético, N-metilpirolidinona ou *N,N*-dimetilformamida, contendo até 10% em peso de água e ácido acético, seguida de remoção selectiva apropriada do grupo de protecção (*e. g.*, complexo de ácido fluorídrico-piridina, fluoreto de tetrabutilamónio, ácido clorídrico diluído ou resina amberlyst-15 em metanol) e oxidação do álcool resultante no aldeído correspondente com um agente oxidante adequado (clorocromato de piridínio, reagente de Dess-Martin ou reagente de Swem); ou

d) quando L^1 representa hidrogénio, fazendo reagir um composto de fórmula (XX), ou um seu sal adequado,



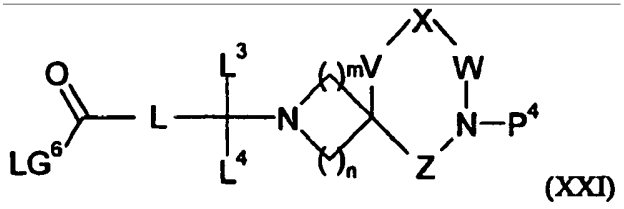
(XX)

em que P^6 e P^7 representam um grupo de protecção de carbonilo acíclico ou cíclico (*e. g.*, acetal de dimetoxilo ou dietoxilo, 1,3-dioxolano ou 1,3-dioxano) e L e L^2 são como definidos na fórmula (IX), com um composto de fórmula (III), ou um seu sal adequado, na presença de um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio ou hidrogénio na presença de um catalisador de paládio sobre carvão ou óxido de platina adequado) num solvente orgânico, tal como metanol, etanol, diclorometano, ácido acético, *N*-metilpirolidinona ou *N,N*-dimetilformamida, contendo até 10% em peso de água e ácido acético, seguida de remoção do grupo de protecção

(*e. g.*, ácido clorídrico diluído ou resina amberlyst-15 em metanol).

Os compostos de fórmula (XI) podem ser preparados convertendo um composto de fórmula (IX), ou um precursor do composto de fórmula (IX) como descrito acima, escolhendo uma sequência de reacções apropriada, por exemplo, redução de um aldeído a um álcool (*e. g.*, boro-hidreto de sódio), remoção selectiva apropriada do grupo de protecção (*e. g.*, complexo de ácido fluorídrico-piridina, fluoreto de tetrabutilamónio, ácido clorídrico diluído ou resina amberlyst-15 em metanol) e conversão de um álcool num grupo de saída adequado (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato); ou

Os compostos de fórmula (XII) podem ser preparados fazendo reagir um composto de fórmula (XXI), ou um seu sal adequado,



(XXI)

em que L, L^3, L^4, P^4, m, n, V , W, X e Z são como definidos na fórmula (XII) e LG^6 representa hidroxilo ou um grupo de saída (*e. g.*, cloro), com um composto de fórmula (III), ou um seu sal adequado;

Quando LG^6 representa hidroxilo, a reacção é convenientemente realizada na presença de uma reagente de activação, por exemplo, carbonildiimidazole, anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (T3P) ou hexafluorofosfato de

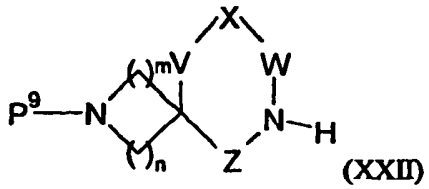
O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (HATU), num solvente orgânico, por exemplo, *N,N*-dimetilformamida ou diclorometano, opcionalmente num presença de uma base (*e. g.*, trietilamina), a uma temperatura, por exemplo na gama desde 0 a 60 °C. Quando LG^6 representa cloro, a reacção é convenientemente realizada na presença de uma base, por exemplo, trietilamina ou diisopropiletilamina num solvente orgânico, por exemplo, diclorometano ou tetra-hidrofurano a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 0 a 25 °C.

Os compostos de fórmula (V), (X), (XIV), (XVI) e (XXI) podem ser acedidos através de uma reacção de acoplamento geral de um composto de fórmula (XIII) em que R^1, Y são como definidos na fórmula (I) e LG^4 representa hidroxilo ou um grupo de saída (*e. g.*, halogeneto, cloreto), ou um seu sal adequado,

Quando LG^4 representa hidroxilo, a reacção é convenientemente realizada na presença de uma reagente de activação, por exemplo, carbonildiimidazole, anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (T3P) ou hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (HATU), num solvente orgânico, por exemplo, *N,N*-dimetilformamida ou diclorometano, opcionalmente num presença de uma base (*e. g.*, trietilamina); a uma temperatura; por exemplo na gama desde 0 a 60 °C, ou

Quando LG^4 representa um halogeneto (*e. g.*, cloreto), a reacção é convenientemente realizada na presença de uma base, por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina ou piridina num solvente orgânico, por exemplo, diclorometano ou tetra-hidrofurano a uma temperatura, por exemplo, na gama desde

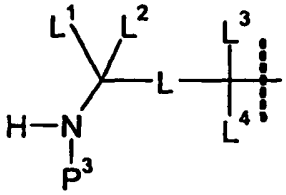
0 a 25 °C, com um composto de fórmula geral (XXII), ou um seu sal adequado,



(XXII)

em que m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I) e,

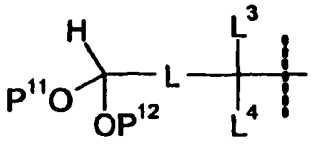
- para os compostos de fórmula (V), P^9 representa



em que L, L^1, L^2, L^3, L^4 e P^3 são como definidos na fórmula (V);

- para os compostos de fórmula (X), P^9 representa um grupo de protecção de azoto apropriado, tal como *terc*-butoxicarbonilo, ou

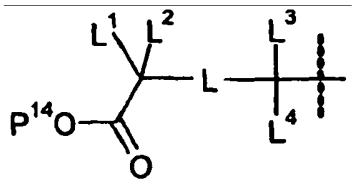
- para os compostos de fórmula (XIV), P^9 representa



em que L, L^3 e L^4 são como definidos na fórmula (XIV), em que P^{11} e P^{12} representam um grupo de protecção de carbonilo acíclico ou

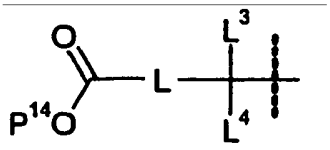
cíclico (*e. g.*, acetal de dimetoxilo ou dietoxilo, 1,3-dioxolano ou 1,3-dioxano), seguida de desprotecção adequada (*e. g.*, ácido clorídrico diluído ou resina amberlyst-15 em metanol);

- para os compostos de fórmula (XVI), P^9 representa



em que L, L^1, L^2, L^3, e L^4 são como definidos na fórmula (XVI), em que P^{14} representam um grupo de protecção de ácido (*e. g.*, metilo, etilo ou terc-butilo), seguida de desprotecção adequada (*e. g.*, hidróxido de lítio ou hidróxido de sódio, ácido trifluoroacético, ácido clorídrico);

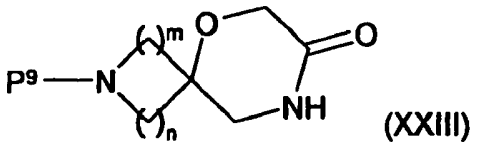
- para os compostos de fórmula (XXI), P^9 representa



em que L, L^3 e L^4 são como definidos na fórmula (XXI), em que P^{14} representam um grupo de protecção de ácido (*e. g.*, terc-butilo), seguida de desprotecção adequada (*e. g.*, ácido trifluoroacético, ácido clorídrico);

Um composto de fórmula geral (XXII), em que V representa uma ligação, X representa O, W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$, Z representa $CR^{37}R^{38}$, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{37}, R^{38} representam, cada, hidrogénio, e P^9 representa um grupo de protecção de azoto

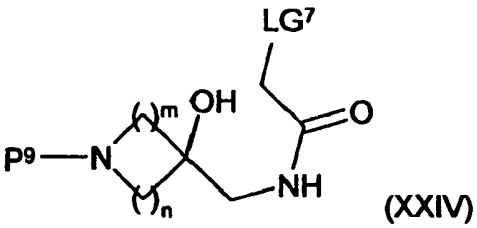
apropriado como *terc*-butoxicarbonilo, pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXIII)



(XXIII)

em que P^9, m e n são como definidos no composto de fórmula (XXII), por tratamento com um agente de redução adequado, tal como complexo de borano-THF num solvente adequado, tal como tetra-hidrofurano a 30-70 °C com o complexo de boro resultante decomposto por uma amina adequada, tal como *N1,N2*-dimetilenoamina-1,2-diamina em metanol a 60-90 °C

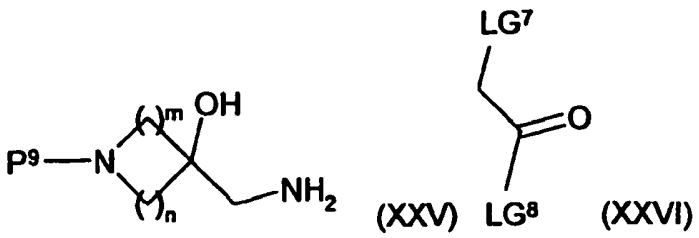
Um composto de fórmula (XXIII) pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXIV)



(XXIV)

em que LG^7 é um grupo de saída adequado, tais como halogéneo ou tosilato e P^9, m e n são como definidos no composto de fórmula (XXIII), por tratamento com uma base adequada, tal como *terc*-butóxido de potássio num solvente adequado, tal como tetra-hidrofurano a 50-90 °C.

Um composto de fórmula (XXIV) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXV) com um composto de fórmula (XXVI)

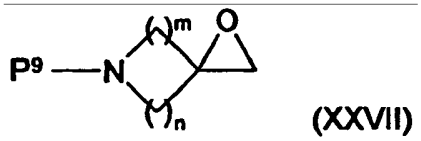


em que LG^8 representa um hidroxilo ou halogéneo grupo tal como cloreto e P^9, m, n e LG^7 são como definidos no composto de fórmula (XXIV);

Para o caso em que LG^8 representa hidroxilo, a reacção é convenientemente realizada na presença de uma reagente de activação, por exemplo, carbonildiimidazole, anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (T3P) ou hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (HATU), num solvente orgânico, por exemplo, *N,N*-dimetilformamida ou diclorometano, opcionalmente na presença de uma base (*e. g.*, trietilamina), a uma temperatura, por exemplo na gama desde 0 a 60 °C;

Para o caso em que LG^8 representa cloreto, a reacção é convenientemente realizada na presença de uma base, por exemplo, trietilamina ou diisopropiletilamina num solvente orgânico, por exemplo, diclorometano ou tetra-hidrofurano a uma temperatura, por exemplo, na gama desde 0 a 25 °C;

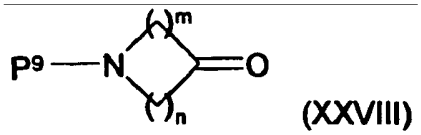
Um composto de fórmula (XXV) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXVII)



(XXVII)

em que P^9, m e n são como definidos no composto de fórmula (XXV), com amónia num solvente adequado tal como metanol a uma temperatura na gama desde 20-60 °C;

Um composto de fórmula (XXVII) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXVIII)

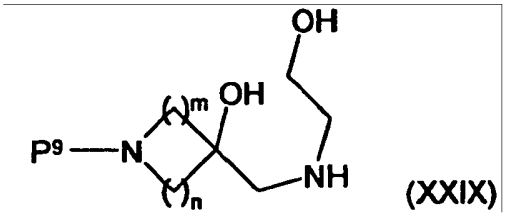


(XXVIII)

em que P^9, m e n são como definidos no composto de fórmula (XXVII), com iodeto de trimetilsulfoxónio na presença de uma base adequada tal como hidreto de sódio ou *terc*-butóxido de potássio num solvente adequado tal como dimetilsufóxido a uma temperatura na gama desde 0-20 °C;

Além disso, o processo acima refere-se a passos de oxidação e redução simples, estes são realizados sob condições correntes bem estabelecidas na literatura (*e. g.*, oxidações de Dess-Martin, Swern, clorocromato de piridínio, complexo de piridínio-trióxido de enxofre). Estes podem ser convenientemente realizados num solvente orgânico tal como diclorometano, numa gama de temperatura desde -78 a 50 °C (Annual Reports on the Progress of Chemistry, Section B: Organic Chemistry, 2004, 100, 51-70).

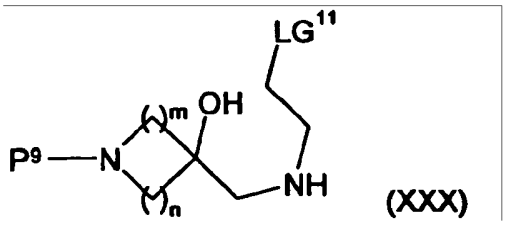
Um composto de fórmula geral (XXII), em que V representa uma ligação, X representa O, W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$, Z representa $CR^{37}R^{38}$, R^{27}, R^{18}, R^{29}, R^{30}, R^{37}, R^{38} representam, cada, hidrogénio, e P^9 representa um grupo de protecção de azoto apropriado pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXIX) sob condições reaccionais adequadas tal como em ácido forte



(XXIX)

Um composto de fórmula geral (XXIX) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXVII) com etanolamina.

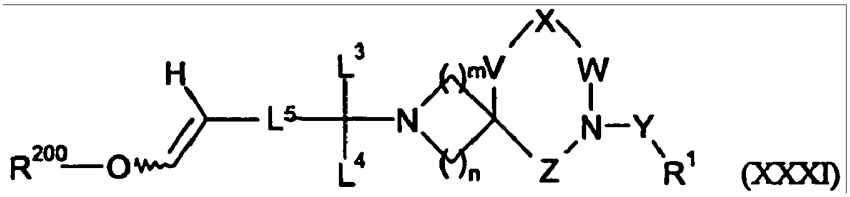
Um composto de fórmula geral (XXII), em que V representa uma ligação, X representa O, W representa $CR^{21}R^{28}CR^{29}R^{30}$, Z representa $CR^{37}R^{38}$, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{37}, R^{38} representam, cada, hidrogénio, e P^9 representa um grupo de protecção de azoto apropriado pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXX) em que LG^{11} é um grupo de saída adequado, tais como halogéneo, OM ou OT.



(XXX)

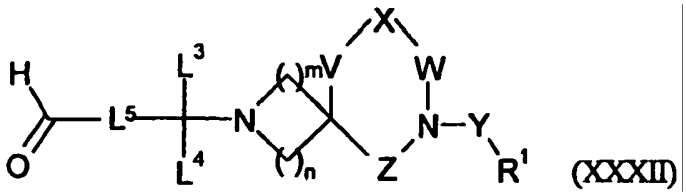
Um composto de fórmula geral (XXX) pode ser formado a partir de um composto de fórmula (XXIX) sob condições apropriadas.

Um composto de fórmula (XIV) pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXXI) em que CH_2L^5 é L e R^{200} é alquilo ou alquilo substituído com dialquilamina por tratamento sob condições ácidas tal como ácido fórmico.



(XXXI)

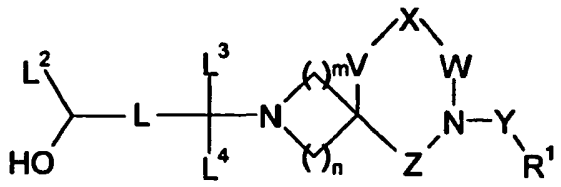
Um composto de fórmula (XXX1) pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXXII) por tratamento com um composto de fórmula (XXXIII).



(XXXII)

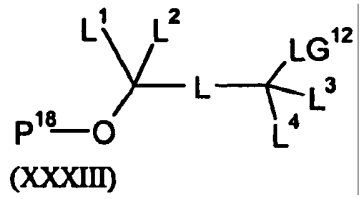
$PPh_3=CHOR^{200}$ (XXXIII)

Um composto de fórmula (IV) ou (XIV) pode ser preparado a partir de um composto de fórmula (XXXII) por oxidação do álcool sob condições adequadas tal como utilizando o reagente de Dess-Martin num solvente adequado tal como diclorometano contendo ácido trifluoroacético.



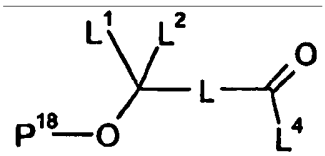
(XXXII)

Um composto de fórmula (XXXII) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXXIII) em que P^{18} é um hidrogénio ou um grupo de protecção adequado e LG^{12} representa um grupo de saída (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato), com um composto de fórmula (X) ou um seu sal adequado, na presença de uma base (*e. g.*, carbonato de potássio, trietilamina, diisopropiletilamina), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, ácido trifluoroacético, tiofenol, ácido tioacético);



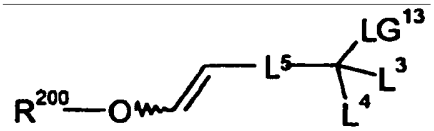
(XXXIII)

Um composto de fórmula (XXXII) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXXIV) em que P^{18} representa hidrogénio ou um grupo de protecção adequado com um composto de fórmula (X), ou um seu sal adequado, na presença de um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio ou hidrogénio na presença de um catalisador de paládio sobre carvão ou óxido de platina adequado), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, tratamento com clorídrico ou ácido trifluoroacético tiofenol, ácido tioacético);



(XXXIV)

Um composto de fórmula (XXXI) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXXV) em que CH_2L^5 é L e R^{200} é alquilo ou alquilo substituído com dialquilamina e LG^{13} representa um grupo de saída (*e. g.*, cloreto, brometo, iodeto, metanossulfonato ou *para*-toluenossulfonato), com um composto de fórmula (X) ou um seu sal adequado, na presença de uma base (*e. g.*, carbonato de potássio, trietilamina, diisopropiletilamina), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, ácido trifluoroacético, tiofenol, ácido tioacético);



(XXXV)

Um composto de fórmula (XXXI) pode ser preparado fazendo reagir um composto de fórmula (XXXVI) em que CH_2L^5 é L e R^{200} é alquilo ou alquilo substituído com dialquilamina com um composto de fórmula (X), ou um seu sal adequado, na presença de um agente de redução adequado (*e. g.*, cianoboro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio ou hidrogénio na presença de um catalisador de paládio sobre carvão ou óxido de platina adequado), seguida de remoção dos grupos de protecção (*e. g.*, tratamento com clorídrico ou ácido trifluoroacético tiofenol, ácido tioacético);

(XXXVI)

Os compostos convenientes de fórmula (IV) incluem aqueles em que m e n = 2, V = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2, Y = CO, R^1 é 4-tiazole opcionalmente substituído na posição 2 do tiazole com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo; ou R^1 é 3-tiofeno opcionalmente substituído na posição 5 do tiofeno com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo;

representam R^1 = 4-tiazole e 3-tiofeno

(XXXVII)

Os compostos convenientes de fórmula (X) e os análogos adequadamente protegidos no azoto incluem aqueles em que m e n = 2, V = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2, Y = CO, R^1 é 4-tiazole opcionalmente substituído na posição 2 do tiazole com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo; ou R^1 é 3-tiofeno opcionalmente substituído na posição 5 do tiofeno com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3,

CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo;

R^1 = 4-tiazole e 3-tiofeno são como representados na fórmula (XXXVII)

Os compostos convenientes de fórmula (XIV) incluem aqueles em que m e n = 2, V = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2, Y = CO, R^1 é 4-tiazole opcionalmente substituído na posição 2 do tiazole com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo; ou R^1 é 3-tiofeno opcionalmente substituído na posição 5 do tiofeno com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo;

R^1 = 4-tiazole e 3-tiofeno são como representados na fórmula (XXXVII).

Os compostos convenientes de fórmula (XXXI) incluem aqueles em que m e n = 2, V = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2, Y = CO, R^1 é 4-tiazole opcionalmente substituído na posição 2 do tiazole com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo; ou R^1 é 3-tiofeno opcionalmente substituído na posição 5 do tiofeno com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo;

R^1 = 4-tiazole e 3-tiofeno são como representados na fórmula (XXXVII)

Os compostos convenientes de fórmula (XXXII) incluem aqueles em que m e n = 2, V = ligação, Z = CH_2, X = O e W = CH_2CH_2, Y = CO, R^1 é 4-tiazole opcionalmente substituído na posição 2 do tiazole com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo; ou R^1 é 3-tiofeno opcionalmente substituído na posição 5 do tiofeno com metilo, etilo, propilo, butilo, CF_3, CH_2CF_3, $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_2CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2,CH_3$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$, ciclopropilo, ciclobutilo e ciclopentilo;

R^1 = 4-tiazole e 3-tiofeno são como representados na fórmula (XXXVII).

Os compostos de fórmula (VI), (VII), (VIII), (XIII), (XV), (XVII), (XVIII), (XIX), (XX), (XXVI) e (XXVIII) estão comercialmente disponíveis, são conhecidos na literatura ou podem ser facilmente preparados pelos especialistas na técnica utilizando um dos processos descritos acima ou utilizando técnicas conhecidas.

Outros compostos intermediários são novos e representam aspectos independentes da invenção. Em particular, um número dos novos compostos intermediários aqui descritos são compostos que são capazes de originar bloqueio nos receptores muscarínicos M3. Os compostos intermediários da presente invenção possuindo actividade como antagonistas muscarínicos incluem:

(9-(2-(4-(Hidroximetil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona;

(9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona;

(9-(2-(4-(2-Hidroxietil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona;

(9-(2-(5-(2-Hidroxietil)tiofen-2-il)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona;

(9-(4-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona;

9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona;

(9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona;

e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Será compreendido pelos especialistas na técnica que nos processos da presente invenção determinados grupos funcionais, tais como os grupos hidroxilo ou amino, nos reagentes podem precisar de ser protegidos com grupos de protecção. Assim, a preparação dos compostos de fórmula (I) pode envolver, numa fase apropriada, a adição ou remoção de um ou mais grupos de protecção.

A protecção e desprotecção de grupos funcionais é descrita em "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por J.W.F. McOmie, Plenum Press (1973) e "Protective Groups in Organic

Synthesis", 3ª edição, T.W. Greene e P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1999).

Os compostos de fórmula (I) podem ser convertidos noutros compostos de fórmula (I) utilizando procedimentos correntes.

Os compostos de fórmula I têm actividade como produtos farmacêuticos, em particular como agonistas do receptor adrenérgico β e agentes anticolinérgicos duplos incluindo antagonistas do receptor muscarínico (M1, M2, e M3), em particular antagonistas de M3. As doenças e estados que podem ser tratados com os compostos de fórmula (I) e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis incluem:

1. aparelho respiratório: doenças obstrutivas das vias aéreas incluindo: asma, incluindo asma brônquica, alérgica, intrínseca, extrínseca, induzida pelo exercício físico, de origem medicamentosa (incluindo induzida por aspirina e NSAID) e induzida por pó, intermitente e persistente e de todas as gravidades, e outras causas de hipersensibilidade das vias aéreas; doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD); bronquite, incluindo bronquite infecciosa e eosinofílica; enfisema; bronquectasia; fibrose quística; sarcoidose; pulmão do agricultor e doenças relacionadas; pneumonite de hipersensibilidade; fibrose pulmonar, incluindo alveolite fibrosante criptogénica, pneumonias intersticiais idiopáticas, fibrose que complicam a terapia antineoplásica e infecção crónica, incluindo tuberculose e aspergilose e outras infecções fúngicas; complicações do transplante de pulmão; distúrbios vasculíticos e trombóticos da vasculatura pulmonar, e hipertensão pulmonar; actividade antitússica incluindo tratamento de tosse crónica associada a condições

inflamatórias e secretoras das vias aéreas, e tosse iatrogénica; rinite aguda e crónica incluindo rinite medicamentosa, e rinite vasomotora; rinite alérgica perene e sazonal incluindo rinite nervosa (febre dos fenos); polipose nasal; infecção viral aguda incluindo a constipação, e infecção devido ao vírus sincicial respiratório, gripe, coronavírus (incluindo SARS) ou adenovírus; ou esofagite eosinofílica;

2. osso e articulações: artrites associadas a ou incluindo osteoartrite/osteoartrose, primária e secundária a, por exemplo, displasia congénita da anca; espondilite cervical e lombar, e dor lombossagrada e do pescoço; osteoporose; artrite reumatóide e doença de Still; espondilartropatias seronegativas incluindo espondilite anquilosante, artrite psoriática, artrite reactiva e espondilartropatia indiferenciada; artrite séptica e outras artropatias relacionadas com infecção e distúrbios ósseos tais como tuberculose, incluindo doença de Potts e síndrome de Poncet; sinovite aguda e crónica induzida por cristais incluindo gota úrica, doença por depósito de pirofosfato de cálcio e tendão relacionado com apatite de cálcio, inflamação da bursa e sinovial; doença de Behcet; síndrome primária e secundária de Sjogren; esclerose sistémica e esclerodermia limitada; lúpus eritematoso disseminado, doença mista do tecido conjuntivo e doença indiferenciada do tecido conjuntivo; miopatias inflamatórias incluindo dermatomiosite e polimiosite; polimialgia reumática; artrite juvenil incluindo artrites inflamatórias idiopáticas de qualquer distribuição articular e síndromes associadas, e febre reumática e as suas complicações sistémicas; vasculites incluindo arterite de células gigantes, arterite de

Takayasu, síndrome de Churg-Strauss, poliarterite nodosa, poliarterite microscópica e vasculites associadas a infecção viral, reacções de hipersensibilidade, crioglobulinas, e paraproteínas; dor lombossagrada; Febre Mediterrânica Familiar, síndrome de Muckle-Wells, e Febre Hiberniana Familiar, doença de Kikuchi; artralgias de origem medicamentosa, tendinites e miopatias;

3. dor e remodelação de tecido conjuntivo de distúrbios musculoesqueléticos devido a lesão [por exemplo, lesão desportiva] ou doença: artrites (por exemplo, artrite reumatóide, osteoartrite, gota ou artropatia cristalina), outra doença articular (tais como degenerescência do disco intervertebral ou degenerescência da articulação temporomandibular), doença de remodelação do osso (tais como osteoporose, doença de Paget ou osteonecrose), policondrite, esclerodermia, distúrbio misto do tecido conjuntivo, espondilartropatias ou doença periodontal (tal como periodontite);

4. pele: psoríase, dermatite atópica, dermatite de contacto ou outras dermatoses eczematosas, e reacções de hipersensibilidade de tipo retardado; fito- e fotodermatite; dermatite seborreica, dermatite herpetiforme, líquen plano, líquen escleroso e atrófico, pioderma gangrenoso, sarcoidose da pele, lúpus eritematoso discóide, pênfigo, penfigóide, epidermólise bolhosa, urticária, angioedema, vasculites, eritemas tóxicos, eosinofilias cutâneas, alopecia areata, calvície de padrão masculino, síndrome de Sweet, síndrome de Weber-Christian, eritema multiforme; celulite, infecciosa e não infecciosa; paniculite; linfomas cutâneos, cancro da pele não-melanoma e outras lesões displásicas; distúrbios

de origem medicamentosa incluindo erupções ficas de fármacos;

5. olhos: blefarite; conjuntivite, incluindo conjuntivite alérgica perene e vernal; irite; uveíte anterior e posterior; coroidite; auto-imune; distúrbios degenerativos ou inflamatórios que afectam a retina; oftalmia incluindo oftalmia simpática; sarcoidose; infecções incluindo virais, fúngicas e bacterianas;

6. aparelho gastrointestinal: glossite, gengivite, periodontite; esofagite, incluindo refluxo; gastroenterite eosinofílica, mastocitose, doença de Crohn, colite incluindo colite ulcerosa, proctite, prurido anal; doença celíaca, síndrome do intestino irritável, e alergias de origem alimentar que podem ter efeitos remotos a partir do intestino (por exemplo, enxaqueca, rinite ou eczema);

7. abdominal: hepatite, incluindo auto-imune, alcoólica e viral; fibrose e cirrose do fígado; colecistite; pancreatite aguda e crónica;

8. urogenital: nefrite incluindo intersticial e glomerulonefrite; síndrome nefrótica; cistite incluindo aguda e crónica (intersticial) cistite e úlcera de Hunner; uretrite aguda e crónica, prostatite, epididimite, ooforite e salpingite; vulvovaginite; doença de Peyronie; disfunção eréctil (masculina e feminina);

9. rejeição de aloenxerto: aguda e crónica após, por exemplo, transplante de rim, coração, fígado, pulmão, medula

óssea, pele ou córnea ou após transfusão de sangue; ou doença crónica do enxerto contra o hospedeiro;

10. SNC: doença de Alzheimer e outros distúrbios demenciais incluindo CJD e nvCJD; amiloidose; esclerose múltipla e outras síndromes desmielinizantes; aterosclerose e vasculite cerebral; arterite temporal; miastenia grave; dor aguda e crónica (aguda, intermitente ou persistente, quer de origem central ou periférica) incluindo dor visceral, dor de cabeça, enxaqueca, nevralgia do trigémeo, dor facial atípica, dor da articulação e do osso, dor decorrente de invasão por cancro e tumor, síndromes de dor neuropática incluindo diabética, pós-herpética, e neuropatias associadas a HIV; neurossarcoidose; complicações do sistema nervoso central e periférico de processos malignos, infecciosos ou auto-imunes;

11. outros distúrbios auto-imunes e alérgicos incluindo tiroidite de Hashimoto, doença de Graves, doença de Addison, diabetes mellitus, púrpura trombocitopénica idiopática, fasciíte eosinofílica, síndrome de hiper-IgE, síndrome antifosfolípido;

12. outros distúrbios com uma componente inflamatória ou imunológica; incluindo síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), lepra, síndrome de Sezary e síndromes paraneoplásicas;

13. cardiovascular: aterosclerose, que afecta a circulação coronária e periférica; pericardite; miocardite, cardiomiopatias inflamatórias e auto-imunes incluindo sarcóide do miocárdio; lesões de isquémia-reperfusão;

endocardite, valvulite e aortite incluindo infecciosa (por exemplo, sifilítica); vasculites; distúrbios das veias proximais e periféricas incluindo flebite e trombose, incluindo trombose das veias profundas e complicações das varizes;

14. oncologia: tratamento de cancros comuns, incluindo tumores da próstata, mama, pulmão, ovário, pâncreas, intestino e cólon, estômago, pele e cérebro e malignidades que afectam a medula óssea (incluindo as leucemias) e sistemas linfoproliferativos, tais como o linfoma de Hodgkin e não-Hodgkin; incluindo a prevenção e tratamento de doença metastática e recorrências de tumores, e síndromes paraneoplásicas; e,

15. aparelho gastrointestinal: doença celíaca, proctite, gastroenterite eosinofílica, mastocitose, doença de Crohn, colite ulcerosa, colite microscópica, colite indeterminada, distúrbio do intestino irritável, síndrome do intestino irritável, diarreia não inflamatória, alergias de origem alimentar que têm efeitos remotos a partir do intestino, *e. g.*, enxaqueca, rinite e eczema.

Assim, a presente invenção proporciona um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como acima definido para ser utilizado em terapia.

Num outro aspecto, a presente invenção proporciona a utilização de um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como acima definido no fabrico de um medicamento para ser utilizado em terapia.

No contexto da presente especificação, o termo "terapia" também inclui "profilaxia" a menos que existam indicações específicas em contrário. Os termos "terapêutico" e "terapeuticamente" devem ser interpretados em conformidade.

É esperado que a profilaxia seja particularmente relevante para o tratamento de pessoas que sofreram um episódio anterior, ou são de outro modo consideradas como estando em maior risco de sofrer, da doença ou estado em questão. As pessoas em risco de desenvolver uma doença ou estado particular, incluem geralmente aquelas que têm um passado familiar da doença ou estado, ou aqueles que foram identificados por ensaios genéticos ou rastreios como sendo particularmente susceptíveis a desenvolver a doença ou estado.

As requerentes divulgam um método de tratamento, ou redução do risco, de uma doença ou estado inflamatório (incluindo uma doença ou estado obstrutiva das vias aéreas reversível), o qual compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula (I), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como acima definido, a um doente necessitado do mesmo.

Em particular, os compostos desta invenção podem ser utilizados no tratamento de síndrome de insuficiência respiratória do adulto (ARDS), enfisema pulmonar, bronquite, bronquectasia, doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD), asma e rinite.

Para as utilizações terapêuticas supramencionadas a dosagem administrada variará, evidentemente, com o composto utilizado, o modo de administração, o tratamento desejado e o distúrbio indicado. Por exemplo, a dosagem diária do composto da invenção,

se inalado, pode ser na gama desde 0,05 microgramas por quilograma de peso corporal (µg/kg) a 100 microgramas por quilograma de peso corporal (µg/kg). Alternativamente, se o composto for administrado por via oral, então a dosagem diária do composto da invenção pode ser na gama desde 0,01 microgramas por quilograma de peso corporal (µg/kg) a 100 miligramas por quilograma de peso corporal (mg/kg).

Os compostos de fórmula (I) e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser utilizados sozinhos, mas serão geralmente administrados na forma de uma composição farmacêutica na qual o composto/sal de fórmula (I) (ingrediente activo) está em associação com um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável. Os procedimentos convencionais para a selecção e preparação de formulações farmacêuticas adequadas são descritos em, por exemplo, "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

Dependendo do modo de administração, a composição farmacêutica compreenderá de um modo preferido desde 0,05 a 99% em peso (por cento em peso), de um modo mais preferido desde 0,05 a 80% em peso, de um modo ainda mais preferido desde 0,10 a 70% em peso, e de um modo ainda mais preferido desde 0,10 a 50% em peso, de ingrediente activo, sendo todas as percentagens em peso baseadas na composição total.

A presente invenção também proporciona uma composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como acima definido, em associação com um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

A invenção proporciona ainda um processo para a preparação de uma composição farmacêutica da invenção, o qual compreende misturar um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como acima definido com um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

As composições farmacêuticas podem ser administradas por via tópica (*e. g.*, na pele ou no pulmão e/ou vias aéreas) na forma, *e. g.*, de cremes, soluções, suspensões, aerossoles de Hidrofluoroalcano (HFA) e formulações de pó seco, por exemplo, formulações para o dispositivo inalador conhecido como o Turbuhaler®; ou sistemicamente, *e. g.*, por administração oral na forma de comprimidos, cápsulas, xaropes, pós ou granulados; ou por administração parentérica na forma de soluções ou suspensões; ou por administração subcutânea; ou por administração rectal na forma de supositórios; ou por via transdérmica.

As formulações de pó seco e os aerossoles de HFA pressurizados dos compostos da invenção podem ser administrados por inalação oral ou nasal. Para inalação, o composto está, de modo desejável, finamente dividido. De um modo preferido, o composto finamente dividido tem um diâmetro médio de massa inferior a 10 μm, e pode estar suspenso numa mistura propulsora com a ajuda de um dispersante, tal como um ácido gordo C_8–C_{20} ou o seu sal, (por exemplo, ácido oleico), um sal biliar, um fosfolípido, um alquilsacárido, um tensioactivo perfluorado ou polietoxilado, ou outro dispersante farmaceuticamente aceitável.

Os compostos da invenção também podem ser administrados por meio de um inalador de pó seco. O inalador pode ser um inalador

de dose única ou de doses múltiplas, e pode ser um inalador de pó seco accionado pela respiração.

Uma possibilidade é misturar o composto da invenção finamente dividido com uma substância veículo, por exemplo, um mono-, di- ou polissacárido, um açúcar-álcool, ou outro poliol. Os veículos adequados são açúcares, por exemplo, lactose, glucose, rafinose, melezitose, lactitol, maltitol, trealose, sacarose, manitol; e amido. Alternativamente o composto finamente dividido pode ser revestido por outra substância. A mistura em pó também pode ser introduzida em cápsulas de gelatina dura, contendo cada, a dose desejada do composto activo.

Outra possibilidade é processar o pó finamente dividido em esferas que se quebram durante o procedimento de inalação. Este pó em esferas pode ser introduzido no reservatório de fármaco de um inalador multidose, por exemplo, aquele conhecido como Turbuhaler®, no qual uma unidade de dosagem mede a dose desejada que é depois inalada pelo doente. Com este sistema, o ingrediente activo, com ou sem uma substância veículo, é administrado ao doente.

Para administração oral o composto da invenção pode ser misturado com um adjuvante ou um veículo, por exemplo, lactose, sacarose, sorbitol, manitol; um amido, por exemplo, amido de batata, amido de milho ou amilopectina; um derivado de celulose; um aglutinante, por exemplo, gelatina ou polivinilpirrolidona; e/ou um lubrificante, por exemplo, estearato de magnésio, estearato de cálcio, polietilenoglicol, uma cera, parafina e semelhantes e, em seguida, prensado em comprimidos. Se for necessário comprimidos revestidos, os núcleos, preparados como

descrito acima, podem ser revestidos com uma solução concentrada de açúcar que pode conter, por exemplo, goma-arábica, gelatina, talco e dióxido de titânio. Alternativamente, o comprimido pode ser revestido com um polímero adequado dissolvido num solvente orgânico facilmente volátil.

Para a preparação de cápsulas de gelatina mole, o composto da invenção pode ser misturado com, por exemplo, um óleo vegetal ou polietilenoglicol. As cápsulas de gelatina dura podem conter granulados do composto utilizando os excipientes para comprimidos supramencionados. Formulações líquidas ou semi-sólidas do composto da invenção também podem ser introduzidas em cápsulas de gelatina dura.

As preparações líquidas para aplicação oral podem estar na forma de xaropes ou suspensões, por exemplo, soluções contendo o composto da invenção, sendo o restante açúcar e uma mistura de etanol, água, glicerol e propilenoglicol. Opcionalmente, essas preparações líquidas podem conter corantes, aromatizantes, sacarina e/ou carboximetilcelulose como um espessante ou outros excipientes conhecidos dos especialistas na técnica.

Em particular, os compostos da presente invenção e os seus sais podem ser utilizados no tratamento de doenças inflamatórias tais como (mas não se limitando a) artrite reumatóide, osteoartrite, asma, rinite alérgica, doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD), psoríase e doença inflamatória do intestino, os compostos da invenção podem ser combinados com os seguintes agentes: agentes anti-inflamatórios não esteróides (a seguir NSAIDs) incluindo inibidores não selectivos de ciclo-oxigenase COX-1/COX-2 aplicados por via tópica ou sistémica (tais como piroxicam, diclofenac, ácidos propiónicos, tais como naproxeno,

flurbiprofeno, fenoprofeno, cetoprofeno e ibuprofeno, fenamatos, tais como ácido mefenâmico, indometacina, sulindac, azapropazona, pirazolonas tal como fenilbutazona, salicilatos tal como aspirina); inibidores selectivos de COX-2 (tais como meloxicam, celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, lumarocoxib, parecoxib e etoricoxib); doadores de óxido nítrico inibidores da ciclo-oxigenase (CINOD); glucocorticosteróides (administrados pelas vias tópica, oral, intramuscular, intravenosa ou intra-articular); metotrexato; leflunomida; hidroxicloroquina; d-penicilamina; auranofina ou outras preparações de ouro parentéricas ou orais; analgésicos; diacereína; terapias intra-articulares tal como derivados de ácido hialurónico; e suplementos nutritivos tal como glucosamina.

Os compostos da invenção também podem ser administrados em conjunto com outros compostos utilizados para o tratamento dos estados acima.

Por conseguinte, a invenção refere-se ainda a terapias de associação em que um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou uma composição ou formulação farmacêutica compreendendo um composto da invenção, é administrado simultaneamente ou sequencialmente ou como uma preparação de associação com outro agente ou agentes terapêuticos, para o tratamento de uma ou mais dos estados listados acima.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em conjunto com uma citocina ou agonista ou antagonista da função da citocina, (incluindo agentes que actuam nas vias de sinalização de citocina, tais como os moduladores do sistema

SOCS) incluindo os alfa-, beta- e gama-interferões; factor de crescimento tipo insulina de tipo I (IGF-1); interleucinas (IL) incluindo IL1 a 17, e antagonistas ou inibidores de interleucina tal como anakinra; inibidores do factor de necrose tumoral alfa (TNF-α) tais como os anticorpos monoclonais anti-TNF (por exemplo infliximab; adalimumab e CDP-870) e antagonistas do receptor de TNF incluindo moléculas de imunoglobulina (tal como etanorcept) e agentes de baixo peso molecular tal como pentoxifilina.

Além disso a invenção refere-se a uma associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, com um anticorpo monoclonal direccionado para Linfócitos B (tal como CD20 (rituximab), MRA-aIL16R) ou linfócitos T (CTLA4-Ig, HuMax Il-15).

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, com um modulador da função do receptor de quimiocina, tais como um antagonista de CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 e CCR11 (para a família C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 e CXCR5 (para a família C-X-C) e CX_3CR1 para a família $C-X_3-C$.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, com um inibidor de metaloprotease da matriz (MMP), *i. e.*, as estromelisinas, as colagenases e as gelatinases, bem como a agrecanase; especialmente a colagenase-1 (MMP-1), colagenase-2 (MMP-8), colagenase-3 (MMP-13), estromelisina-1 (MMP-3), estromelisina-2 (MMP-10) e estromelisina-3 (MMP-11) e MMP-9 e MMP-12, incluindo agentes tal como a doxiciclina.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um inibidor da biossíntese de leucotrienos, inibidor de 5-lipoxigenase (5-LO) ou antagonista da proteína de activação da 5-lipoxigenase (FLAP) tais como; zileuton; ABT-761; fenleuton; tepoxalina; Abbott-79175; Abbott-85761; uma N-(5-substituída)-tiofeno-2-alquilsulfonamida; 2,6-di-terc-butilfenol-hidrazonas; um metoxitetra-hidropirano tal como Zeneca ZD-2138; o composto SB-210661; um composto de 2-cianonaftaleno substituído com piridinilo tal como L-739 010; um composto de 2-cianoquinolina tal como L-746 530; ou um composto de indole ou quinolina, tais como MK-591, MK-886 e BAY x 1005.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um antagonista de receptor para leucotrienos (LT) B4, LTC4, LTD4 e LTE4 seleccionado do grupo consistindo do fenotiazin-3-los tal como L-651 392; compostos de amidino tal como CGS-25019c; benzoxalaminas tal como ontazolast; benzenocarboximidamidas tal como BIIL 284/260; e compostos, tais como zafirlucaste, ablucaste, montelucaste, pranlucaste, verlucaste (MK-679), RG-12525, Ro-245913, iralucaste (CGP 45715A) e BAY x 7195.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um inibidor de fosfodiesterase (PDE) tal como uma metilxantanina incluindo teofilina e aminofilina; um inibidor selectivo da isoenzima PDE incluindo um inibidor de PDE4 um inibidor da isoforma PDE4D ou um inibidor de PDE5.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um antagonista do receptor de histamina tipo 1, tais como cetirizina, loratadina, desloratadina, fexofenadina, acrivastina, terfenadina, astemizole, azelastina, levocabastina, clorfeniramina, prometazina, ciclizina ou mizolastina; aplicado por via oral, tópica ou parentérica.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um inibidor da bomba de protões (tal como omeprazole) ou um antagonista gastroprotector do receptor de histamina de tipo 2.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um antagonista do receptor de histamina de tipo 4.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um agente simpaticomimético vasoconstritor agonista dos receptores adrenérgicos alfa-1/alfa-2, tais como propil-hexedrina, fenilefrina, fenilpropanolamina, efedrina, pseudoefedrina, cloridrato de nafalozina, cloridrato de oximetazolina, cloridrato de tetra-hidrozolina, cloridrato de xilometazolina, cloridrato de tramazolina ou cloridrato de etilnorepinefrina.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e uma cromona, tais como cromoglicato de sódio ou nedocromilo sódico.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, com um glucocorticóide, tais como flunisolida, acetonido de triancinolona, dipropionato de beclometasona, budesonida, propionato de fluticasona, ciclesonida ou furoato de mometasona.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, com um agente que modula um receptor hormonal nuclear tal como PPAR.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em conjunto com uma imunoglobulina (Ig) ou preparação de Ig ou um antagonista ou anticorpo de modulação da função de Ig tal como anti-IgE (por exemplo, omalizumab).

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e outro agente anti-inflamatório aplicado por via sistémica ou por tópica, tal como talidomida ou um seu derivado, um retinóide, ditranol ou calcipotriol.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e associações de aminossalicilatos e sulfapiridina, tais como sulfassalazina, messalazina, balsalazida e olsalazina; e agentes imunomoduladores, tal como as tiopurinas e corticosteróides tal como a budesonida.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável,

em conjunto com um agente antibacteriano, tais como um derivado de penicilina, uma tetraciclina, um macrólido, uma beta-lactama, uma fluoroquinolona, metronidazole, um aminoglicósido inalado; um agente antiviral incluindo aciclovir, famciclovir, valaciclovir, ganciclovir, cidofovir, amantadina, rimantadina, ribavirina, zanamavir e oseltamavir; um inibidor de protease tal como indinavir, nelfinavir, ritonavir e saquinavir; um inibidor nucleosídico da transcriptase inversa, tais como didanosina, lamivudina, estavudina, zalcitabina ou zidovudina; ou um inibidor não nucleosídico da transcriptase inversa, tais como nevirapina ou efavirenz.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um agente cardiovascular, tais como um bloqueador do canal de cálcio, um bloqueador do receptor adrenérgico beta, um inibidor da enzima de conversão da angiotensina (ACE), um antagonista do receptor de angiotensina-2; um agente hipolipemiante, tais como uma estatina ou um fibrato; um modulador de morfologia da célula sanguínea tal como pentoxifilina; trombolítico, ou um anticoagulante tal como um inibidor da agregação de plaquetas.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um agente do SNC, tais como um antidepressivo (tal como sertralina), um fármaco antiparkinsónico (tal como deprenilo, L-dopa, ropinirole, pramipexole, um inibidor de MAOB, tais como selegina e rasagilina, um inibidor de comP, tal como tasmar, um inibidor de A-2, um inibidor da recaptação de dopamina, um antagonista de NMDA, um agonista de nicotina, um agonista de dopamina ou um inibidor de óxido nítrico-sintase neuronal) ou um

fármaco anti-Alzheimer, tais como donepezil, rivastigmina, tacrina, um inibidor de COX-2, propentofilina ou metrifonato.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um agente para o tratamento de dor aguda ou crónica, tal como um analgésico que actua centralmente ou perifericamente (por exemplo, um opióide ou seu derivado), carbamazepina, fenitoína, valproato de sódio, amitriptilina ou outros agentes antidepressivos, paracetamol ou um agente anti-inflamatório não esteróide.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em conjunto com um agente anestésico local aplicado por via parentérica ou tópica (incluindo inalada) tal como lignocaína ou um seu derivado.

Um composto da presente invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, também pode ser utilizado em associação com um agente antiosteoporose incluindo um agente hormonal tal como raloxifeno, ou um bifosfonato tal como alendronato.

A presente invenção refere-se ainda à associação de um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em conjunto com um: (i) inibidor de triptase; (ii) antagonista do factor de activação de plaquetas (PAF); (iii) inibidor da enzima de conversão de interleucina (ICE); (iv) inibidor de IMPDH; (v) inibidores da molécula de adesão incluindo antagonista de VLA-4; (vi) catepsina; (vii) inibidor de cinase tal como um inibidor de tirosina-cinase (tal como Btk, Itk, Jak3

ou MAP, por exemplo mesilato de Gefitinib ou Imatinib), uma serina/treonina-cinase (tal como um inibidor de uma MAP cinase tal como p38, JNK, proteína-cinase A, B ou C, ou IKK), ou uma cinase envolvida na regulação do ciclo celular (tal como um cinase dependente de ciclina); (viii) inibidor da glucose-6 fosfato-desidrogenase; (ix) antagonista do receptor de quinina-B.sub 1. ou B.sub2.; (x) agente antigota, por exemplo colchicina; (xi) inibidor de xantina-oxidase, por exemplo alopurinol; (xii) agente uricossúrico, por exemplo probenecida, sulfinpirazona ou benzobromarona; (xiii) secretagogo da hormona do crescimento; (xiv) factor de crescimento transformante (TGFβ); (xv) factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGF); (xvi) factor de crescimento de fibroblastos, por exemplo factor de crescimento de fibroblastos básico (bFGF); (xvii) factor de estimulação de colónias de granulócitos macrófagos (GM-CSF); (xviii) creme de capsaicina; (xix) antagonista do receptor de taquicinina NK.sub1. ou NK.sub3., tais como NKP-608C, SB-233412 (talnetant) ou D-4418; (xx) inibidor de elastase tal como UT-77 ou ZD-0892; (xxi)inibidor da enzima de conversão de TNF-alfa (TACE); (xxii) inibidor da óxido nítrico-sintase induzida (iNOS); (xxiii) molécula homóloga do receptor quimiotáctico expressada em células TH2, (tal como um antagonista de CRTH2); (xxiv) inibidor de P38; (xxv) agente de modulação da função dos receptores tipo Toll (TLR), (xxvi) agente de modulação da actividade dos receptores purinérgicos tal como P2X7; (xxvii) inibidor de activação do factor de transcrição, tais como NFkB, API ou STATS; ou (xxviii) um agonista do receptor de glucocorticóides (receptor GR).

Num outro aspecto a presente invenção proporciona uma associação (por exemplo, para o tratamento de COPD, asma ou

rinite alérgica) de um composto de fórmula (I) e um ou mais agentes seleccionados da lista compreendendo:

- um agonista receptor de glucocorticóides não esteróide (receptor GR);

- um inibidor de PDE4 incluindo um inibidor da isoforma PDE4D;

- um modulador da função do receptor de quimiocina (tal como um antagonista do receptor de CCR1);

- um esteróide (tal como budesonida); e

- um inibidor da função cinase de p38.

Um composto da invenção, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, também pode ser utilizado em associação com um agente terapêutico existente para o tratamento de cancro, por exemplo os agentes adequados incluem:

(i) um fármaco antiproliferativo/antineoplásico ou uma associação dos mesmos, como utilizado em oncologia médica, tais como um agente alquilante (por exemplo, cis-platina, carboplatina, ciclofosfamida, mostarda de azoto, melfalano, clorambucil, bussulfano ou um nitrosoureia); um antimetabolito (por exemplo, um antifolato, tais como uma fluoropirimidina como 5-fluorouracilo ou tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinosido, hidroxiureia, gencitabina ou paclitaxel); um antibiótico antitumoral (por exemplo, uma antraciclina, tais

como adriamicina, bleomicina, doxorrubicina, daunomicina, epirrubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina ou mitramicina); um agente antimitótico (por exemplo, um alcalóide de vinca, tais como vincristina, vinblastina, vindesina ou vinorelbina, ou um taxóide, tais como taxol ou taxotere); ou um inibidor de topoisomerase (por exemplo, uma epipodofilotoxina, tais como etoposido, teniposido, amsacrina, topotecano ou uma camptotecina);

(ii) um agente citostático tal como um antiestrogénio (por exemplo, tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno ou iodoxifeno), um regulador negativo do receptor de estrogénio (por exemplo, fulvestrant), um antiandrogénio (por exemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida ou acetato de ciproterona), um antagonista de LHRH ou agonista de LHRH (por exemplo, goserrelina, leuprorrelina ou buserrelina), um progestogénio (por exemplo, acetato de megestrol), um inibidor de aromatase (por exemplo, anastrozole, letrozole, vorazole ou exemestano) ou um inibidor de 5α-redutase tal como finasterida;

(iii) um agente que inibe a invasão por células cancerígenas (por exemplo, um inibidor de metaloproteinases como marimastat ou um inibidor da função do receptor do activador plasminogénico da urocinase);

(iv) um inibidor da função do factor de crescimento, por exemplo: um anticorpo contra o factor de crescimento (por exemplo, o anticorpo anti-erbb2 trastuzumab ou o anticorpo anti-erbb1 cetuximab [C225]), um inibidor da farnesil-transferase, um inibidor de tirosina-cinase ou um inibidor de serina/treonina-cinase, um inibidor da família do factor de crescimento epidérmico (por exemplo, um inibidor de

tirosina-cinase da família de EGFR tal como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib, AZD1839), *N*-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina erlotinib, OSI-774) ou 6-acrilamido-*N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), um inibidor da família do factor de crescimento derivado de plaquetas, ou um inibidor da família do factor de crescimento de hepatócitos;

(v) um agente antiangiogénico tal como um que inibe os efeitos do factor de crescimento do endotélio vascular (por exemplo, o anticorpo anti-factor de crescimento de células endoteliais vasculares bevacizumab, um composto divulgados nos documentos WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 ou WO 98/13354), ou um composto que actua por outro mecanismo (por exemplo, linomida, um inibidor da função da Integrina αvβ3 ou uma angiostatina);

(vi) um agente de deterioração vascular tal como combretastatina A4, ou um composto divulgado nos documentos WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 ou WO 02/08213;

(vii) um agente utilizado em terapia de antimensageiro, por exemplo um dirigido contra um dos alvos listados acima, tal como ISIS 2503, um antimensageiro anti-ras:

(viii) um agente utilizado numa abordagem de terapia de genes, por exemplo abordagens para substituir genes aberrantes, tais como p53 aberrante ou BRCA1 ou BRCA2 aberrante, GDEPT (terapia de profármaco enzimático dirigido para gene) abordagens tais como aquelas que utilizam citosina-desaminase, timidina-cinase ou uma enzima nitro-redutase bacteriana e abordagens para

aumentar a tolerância do doente à quimioterapia ou radioterapia tal como a terapia de genes de resistência a múltiplos fármacos; ou

(ix) um agente utilizado num abordagem imunoterapêutica, por exemplo abordagens *ex vivo* e *in vivo* para aumentar a imunogenicidade das células tumorais do doente, tal como a operação com citocinas, tais como interleucina 2, interleucina 4 ou factor de estimulação de colónias de granulócitos-macrófagos, abordagens para diminuir a anergia de células T, abordagens utilizando células imunitárias transfectadas, tais como células dendríticas transfectadas com citocinas, abordagens utilizando linhas de células tumorais transfectadas com citocinas e abordagens utilizando anticorpos anti-idiotípicos.

Os compostos de fórmula (I) acima podem ser convertidos num seu sal farmaceuticamente aceitável, por exemplo um sal de adição de ácido tal como um cloridrato (por exemplo, um dicloridrato), bromidrato (por exemplo, um dibromidrato), trifluoroacetato (por exemplo, um ditrifluoroacetato), sulfato, fosfato, acetato, fumarato, maleato, tartarato, lactato, citrato, piruvato, succinato, oxalato, metanossulfonato ou *p*-toluenossulfonato.

A invenção será agora ilustrada por referência aos seguintes Exemplos onde foram utilizados os seguintes Métodos Gerais:

Métodos Gerais

Os espectros de RMN de ^{1}H foram registados num instrumento *Inova* de 400 MHz da Varian ou um *Mercury*-VX de 300 MHz da Varian. Os picos centrais do clorofórmio-*d* (δ_H 7,27 ppm), dimetilsulfóxido-d_6 (δ_H 2,50 ppm), acetonitrilo-d_3 (δ_H 1,95 ppm) ou metanol-d_4 (δ_H 3,31 ppm) foram utilizados como referências internas. A cromatografia em coluna foi realizada utilizando sílica gel; sílica 60a de Fisher Scientific, tamanho de partícula 35-70 mícron, Davisll® ou 0,040-0,63 mm, cartuchos pré-empacotados biotage KP-Sil. Salvo indicação em contrário, os materiais de partida estavam comercialmente disponíveis. Todos os solventes e reagentes comerciais foram de pureza laboratorial e foram utilizados como recebidos.

O seguinte método foi utilizado para análise por LC/MS:

Instrumento Agilent 1100; Coluna Waters Symmetry C_{18}, 2,1 x 50 mm; Massa APCI ou multimodo (APCI + ESI; Caudal 1 mL/min; Comprimento de onda 220 nm; Solvente A: água + 0,1% de TFA; Solvente B: acetonitrilo + 0,1% de TFA ; Gradiente 5-95%/B ao longo de 8 min.

A purificação por HPLC preparativa de fase inversa foi realizada utilizando um gradiente de acetonitrilo ou metanol em solução aquosa de TFA a 0,2% ou ácido fórmico aquoso a 0,1% utilizando uma coluna SunFire™ prep C8 OBD™ 5 µm 30 x 100 mm (Waters Corporation) a um caudal de 35 mL/min ou um gradiente de acetonitrilo ou metanol em solução aquosa de acetato de amónio a 0,1% ou ácido fórmico aquoso a 0,1% utilizando uma coluna Xbridge® 50 x 19 mm (Waters Corporation) a um caudal de 18,5 mL/min.

Métodos gerais para os Exemplos 101-115 e 279-285

O seguinte método foi utilizado para análise por LC/MS:

Os compostos finais foram analisados utilizando MS3 e os intermediários utilizando MS4

MS3: Instrumento espectrómetro de massa de quadrupolo ZQ da Waters Micromass ligado a um sistema de LC HP1100 da Hewlett Packard. A injecção da amostra é feita por um amostrador automático Gilson 215. O espectrómetro tem uma fonte de electropulverização a funcionar no modo de ião positivo e negativo. A detecção adicional é conseguida utilizando um detector de dispersão de luz evaporativo Sedex 55. Caudal 1 mL/min; Comprimento de onda 254 nm; Solvente A: água + 0,1% de ácido fórmico; Solvente B: acetonitrilo + 0,1% de ácido fórmico ; Gradiente 5-95% de B ao longo de 20 min

MS4: Instrumento espectrómetro de massa de quadrupolo simples AQA da Finnigan ligado a um sistema de LC 1050 da Hewlett Packard com detector de matriz de díodos de UV e amostrador automático. O espectrómetro tem uma fonte de electropulverização a funcionar no modo de ião positivo. A detecção adicional é conseguida utilizando um detector de dispersão de luz evaporativo Sedex 65. Caudal 1 mL/min; Comprimento de onda 254 nm; Solvente A: água + 0,1% de ácido fórmico; Solvente B: acetonitrilo + 0,1% de ácido fórmico; Gradiente 5-95% de B ao longo de 5 min.

Os espectros de RMN foram registados em um de três instrumentos:

Um espectrómetro Unity Inova 400 da Varian a funcionar a 400 MHz para o ^{1}H munido de uma sonda de ressonância tripla de detecção inversa de 5 mm para detecção de ^{1}H, ^{13}C, ^{31}P com o campo magnético proporcionado por um íman supercondutor de 9,4 Tesla da Oxford instruments e uma estação de trabalho SunBlade 1000 da Sun Microsystems como hospedeiro.

Um espectrómetro Avance DRX 400 da Bruker a funcionar a 400 MHz para o ^{1}H munido de uma sonda TXI de ressonância tripla de detecção inversa de 5 mm para detecção de ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N com o campo magnético proporcionado por um íman supercondutor de 9,4 Tesla da Oxford instruments e uma estação de trabalho wx5000 da HP a funcionar sob Windows XP com o software WIN-RMN como computador hospedeiro.

Um espectrómetro Bruker Avance DPX 300 a funcionar a 300 MHz para o H1 munido de uma sonda de frequência dupla de 5 mm corrente para detecção de H1 e C13 com o campo magnético proporcionado por um íman supercondutor de 7,05 Tesla da Bruker e uma estação de trabalho da HP a funcionar sob Windows 2000 com o software XWIN-RMN da Bruker como hospedeiro.

A cromatografia em coluna foi realizada utilizando sílica gel: cartuchos RediSep®Rf da Teledyne Isco, Inc. pré-empacotados com sílica gel 60 da Fluka, tamanho de partícula 35-70 mícron ou cartuchos de SPE pré-empacotados Isolute Flash Si II. Todos os solventes e reagentes comerciais foram de pureza laboratorial e foram utilizados como recebidos.

A purificação por HPLC preparativa de fase inversa foi realizada utilizando um gradiente de acetonitrilo em solução

aquosa de TFA a 0,1% ou ácido fórmico aquoso a 0,1% utilizando uma coluna Phenomenex Gemini® C18 (250 x 21,2 mm, 5 mícron) como fase estacionária a um caudal de 18 mL/min.

As abreviaturas ou termos utilizados nos exemplos têm os significados seguintes:

SCX:	Troca catiónica forte – Extracção em fase sólida baseada em sílica com um adsorvente de ácido sulfónico
HPLC:	Cromatografia líquida de alta eficiência
DCM:	Diclorometano
DMF:	*N,N*-Dimetilformamida
NMP:	1-Metilpirrolidin-2-ona
THF:	tetra-hidrofurano
TFA:	ácido trifluoroacético
DMSO:	dimetilsulfóxido
aq:	aquosa
h:	horas
min:	minutos
g:	gramas
mL:	mililitros
TA:	temperatura ambiente
MP-TsOH65:	resina de troca iónica ligada a polímero macroporoso fornecida por Biotage.
HATU	Hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio
NBS	*N*-bromossuccinimida
T3P	Anidrido do ácido propanofosfónico
TBAF	fluoreto de tetrabutilamónio
CDI	1,1'-Carbonildiimidazole
MTBE	Éter *terc*-butilmetílico

MCPBA Ácido meta-cloroperbenzóico

Cartucho bond elute NH_2 da Varian: troca aniónica forte. Extracção em fase sólida baseada em sílica com um adsorvente de NH_2

O sal de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo foi adquirido de WuXi Pharma Tech

O acetato ou sal de HCl de 7-[(1*R*)-2-amino-1-hidroxi-etil]-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) tem 86-94% ee

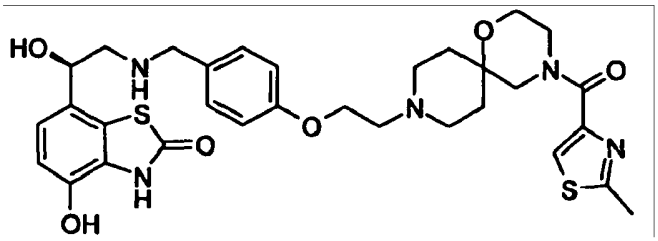
A (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) tem 92-96% ee

Software de atribuição de nomes para os compostos em epígrafe/subepígrafe:

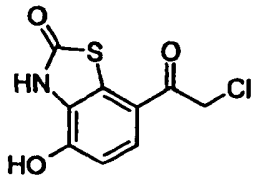
Struct=Name 9.0.7 da CambridgeSoft Corporation

Exemplo 1

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 7-(2-Cloro-acetil)-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona

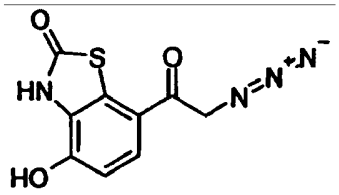


Foi adicionado etanol (1500 mL) a uma mistura de 7-acetil-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona (150 g) (documento WO2004/016578) e dicloroiodato de benziltrimetilamónio (374 g) num balão equipado com um agitador vertical suspenso. A mistura foi aquecida a 78 °C durante 1 h e deixada arrefecer até à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi vertida para água (2 L), e o precipitado recolhido por filtração, lavado com água, filtrado até quase à secura e suspenso em acetato de etilo. A mistura foi aquecida até refluxo e deixada arrefecer até à temperatura ambiente sob agitação. O sólido foi recolhido por filtração, lavado com acetato de etilo frio (200 mL), em seguida ressuspenso em éter dietílico (1 L). O

sólido foi recolhido, novamente filtrado e lavado com éter (200 mL) e seco *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 164 g.

m/z 244 $(M+H)^+$ (APCI)

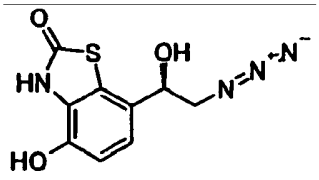
b) 7-(2-Azido-acetil)4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona



7-(2-Cloro-acetil)-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona (exemplo 1, passo a) (331 g) foi dissolvida em *N,N*-dimetilformamida (1800 mL) e agitada num banho de gelo durante 10 minutos. Foi adicionada azida de sódio (88,3 g) em porções ao longo de 15 minutos. A reacção foi agitada durante 72 horas e em seguida a mistura reaccional foi dividida em 3 porções iguais e cada uma foi desactivada separadamente em gelo e água (2,5 L). O sólido foi filtrado e lavado com água (1 L) e ressuspenso em acetonitrilo (1,5 L). O solvente foi evaporado e foi adicionada mais uma porção de acetonitrilo (1 L) e o solvente novamente evaporado para secar o produto. Foi adicionado éter dietílico (1,5 L) e a mistura agitada para conseguir uma suspensão homogénea. O sólido foi recolhido e seco *in vacuo* a 35 °C durante 24 horas para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 285 g.

m/z 251 $(M+H)^+$ (APCI)

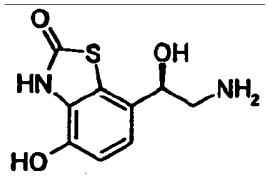
c) 7-[(1*R*)-2-Azido-1-hidroxi-etil]-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona



Foi adicionado (1*R*,2*S*)-(+)-*cis*-1-amino-2-indanol (149 g) em porções a complexo de borano-tetra-hidrofurano (1 M em tetra-hidrofurano, 2997 mL) ao longo de 25 minutos mantendo uma temperatura de 20-25 °C. A mistura foi agitada a 20 °C durante mais 30 minutos, arrefecida até 0 °C e adicionada 7-(2-azido-acetil)-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona (exemplo 1, passo b) (250 g) em porções mantendo a temperatura 0 - 5 °C. A mistura reaccional foi agitada durante mais 1 h a 0 °C e em seguida desactivada gota a gota com metanol (350 g, 442 mL) (cuidado efervescência!). Uma exotérmica levou a temperatura até 17 °C. A reacção foi evaporada até uma espuma castanha e redissolvida em acetato de etilo (1,2 L). Foi adicionado ácido clorídrico aquoso (87 mL de HCl conc. em 1,2 L de água) e a mistura agitada vigorosamente durante 30 minutos. A camada aquosa foi separada e lavada com acetato de etilo fresco (2 x 600 mL). A solução orgânica combinada foi lavada com água (1,2 L). A camada aquosa foi filtrada através de Celite e extraída com acetato de etilo (600 mL). As soluções de acetato de etilo foram combinadas, secas sobre Na_2SO_4, filtradas e evaporadas. O sólido resultante foi suspenso em 5% de etanol/diclorometano (2 L), agitado durante 3 h, filtrado e seco *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 213 g.

m/z 253 $(M+H)^+$ (APCI)

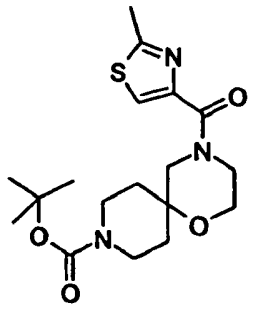
d) 7-[(1*R*)-2-Amino-1-hidroxi-etil]-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona, sal de acetato



Foi adicionada pasta de paládio sobre carvão a 5% tipo 87L (22 g) a 7-[(1*R*)-2-azido-1-hidroxi-etil]-4-hidroxi-3H-benzotiazol-2-ona (exemplo 1, passo c) (225 g) dissolvida em etanol (3 L). A reacção foi agitada sob hidrogénio (3 bar) durante 48 h. Foi adicionado mais 10 g do catalisador e a hidrogenação continuou durante mais 5 dias. A mistura reaccional foi filtrada e o sólido (produto + catalisador) suspenso em etanol (2,5 L), em seguida, foi adicionado ácido acético (150 mL) e tudo agitado de um dia para o outro. A mistura foi novamente filtrada para remover o catalisador de paládio sobre carvão. A solução foi evaporada até à secura e submetida a evaporação azeotrópica com tolueno (2 x 1 L). O sólido foi suspenso em tetra-hidrofurano (1 L) durante 4 horas, filtrado e seco a 40 °C *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 57 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 6,85 (d, 1H), 6,69 (d, 1H), 4,54 (dd, 1H), 2,78-2,67 (m, 2H) + 5 protões permutáveis

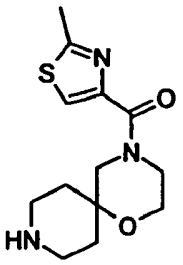
e) 4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro-[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (solução 1,57 M em THF, 4,18 mL) a uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (1,92 g), ácido 2-metiltiazole-4-carboxílico (0,94 g) e trietilamina (5,48 mL) em DMF (70 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 16 h. A mistura reaccional foi vertida para água (500 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 200 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (2 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 2,30 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,95 (s, 1H), 3,80-3,45 (m, 8H), 3,18-2,96 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 1,77-1,62 (m, 2H), 1,43-1,31 (m, 11H)

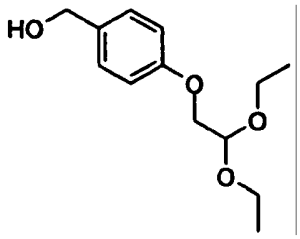
f) Cloridrato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (10 mL) a uma solução de 4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 1, passo e) (2,3 g) em DCM (50 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 16 h. O solvente foi evaporado *in vacuo*. Foi adicionado tolueno (50 mL) e a mistura evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (20 mL) e aplicado num cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol (250 mL) e eluído com solução de amónia 3 M em metanol (150 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo, dissolvido em MeCN (100 mL). Foi adicionado HCl (solução 1 M em éter dietílico, 10 mL) e o solvente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 1,90 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 9,16 (s, 2H), 7,92 (s, 1H), 4,25 (s, 4H), 3,66-3,58 (m, 2H), 3,12-2,90 (m, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,01-1,89 (m, 2H), 1,85-1,73 (m, 2H).

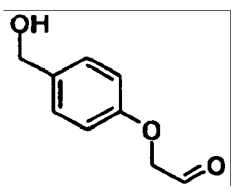
g) [4-(2,2-Dietoxi-etoxi)-fenil]-metanol



Foi adicionado carbonato de césio (39,4 g) a uma solução de 4-hidroximetil-fenol (10 g) e 2-bromo-1,1-dietoxietano (12,73 mL) em DMF (200 mL) e a mistura resultante foi agitada a 90 °C durante 16 h. A reacção foi vertida para água (500 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 250 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (250 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (250 mL), em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com um gradiente de iso-hexano até éter dietílico para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 9,5 g.

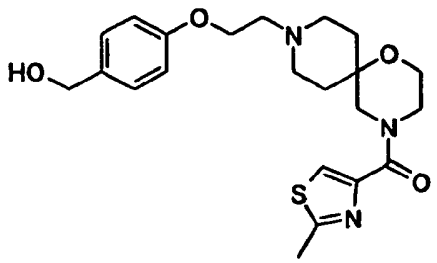
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,29-7,25 (m, 2H), 6,93-6,88 (m, 2H), 4,83 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,00 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 3,81-3,72 (m, 2H), 3,68-3,58 (m, 2H), 1,25 (t, J = 7,0 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

h) 2-(4-(Hidroximetil)fenoxi)acetaldeído



Foi adicionado HCl 2 M (4 mL) a uma solução de (4-(2,2-dietoxietoxi)fenil)metanol (exemplo 1, passo g) (0,9 g) em acetona (20 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 16 h à temperatura ambiente. A reacção foi concentrada *in vacuo* e a solução aquosa resultante extraída com acetato de etilo (3 x 20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente, a qual foi utilizada directamente no passo seguinte. Rendimento 0,50 g.

i) (9-2-(4-(Hidroximetil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

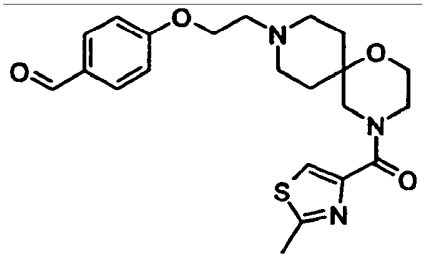


Foi adicionado cloridrato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 1, passo f) (0,38 g) a uma solução de 2-(4-(hidroximetil)fenoxi)acetaldeído (exemplo 1, passo h) (0,17 g) em NMP (10 mL) e ácido acético (0,06 mL). A mistura resultante foi agitada durante 30 min, em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,32 g) e a reacção deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 16 h. A reacção foi diluída com metanol (30 mL) e aplicada num cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol (250 mL) e eluído com solução de amónia 3 M em metanol (150 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo

purificado por cromatografia em coluna eluindo com acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,32 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,86 (s, 1H), 7,23-7,16 (m, 2H), 6,85 (dt, J = 8,7, 1,1 Hz, 2H), 4,72-4,62 (m, 1H), 4,44-4,38 (m, 2H), 4,10-3,99 (m, 2H), 3,66 (d, J = 6,7 Hz, 4H), 3,61-3,55 (m, 2H), 2,71-2,64 (m, 5H), 2,47-2,42 (m, 4H), 1,76-1,64 (m, 2H), 1,59-1,45 (m, 2H).

j) 4-(2-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzaldeído

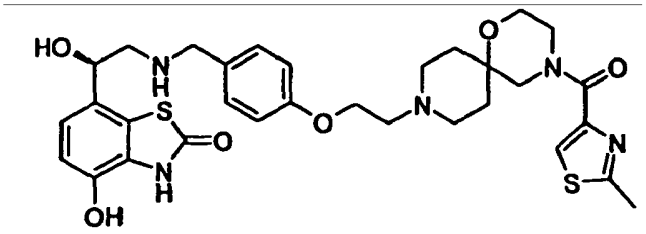


Foi adicionado dióxido de manganês (0,65 g) a uma solução de (9-(2-(4-(hidroximetil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (0,32 g) (exemplo 1, passo i) em DCM (20 mL) e a suspensão preta resultante aquecida sob refluxo durante 1 h. Depois de arrefecer a mistura reaccional foi feita passar através de uma almofada de Celite. A almofada foi lavada com DCM (2 x 30 mL) e o filtrado e lavagens combinados evaporados *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,25 g.

m/z 430 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9,86 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,88-7,83 (m, 2H), 7,13 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 4,26-4,11 (m, 2H), 3,77-3,46 (m, 6H), 2,78 - 2,65 (m, 5H), 2,48-2,34 (m, 4H), 1,76-1,36 (m, 4H).

k) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado HCl (solução 2 M em éter, 0,29 mL) a uma solução de acetato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (exemplo 1, passo d) (0,17 g) em NMP (1 mL) e a mistura agitada durante 10 min. A solução resultante foi adicionada a uma solução de 4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzaldeído (exemplo 1, passo j) (0,25 g) em NMP (4 mL) e agitada durante 1 h. A reacção foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,19 g) em porções. A mistura resultante foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 16 h. A reacção foi partilhada entre tampão de fosfato a pH 7,2 (50 mL) e acetato de etilo (50 mL). As camadas foram separadas e a aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). A fase aquosa foi basificada com bicarbonato de sódio e extraída com acetato

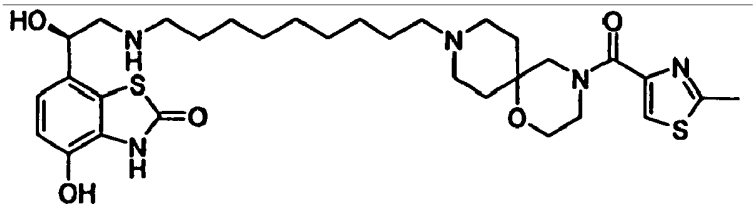
de etilo (3 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em acetonitrilo (50 mL) e acidificado com ácido trifluoroacético (1 mL). Foi adicionado tolueno (50 mL) e a mistura evaporada *in vacuo*. A goma resultante foi dissolvida numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 10 mL) e filtrada. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,35 g.

m/z 640 $(M+H)^+$ (APCI)

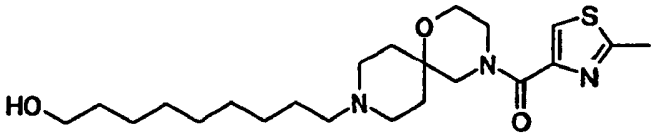
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,46 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,03 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,89 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,93 - 4,87 (m, 1H), 4,40 - 4,35 (m, 2H), 4,19 - 4,13 (m, 2H), 3,76 - 3,63 (m, 6H), 3,58 - 3,51 (m, 2H), 3,43 - 3,35 (m, 2H), 3,30 - 3,14 (m, 2H), 3,03 - 2,96 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,11 - 1,99 (m, 2H), 1,92 - 1,78 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 2

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

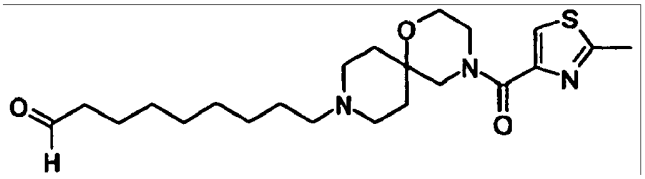


Foi adicionado 9-bromononan-1-ol (0,29 g) a uma suspensão de cloridrato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 1, passo f) (0,4 g) numa mistura de trietilamina (0,41 mL) e acetonitrilo (10 mL). A mistura resultante foi agitada durante 16 h a 50 °C. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (30 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (30 mL). As camadas foram separadas e a aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 30 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (10 mL) e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O

cartucho foi lavado com metanol (10 mL) e eluído com solução de amónia 3 M em metanol (100 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,32 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,95 (s, 1H), 4,30 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,78-3,44 (m, 8H), 3,42-3,33 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,35-2,14 (m, 8H), 1,71-1,57 (m, 2H), 1,55-1,19 (m, 12H).

b) 9-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonanal

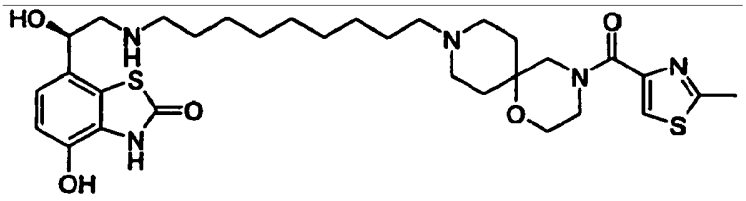


Foram adicionados DMSO (0,32 mL) e trietilamina (0,32 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro-[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 2, passo a) (0,32 g) em diclorometano (5 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo-sal e foi adicionado piridina-trióxido de enxofre (0,36 g). A reacção foi agitada a -10 °C durante 1 h, em seguida deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante mais 3 h. A reacção foi diluída com DCM (20 mL), em seguida vertida para solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL). As camadas foram separadas e a camada orgânica lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo: trietilamina

47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,25 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9,66 (t, J = 1,6 Hz, 1H), 7,95 (s, 1H), 3,72-3,46 (m, 8H), 3,31 (s, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,44-2,18 (m, 8H), 1,73-1,14 (m, 12H)

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



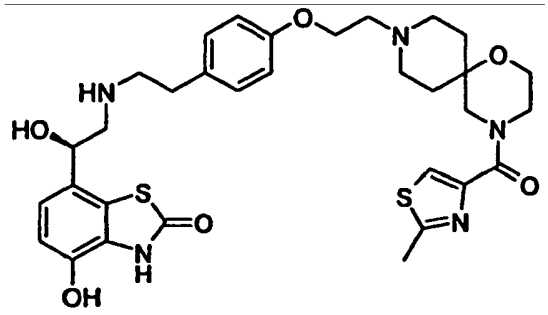
Foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,17 g) a uma solução de 9-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonanal (exemplo 2, passo b) (0,23 g) e ácido acético (0,03 mL) em metanol (15 mL). A mistura resultante foi agitada durante 10 min e arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,17 g) e a mistura agitada durante 16 h. A reacção foi concentrada *in vacuo* e o resíduo dissolvido numa mistura de água e acetonitrilo (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi triturado com éter e evaporado para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,15 g.

m/z 632 $(M+H)^+$ (APCI)

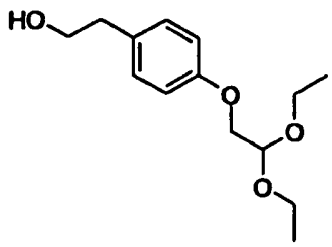
RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,42 (s, 1H), 10,75 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,02-4,93 (m, 1H), 3,78-3,56 (m, 6H), 3,33-3,23 (m, 1H), 3,07-2,88 (m, 8H), 2,69 (s, 3H), 2,07-1,89 (m, 4H), 1,75-1,62 (m, 4H), 1,3 -1,24 (m, 10H) + 1 protão obscurecido pelo solvente pico.

Exemplo 3

Dicloridrato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



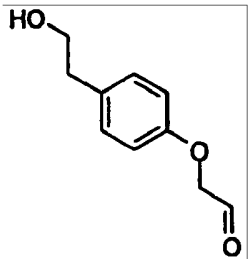
a) 2-(4-(2,2-Dietoxietoxi)fenil)etanol



Foi adicionado carbonato de césio (28,3 g) a uma solução de 4-(2-hidroxietil)fenol (10 g) e 2-bromo-1,1-dietoxietano (11,79 mL) em DMF (150 mL). A suspensão resultante foi aquecida a 90 °C durante 16 h. A reacção foi vertida para água (500 mL). A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 200 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (200 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (200 mL), em seguida secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano até acetato de etilo:isso-hexano 1:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 10 g.

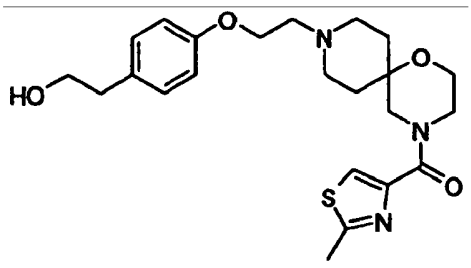
RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,14 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 6,88 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 4,83 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,00 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 3,87-3,70 (m, 4H), 3,70-3,56 (m, 2H), 2,81 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,25 (t, J = 6,9 Hz, 6H). OH não observado.

b) 2-(4-(2-Hidroxietil)fenoxi)acetaldeído



Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (5 mL) a uma solução de 2-(4-(2,2-dietoxietoxi)fenil)etanol (exemplo 3, passo a) (0,76 g) em 1,4-dioxano (10 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 1 h. A reacção foi diluída com água (50 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe, o qual foi utilizado directamente. Rendimento 0,35 g.

c) (9-(2-(4-(2-Hidroxietil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

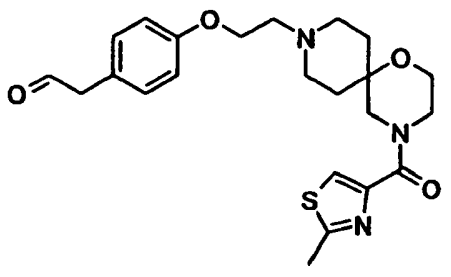


Foi adicionado cloridrato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 1, passo f)

(0,63 g) a uma solução de 2-(4-(2-hidroxietil)fenoxi)acetaldeído (exemplo 3, passo b) (0,541 g) numa mistura de NMP (10 mL) e ácido acético (0,11 mL). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 30 min, em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,64 g) e a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 16 h. A reacção foi diluída com metanol (30 mL) e aplicada a um cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol (100 mL) e eluído com solução de amónia 3 M em metanol (100 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como um óleo castanho. Rendimento 0,74 g.

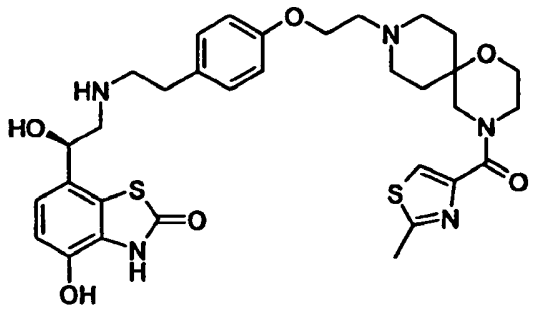
RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,86 (s, 1H), 7,09 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,84-6,77 (m, 2H), 4,24-4,15 (m, 1H), 4,02 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,68-3,54 (m, 8H), 3,00 (s, 2H), 2,71 - 2,61 (m, 5H), 2,51-2,42 (m, 4H), 1,75-1,65 (m, 2H), 1,59-1,45 (m, 2H).

d) 2-(4-(2-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenil)acetaldeído



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,04 mL) a uma solução de 9-(2-(4-(2-hidroxietil)fenoxi)etil)-4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4-aza-9-azoniaespiro[5.5]undecano (exemplo 3, passo c) (0,22 g) em DCM (3 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionada periodinano de Dess-Martin (0,31 g) e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (0,5 mL), solução de bicarbonato de sódio (0,5 mL) e éter (5 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. A camada orgânica foi separada e lavada com solução de bicarbonato de sódio (1 mL) e água (1 mL), em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente que foi imediatamente utilizado. Rendimento 0,19 g.

e) Dicloridrato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,10 g) a uma solução de 2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-

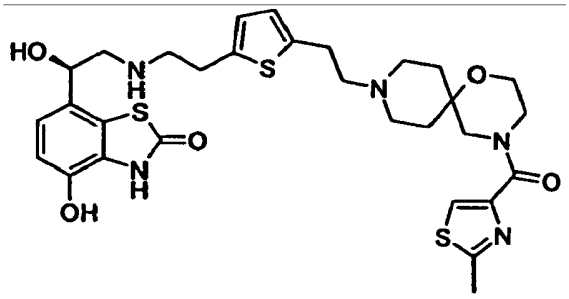
il)etoxi)fenil)acetaldeído (exemplo 3, passo d) (0,14 g) e ácido acético (0,02 mL) em metanol (1 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,103 g), a reacção foi agitada durante 10 min e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em acetonitrilo (5 mL) e foi adicionado HCl em éter (1 M, 2 mL), em seguida o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,075 g.

m/z 654 $(M+H)^+$ (APCI)

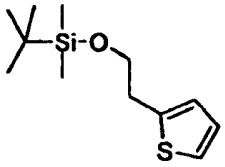
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,50-11,14 (m, 2H), 9,22 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,20 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,98-6,92 (m, 3H), 6,78 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,0 -4,96 (m, 1H), 4,42 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 3,83 - 3,55 (m, 5H), 3,52-3,43 (m, 5H), 3,22-3,04 (m, 4H), 3,01-2,93 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,11-1,93 (m, 4H) + 2 protões obscurecidos pelo solvente.

Exemplo 4

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



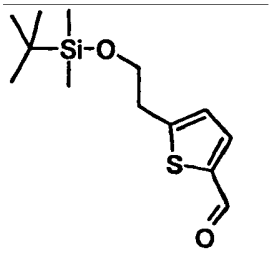
a) *terc*-Butildimetil(2-(tiofen-2-il)etoxi)silano



Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (12,66 g) em porções a 2-(2-tienil)etanol (9,0 g) e imidazole (5,7 g) em DMF (35 mL). A solução resultante foi agitada durante 18 h. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e água. A camada orgânica foi lavada com água, seca sobre sulfato de sódio e os solventes evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com acetato de etilo:iso-hexano 99:1 a 96:4 para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 16 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,13 (d, 1H), 6,92 (dd, J = 5,0, 3,2 Hz, 1H), 6,83-6,82 (m, 1H), 3,82 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,03 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 0,97 (s, 9H), 0,03 (s, 6H).

b) 5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído

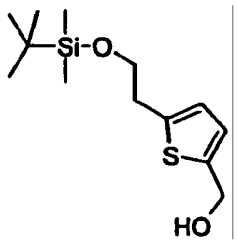


Foi adicionado, gota a gota, n-butil-lítio (2,5 M em hexanos, 30 mL) a uma solução de *terc*-butildimetil(2-(tiofen-2-il)etoxi)silano (exemplo 4, passo a) (16 g) em tetra-hidrofurano (250 mL) a -78 °C. A mistura reaccional foi deixada aquecer até 0 °C e agitada durante 1 h. A reacção foi então arrefecida até -78 °C e foi adicionada DMF (34 mL) ao longo de 10 min. A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 18 h. A mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo. A camada orgânica foi separada, lavada com água, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 93:7 para dar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 15,4 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,83 (s, 1H), 7,61 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,96 (d, 1H), 3,86 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,06

(td, J = 6,1, 0,1 Hz, 2H), 0,88 (t, J = 2,9 Hz, 9H), 0,02 (s, 6H).

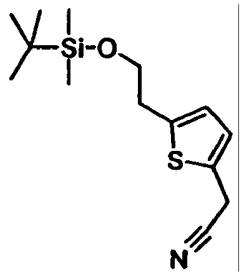
c) (5-(2-(*terc*-Butildimetbilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metanol



Foi adicionado boro-hidreto de sódio (1,74 g) a uma solução de 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (12,4 g) (exemplo 4, passo b) em etanol (120 mL) a 0 °C. A solução resultante foi agitada a 0 °C durante 1 h. A mistura reaccional foi partilhada entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio e acetato de etilo. A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 12,1 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,82 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,75 (d, J = 4,9 Hz, 2H), 3,81 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,99 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,65 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 0,89 (d, J = 2,8 Hz, 9H), 0,03 (d, J = 3,1 Hz, 6H).

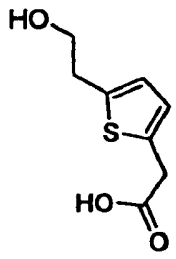
d) 2-(5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)acetonitrilo



Foram adicionados trifenilfosfina (13,04 g) e tetrabrometo de carbono (15,71 g) numa porção a uma solução de (5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metanol (exemplo 4, passo c) (10,94 g) em DCM (20 mL) a 0 °C. A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h. A mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado cianeto de tetraetilamónio (8,96 g). A mistura foi diluída com diclorometano (10 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 40 min. A mistura reaccional foi partilhada entre diclorometano e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 95:5 até 94:6 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 7,6 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,87-6,84 (m, 1H), 6,70-6,68 (m, 1H), 3,84 (d, J = 0,8 Hz, 2H), 3,80 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,97 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 0,89 (s, 9H), 0,03 (s, 6H).

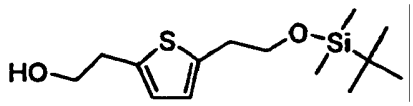
e) Ácido 2-(5-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)acético



Foi adicionada uma solução de 2-(5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-tiofen-2-il)acetonitrilo (exemplo 4, passo d) (3 g) em etanol (30 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de hidróxido de potássio (1,20 g) em água (30 mL). A mistura resultante foi agitada a 100 °C durante 4 horas. A reacção foi concentrada *in vacuo* e a mistura resultante foi partilhada entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio e acetato de etilo. A camada aquosa foi arrefecida com gelo, acidificada por adição gota a gota de ácido clorídrico concentrado e extraída três vezes com acetato de etilo. As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e o solvente evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 1,75 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 12,44 (s, 1H), 6,72 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 6,67 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 3,71 (s, 2H), 3,61 - 3,55 (m, 2H), 2,86 (t, J = 6,8 Hz, 2H).

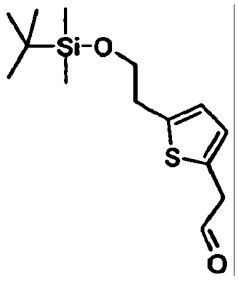
f) 2-(5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)etanol



Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (6,63 g) em porções a uma solução de imidazole (2,99 g) e ácido 2-(5-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)acético (3,9 g) (exemplo 4, passo e) em DMF (50 mL) ao longo de 20 minutos. A solução resultante foi agitada durante 1 h. Foi então adicionado THF (50 mL) e a reacção arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionada uma solução de carbonato de potássio (4,05 g) em água (50 mL) e a mistura agitada durante 20 min. A reacção foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi separada e lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em THF (80 mL) e foi adicionado, gota a gota, complexo de borano tetra-hidrofurano (solução 1 M em THF, 62,8 mL). A solução resultante foi agitada durante 2 h e desactivada por adição gota a gota de metanol (30 mL). Os solventes foram então evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 83:17 para dar o composto em subepígrafe como um líquido amarelo. Rendimento 4,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,69-6,63 (m, 2H), 3,87-3,75 (m, 4H), 3,05-2,91 (m, 4H), 0,89 (s, 9H), 0,03 (s, 6H) + protões permutáveis

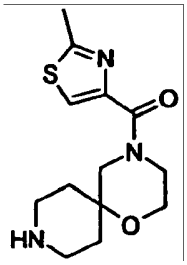
g) 2-(5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)acetaldeído



Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,38 g) a uma solução de 2-(5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)etanol (exemplo 4, passo f) (0,22 g) em diclorometano (5 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 30 min. Foi adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 10 min. A camada orgânica foi separada e lavada com uma solução de solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente que foi imediatamente utilizado. Rendimento 0,21 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,70 (t, J = 2,2 Hz, 1H), 6,73 (s, 2H), 3,83-3,78 (m, 4H), 2,98 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 0,89 (s, 9H), 0,02 (s, 6H)

h) Trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

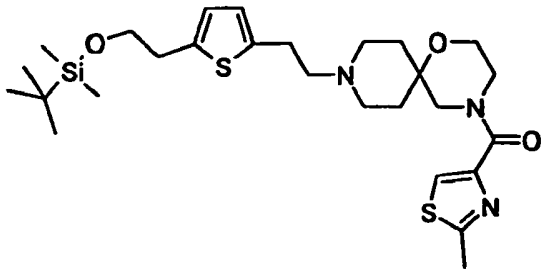


Foi adicionado anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (solução 1,57 M em THF, 2,49 mL) a uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (1 g), ácido 2-metiltiazole-4-carboxílico (0,56 g) e trietilamina (3,26 mL) em DMF (30 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 16 horas à temperatura ambiente. A reacção foi partilhada entre água (500 mL) e acetato de etilo (200 mL). As camadas foram separadas e a camada aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 150 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (2 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), em seguida secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo. O óleo resultante foi dissolvido em diclorometano (30 mL) e foi adicionado gota a gota ácido trifluoroacético (3 mL). Este foi então agitado durante 1 hora e concentrado *in vacuo*. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com tolueno (20 mL). A goma resultante foi triturada com éter para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 1,20 g.

m/z 282 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 8,59-8,18 (m, 2H), 8,00 (s, 1H), 3,86-3,49 (m, 6H), 3,22-2,86 (m, 4H), 2,69 (s, 3H), 2,00-1,90 (m, 2H), 1,74-1,58 (m, 2H).

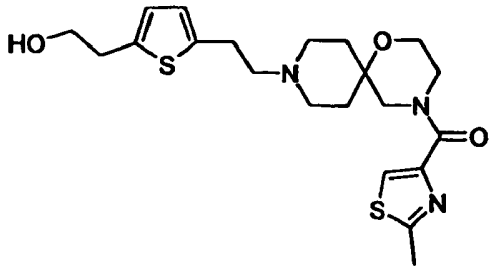
i) (9-(2-(5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)etil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,25 g) a uma solução de 2-(5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)acetaldeído (0,2 g) (exemplo 4, passo g) numa mistura de NMP (5 mL) e ácido acético (0,04 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,22 g). A mistura foi agitada durante 1 h e vertida para tampão a pH 7,2 (50 mL). A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 50 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com tampão a pH 7,2 (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), em seguida secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 4:1:0,05 até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,23 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,86 (s, 1H), 6,62 (s, 2H), 3,76 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,70-3,57 (m, 6H), 3,30 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,91-2,81 (m, 4H), 2,68 (s, 3H), 2,44-2,37 (m, 4H), 1,74-1,66 (m, 2H), 1,58-1,49 (m, 2H), 0,88-0,84 (m, 9H), 0,01-0,00 (m, 6H).

j) (9-(2-(5-(2-Hidroxietil)tiofen-2-il)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

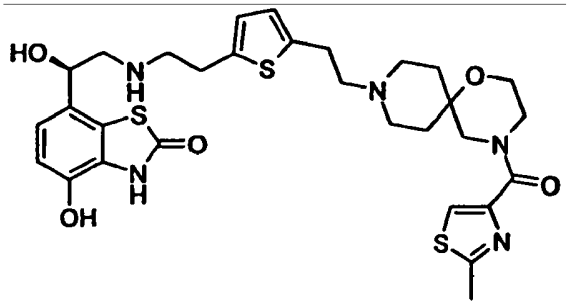


Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (0,5 mL) a uma solução de (9-(2-(5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 4, passo i) (0,235 g) em metanol (5 mL) e a solução resultante foi agitada durante 1 h. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com tolueno e redissolvido em metanol (~2 mL). O resíduo foi dissolvido em metanol (10 mL) e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol (100 mL) e eluído com solução de amónia 1 M

em metanol (100 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,12 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,87 (s, 1H), 6,64 (s, 2H), 4,38 (t, J = 4,9 Hz, 1H), 3,70-3,51 (m, 8H), 2,84 (t, J = 6,7 Hz, 4H), 2,68 (s, 3H), 2,60-2,52.(m, 2H), 2,4-2,38 (m, 4H), 1,76-1,65 (m, 2H), 1,60-1,49 (m, 2H).

k) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,02 mL) a uma solução de (9-(2-(5-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 4, passo j) (0,128 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,15 g) e a mistura agitada durante 10 min. Foi adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram

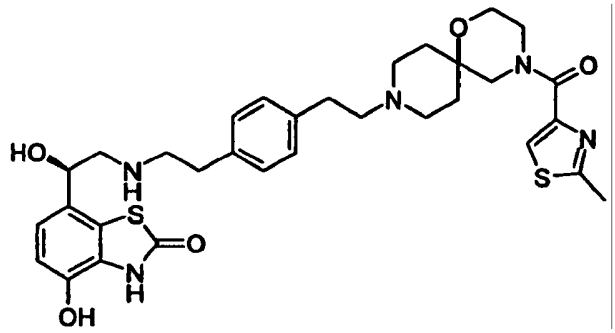
lavadas com uma solução saturada de solução de bicarbonato de sódio (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em MeOH (1 mL). Foi adicionado ácido acético (0,04 mL) seguido de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,19 g) e a mistura foi arrefecida até 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,157 g) e a mistura resultante foi agitada durante 1 h, em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,04 g.

m/z 644 $(M+H)^+$ (APCI)

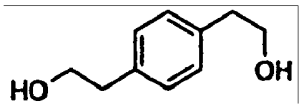
RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,92 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,84-6,73 (m, 3H), 4,89 (dd, J = 7,9, 5,4 Hz, 1H), 3,74-3,62 (m, 6H), 3,44-3,07 (m, 14H), 2,68 (s, 3H), 2,11-1,93 (m, 2H), 1,89-1,72 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 5

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



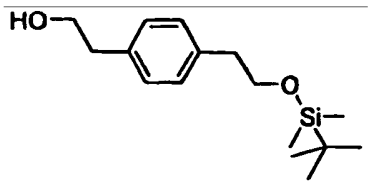
a) 2,2'-(1,4-fenileno)dietanol



Foi adicionado complexo de borano-sulfureto de metilo (solução 2 M em tetra-hidrofurano, 80 mL) ao longo de 20 min a uma solução, mantida sob agitação, de ácido 2,2'-(1,4-fenileno)diacético (10,20 g) em tetra-hidrofurano (100 mL) arrefecida num banho de gelo. Após 16 h, a mistura reaccional foi cuidadosamente desactivada com metanol (40 mL). A solução foi evaporada *in vacuo* e a goma resultante foi partilhada entre acetato de etilo e cloreto de amónio aquoso saturado. A solução de acetato de etilo foi separada, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como goma. Rendimento 8,64 g.

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,18 (s, 4H), 3,86 (t, 4H), 2,85 (t, 4H) + 2 protões permutáveis.

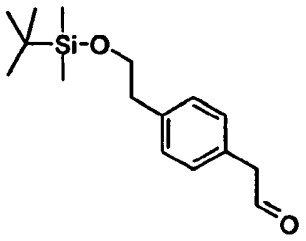
b) 2-{4-[2-(*terc*-Butil-dimetil-silaniloxi)-etil]-fenil}-etanol



Foi adicionado *terc*-butildimetilclorossilano (9,68 mL) a uma solução de 2,2'-(1,4-fenileno)dietanol (exemplo 5, passo a) (8,64 g) e imidazole (10,21 g) em DMF seca (100 mL) arrefecida num banho de gelo. Após 45 min, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo, lavada três vezes com água e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 5:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 6,20 g.

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,21-7,13 (m, 4H), 3,92-3,76 (m, 4H), 2,92-2,76 (m, 4H), 0,89 (s, 9H), 0,02 (s, 6H)

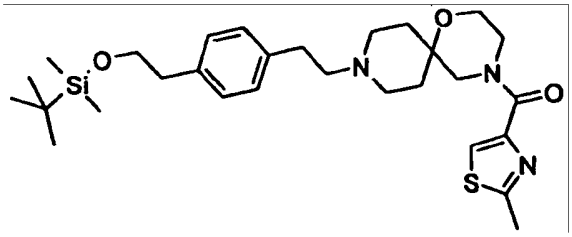
c) 2-(4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)fenil)-acetaldeído



Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,38 g) a uma solução de 2-(4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)fenil)etanol (exemplo 5, passo b) (0,21 g) em diclorometano (5 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 30 min. Foi adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 10 min. A fase orgânica foi separada e lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente que foi imediatamente utilizado. Rendimento 0,20 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,74 (t, J = 2,4. Hz, 1H), 7,23 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,15 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 3,82 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,67 (d, J = 2,6 Hz, 2H), 2,83 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

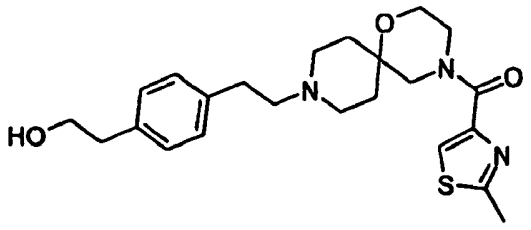
d) (9-(4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,26 g) a uma solução de 2-(4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)fenil)acetaldeído (exemplo 5, passo c) (0,2 g) e ácido acético (0,04 mL) em NMP (5 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,23 g). A mistura foi agitada durante 1 h, vertida para tampão a pH 7,2 (50 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com tampão a pH 7,2 (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 80:15:5 isso-hexano:acetato de etilo:trietilamina até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,30 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 7,12 (s, 4H), 3,80 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,71-3,60 (m, 6H), 2,77-2,67 (m, 7H), 2,46-2,41 (m, 2H), 1,76-1,67 (m, 2H), 1,61-1,51 (m, 2H), 0,87 (s, 9H), 0,02 (s, 6H) + 4 protões obscurecidos pelos picos do solvente.

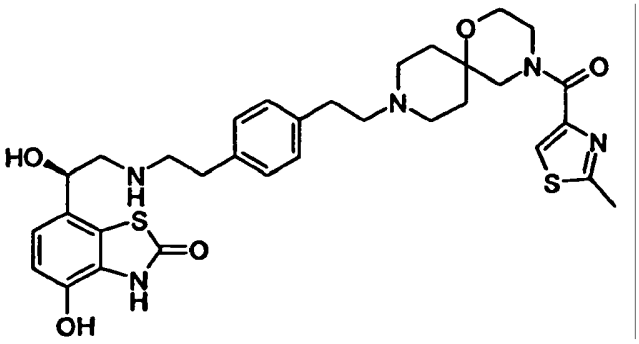
e) (9-(4-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (0,5 mL) a uma solução de (9-(4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 5, passo d) (0,3 g) em metanol (5 mL) e a solução resultante foi agitada durante 1 h. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com tolueno e redissolvido em metanol (~2 mL). O resíduo foi diluído com metanol (10 mL) e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol (100 mL) e eluído com solução de amónia 1 M em metanol (100 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,86 (s, 1H), 7,09 (s, 4H), 4,24 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 3,69-3,55 (m, 8H), 2,68 (s, 3H), 2,45-2,38 (m, 4H), 1,74-1,65 (m, 2H), 1,57-1,48 (m, 2H) + 6 protões obscurecidos pelos picos do solvente.

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)etil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,04 mL) a uma solução de (9-(4-(2-hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 5, passo e) (0,21 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,25 g) e a mistura agitada durante 10 min. Foi adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura agitada durante 10 min. A aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em MeOH (1 mL). Foi adicionado ácido acético (0,04 mL), seguido de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,19 g) e a mistura foi arrefecida até 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,157 g) e a mistura resultante foi agitada durante 1 h

em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco.

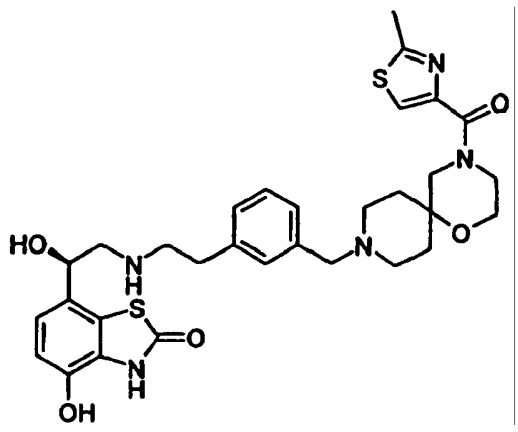
Rendimento 0,17 g.

m/z 638 $(M+H)^+$ (APCI)

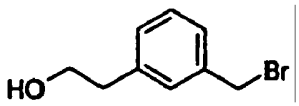
RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,92 (s, 1H), 7,26-7,18 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,96-4,87 (m, 1H), 3,76-2,90 (m, 20H), 2,68 (s, 3H), 2,14-1,75 (m, 4H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 6

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



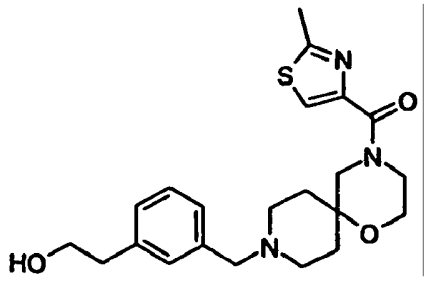
a) 2-(3-(Bromometil)fenil)etanol



Foi adicionado, gota a gota, complexo de borano-sulfureto de dimetilo (solução 2 M em THF, 5,78 mL) a uma solução de ácido 2-(3-(bromometil)fenil)acético (1,06 g) em THF (10 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 10 min. A reacção foi então deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada de um dia para o outro. Foi então adicionado metanol (5 mL) e a mistura concentrada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano até éter dietílico para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 1 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,34-724 (m, 3H), 7,22-7,12 (m, 1H), 4,48 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), OH não observado.

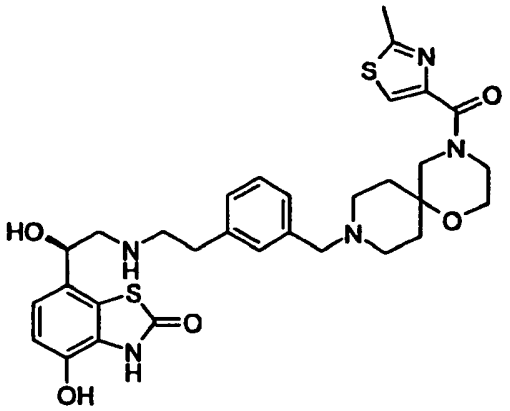
b) 9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,11 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,2 g) e trietilamina (0,17 mL) em acetonitrilo (5 mL) e a mistura resultante foi agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (25 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (25 mL). A camada aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 25 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 80:15:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,15 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,85 (s, 1H), 7,18 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,12-7,04 (m, 3H), 4,24 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,71-3,54 (m, 8H), 3,42 (s, 2H), 2,71 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,38-2,27 (m, 4H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,57-1,47 (m, 2H).

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,03 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 6, passo b) (0,17 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,21 g) e a mistura agitada durante 10 min. Foi adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi redissolvido em metanol (25 mL). Foi adicionado ácido acético (0,04 mL) seguido de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,16 g) e a mistura arrefecida até 0 °C num banho de gelo, antes da adição de

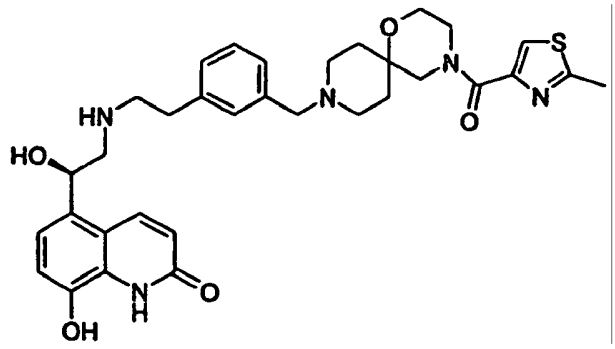
triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,16 g). A mistura resultante foi agitada durante 1 h e concentrada. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1,5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,125 g.

m/z 624 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,90 (s, 1 H), 7,45-7,31 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 4,92 (dd, J = 7,9, 5,1 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,74-3,58 (m, 6H), 3,29-2,97 (m, 10H), 2,67 (s, 3H), 2,13-1,95.(m, 2H), 1,88-1,70 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 7

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,02 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 6, passo b) (0,11 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,14 g) e a mistura agitada durante 10 min. Foi adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura foi agitada durante 10 min. A camada aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em metanol (25 mL). Foi adicionado ácido acético (0,02 mL) seguido de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,09 g) e a mistura arrefecida até 0 °C num banho de gelo, antes da adição de triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,08 g). A mistura resultante foi agitada durante 1 h e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (50 mL) e tampão a pH 7,2 (50 mL). A aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa “880” 95:5:0,5 até 92:8:0,8. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e dissolvidas em THF (1 mL). Foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,05 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi

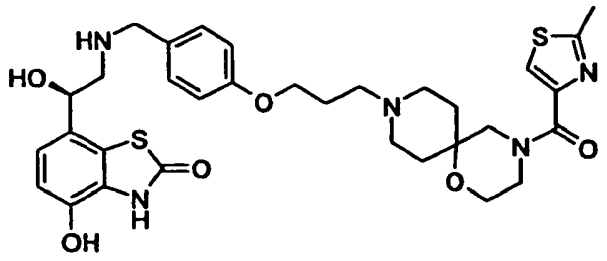
dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1,5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,06 g.

m/z 618 $(M+H)^+$ (APCI)

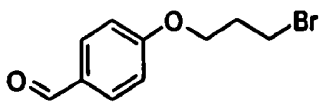
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,16 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 7,90 (s, 1 H), 7,47-7,30 (m, 4H), 7,13 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,35 (dd, J = 8,5, 4,1 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,74-3,57 (m, 4H), 3,32-2,98 (m, 12H), 2,67 (s, 3H), 2,12-1,92 (m, 2H), 1,87-1,67 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 8

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



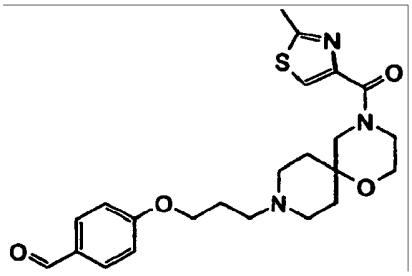
a) 4-(3-Bromopropoxi)benzaldeído



Foi adicionado 1,3-dibromopropano (20,0 g) a uma suspensão, mantida sob agitação, de 4-hidroxibenzaldeído (4,0 g) e carbonato de potássio (7,0.g) em acetona (80 mL). Após 16 h, a mistura foi aquecida sob refluxo durante mais 2 h, arrefecida, filtrada para remover os inorgânicos, e a solução foi evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano para remover o 1,3-dibromopropano e em seguida diclorometano:iso-hexano 2:1 para recolher o composto em subepígrafe. Rendimento 3,45 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,89 (s, 1H), 7,84 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,01 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 4,21 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,62 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,36 (quinteto, J = 6,1 Hz, 2H)

b) 4-(3-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzaldeído

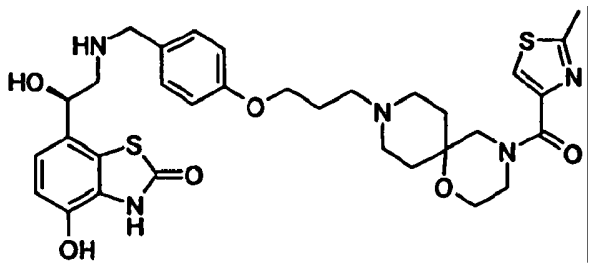


Uma mistura de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo

h) (0,244 g), 4-(3-bromopropoxi)benzaldeído (exemplo 8, passo a) (0,15 g) e trietilamina (0,344 mL) em MeCN (2 mL) foi aquecida a 60 °C. Após 16 h, a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 10:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo. Rendimento 0,24 g.

m/z 444 $(M+H)^+$ (APCI)

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado cloreto de hidrogénio (0,4 mL de uma solução 1 M em éter dietílico) a uma solução, mantida sob agitação, de 4-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)propoxi)benzaldeído (exemplo 8, passo b) (0,15 g) e acetato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (exemplo 1, passo d) (0,15 g) em MeOH (15 mL). Após 5 minutos foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio

(0,05 g). Após 16 h a solução foi concentrada até ~2 mL e em

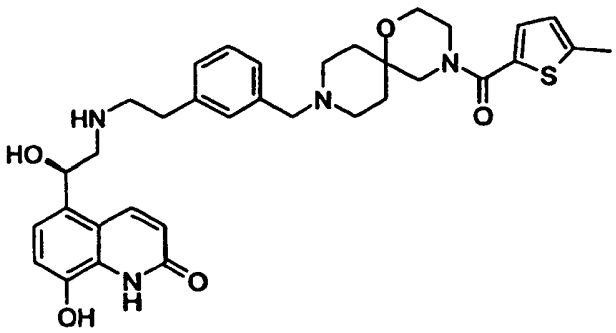
seguida partilhada entre acetato de etilo e tampão de fosfato a pH 7,2 (20 mL). A solução de acetato de etilo foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,045 g.

m/z 654 $(M+H)^+$ (APCI)

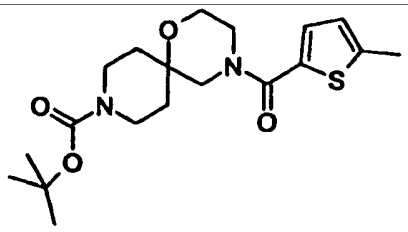
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,92 (s, 1H), 7,42 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,98 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,89 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,91 - 4,84 (m, 1H), 4,18 - 4,04 (m, 4H), 3,78 - 2,94 (m, 14H), 2,71 (s, 3H), 2,19 - 2,00 (m, 4H), 1,85 - 1,66 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 9

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



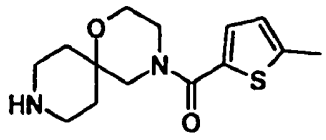
a) 4-(5-Metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado anidrido cíclico do ácido 1-propanofosfónico (solução 1,57 M em THF, 0,64 mL) a uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,26 g), ácido 5-metiltiofeno-2-carboxílico (0,142 g) e trietilamina (0,84 mL) em DMF (8 m) e a mistura resultante foi agitada durante 16 h. A mistura reaccional foi vertida para água (100 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 200 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (2 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), em seguida secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano, 1:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,32 g.

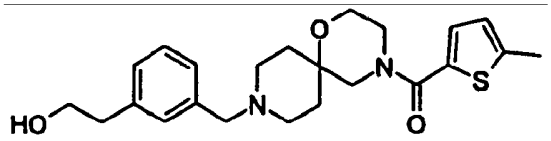
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,11 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,72-6,69 (m, 1H), 3,78 - 3,67 (m, 8H), 3,60 - 3,51 (m, 2H), 3,19 - 3,10 (m, 2H), 2,51 (s, 3H), 1,86 - 1,79 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

b) Trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



4-(5-Metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 9, passo a) (0,32 g) em DCM (3 mL) foi tratado com ácido trifluoroacético (1,0 g). Após 2 h, a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* e submetida a evaporação azeotrópica duas vezes com tolueno para produzir o composto em subepígrafe que foi directamente utilizado. Rendimento 0,32 g.

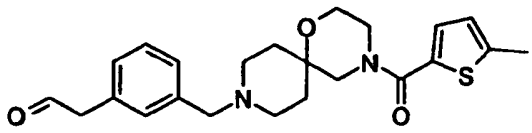
c) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona



Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,136 g) a uma solução, mantida sob agitação, de trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,250 g) e trietilamina (0,278 mL) em MeCN (5 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi concentrada e aplicada a uma coluna de sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 95:5 para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,24 g.

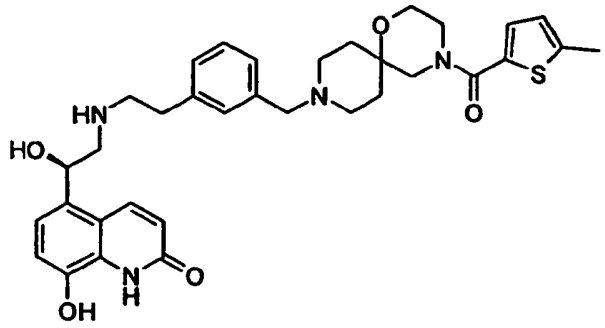
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,28-7,24 (m, 2H), 7,18-7,15 (m, 1H), 7,11-7,08 (m, 2H), 6,70-6,67 (m, 1H), 3,86 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,77-3,69 (m, 4H), 3,56 (s, 2H), 3,48 (s, 2H), 2,86 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,55-2,48 (m, 5H), 2,40-2,32 (m; 2H), 1,89-1,82 (m, 2H), 1,70-1,50 (2Hs sob pico da água). Um protão permutável não observado.

d) 2-(3-((4-(5-Metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,16 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (0,13 g) (exemplo 9, passo c) e ácido trifluoroacético (0,036 g) em DCM (4 mL) sob azoto. Após 0,5 h foram adicionadas solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e a mistura reaccional extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos orgânicos combinados foram lavados com bicarbonato de sódio saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,13 g. Utilizado directamente.

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionada (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,179 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 9, passo d) (0,13 g) e ácido acético (0,031 mL) em MeOH (5 mL). Após 5 minutos foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,114 g). Após outros 15 min. foi adicionado acetato de etilo (30 mL) e a mistura reaccional foi lavada com tampão a pH 7 (30 mL) e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com DCM:MeOH:amónia aquosa "880" 92:7:1 para dar o intermediário sililado. Este intermediário foi dissolvido em THF (2 mL) e adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,062 mL). Após 16 h, a reacção foi evaporada *in vacuo*, adicionado tolueno (150 mL) e a mistura evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas,

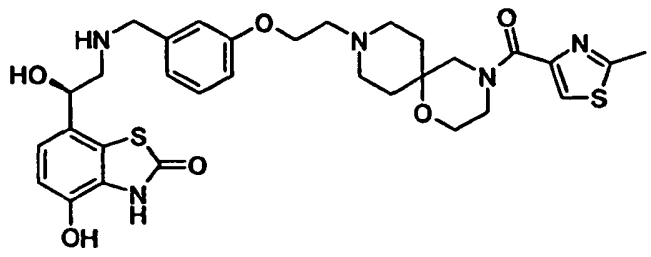
evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico e evaporado in *vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,05 g.

m/z 617 $(M+H)^+$ (APCI)

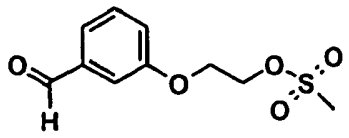
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10,55-10,45 (m, 2H), 9,95-9,84 (m, 0,2H), 9,68-9,57 (m, 0,8H)(rotormeros), 8,97-8,74 (m, 2H), 8,16 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,49-7,33 (m, 4H), 7,29-7,26 (m, 0,2H), 7,25-7,21 (m, 0,8H))(rotormeros), 7,15 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 6,86-6,81 (m, 1H), 6,58 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 6,27-6,18 (m, 1H), 5,37-5,30 (m, 2H), 4,44-4,40 (m, 0,5H), 4,35-4,29 (m, 1,5H), 3,73-3,63 (m, 4H), 3,51-3,46 (m, 2H), 3,31-2,94 (m, 8H), 2,46 (s, 3H), 2,12-2,00 (m, 2H), 1,70-1,58 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

Exemplo 10

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



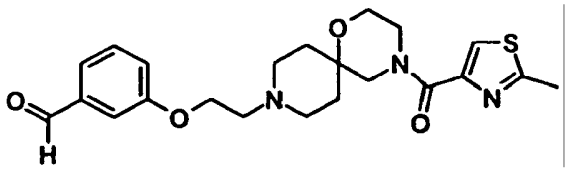
a) Metanossulfonato de 2-(3-formilfenoxi)etilo



Foram adicionados 2-bromoetanol (10,23 g) e carbonato de potássio (11,32 g) a uma solução de 3-hidroxibenzaldeído (5 g) em acetonitrilo (100 mL) e a mistura resultante foi agitada a refluxo durante 72 h. A mistura reaccional foi arrefecida e partilhada entre acetato de etilo e hidróxido de sódio aquoso diluído, gelado. A camada orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em DCM (30 mL) e foi adicionada trietilamina (3,44 mL). A solução foi arrefecida até 0 °C e tratada gota a gota com cloreto de metanossulfonilo (1,89 mL). A mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 10 minutos e em seguida deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 1 h. A mistura foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano 6:4. As fracções puras foram evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 3,50 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,98 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,53-7,46 (m, 2H), 7,41-7,39 (m, 1H), 7,22-7,19 (m, 1H), 4,62-4,59 (m, 2H), 4,34-4,30 (m, 2H), 3,10 (s, 3H).

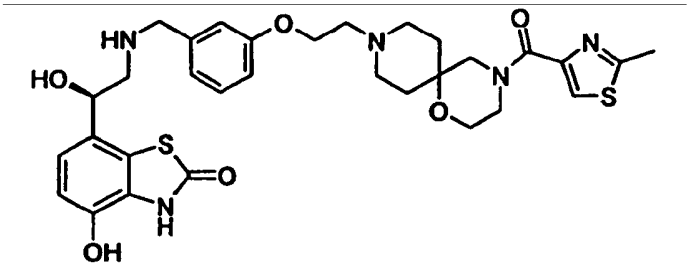
b) 3-(2-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzaldeído



Foi adicionado metanossulfonato de 2-(3-formilfenoxi)etilo (exemplo 10, passo a) (0,38 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,62 g) e trietilamina (0,55 mL) em acetonitrilo (5 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 16 h a 65 °C. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (25 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (25 mL). A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 25 mL). As fases orgânicas foram combinadas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de *iso*-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47:5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,48 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 9,97 (s, 1H), 7,96 (s,1H), 7,56 - 7,40 (m, 3H), 7,32 - 7,25 (m, 1H), 4,14 (s, 2H), 3,75 - 3,47 (m, 6H), 2,80 - 2,62 (m, 5H), 2,55 - 2,37 (m, 4H), 1,74 - 1,40 (m, 4H).

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)bem-zo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado 3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzaldeído (exemplo 10, passo b) (0,24 g) a uma mistura de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) e ácido acético (0,032 mL) em metanol (2 mL). A mistura foi agitada durante 30 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,18 g) e a mistura agitada durante 2 h. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (50 mL) e tampão de fosfato a pH 7,2 (50 mL). A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter e evaporado *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco.

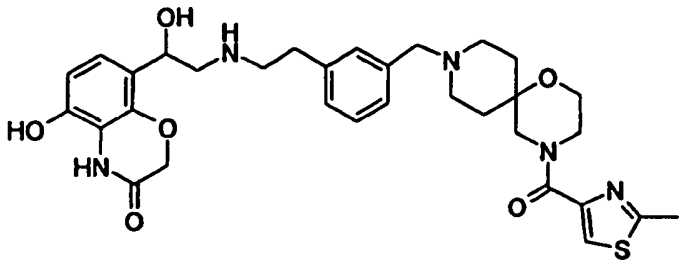
Rendimento 0,21 g.

m/z 640 $(M+H)^+$(APCI)

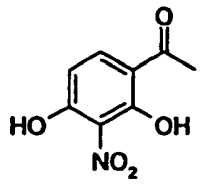
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,37 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,19-7,12 (m, 2H), 7,05 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 6,76 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 4,92 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 4,45-4,31 (m, 2H), 4,26-4,12 (m, 2H), 3,76-3,53 (m, 8H), 3,45-3,36 (m, 2H), 3,31-3,20 (m, 2H), 3,06-3,00 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,1 -1,97 (m, 2H), 1,92-1,80 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 11

Ditrifluoroacetato de 5-hidroxi-8-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 1



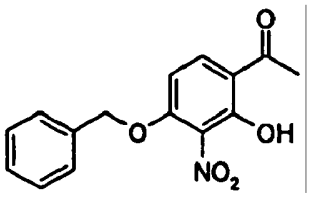
a) 1-(2,4-Di-hidroxi-3-nitrofenil)etanona



Foi adicionado 2-nitrobenzeno-1,3-diol (24,5 g) em porções ao longo de 15 minutos a uma solução, mantida sob agitação vigorosa, de cloreto de alumínio (46,3 g) em nitrobenzeno (325 mL). Foi então adicionado gota a gota anidrido acético (15,7 mL) à mistura ao longo de mais 15 minutos e a mistura em seguida aquecida a 100 °C durante 5 h. A reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente e cuidadosamente desactivada com ácido clorídrico 2 M gelado (300 mL). A mistura foi extraída com éter dietílico (2 x 500 mL) e os extractos de éter dietílico combinados em seguida extraídos com hidróxido de sódio aquoso 2 M (2 x 400 mL). Os extractos básicos combinados foram lavados com éter dietílico (4 x 500 mL) e em seguida acidificados até pH 1 com ácido clorídrico 2 M (700 mL). O precipitado resultante foi filtrado, lavado com água e seco sob vácuo a 40 °C para proporcionar o composto em subepígrafe como um amarelo-sólido castanho. Rendimento 29,5 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz D_6-DMSO) δ 13,32 (s, 1H), 12,31 (s, 1H), 7,98 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 28,2 Hz, 1H), 2,59 (s, 3H).

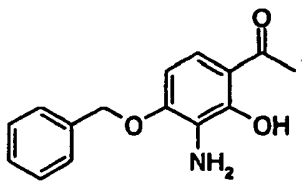
b) 1-(4-(Benziloxi)-2-hidroxi-3-nitrofenil)etanona



Foi adicionado *terc*-butóxido de lítio (4,06 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 1-(2,4-di-hidroxi-3-nitrofenil)etanona (exemplo 11, passo a) (10 g) em DMF (100 mL), sob azoto, enquanto a temperatura interna foi mantida inferior 30 °C. Depois de agitar durante mais 10 minutos à temperatura ambiente, foi adicionado brometo de benzilo (6,03 mL) e a mistura agitada durante mais 20 h. Foi adicionado mais brometo de benzilo (3 mL) e a mistura agitada durante 24 h. A reacção foi desactivada com água (300 mL), foi adicionado hidróxido de sódio aquoso 1 M (50 mL) e a mistura foi lavada com éter dietílico (2 x 300 mL), filtrando através de Celite para ajudar a separação. A solução básica foi arrefecida em gelo/água, acidificada com ácido clorídrico 2 M gelado (200 mL) e o precipitado resultante filtrado, lavado com água e seco para proporcionar um sólido castanho claro. O sólido foi suspenso com etanol (100 mL) durante 1 h e o sólido filtrado, lavado com etanol frio (20 mL) e seco sob vácuo a 40 °C para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho claro. Rendimento 6,8 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 13,04 (s, 1H), 8,14 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,45 - 7,32 (m, 5H), 7,01 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 5,42 (s, 2H), 2,64 (s, 3H) + 3 protões permutáveis não observados.

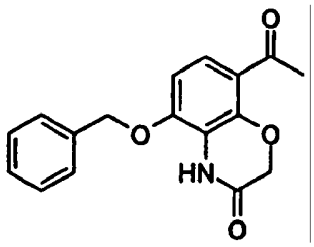
c) 1-(3-Amino-4-(benziloxi)-2-hidroxifenil)etanona



Foi adicionado zinco em pó (5,5 g) em porções a uma suspensão de 1-(4-(benziloxi)-2-hidroxi-3-nitrofenil)etanona (exemplo 11, passo b) (5,5 g) em ácido acético (55 mL) ao longo de 15 minutos, enquanto a temperatura interna foi mantida inferior a 40 °C com um banho de gelo. A mistura foi deixada atingir a temperatura ambiente e agitada durante 2 h. A mistura foi filtrada através de Celite (Cuidado: Fica Quente - não deixar secar), lavada com ácido acético e o filtrado vertido sobre gelo/água (500 mL). O precipitado resultante foi filtrado, lavado com água e seco sob vácuo a 40 °C para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho claro. Rendimento 4,8 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,53 (m, 2H), 7,48 - 7,33 (m, 3H), 7,28 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 5,29 (s, 2H), 2,59 (s, 3H).

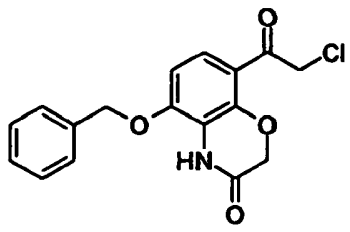
d) 8-Acetil-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona



Foi adicionado gota a gota cloreto de 2-cloroacetilo (1,8 mL) a uma mistura, mantida sob agitação, de 1-(3-amino-4-(benziloxi)-2-hidroxifenil)etanona (exemplo 11, passo c) (5,2 g) e hidrogenocarbonato de sódio (3,74 g) em DMF (30 mL) e em seguida agitada durante 2 h. Foi adicionado carbonato de césio (7,90 g) e a mistura aquecida a 100 °C durante 20 h. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente, desactivada com água (500 mL), extraída com acetato de etilo (2 x 200 mL), lavada com água (3 x 300 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob vácuo. O resíduo sólido foi tratado com éter dietílico, filtrado e seco para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido bege. Rendimento 5,7 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10,33 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,34 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,33 (m, 1H, 6,89 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 5,27 (s, 2H), 4,67 (s, 2H), 3,32 (s, 3H).

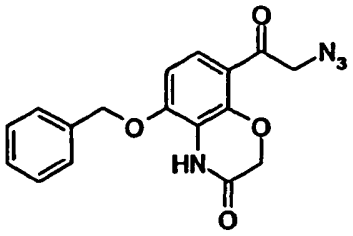
e) 5-(Benziloxi)-8-(2-cloroacetil)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona



Foi adicionado dicloroiodato de benziltrimetilamónio (14,17 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 8-acetil-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona (exemplo 11, passo d) (5,5 g) numa mistura de diclorometano (100 mL), ácido acético (33 mL) e água (5,5 mL) e a mistura reaccional agitada a 65 °C durante 20 h. A reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente, tratada com bissulfito de sódio aquoso (5,78 g em 100 mL) e agitada durante mais 30 min. A mistura foi diluída com éter dietílico (200 mL) e o sólido resultante recolhido por filtração, lavado com água e éter dietílico, e seco sob vácuo a 40 °C para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho claro. Rendimento 5,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 10,41 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,44 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 7,39 (m, 2H), 7,32 (m, 1H), 6,95 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,96 (s, 2H), 4,69 (s, 2H).

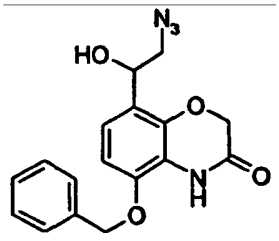
f) 8-(2-Azidoacetil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona



Foi adicionada azida de sódio (1,176 g) a uma suspensão de 5-(benziloxi)-8-(2-cloroacetil)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona (exemplo 11, passo e) (4,8 g) em DMF (50 mL) e agitada durante 2 h. A mistura foi vertida sobre gelo/água e o sólido resultante recolhido por filtração, lavado com água e seco sob vácuo a 40 °C para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho claro. Rendimento 4,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 10,42 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,48 (m, 1H), 7,43 - 7,29 (m, 3H), 6,97 (m, 1H), 5,31 (s, 2H), 4,69 (s, 2H), 4,63 (s, 2H).

g) 8-(2-Azido-1-hidroxietil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 1



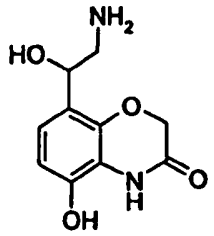
Uma suspensão de 8-(2-azidoacetil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona (exemplo 11, passo f) (2 g) em etanol (80 mL) foi tratada com boro-hidreto de sódio (0,224 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1,5 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O sólido em bruto foi triturado com acetona (20 mL) para proporcionar 1,6 g de produto racémico.

Separação da mistura racémica:

8-(2-Azido-1-hidroxietil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona racémica (2,5 g) foi dissolvida em metanol a uma concentração de 10 mg/mL e separada por HPLC quiral utilizando uma coluna Chiralpak®AS (250 x 50 mm ID, 20 µm de tamanho de partícula) eluída com etanol. As fracções contendo o isómero que eluiu primeiro foram combinadas e concentradas *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,67 g.

m/z 339 $(M-H)^-$ (APCI)

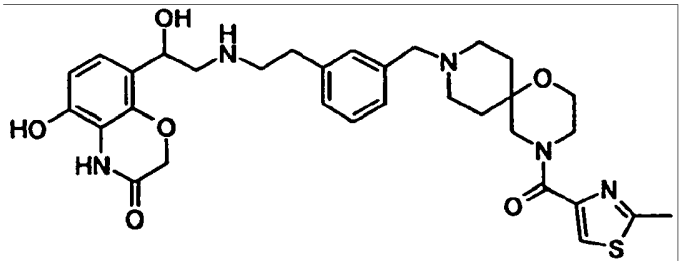
h) Acetato de 8-(2-amino-1-hidroxietil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 1



Uma mistura de 8-(2-azido-1-hidroxietil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 1 (exemplo 11, passo g) (0,67 g) em etanol (30 mL) com catalisador de paládio a 10% sobre carvão (0,210 g) foi agitada vigorosamente sob 4 bar de pressão de hidrogénio durante 18 horas. O catalisador foi filtrado e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em ácido acético (15 mL) e etanol (15 mL) e a mistura agitada com catalisador de paládio a 10% sobre carvão (0,210 g) sob 4 bar de pressão de hidrogénio durante 18 horas. A mistura foi filtrada e foi adicionado catalisador de paládio a 10% sobre carvão fresco (0,210 g) e a agitação sob 4 bar de pressão de hidrogénio continuou durante 18 horas. A mistura foi filtrada e adicionado catalisador de paládio a 10% sobre carvão fresco (0,210 g) e a agitação sob 4 bar de pressão de hidrogénio continuou durante 18 horas. A mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi triturado com acetonitrilo (30 mL) para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,33 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 6,85 (d, 1H), 6,50 (d, 1H), 4,74 - 4,69 (m, 1H), 4,52 - 4,42 (m, 2H), 2,74 - 2,50 (m, 2H), 1,83 (s, 3H). Seis protões permutáveis não observados.

i) Ditrifluoroacetato de 5-hidroxi-8-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-2H-benzo[b][1,4][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 1



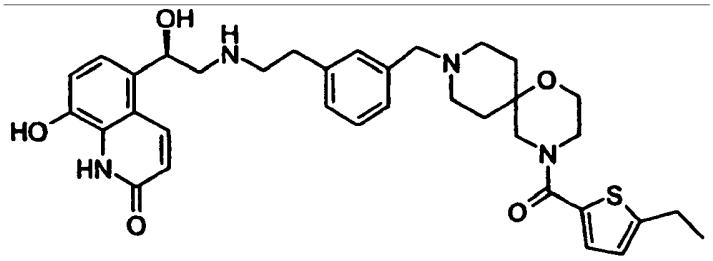
Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 6, passo b) (0,198 g) em DCM (7 mL) foi arrefecida num banho de gelo e tratada com ácido trifluoroacético (0,037 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (303 mg). A mistura foi agitada a 20 °C durante 30 minutos. Foi adicionado mais periodinano de Dess-Martin (303 mg) e a agitação continuou durante mais 30 minutos. A mistura foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (7 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (7 mL) e a totalidade agitada vigorosamente durante 10 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado, gota a gota, a uma solução de acetato de 8-(2-amino-1-hidroxietil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 1 (exemplo 11, passo h) (110 mg) em metanol (5 mL) que tinha sido arrefecido até 0 °C e tratado com ácido acético (0,022 mL) seguido de HCl (1 M em éter, 0,387 mL) e em seguida cianoboro-hidreto de sódio (37 mg). A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante

2 horas. A mistura foi evaporada até um volume de 3 mL e partilhada entre acetato de etilo (30 mL) e tampão aquoso de fosfato (pH = 7,2) (50 mL). A camada aquosa foi acidificada por adição de ácido acético e feita passar através de um cartucho de SCX de 10 g. A coluna foi lavada com água e em seguida purgada com amónia 7 N em metanol para eluir o produto. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi dissolvido em metanol, tratado com ácido acético (0,5 mL) e os solventes removidos sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,059 g. m/z 622 $(M+H)^+$(APCI)

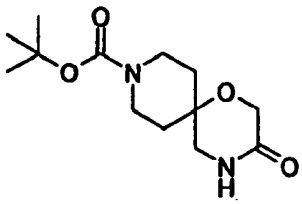
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 9,46 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,46 - 7,30 (m, 4H), 6,93 - 6,89 (m, 1H), 6,58 - 6,55 (m, 1H), 5,13 - 5,05 (m, 1H), 4,52 (s, 2H), 4,28 (s, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,63 (s, 2H), 3,29 - 2,98 (m, 10H), 2,68 (s, 3H), 2,09 - 1,95 (m, 2H), 1,85 - 1,70 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 12

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-((4-(5-etiltiofen-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



a) 3-Oxo-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

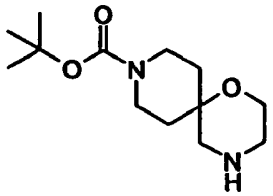


Foi adicionado, gota a gota, cloreto de cloroacetilo (4,88 mL) a uma mistura, mantida sob agitação vigorosa, a 0 °C de carbonato de potássio (17,43 g) em água (78 mL) e 4-(aminometil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (10,4 g) em acetato de etilo (92 mL). Após 30 minutos a 0 °C a mistura foi extraída com acetato de etilo e a camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em THF (200 mL) e adicionado, gota a gota, ao longo de 3 horas a uma solução, mantida sob agitação, sob azoto e aquecida a refluxo de *terc*-butóxido de potássio (1 M em *terc*-butanol, 75 mL) e THF

(250 mL). A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e deixada agitar durante 18 horas. A maior parte do solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada aquosa foi reextraída com acetato de etilo e os orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por trituração com uma mistura de éter (30 mL) e iso-hexano (20 mL) para proporcionar o subproduto em epígrafe. Rendimento 8,20 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) 8 7,95 (s, 1H), 3,97 (s, 2H), 3,72 - 3,62 (m, 2H), 3,10 (d, 2H), 3,05 - 2,93 (m, 2H), 1,77 - 1,69 (m, 2H), 1,53 - 1,43 (m, 2H), 1,40 (s, 9H).

b) 1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

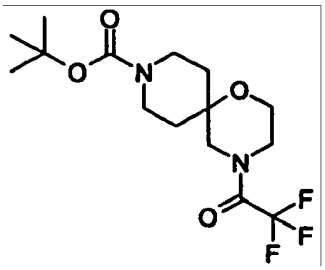


Uma solução de 3-oxo-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 12, passo a) (8,2 g) em THF (100 mL) foi tratada, gota a gota, com complexo de borano-THF (1 M em THF, 91 mL) e a mistura resultante aquecida a 55 °C durante 2 horas. Foi adicionado complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 15,17 mL) e o mistura resultante aquecida a 55 °C durante 2 horas. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e desactivada com metanol, em seguida os

solventes foram evaporados sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (250 mL) e a solução tratada com *N1,N2*-dimetiletano-1,2-diamina (10 g) e a mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 6 horas. Foi adicionado mais *N1,N2*-dimetiletano-1,2-diamina (3 g) e o aquecimento a refluxo continuou durante 6 horas. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e os solventes evaporados sob pressão reduzida, o resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 1% de trietilamina e 5% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 7,40 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3,72 (s, 2H), 3,68 - 3,64 (m, 2H), 3,14 (t, J = 20 Hz, 2H), 2,87 - 2,81 (m, 2H), 2,68 (s, 2H), 1,97 - 1,88 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,44 - 1,36 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

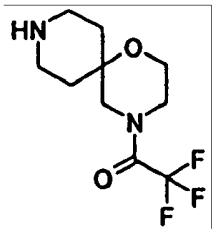
c) 4-(2,2,2-Trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionada, gota a gota, uma solução de anidrido trifluoroacético (0,496 mL) dissolvido em DCM (3 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de trietilamina (0,538 mL) e 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

(exemplo 12, passo b) (0,9 g) em DCM (20 mL) a 0 °C, ao longo de um período de 5 minutos sob azoto. A solução resultante foi agitada a 0 °C durante 30 minutos. Foi adicionada água (20 mL) e a mistura, agitada vigorosamente, agitada durante 10 minutos. A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 40% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1 g. Utilizado directamente sem purificação.

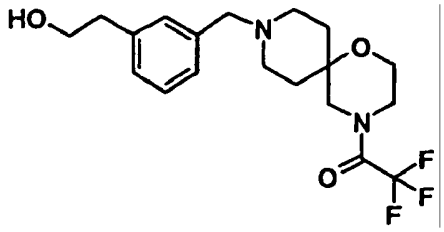
d) Trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (15 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5-5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 12, passo c) (1 g) em DCM (15 mL) a 20 °C. A solução resultante foi agitada a 20 °C durante 10 minutos. Foi adicionado tolueno (50 mL) e os solventes foram evaporados sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,4 g.

m/z 253 $(M+H)^+$ (APCI)

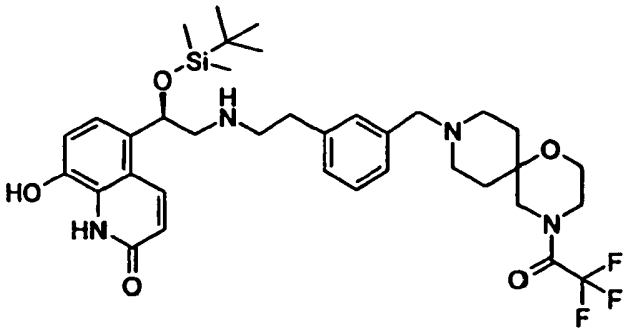
e) 2,2,2-Trifluoro-1-(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona



Foi adicionada, gota a gota, uma solução de 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,223 g) dissolvido em acetonitrilo (1 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de trietilamina (0,318 mL) e trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (0,38 g) em acetonitrilo (2 mL) a 20 °C, ao longo de um período de 2 minutos. A mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado e resíduo foi partilhado entre diclorometano e água, a camada aquosa foi reextraída duas vezes com DCM e os orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 6% de metanol e 1% de trietilamina em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,260 g.

m/z 387 $(M+H)^+$ (APCI)

f) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

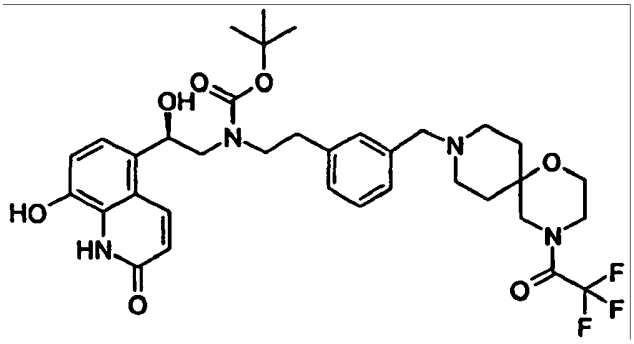


Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,052 mL) a uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo e) (0,26 g) em diclorometano (7,0 mL) a 20 °C. A mistura foi tratada com periodinano de Dess-Martin (0,428 g) e agitada durante 30 minutos a 20 °C. A mistura foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (7,0 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (7,0 mL) e a mistura agitada vigorosamente durante 10 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (7,0 mL), e foram adicionados (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,225 g) e ácido acético (0,039 mL) à mistura arrefecida a 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,214 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 90 minutos. A maior parte do metanol foi evaporado e o remanescente partilhado entre acetato de etilo e tampão aquoso de fosfato (pH = 7,2), a camada

orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 1% de amónia aquosa concentrada e 10% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,144 g.

m/z 703 $(M+H)^+$ (APCI)

g) (*R*)-2-Hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil(3-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil)carbamato de *terc*-butilo

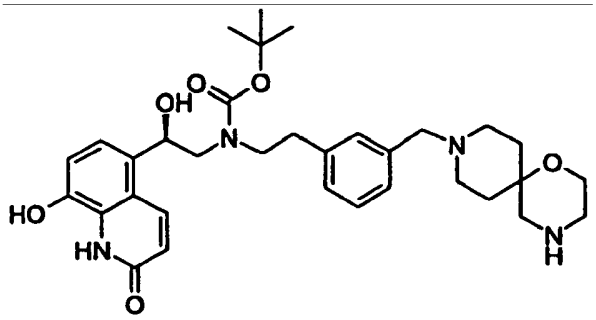


Foi adicionada uma solução de trifluoridrato de trietilamina (0,044 mL) dissolvido em metanol (1 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 12, passo f) (0,140 g), em THF (4 mL) a 20 °C. A solução resultante foi agitada a 20 °C durante 18 horas. A mistura reaccional foi tratada com trietilamina (0,111 mL) seguida de uma solução de dicarbonato de

di-terc-butilo (0,048 mL) em metanol (1 mL). A mistura foi agitada a 20 °C durante 3 horas e os solventes evaporados em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 1% de amónia aquosa "880" e 10% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,100 g.

m/z 689 $(M+H)^+$ (APCI)

h) (*R*)-3-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenetil(2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

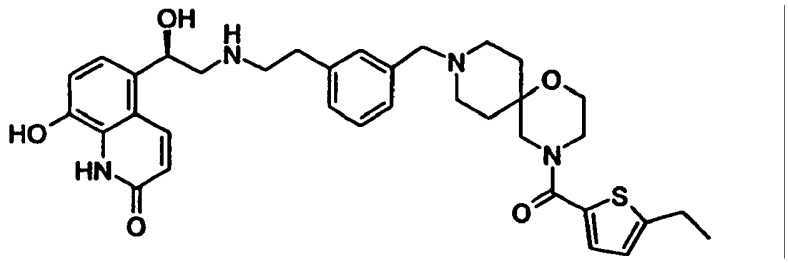


Uma solução de (*R*)-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil(3-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 12, passo g) (0,100 g) em metanol (5,0 mL) foi tratado com uma solução de carbonato de potássio (0,035 g) em água (5,0 mL) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 5 horas. O metanol foi evaporado sob uma corrente de azoto e foi adicionada mais água (5,0 mL). A solução foi acidificada por adição de ácido acético e em seguida feita

passar através de um cartucho de sílica C18 de 10 g. O cartucho foi lavado com água e em seguida purgado com metanol para retirar o produto. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida para produzir 0,090 g do sal de ácido acético. Este sólido foi dissolvido em metanol (2 mL) e feito passar através de 0,700 g de resina Bond Elut NH_2 da VARIAN e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,074 g.

m/z 593 $(M+H)^+$(APCI)

i) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenetil(2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 12, passo h) (0,068 g) em DMF (2,0 mL) foi tratada com trietilamina (0,048 mL) seguida de ácido 5-etiltiofeno-2-carboxílico (0,018 g) e em seguida HATU (0,057 g). A mistura foi agitada a 20 °C durante 2 horas. Foi adicionado amónia aquosa "880" (4 gotas) e a agitação continuou durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de

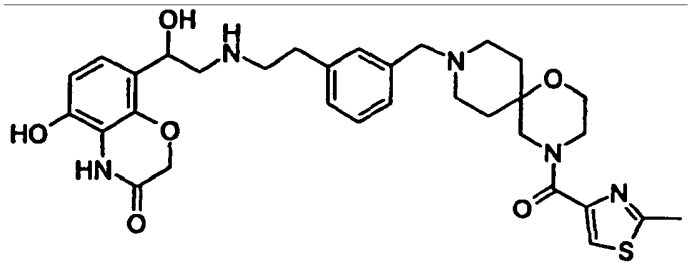
cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (1 mL) e a solução tratada com ácido trifluoroacético (1 mL). A solução foi deixada em repouso a 20 °C durante 10 minutos, foi adicionado tolueno (20 mL) e os solventes foram evaporados sob pressão reduzida, o resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,039 g.

m/z 631 $(M+H)^+$ (APCI)

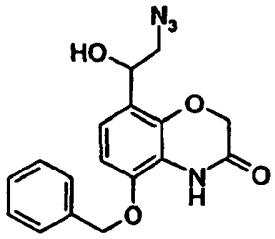
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,18 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,46 - 7,33 (m, 4H), 7,23 (d, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,84 (d, 1H), 6,55 (d, 1H), 5,39 - 5,33 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,74 - 3,63 (m, 4H), 3,54 (s, 2H), 3,29 (t, 2H), 3,21 - 3,00 (m, 8H), 2,83 (q, 2H), 2,10 - 1,96 (m, 2H), 1,84 - 1,69 (m, 2H), 1,26 (td, 3H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 13

Ditrifluoroacetato de 5-hidroxi-8-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 2



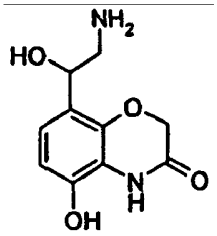
a) 8-(2-Azido-1-hidroxietil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 2



O Isómero 2 foi obtido como o isómero que eluiu em segundo lugar a partir da separação por HPLC quiral detalhada no exemplo 11, passo g. As fracções contendo o isómero que eluiu em segundo lugar foram combinadas e concentradas *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,72 g.

m/z 339 $(M-H)^-$ (APCI)

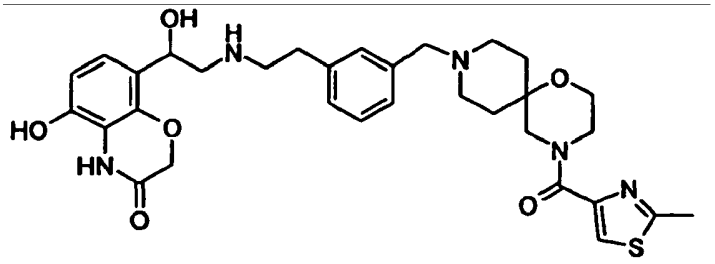
b) Acetato de (*S*)-8-(2-amino-1-hidroxietil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 2



Uma solução de 8-(2-azido-1-hidroxietil)-5-(benziloxi)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 2 (exemplo 13, passo a) (0,72 g) numa mistura de ácido acético (10 mL) e etanol (10 mL) foi agitada vigorosamente com catalisador de paládio a 10% sobre carvão (0,225 g) sob 4 bar de pressão de hidrogénio durante 18 horas. A mistura foi filtrada e adicionado catalisador de paládio a 10% sobre carvão fresco (0,225 g) e a agitação sob 4 bar de pressão de hidrogénio continuou durante 18 horas. A mistura foi filtrada e adicionado catalisador de paládio a 10% sobre carvão fresco (0,225 g) e a agitação sob 4 bar de pressão de hidrogénio continuou durante 18 horas. A mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi triturado com acetonitrilo (30 mL) para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,28 g.

m/z 222 ($M-H^-$) (APCI)

c) Ditrifluoroacetato de 5-hidroxi-8-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 2



Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 6, passo b) (0,163 g) em DCM (7,0 mL) foi arrefecida num banho de gelo e tratada com ácido trifluoroacético (0,030 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,246 g). A mistura foi agitada a 20 °C durante 30 minutos, tratada com mais periodinano de Dess-Martin (0,246 g) e agitada durante mais 30 minutos a 20 °C. A mistura foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (7,0 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (7,0 mL) e agitada vigorosamente durante 10 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2,0 mL) e adicionado, gota a gota, a uma solução de acetato de 8-(2-amino-1-hidroxietil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, Isómero 2 (exemplo 13, passo b) (0,090 g) em metanol (5,0 mL) que tinha sido arrefecida até 0 °C e tratado com ácido acético (0,018 mL) seguido de HCl (1 M em éter, 0,32 mL) e em seguida cianoboro-hidreto de sódio (0,030 g). A mistura foi agitada a 20 °C durante 2 horas. A

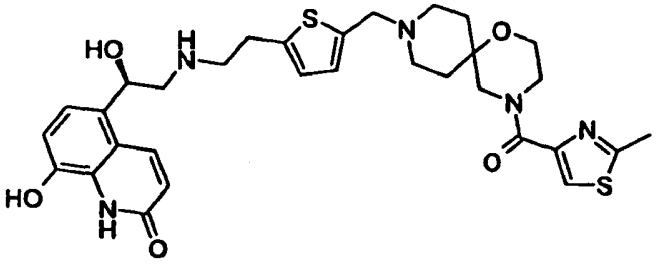
mistura foi evaporada até um volume de 3 mL e partilhada entre acetato de etilo (30 mL) e tampão aquoso de fosfato (pH = 7,2) (50 mL). A camada aquosa foi acidificada por adição de ácido acético e feita passar através de um cartucho de SCX de 10 g. A coluna foi lavada com água e em seguida purgada com amónia 7 N em metanol para eluir o produto. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi dissolvido em metanol, tratado com ácido acético (0,5 mL) e os solventes removidos sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,053 g.

m/z 622 $(M+H)^+$ (APCI)

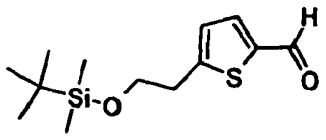
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 9,45 (s, 1H), 7,90 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 7,45 - 7,31 (m, 4H), 6,95 - 6,88 (m, 1H), 6,60 - 6,54 (m, 1H), 5,14 - 5,07 (m, 1H), 4,54 (s, 2H), 4,30 (s, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,64 (s, 2H), 3,28 - 2,98 (m, 10H), 2,68 (s, 3H), 2,08 - 1,97 (m, 2H), 1,88 - 1,71 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 14

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-2-il)etilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



a) 5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído

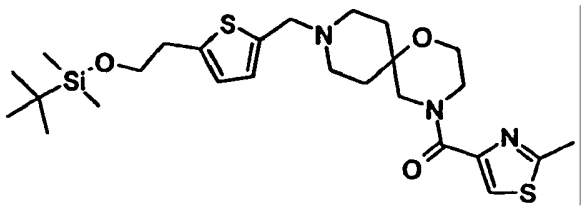


Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (2,82 g) em porções a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(tiofen-2-il)etanol (2 g) e imidazole (1,275 g) em DMF (20 mL) a 20 °C ao longo de um período de 20 minutos. A mistura foi agitada a 20 °C durante 18 horas e em seguida partilhada entre acetato de etilo e água, a camada orgânica foi lavada com água, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 1-4% de acetato de etilo em iso-hexano. O resíduo (2,7 g) foi dissolvido em THF (50 mL) e a solução arrefecida até -78 °C, foi adicionado *n*-butil-lítio (2,5 M em hexanos, 5,06 mL) gota a gota ao longo de 10 minutos

e a mistura resultante foi agitada a 0 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi arrefecida até -78 °C e foi adicionada gota a gota DMF (5,7 mL) ao longo de 5 minutos. A mistura foi agitada a 20 °C durante 3 horas. A mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo, a camada orgânica foi lavada com água, seca sobre sulfato de sódio e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, eluindo com 7% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) 8 9,83 (s, 1H), 7,61 (d, 1H), 6,96 (d, 1H), 3,86 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,02 (s, 6H).

b) (9-((5-(2-(*terc*-Butildimetilsiiloxi)etil)tiofen-2-il)metil)-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

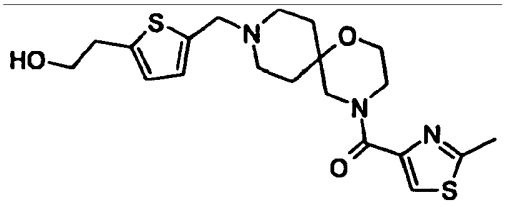


Uma solução de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,25 g) e 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 14, passo a) (0,171 g) em NMP (5 mL) com ácido acético (0,036 mL) foi tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,201 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C

durante 18 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,3 g.

m/z 536 $(M+H)^+$(APCI)

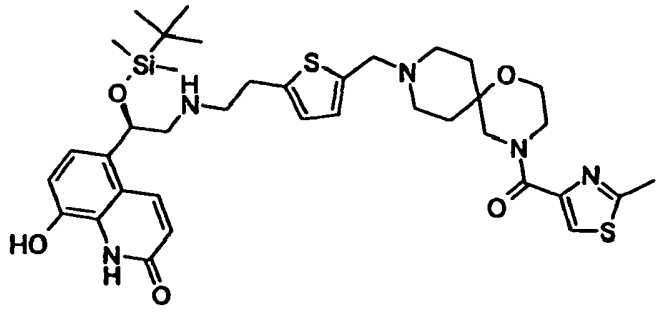
c) (9-((5-(2-Hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Uma solução de (9-((5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 14, passo b) (0,3 g) em THF (5 mL) foi tratada, gota a gota, com uma solução de fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 0,672 mL). A mistura foi deixada em repouso a 20 °C durante 30 minutos. Os solventes foram evaporados utilizando uma corrente de azoto e o resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 1% de trietilamina e 2,5% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,187 g.

m/z 422 $(M+H)^+$ (APCI)

d) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(2-(5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-2-il)etilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

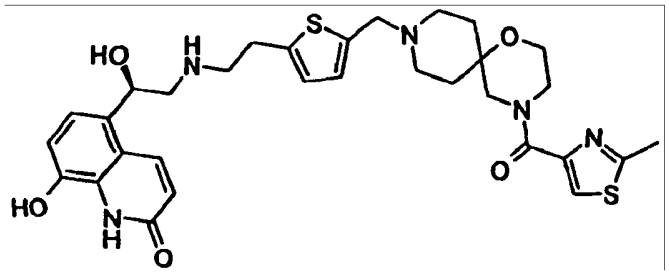


Uma solução de (9-((5-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro [5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 14, passo c) (0,18 g) em diclorometano (10 mL) a 20 °C foi tratada com ácido trifluoroacético (0,033 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,254 g) e a mistura agitada a 20 °C durante 90 minutos. A mistura foi então tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e agitada vigorosamente durante 10 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,143 g) e ácido acético (0,024 mL) em metanol (7 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,136 g). O banho de gelo foi retirado e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. A maior parte do metanol foi evaporado e o resíduo foi partilhado entre

acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 9% de metanol e 1% de amónia aquosa "880" em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,078 g.

m/z 738 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-2-il)etilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(2-(5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)tiofen-2-il)etilamino)etil)-8-hidroxi-quinolin-2(1H)-ona (exemplo 14, passo d) (0,078 g) numa mistura de THF (4 mL) e metanol (1 mL) foi tratada com trifluoridrato de trietilamina (0,022 mL) e a mistura deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com tolueno. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa

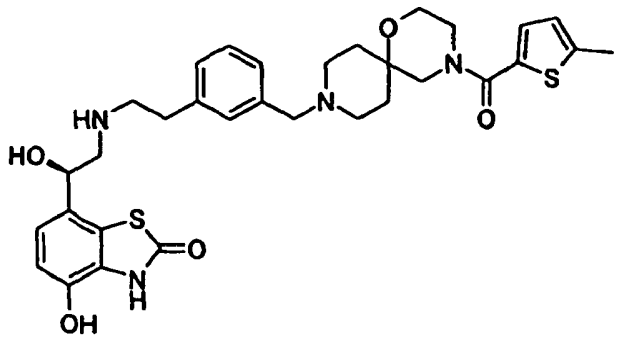
(Sunfire™, Gradiente: 10-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,021 g.

m/z 624 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10,50 (s, 2H), 10,15 - 9,84 (m, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,16 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,26 - 7,12 (m, 2H), 7,02 - 6,94 (m, 2H), 6,58 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 6,21 (s, 1H), 5,36 - 5,31 (m, 1H), 4,53 (s, 2H), 3,83 - 3,48 (m, 6H), 3,33 - 2,93 (m, 10H), 2,68 (s, 3H, 2,16 - 2,04 (m, 2H, 1,79 - 1,59 (m, 2H).

Exemplo 15

Trifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado cloreto de hidrogénio (2 M em éter dietílico, 0,504 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de acetato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-

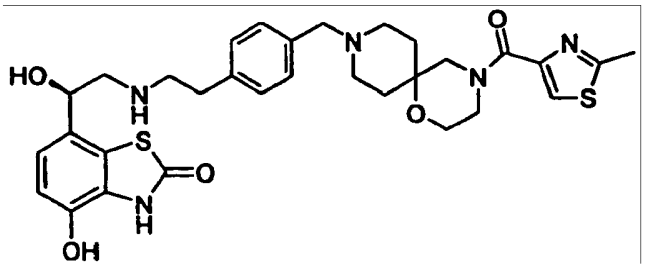
hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (exemplo 1, passo d) (0,222 g) e 2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 9, passo d) (0,320 g) em metanol (10 mL). Após 5 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,100 g) e a mistura reaccional agitada de um dia para o outro. A solução foi concentrada até 3 mL e partilhada entre tampão a pH 7,2 (80 mL) e acetato de etilo. Foi adicionada solução saturada de bicarbonato de sódio à camada aquosa, a qual foi então extraída com acetato de etilo. As soluções de acetato de etilo foram combinadas, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas até à secura. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 25-65% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas até à secura *in vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo, a solução foi evaporada *in vacuo*, e este processo foi repetido. Foi adicionado éter dietílico e a goma triturada para dar o composto em epígrafe como um sólido. Rendimento 0,017 g.

m/z 623 $(M+H)^+$ (APCI)

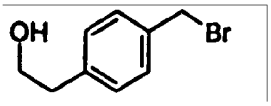
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,67 (s, 1H), 10,25 (s, 1H), 9,73 - 9,63 (m, 1H), 8,99 - 8,89 (m, 1H), 8,85 - 8,76 (m, 1H), 7,46 - 7,32 (m, 3H), 7,30 - 7,20 (m, 1H), 6,93 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,86 - 6,81 (m, 1H), 6,77 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,53 - 6,45 (m, 1H), 4,93 - 4,86 (m, 1H), 4,45 - 4,39 (m, 0,4H), 4,35 - 4,28 (m, 1,6H), 3,74 - 3,60 (m, 4H), 3,49 (s, 2H), 3,27 - 3,14 (m, 4H), 3,13 - 2,89 (m, 6H), 2,46 (s, 3H), 2,12 - 2,03 (m, 2H), 1,70 - 1,59 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

Exemplo 16

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



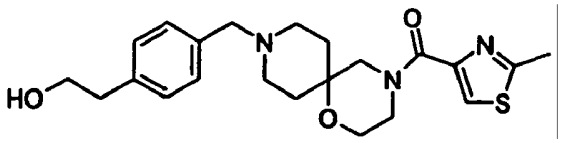
a) 2-(4-(Bromometil)fenil)etanol



Foi adicionado, gota a gota, complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THE, 4,37 mL) a uma solução de ácido 2-(4-(bromometil)fenil)acético (1,0 g) em THF (20 mL) a 20 °C e a mistura agitada durante 1 hora. Foi adicionado metanol gota a gota até parar o borbulhamento e o solvente evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 30% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um sólido cristalino branco. Rendimento 0,86 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,36 - 7,32 (m, 2H), 7,20 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 4,68 (s, 2H), 4,64 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,64 - 3,55 (m, 2H), 2,75 - 2,67 (m, 2H).

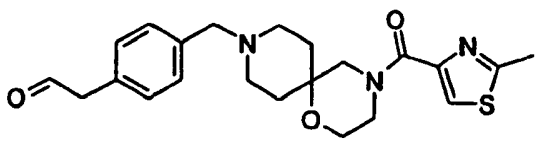
b) (9-(4-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



A uma solução de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazapiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,791 g) e trietilamina (0,697 mL) em acetonitrilo (10 mL) foi adicionado 2-(4-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 16, passo a) e a mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (25 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (25 mL). A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 25 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,76 g.

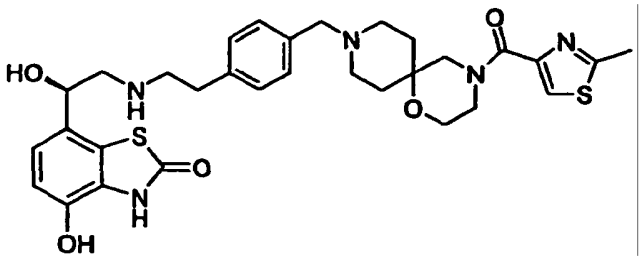
m/z 416 $(M+H)^+$ (APCI)

c) 2-(4-((4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Foi adicionado TFA (0,030 mL) a uma solução de (9-(4-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 16, passo b) (0,16 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,245 g) e a mistura foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 45 min. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi então adicionado AcOH (0,1 mL) e a mistura foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente que foi imediatamente utilizado. Rendimento 0,16 g.

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-Hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(4-(-2-metiltiazole-4-carbonil)-4-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionada uma solução de 2-(4-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 16, passo c) (0,08 g) em metanol (2 mL) a

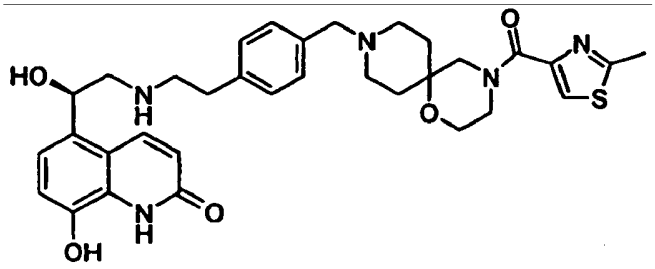
uma mistura de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,076 g) e ácido acético (0,017 mL) em metanol (0,5 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min, em seguida, arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,012 g) e a mistura foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2 horas. A mistura reaccional foi aplicada a um cartucho C18 (Varian 10 g). O cartucho foi lavado com água (50 mL) e eluído com metanol (50 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,66 g.

m/z 624 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,28 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,48 (d, J = 7,1 Hz, 2H), 7,34 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 6,94 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 4,99 - 4,88 (m, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,76 - 3,55 (m, 6H), 3,32 - 2,91 (m, 10H), 2,67 (s, 3H), 2,10 - 1,67 (m, 4H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 17

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(4-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil}-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionada uma solução de 2-(4-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 16, passo c) (0,08 g) em metanol (2 mL) a uma mistura de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO02004106333) (0,097 g) e ácido acético (0,017 mL) em metanol (0,5 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min, em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,018 g) e a mistura foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2 horas. A mistura reaccional foi aplicada ao cartucho C18 (Varian 10 g). O cartucho foi lavado com água (50 mL) e eluído com metanol (50 mL). As fracções foram combinadas, evaporadas e purificadas por cromatografia sobre sílica gel eluindo com DCM:metanol:solução de amónia "880" 95:5:0,5 até 89:10:1. O resíduo foi dissolvido em THF (2 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,047 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o

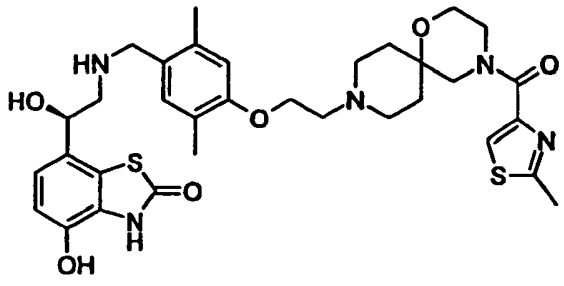
produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter para dar os compostos em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,07 g.

m/z 618 $(M+H)^+$(APCI)

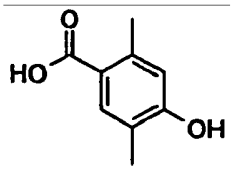
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,18 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,48 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 7,34 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,36 (dd, J = 8,6, 4,0 Hz, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,75 - 3,58 (m, 6H), 3,33 - 2,97 (m, 10H), 2,67 (s, 3H), 2,11 - 1,67 (m, 4H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 18

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2,5-dimetil-4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



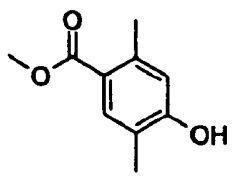
a) Ácido 4-hidroxi-2,5-dimetilbenzóico



Foi adicionado, gota a gota, solução de tribrometo de boro (1 M em DCM, 7,21 mL) a uma suspensão de ácido 4-metoxi-2,5-dimetilbenzóico (1 g) em DCM (5 mL) a -78 °C. A reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi arrefecida até -78 °C e foi adicionada solução de tribrometo de boro (1 M em DCM, 7,21 mL). A reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi cuidadosamente vertida sobre gelo (~50 mL). A solução aquosa resultante foi extraída com DCM (5 x 50 mL). As soluções orgânicas foram combinadas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido castanho-amarelado. Rendimento 0,75 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,19 (s, 1H), 9,91 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,09 (s, 3H).

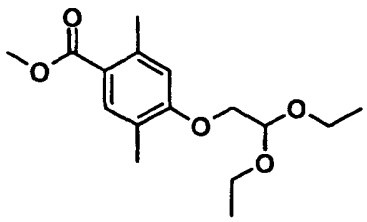
b) 4-Hidroxi-2,5-dimetilbenzoato de metilo



Foi adicionado, gota a gota, cloreto de acetilo (0,107 mL) a uma solução de ácido 4-hidroxi-2,5-dimetilbenzóico (exemplo 18, passo a) (0,249 g) em metanol (15 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 72 h. Foi então adicionado cloreto de acetilo (0,107 mL) e a reacção aquecida até 50 °C e agitada a esta temperatura de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 1:1 até 100% de acetato de etilo. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,25 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 10,04 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,09 (s, 3H).

c) 4-(2,2-Dietoxietoxi)-2,5-dimetilbenzoato de metilo

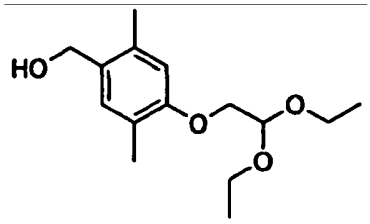


Foi adicionado 2-bromo-1,1-dietoxietano (0,31 mL) a uma mistura de 4-hidroxi-2,5-dimetilbenzoato de metilo (exemplo 18, passo b) (0,25 g) e carbonato de césio (0,68 g) em DMF (20 mL). A mistura resultante foi agitada a 85 °C durante 16 h. A reacção foi partilhada entre água (200 mL) e acetato de etilo (100 mL). A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com

água (2 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano até iso-hexano:acetato de etilo 10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,26 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,75 (s, 1H), 6,64 (s, 1H), 4,86 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,04 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 3,88 - 3,58 (m, 7H), 2,58 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,25 (t, J = 7,0 Hz, 6H).

d) (4-(2,2-Dietoxietoxi)-2,5-dimetilfenil)metanol

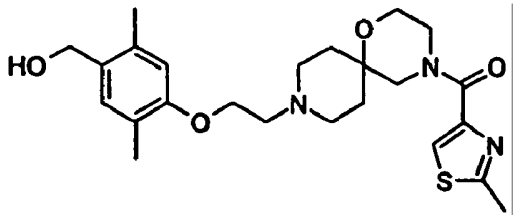


Foi adicionada, gota a gota, solução de hidreto de alumínio lítio (1 M em THF, 1,17 mL) a uma solução de 4-(2,2-dietoxietoxi)-2,5-dimetilbenzoato de metilo (exemplo 18, passo c) (0,231 g) em THF (20 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi cuidadosamente adicionado etanol (0,5 mL) e a reacção concentrada. O resíduo foi partilhado entre NaOH 1 M (50 mL) e acetato de etilo (100 mL). A aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secos sobre sulfato de magnésio, filtrados e evaporados para dar

o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,20 g.

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,08 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 4,85 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,60 (s, 2H), 4,00 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 3,84 – 3,58 (m, 4H), 2,33 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,25 (t, J = 7,0 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

e) (9-(2-(4-(Hidroximetil)-2,5-dimetilfenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

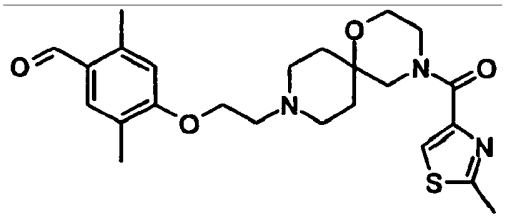


Uma solução de (4-(2,2-dietoxietoxi)-2,5-dimetilfenil)metanol (exemplo 18, passo d) (0,2 g) numa mistura de ácido acético (5 mL) e água (5 mL) foi aquecida a 65 °C durante 1 h e deixada arrefecer até à TA. A mistura reaccional foi vertida para solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 25 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. O resíduo foi redissolvido em metanol (5 mL), foi adicionado ácido acético (5 mL) seguido de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,35 g). A mistura resultante foi agitada durante 15 min, em seguida foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,07 g) e a

mistura agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (50 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 30 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,12 g.

m/z 460 $(M+H)^+$ (APCI)

f) 2,5-Dimetil-4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzaldeído

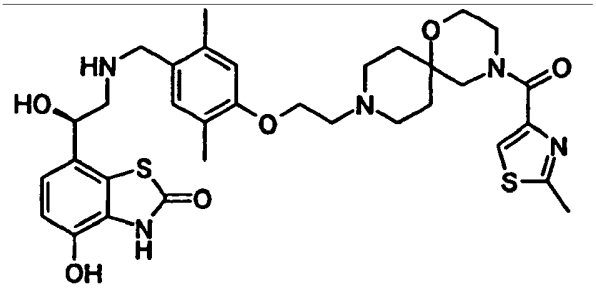


Foi adicionado dióxido de manganês (0,32 g) a uma solução de (9-(2-(4-(hidroximetil)-2,5-dimetilfenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 18, passo e) (0,17 g) em DCM (10 mL). A mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 4 h. A reacção foi filtrada através de Celite e a almofada do filtro lavada com DCM

(2 x 50 mL). As águas-mães e as lavagens foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,17 g.

m/z 458 $(M+H)^+$ (APCI)

g) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2,5-dimetil-4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado 2,5-dimetil-4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)-benzaldeído (exemplo 18, passo f) (0,08 g) a uma mistura de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,07 g) e ácido acético (0,010 mL) em metanol (2 mL). A mistura foi agitada durante 30 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,016 g) e a mistura agitada durante 2 h. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (50 mL) e tampão de fosfato a pH 7,2 (50 mL). A aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL).

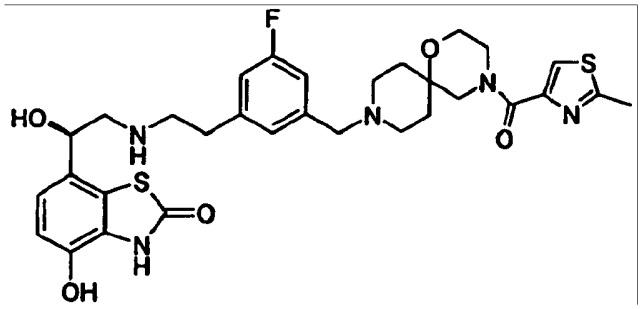
As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 92:8:0,8. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,069 g.

m/z 668 $(M+H)^+$ (APCI)

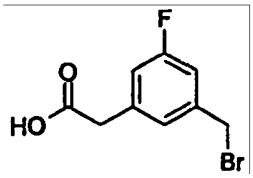
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,34 - 11,14 (m, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,76 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,94 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 4,39 - 4,31 (m, 2H), 4,23 - 4,09 (m, 2H), 3,78 - 3,63 (m, 6H), 3,61-3,55 (m, 2H), 3,49 - 3,20 (m, 4H), 3,13 - 3,03 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,21 - 2,01 (m, 5H), 1,94 - 1,78 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 19

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



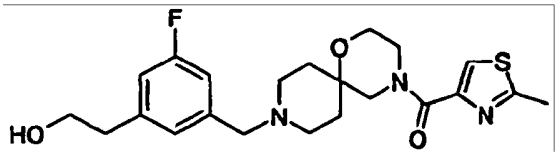
a) Ácido 2-(3-(bromometil)-5-fluorofenil)acético



Foi adicionado peróxido de benzoílo (0,05 g) a uma mistura de ácido 2-3-fluoro-5-metilfenil)acético (0,518 g) e *N*-bromossuccinimida (0,6 g) em DCM (10 mL). A reacção foi aquecida a refluxo durante 1 h. Foram adicionados DCM (10 mL) e água (20 mL) e a fase orgânica separada. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi triturado com tolueno e o sólido branco resultante removido por filtração. As águas-mães foram evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco que foi

utilizado no passo seguinte sem mais purificação. Rendimento 0,3 g.

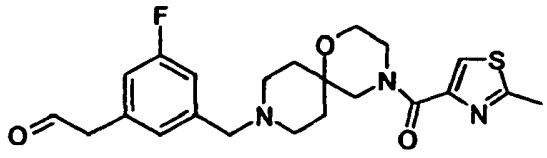
b) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado, gota a gota, uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 3,85 mL) a uma solução de ácido 2-(3-(bromometil)-5-fluorofenil)acético (exemplo 19, passo a) (0,38 g) em THF (10 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. A reacção foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado gota a gota metanol (1 mL) até parar o borbulhamento. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo redissolvido em MeCN (10 mL). Foi então adicionado trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazapiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,61 g) seguido de trietilamina (0,54 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 70 h. O solvente foi então evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com um gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 99:1:0,1 até 94,5:5:0,5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma espuma amarela. Rendimento 0,57 g.

m/z 434 $(M+H)^+$ (APCI)

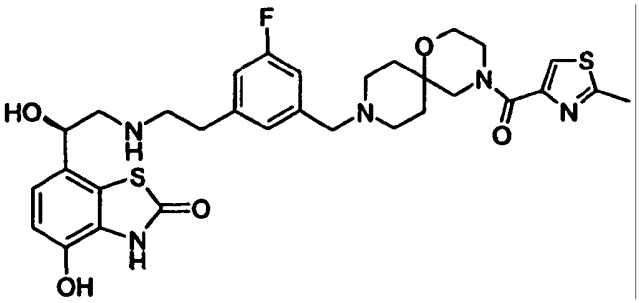
c) 2-(3-Fluoro-5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Foi adicionado TFA (0,08 mL) a uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 19, passo b) (0,46 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,68 g) e a mistura agitada à TA durante 45 min. Foram então adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com ácido acético (0,1 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,4 g.

m/z 432 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-Fluoro-5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



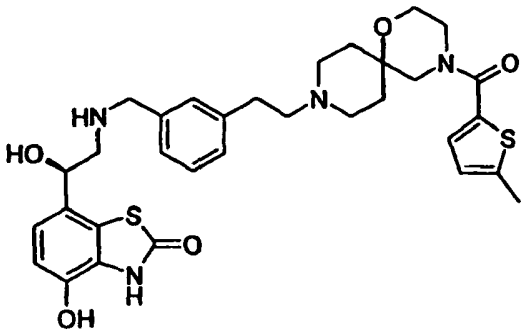
Foi adicionada uma solução de 2-(3-fluoro-5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 19, passo c) (0,2 g) em metanol (3 mL) a uma mistura de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,18 g) e ácido acético (0,04 mL) em metanol (0,5 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,03 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. O solvente foi evaporado *in vacuo* e a purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 a 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e purificadas por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,018 g.

m/z 642 $(M+H)^+$ (APCI)

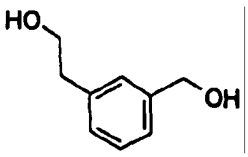
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,89 (s, 1H), 7,26 - 7,12 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,94 - 4,85 (m, 1H), 4,26 - 4,13 (m, 2H), 3,74 - 3,59 (m, 6H), 3,35 - 2,94 (m, 10H), 2,67 (s, 3H), 2,06 - 1,91 (m, 2H), 1,83 - 1,68 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 20

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(3-(Hidroximetil)fenil)etanol

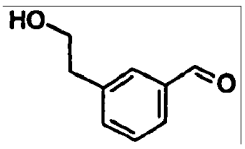


Foi adicionado, gota a gota ao longo de 5 min, hidreto de alumínio lítio (1 M em éter dietílico, 5,55 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 3-(2-hidroxietil)benzoato de metilo (1,0 g) em tetra-hidrofurano (15 mL) arrefecida num banho de

gelo. Após 1 h, a mistura reaccional foi desactivada com metanol e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo: iso-hexano, 2:1, em seguida acetato de etilo para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,5 g.

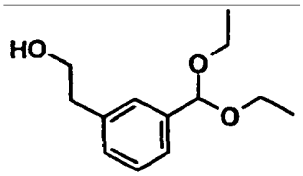
RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,31 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,26 - 7,20 (m, 2H), 7,16 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,67 (s, 2H), 3,86 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,87 (t, J = 6,9 Hz, 2H). Dois protões permutáveis não observados.

b) 3-(2-Hidroxietil)benzaldeído



Foi adicionado dióxido de manganês (IV) (2,0 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(3-(hidroximetil)fenil)etanol (exemplo 20, passo a) (0,50 g) em DCM (10 mL) à temperatura ambiente. Após 6 h, a mistura reaccional foi filtrada através de Celite eluindo com DCM. A solução foi evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Utilizado directamente. Rendimento 0,46 g.

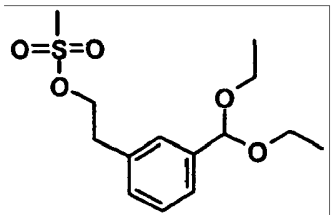
c) 2-(3-(Dietoximetil)fenil)etanol



Foi adicionado cloreto de amónio (0,08 g) a uma solução de 3-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 20, passo b) (0,45 g) e trietoximetano (0,55 g) em EtOH (8 mL) e a mistura reaccional aquecida a 70 °C durante 3 h. Depois de arrefecer, a mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A solução de acetato de etilo foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,24 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 - 7,25 (m, 3H), 7,22 - 7,16 (m, 1H), 5,50 - 5,47 (m, 1H), 3,93 - 3,82 (m, 2H), 3,71 - 3,47 (m, 4H), 2,94 - 2,86 (m, 2H), 1,29 - 1,21 (m, 6H). Um protão permutável não observado.

d) Metanossulfonato de 3-(dietoximetil)fenetilo

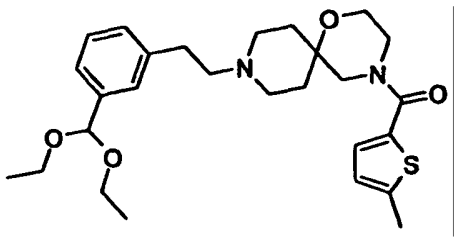


Foi adicionado cloreto de metanossulfonilo (0,18 g) em diclorometano (0,2 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de

2-(3-(dietoximetil)fenil)etanol (exemplo 20, passo c) (0,23 g) e trietilamina (0,429 mL) em diclorometano (2,5 mL) arrefecida num banho de gelo. Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,28 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 - 7,29 (m, 3H), 7,19 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,42 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,67 - 3,48 (m, 4H), 3,07 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,86 (s, 3H), 1,24 (t, J = 6,8 Hz, 6H).

e) (9-(3-(Dietoximetil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

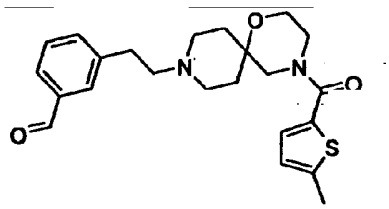


Foi adicionado metanossulfonato de 3-(dietoximetil)fenetilo (exemplo 20, passo d) (0,30 g) em acetonitrilo (1,5 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazapiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,391 g) e trietilamina (0,415 mL) em acetonitrilo (1,5 mL) e a solução aquecida a 70 °C durante 48 h. Depois de arrefecer, a solução foi evaporada

in vacuo e aplicada a uma coluna de sílica gel para purificação, eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina, 60:40:5 dando o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,30 - 7,24 (m, 3H), 7,14 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,11 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 6,69 (dd, J = 3,7 Hz, 1,1 Hz, 1H), 5,46 (s, 1H), 3,78 - 3,71 (m, 4H), 3,65 - 3,49 (m, 6H), 2,82 - 2,77 (m, 2H), 2,65 - 2,57 (m, 4H), 2,50 (s, 3H), 2,48 - 2,39 (m, 2H), 1,94 - 1,86 (m, 2H), 1,67 - 1,56 (m, 2H), 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 6H).

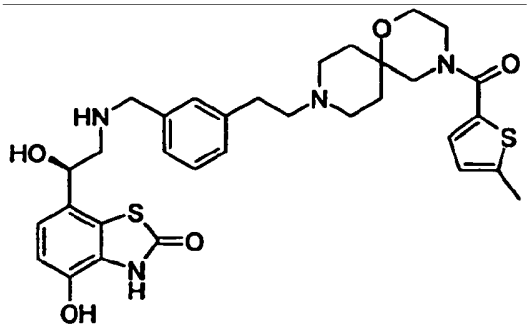
f) 3-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)benzaldeído



Foi adicionado ácido fórmico (2 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-(3-(dietoximetil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 20, passo e) (0,20 g) em tetra-hidrofurano (3 mL) e água (1 mL) arrefecida num banho de gelo. Após 10 min, a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo,* foi adicionado tolueno e a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo.* O resíduo foi dissolvido em acetonitrilo e em seguida evaporado *in vacuo,* e este processo foi repetido para dar o composto em subepígrafe como um óleo que foi directamente utilizado. Rendimento 0,16 g.

m/z 413 $(M+H)^+$ (APCI)

g) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]unde-can-9-il)etil)benzilamino)etil)-benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,033 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 3-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)benzaldeído (exemplo 20, passo f) (0,17 g) e cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) em metanol (10 mL). Após 2 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,10 g) e a mistura reaccional agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A solução de metanol foi concentrada até ~3 mL e diluída com acetato de etilo. Formou-se um precipitado gomoso. O acetato de etilo foi decantado e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio e seco sobre sulfato de sódio. A goma foi dissolvida numa pequena quantidade de metanol e adicionada ao acetato de etilo. O acetato de etilo foi filtrado e evaporado *in vacuo* para dar um sólido branco. O sólido foi dissolvido em metanol e purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 15-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas até à secura. A

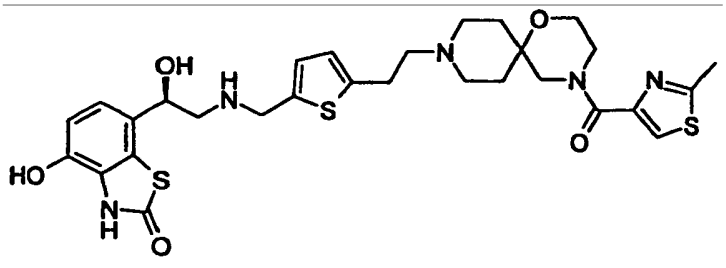
trituração com éter dietílico deu o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,11 g.

m/z 623 $(M+H)^+$ (APCI)

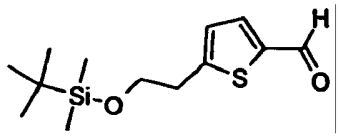
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,67 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 9,85 - 9,75 e 9,61 - 9,50 (m, total 1H), 9,18 - 8,98 (m, 2H), 7,45 - 7,31 (m, 4H), 7,29 - 7,24 (m, 1H), 6,89 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 6,86 - 6,83 (m, 1H), 6,75 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 6,48 - 6,44 (m, 1H), 4,93 - 4,85 (m, 1H), 4,21 - 4,14 (m, 2H), 3,74 - 3,64 (m, 4H), 3,53 (s, 2H), 3,48 - 3,40 (m, 2H), 3,36 - 3,27 (m, 2H), 3,08 - 2,92 (m, 6H), 2,47 (s, 3H), 2,16 - 2,08 (m, 2H), 1,74, - 1,61 (m, 2H).

Exemplo 21

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-((5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)metilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



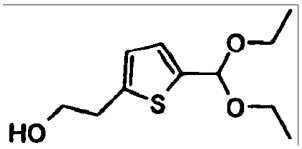
a) 5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído



Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (2,82 g) em porções a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(tiofen-2-il)etanol (2 g) e imidazole (1,275 g) em DMF (20 mL) a 20 °C ao longo de um período de 20 minutos. A mistura foi agitada a 20 °C durante 18 horas e em seguida partilhada entre acetato de etilo e água, a camada orgânica foi lavada com água, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 1-4% de acetato de etilo em iso-hexano. O resíduo (2,7 g) foi dissolvido em THF (50 mL) e a solução arrefecida até -78 °C, foi adicionado gota a gota *n*-butil-lítio (2,5 M em hexanos, 5,06 mL) ao longo de 10 minutos e a mistura resultante foi agitada a 0 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi arrefecida até -78 °C e foi adicionada gota a gota DMF (5,7 mL) ao longo de 5 minutos. A mistura foi agitada a 20 °C durante 3 horas. A mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo, a camada orgânica foi lavada com água, seca sobre sulfato de sódio e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, eluindo com 7% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,83 (s, 1H), 7,61 (d, 1H), 6,96 (d, 1H), 3,86 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,02 (s, 6H).

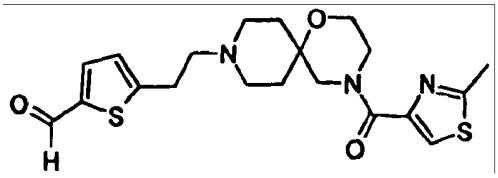
b) 2-(5-(Dietoximetil)tiofen-2-il)etanol



Uma mistura de 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 21, passo a) (1,37 g) e cloreto de amónio (0,135 g) e ortoformato de trietilo (0,928 mL) em etanol (15 mL) foi aquecida a refluxo sob azoto durante 3 horas. A maior parte do etanol foi removido sob pressão reduzida e a mistura remanescente foi partilhada entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em THF (20 mL) e foi adicionado gota a gota fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 5,07 mL) ao longo de 1 minuto. A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 25% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,940 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 6,85 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 5,64 (s, 1H), 4,79 - 4,74 (m, 1H), 3,62 - 3,43 (m, 6H), 2,87 (t, 2H), 1,13 (t, 6H).

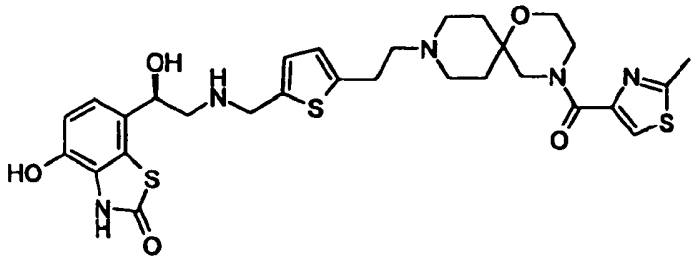
c) 5-(2-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofeno-2-carbaldeído



Uma solução de 2-(5-(dietoximetil)tiofen-2-il)etanol (exemplo 21, passo b) (0,54 g) em diclorometano (20 mL) foi tratada com trietilamina (0,359 mL) e a mistura arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionada, gota a gota ao longo de 2 minutos, uma solução de cloreto de metanossulfonilo (0,183 mL) em diclorometano (3 mL) e a mistura reaccional agitada a 0 °C durante 1 hora. A mistura foi lavada com água e a camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo (7 mL) e DMF (1 mL) e foi adicionada trietilamina (0,654 mL), seguida de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,5 g) e aquecida a 70 °C durante 10 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em THF (5 mL) e arrefecido num banho de gelo, foi adicionado ácido fórmico (4 mL) seguido de água (1 mL). A mistura foi deixada em repouso a 0 °C durante 10 minutos. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica duas vezes com tolueno e duas vezes com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de trietilamina e 2% de metanol em diclorometano

como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,52 g. m/z 420 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-((5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)metilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,22 g) em metanol (8 mL) foi tratada com ácido acético (0,041 mL) seguida de uma solução de 5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 21, passo c) (0,3 g) em metanol (2 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,067 g). A mistura foi então agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A maior parte do metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o remanescente partilhado entre THF (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a

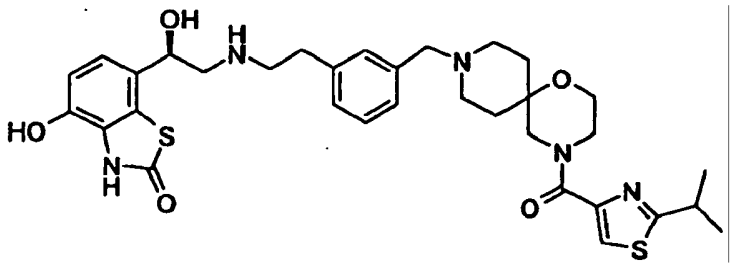
0,2%). As fracções contendo o produto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,08 g.

m/z 630 $(M+H)^+$ (APCI)

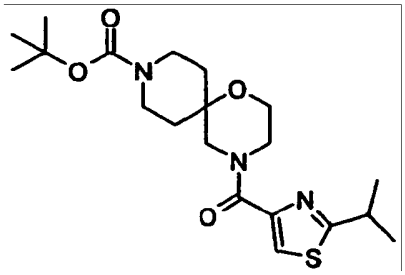
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,14 (d, 1H), 6,94 - 6,88 (m, 2H), 6,76 (d, 1H), 4,91 - 4,85 (m, 1H), 4,37 (s, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,66 (s, 2H), 3,40 - 3,30 (m, 4H), 3,26 - 3,07 (m, 4H), 3,04 - 3,02 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,09 - 1,99 (m, 2H), 1,87 - 1,73 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 22

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



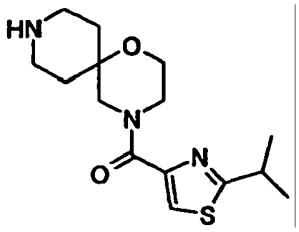
a) 4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Uma solução de ácido 2-isopropiltiazole-4-carboxílico (1 g) e cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (1,71 g) em DMF (30 mL) foi arrefecida num banho de gelo e tratada com trietilamina (2,442 mL) seguida de HATU (2,89 g). O banho de gelo foi retirado e a mistura foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 70% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,93 (s, 1H), 3,71 - 3,63 (m, 6H), 3,51 - 3,44 (m, 2H), 3,35 - 3,26 (m, 1H), 3,18 - 3,10 (m, 2H), 1,74 - 1,67 (m, 2H), 1,49 - 1,41 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,34 (d, J = 7,6 Hz, 6H).

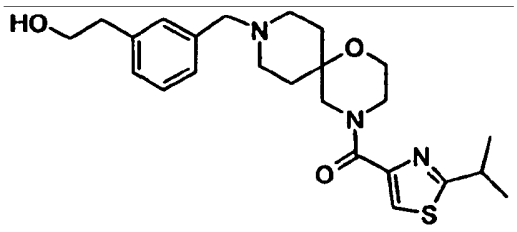
b) Trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Uma solução de 4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 22, passo a) (2,3 g) numa mistura de diclorometano (40 mL) e ácido trifluoroacético (10 mL) foi deixada em repouso a 20 °C durante 30 minutos. Foi adicionado tolueno (50 mL) e os solventes foram evaporados, em seguida este processo foi repetido com mais tolueno (50 mL). O resíduo foi triturado com éter. A goma foi então dissolvida em acetonitrilo e o solvente evaporado para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,64 g.

m/z 310 $(M+H)^+$ (APCI)

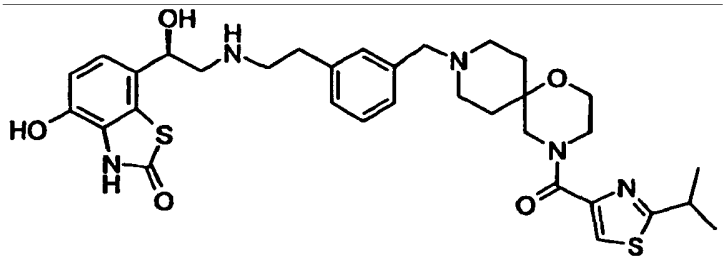
c) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Uma mistura de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,85 g) e 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,432 g) em acetonitrilo (10 mL) a 20 °C foi tratada com trietilamina (0,616 mL) e em seguida agitada durante 2 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 1% de trietilamina e 3% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,71 g.

m/z 444 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 22, passo c) (0,3 g) em diclorometano (10 mL) foi

tratada com ácido trifluoroacético (0,052 mL) seguido de periodinano de Dess-Martin (0,402 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,039 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução a 0 °C de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,2 g) e ácido acético (0,039 mL) em metanol (10 mL). Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,064 g) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A maior parte do metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o remanescente partilhado entre THF (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,170 g.

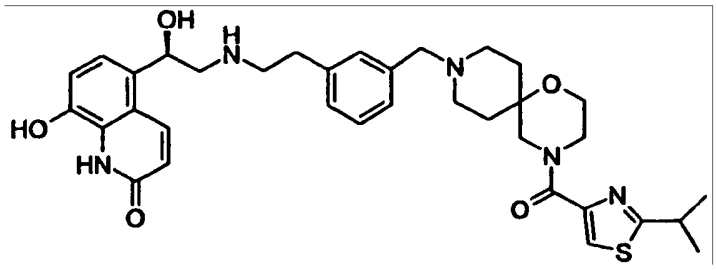
m/z 652 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,45 - 7,31 (m, 4H), 6,93 (d, J = 31,1 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 24,6 Hz, 1H), 4,96 - 4,87 (m, 1H), 4,27 (s, 2H), 3,70

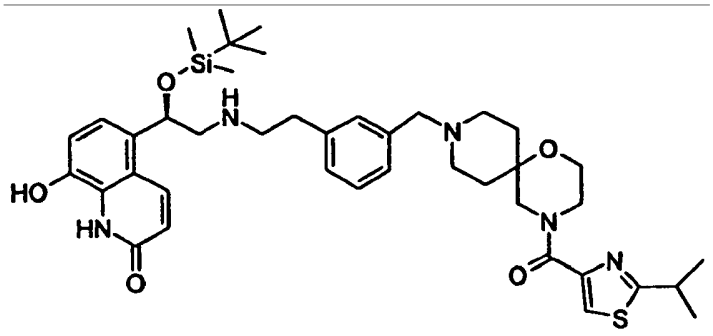
(s, 4H), 3,65 (s, 2H), 3,35 - 2,97 (m, 11H), 2,08 - 1,96 (m, 2H), 1,84 - 1,67 (m, 2H), 1,35 (d, J = 20,7 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 23

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



a) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

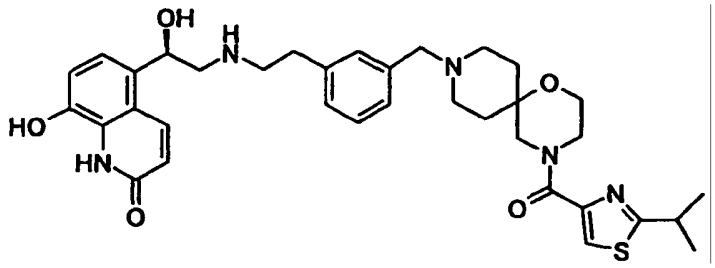


Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 22, passo c) (0,159 g) em DCM (10 mL) foi tratada com

ácido trifluoroacético (0,028 mL), seguida de periodinano de Dess-Martin (0,213 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,039 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,12 g) e ácido acético (0,021 mL) em metanol (10 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,114 g), em seguida a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. O metanol foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e acetato de etilo, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de amónia aquosa “880” e 8% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,127 g.

m/z 760 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 23, passo a) (0,127 g) em THF (4 mL) foi tratada com uma solução de trifluoridrato de trietilamina (0,035 mL) em metanol (1 mL) e a mistura resultante foi deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,085 g.

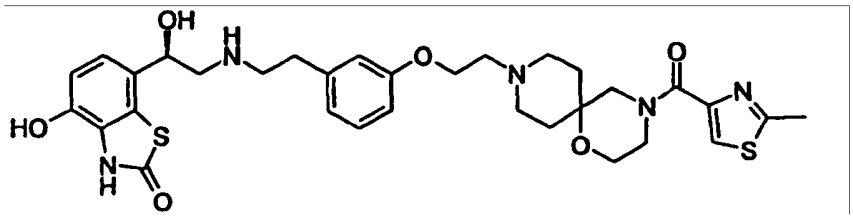
m/z 646 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,16 (d, J = 36,5 Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,45 - 7,33 (m, 4H), 7,13 (d, J = 26,1 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 24,2 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 24,2 Hz, 1H), 5,38 - 5,32 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,64 (s, 2H), 3,32 - 3,24 (m, 3H), 3,21 - 3,00 (m, 8H), 2,08 - 1,97 (m, 2H), 1,82 -

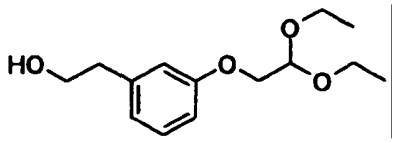
1,68 (m, 2H), 1,34 (d, J = 25,7 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 24

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(3-(2,2-Dietoxietoxi)fenil)etanol

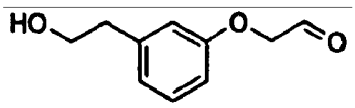


Foi adicionado carbonato de césio (8,84 g) a uma solução de 3-(2-hidroxietil)fenol (2,5 g) e 2-bromo-1,1-dietoxietano (3,74 g) em DMF (50 mL), e a mistura resultante foi agitada a 90 °C de um dia para o outro, em seguida deixada arrefecer. A mistura foi vertida para água e extraída três vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram lavados com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca sobre sulfato de sódio anidro e purificada por cromatografia flash sobre sílica eluído com um gradiente de éter dietílico em

iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo pálido. Rendimento 3,0 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,21 - 7,16 (m, 1H), 6,82 - 6,72 (m, 3H), 4,80 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,97 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 3,81 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,78 - 3,69 (m, 2H), 3,65 - 3,56 (m, 2H), 2,80 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 1,21 (t, J = 6,9 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

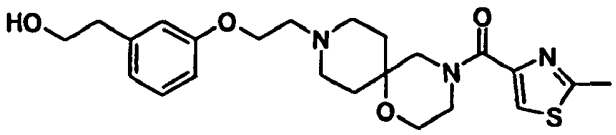
b) 2-(3-(2-Hidroxietil)fenoxi)acetaldeído



Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (1,5 mL) a uma solução de 2-(3-(2,2-dietoxietoxi)fenil)etanol (exemplo 24 passo a) (0,256 g) em 1,4-dioxano (3 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1,5 horas. A solução foi então diluída com água e extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como uma espuma branca. Rendimento 0,150 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,86 (s, 1H), 7,28 - 7,13 (m, 1H), 6,92 - 6,66 (m, 3H), 4,57 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,86 (t, J = 6,5 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

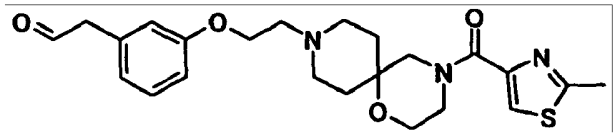
c) (9-(2-(3-(2-Hidroxietil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



Uma suspensão de 2-(3-(2-hidroxietil)fenoxi)acetaldeído (exemplo 24, passo b) (0,143 g) e trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,314 g) em metanol (10 mL) foi tratada com ácido acético (0,045 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos. A mistura foi arrefecida em gelo-água, tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,254 g) e agitada ao longo de 3 dias, permitindo que o banho de gelo acabasse. A solução resultante foi purificada por cromatografia flash sobre sílica eluído com trietilamina:metanol:diclorometano 1:15:84 para proporcionar o produto em bruto (0,243 g). Uma segunda purificação por cromatografia flash sobre sílica eluído com trietilamina:metanol:diclorometano 1:5:94 proporcionou o composto em subepígrafe ligeiramente impuro como uma goma castanha. Rendimento 0,122 g.

m/z 446 $(M+H)^+$ (APCI)

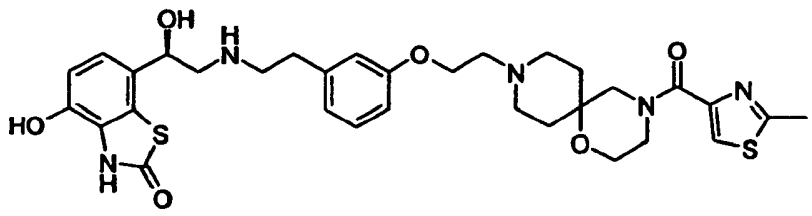
d) 2-(3-(2-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenil)acetaldeído



Uma solução de (9-(2-(3-(2-hidroxietil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 24, passo c) (0,152 g) em DCM (5 mL) foi arrefecida em gelo-água e tratada com ácido trifluoroacético (0,039 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,221 g) e a mistura foi retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante 25 minutos. A reacção foi desactivada pela adição de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (5 mL), e a mistura bifásica resultante foi agitada durante 10 minutos. A mistura foi então extraída duas vezes com acetato de etilo, e os extractos orgânicos combinados lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,1 mL) e em seguida os extractos acidificados foram secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma castanha. Rendimento 0,118 g.

m/z 444 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



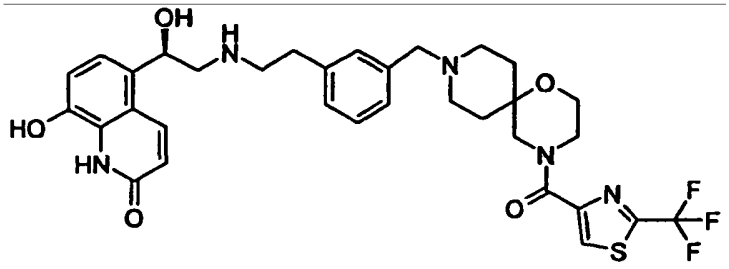
Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,105 g) em metanol (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,023 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenil)-acetaldeído (exemplo 24, passo d) (0,117 g) em metanol (3 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, antes de arrefecer em gelo-água e tratar com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,085 g). A mistura foi agitada em gelo durante 1 hora, e em seguida foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,086 g). A mistura foi agitada em gelo durante 1 hora, em seguida foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,169 g) e a mistura foi agitada durante 1 hora. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,506 g) e a mistura foi agitada de um dia para o outro, permitindo que aquecesse lentamente até à temperatura ambiente. No dia seguinte, a mistura foi arrefecida novamente em gelo-água e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,254 g) e agitada em gelo-água durante 45 minutos em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo (3 mL) e água (1,5 mL) e purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas duas vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido que foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,011 g.

m/z 654 $(M+H)^+$ (APCI)

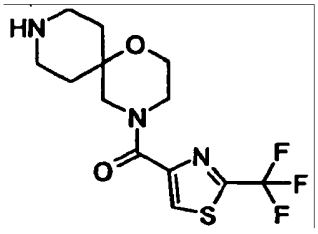
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,68 (s l, 1H), 10,22 (s l, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,29 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 6,96 - 6,84 (m, 4H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (s l, 1H), 4,93 - 4,85 (m, 1H), 4,36 - 4,27 (m, 2H), 3,83 - 3,61 (m, 6H), 3,60 - 3,51 (m, 2H), 3,50 - 3,42 (m, 2H), 3,24 - 3,02 (m, 6H), 3,02 - 2,84 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,15 - 2,06 (m, 2H), 1,88 - 1,67 (m, 2H). Três protões permutáveis não observados.

Exemplo 25

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



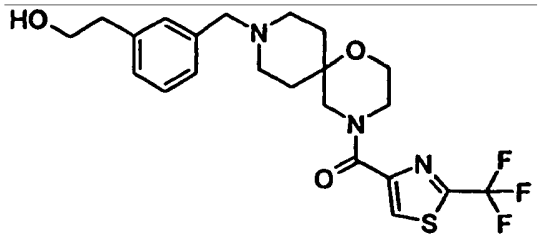
a) Trifluoroacetato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il(2-(trifluorometil)tiazol-4-il)metanona



Uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,594 g) e ácido 2-(trifluorometil)tiazole-4-carboxílico (0,4 g) em DMF (10 mL) foi tratada com trietilamina (0,848 mL) e arrefecida até 0 °C. Foi adicionado HATU (1,003 g) e a mistura agitada a 20 °C durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 40% de acetato de etilo em iso-hexano para produzir o produto como a base livre. Esta foi dissolvida em diclorometano (40 mL) e tratada com ácido trifluoroacético (10 mL) e em seguida a mistura foi deixada em repouso a 20 °C durante 1 hora. Foi adicionado tolueno (60 mL) e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,740 g.

m/z 336 $(M+H)^+$ (APCI)

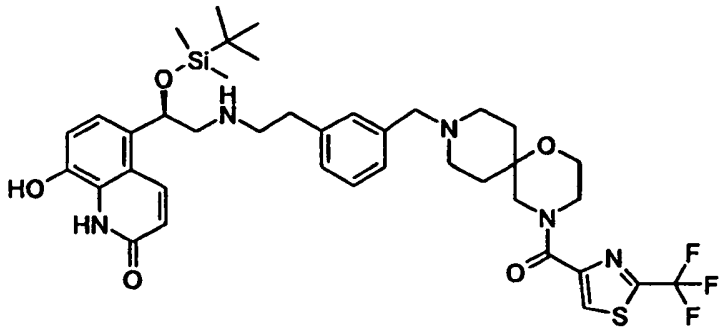
b) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(trifluorometil)tiazol-4-il)metanona



Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,354 g) a uma solução de trifluoroacetato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il(2-(trifluorometil)tiazol-4-il)metanona (exemplo 25, passo a) (0,74 g) e trietilamina (0,689 mL) em acetonitrilo (15 mL) e a mistura agitada a 20 °C durante 2 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de trietilamina e 3% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,640 g.

m/z 470 $(M+H)^+$ (APCI)

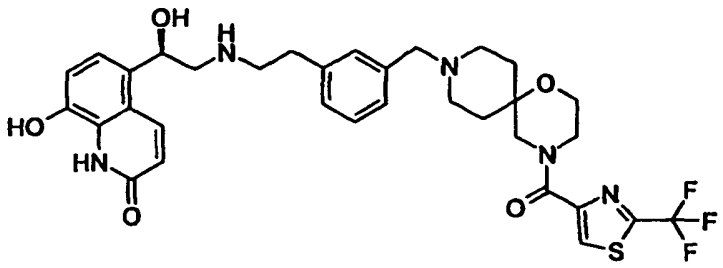
c) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2-(trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(trifluorometil)tiazol-4-il)metanona (exemplo 25, passo b) (0,211 g) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,035 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,266 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,026 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,150 g) e ácido acético (0,026 mL) em metanol (10 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,143 g) e em seguida a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. O metanol foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e acetato de etilo, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de amónia aquosa “880” e 8% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,11 g.

m/z 786 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,030 mL) em metanol (1 mL) a uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2-trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 25, passo c) (0,11 g) em THF (4 mL) e a solução resultante deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe 0,075 g.

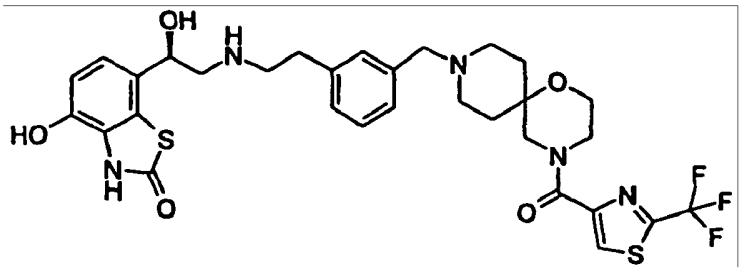
m/z 672 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,78 (s, 1H), 8,18 (d, J = 49,2 Hz, 1H), 7,45 - 7,33 (m, 4H), 7,14 (d, J = 21,8 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 19,8 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 21,9 Hz, 1H), 5,39 - 5,33 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,75 - 3,63 (m, 4H), 3,59 (s, 2H), 3,28 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,21 - 3,00 (m, 8H), 2,10 - 1,97 (m,

2H), 1,84 - 1,67 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 26

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(trifluorometil)tiazol-4-il)metanona (exemplo 25, passo b) (0,268 g) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,044 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,339 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,033 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e

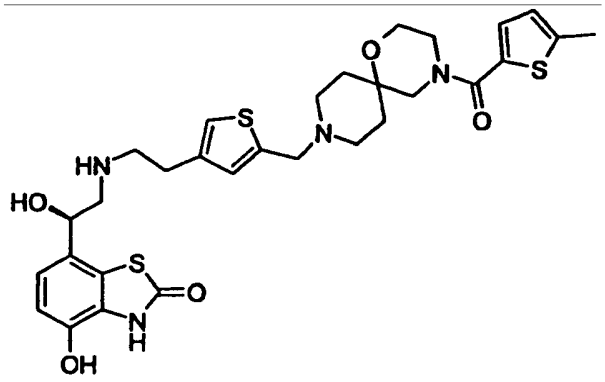
adicionado a uma solução a 0 °C de cloridrato (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) e ácido acético (0,033 mL) em metanol (10 mL). Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,054 g) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A maior parte do metanol foi evaporada sob pressão reduzida e o remanescente partilhado entre THF (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,13 g.

m/z 678 $(M+H)^+$ (APCI)

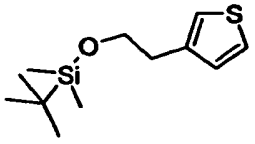
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,45 - 7,3 (m, 4H), 6,93 (d, J = 41,1 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 36,9 Hz, 1H), 4,97 - 4,87 (m, 1H), 4,27 (s, 2H), 3,74 - 3,69 (m, 2H), 3,69 - 3,64 (m, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,25 (t, J = 14,5 Hz, 2H), 3,19 - 2,99 (m, 8H), 2,09 - 1,97 (m, 2H), 1,84 - 1,69 (m, 2H). Quatro protões permutáveis não observados.

Exemplo 27

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



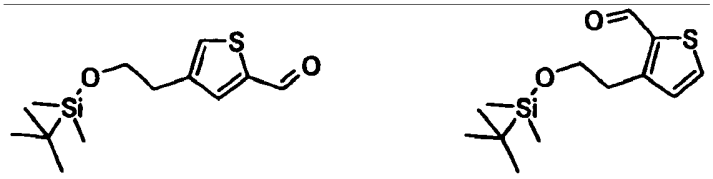
a) *terc*-Butildimetil(2-(tiofen-3-il)etoxi)silano



Foi adicionado *terc*-butilclorodimetilsilano (3,88 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(tiofen-3-il)etanol (3,00 g) e 1H-imidazole (4,78 g) em DMF (30 mL) arrefecida em banho de gelo. Após 16 h, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo (300 mL), lavada com água (3 x 150 mL) e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano e em seguida acetato de etilo:iso-hexano 1:5, para recolher o composto em subepígrafe como um óleo. Rendimento 5,2 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,23 (dd, J = 2,9, 4,9 Hz, 1H), 7,01 - 6,99 (m, 1H), 6,97 (dd, J = 1,3, 4,9 Hz, 1H), 3,80 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,85 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,01 (s, 6H).

b) Mistura de 4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído com 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído



Foi adicionado, gota a gota, n-butil-lítio (1,6 M em hexanos, 7 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de *terc*-butildimetil(2-(tiofen-3-il)etoxi)silano (exemplo 27, passo a) (2,210 g) em tetra-hidrofurano (60 mL) arrefecida a -78 °C. Após a adição, a mistura reaccional foi agitada num banho de gelo durante 1 h e em seguida arrefecida até -78 °C. Foi adicionada *N,N*-dimetilformamida (9,00 g) gota a gota ao longo de 5 min e após mais 10 min o banho de arrefecimento foi retirado. Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo e a solução de acetato de etilo lavada duas vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano 1:20, deu uma mistura 4:1 de 4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído e 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído por RMN de ^{1}H como um óleo. Rendimento 1,3 g.

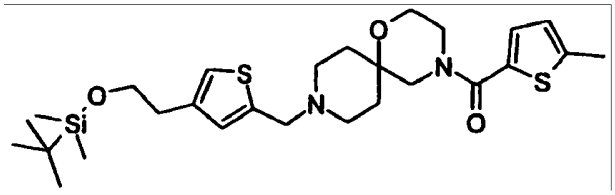
4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído:

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,93 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 3,92 - 3,84 (m, 2H), 2,91 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 0,92 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído:

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,08 (s, 1H), 7,69 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 3,92 - 3,84 (m, 2H), 3,22 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 0,89 (s, 9H), -0,01 (s, 6H).

c) (9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

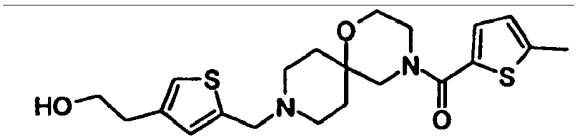


Foi adicionado trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,230 g) a uma solução, mantida sob agitação, de uma mistura 4:1 de 4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído e 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 27, passo b) (0,20 g) e AcOH (0,033 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (3 mL). Após 5 min foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,35 g). Após 16 h foi adicionada água e a mistura extraída com acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada três vezes com água e

evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina 20:80:5, separou os dois produtos isoméricos e deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,21 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,09 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,69 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 3,78 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,76 - 3,69 (m, 4H), 3,64 (s, 2H), 3,56 (s, 2H), 2,76 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,62 - 2,54 (m, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,41 - 2,32 (m, 2H), 1,90 - 1,82 (m, 2H), 1,63 - 1,52 (m, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,01 (s, 6H).

d) (9-((4-(2-Hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

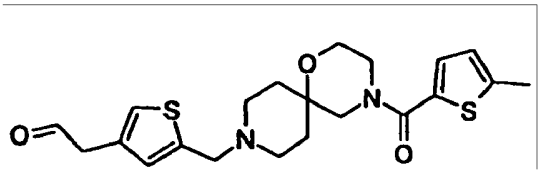


Foi adicionado fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em tetra-hidrofurano, 2 mL) a uma solução de (9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 27, passo c) (0,65 g) em tetra-hidrofurano (7 mL). Após 1 h, a solução foi evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com acetato de etilo:trietilamina 20:1, deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,45 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3) δ 7,09 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,69 (dd, J = 1,0, 3,7 Hz, 1H), 3,83 (t,

J = 6,4 Hz, 2H), 3,76 - 3,70 (m, 4H), 3,66 (s, 2H), 3,56 (s, 2H), 2,82 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,62 - 2,55 (m, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,43 - 2,33 (m, 2H), 1,91 - 1,82 (m, 2H), 1,65 - 1,50 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

e) 2-(5-((4-(5-Metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído

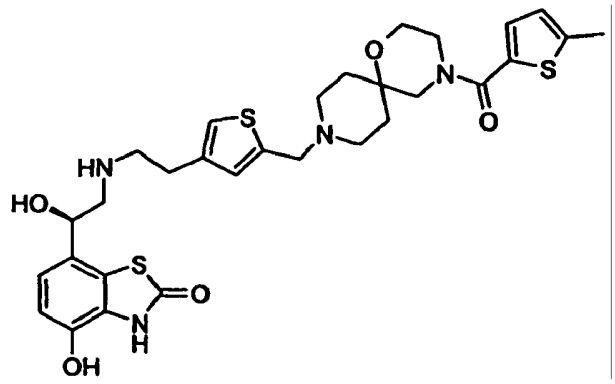


Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,35 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 27, passo d) (0,19 g) e ácido trifluoroacético (0,052 mL) em DCM (5 mL). Após 1 h foi adicionado acetato de etilo (30 mL) seguido de uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL). A mistura reaccional foi bem agitada e separada. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,07 mL), a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* (temperatura do banho

~30 °C) para dar o composto em subepígrafe como uma goma.

Rendimento 0,19 g. Utilizado directamente.

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,039 g) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,17 g) e 2-(5-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído (exemplo 27, passo e) (0,19 g) em MeOH (10 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,10 g). Após 3 h, a mistura reaccional foi concentrada

in vacuo até ~2 mL, foi adicionado THF (20 mL) e a solução

lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (2 mL). A solução orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O sólido foi dissolvido em metanol e purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas até à secura *in vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo e a solução foi evaporada *in vacuo*, e este processo foi repetido. Foi adicionado éter dietílico e a goma triturada para dar o composto em epígrafe como um sólido. Rendimento 0,097 g.

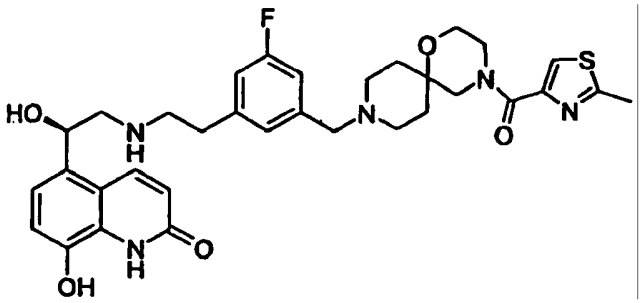
m/z 629 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,67 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 9,82 - 9,67 (m, 1H), 8,93 - 8,67 (m, 2H), 7,46 (s, 1H), 7,25 - 7,22 (m, 1H), 7,1 7 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,60 - 6,46 (m, 1H), 6,51 - 6,46 (m, 1H), 4,92 - 4,86 (m, 1H), 4,68 - 4,51 (m, 2H), 3,74 - 2,88 (m, 16H), 2,46 (s, 3H), 2,15 - 2,04 (m, 2H), 1,69 - 1,56 (m, 2H).

Exemplo 28

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-

il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



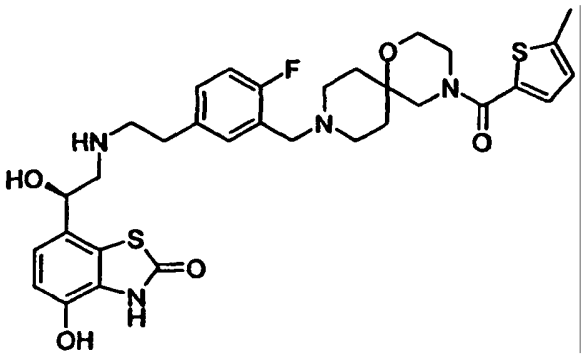
Foi adicionada uma solução de 2-(3-fluoro-5-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 19, passo c) (0,2 g) em metanol (3 mL) a uma mistura de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,23 g) e ácido acético (0,027 mL) em metanol (3 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,044 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. O solvente foi evaporado *in vacuo* e a purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em THF (3 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,11 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. A reacção foi concentrada *in vacuo*. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,021 g.

m/z 636 $(M+H)^+$ (APCI)

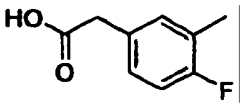
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,15 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,29 - 7,17 (m, 3H), 7,13 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,55 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 5,37 - 5,29 (m, 1H), 4,35 - 4,19 (m, 2H), 3,75 - 3,59 (m, 6H), 3,34 - 2,98 (m, 10H), 2,67 (s, 3H), 2,06 - 1,93 (m, 2H), 1,83 - 1,69 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 29

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(4-fluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



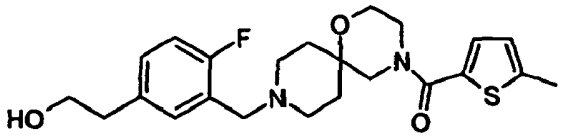
a) Ácido 2-(4-fluoro-3-metilfenil)acético



Foram combinados 2-(4-fluoro-3-metilfenil)acetonitrilo (1 g) e hidróxido de sódio (0,8 g) numa mistura de metanol (10 mL) e água (3 mL). A mistura resultante foi então aquecida a refluxo de um dia para o outro. A reacção foi concentrada *in vacuo* e o resíduo dissolvido em água (25 mL). A fase aquosa foi lavada com éter (2 x 25 mL), acidificada com ácido clorídrico concentrado e extraída com éter (3 x 25 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 1,1 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,31 (s, 1H), 7,20 - 6,99 (m, 3H), 3,52 (s, 2H), 2,21 (s, 3H).

b) (9-(2-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona



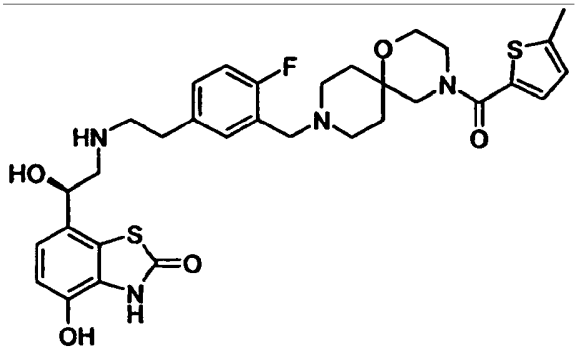
Foi adicionado peróxido de benzoílo (0,058 g) a uma mistura de ácido 2-(4-fluoro-3-metilfenil)acético (0,6 g) (exemplo 29, passo a) e *N*-bromossuccinimida (0,7 g) em DCM (10 mL). A mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 4 h. Foram adicionados DCM (10 mL) e água (20 mL) e a fase orgânica separada. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em THF (10 mL) e arrefecido num banho de gelo. Foi adicionada, gota a gota, uma solução de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 4,46 mL) e a mistura agitada durante 1 h. Foi cuidadosamente adicionado metanol (2 mL), e uma vez terminado o borbulhamento, o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em acetonitrilo (10 mL) e foi adicionado trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,7 g), seguida de trietilamina (1,49 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro e em seguida concentrada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 99:1:0,1 até 97:3:0,3. As fracções contendo o produto

foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como uma espuma. Rendimento 0,46 g.

m/z 433 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,22 - 7,16 (m, 2H), 7,14 - 7,07 (m, 1H), 6,97 (dd, J = 10,0, 8,5 Hz, 1H), 6,80 - 6,76 (m, 1H), 3,67 - 3,57 (m, 6H), 3,50 - 3,45 (m, 4H), 2,70 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,41 - 2,35 (m, 4H), 1,76 - 1,67 (m, 2H), 1,55 - 1,45 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(4-fluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,032 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 29, passo b) (0,18 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,27 g). A solução amarela resultante foi

deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (25 mL) e a mistura resultante foi agitada vigorosamente durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (25 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), em seguida foram adicionados ácido acético (0,012 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,17 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,039 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,11 g.

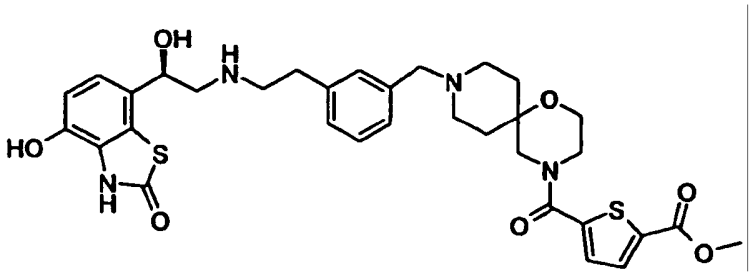
m/z 641 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 8 7,47 - 7,35 (m, 2H), 7,29 - 7,17 (m, 2H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,82 - 6,75 (m, 2H), 4,91 (dd, J = 8,1, 5,3 Hz, 1H), 4,32 - 4,20 (m, 2H), 3,74 -

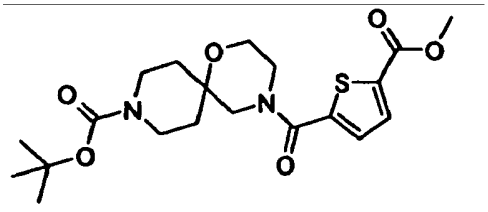
3,61 (m, 4H), 3,53 (s, 2H), 3,28 - 2,93 (m, 10H), 2,46 (s, 3H), 2,05 - 1,97 (m, 2H), 1,82 - 1,74 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 30

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(9-(3-(2-(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etilamino)etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo



a) 4-(5-(Metoxicarbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

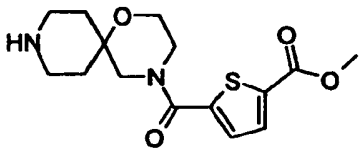


Uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,6 g) e ácido tiofeno-2,5-dicarboxílico (1,7 g) em DMF (10 mL) foi tratada com trietilamina (2,75 mL) e arrefecida até 0 °C. Foi adicionado HATU (1,013 g) e a mistura agitada a

20 °C durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio contendo ácido acético (2 mL), a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de ácido acético em acetato de etilo como solvente. Este material foi dissolvido em THF (30 mL), tratado com carbonildiimidazole (0,332 g) e a mistura foi deixada em repouso a 45 °C durante 1 hora. Foi adicionado metanol (20 mL) e a reacção aquecida a 50 °C durante 30 minutos. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 40% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,45 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,72 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,72 - 3,68 (m, 2H), 3,63 - 3,59 (m, 2H), 3,58 - 3,51 (m, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,12 - 3,04 (m, 2H), 1,77 - 1,70 (m, 2H), 1,46 - 1,40 (m, 2H), 1,39 (s, 9H).

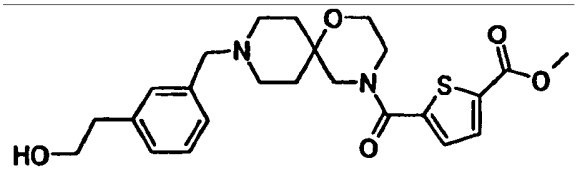
b) Trifluoroacetato de 5-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo



Foi adicionado ácido trifluoroacético (10 mL) a uma solução de 4-(5-(metoxicarbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 30, passo a) (0,45 g) em diclorometano (40 mL) e a mistura resultante foi deixada em repouso a 20 °C durante 1 hora. Foi adicionado tolueno (50 mL) e os solventes removidos sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,46 g.

m/z 325 $(M+H)^+$ (APCI)

c) 5-(9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo

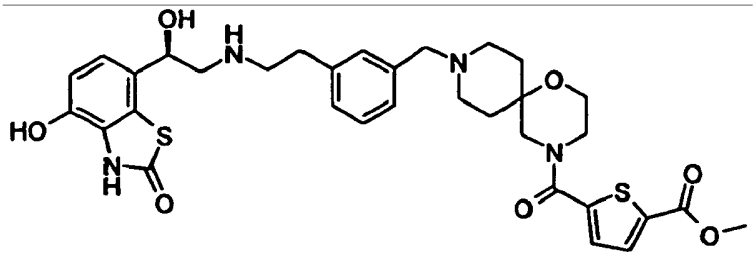


Uma solução de trifluoroacetato de 5-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (exemplo 30, passo b) (0,46 g) e

2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo, 6, passo a) (0,226 g) em acetonitrilo (10 mL) foi tratada com trietilamina (0,44 mL) e a mistura agitada a 20 °C durante 2 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de trietilamina e 3% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,41 g.

m/z 459 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(9-(3-(2-(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etilamino)etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo



Uma solução de 5-(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (exemplo 30, passo c) (0,262 g) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,044 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,339 g) e a mistura resultante foi

agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,033 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução a 0 °C de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) e ácido acético (0,033 mL) em metanol (10 mL). Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,054 g) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A maior parte do metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o remanescente partilhado entre THF (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,175 g.

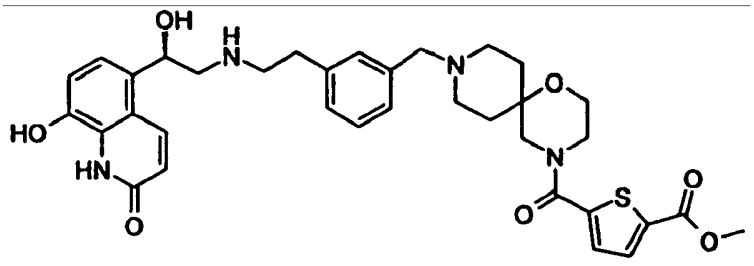
m/z 667 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 1 ,27 (s, 1H), 7,72 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 7,44- 7,33 (m, 5H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,95 - 4,89 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,74 - 3,69 (m, 2H), 3,66 - 3,61 (m, 2H),

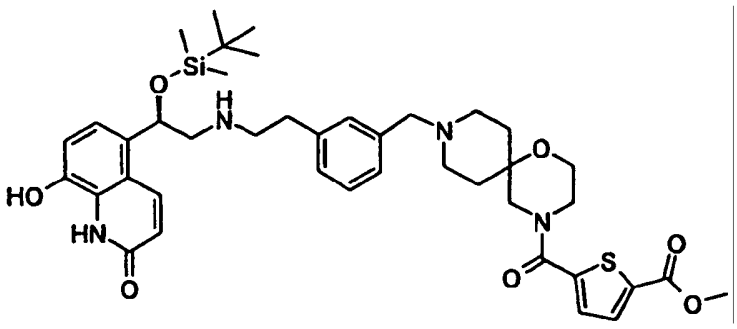
3,53 (s, 2H), 3,28 -2,98 (m, 10H), 2,09 - 1,99 (m, 2H), 1,77 (s, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 31

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(9-(3-(2-(2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etilamino)etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo



a) (*R*)-5-(9-(3-(2-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etilamino)etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo

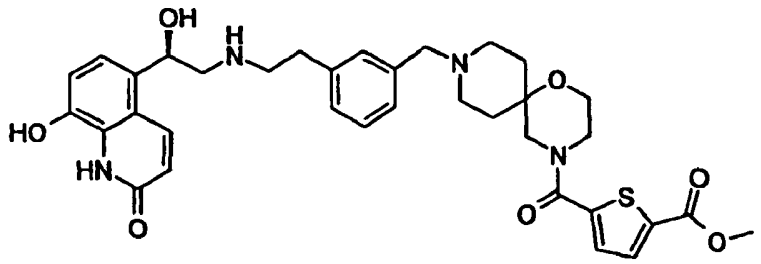


Uma solução de 5-(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de

metilo (exemplo 30, passo c) (0,137 g) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,023 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,178 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,017 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para produzir o intermediário aldeído em bruto (0,13 g). O aldeído foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,10 g) e ácido acético (0,017 mL) em metanol (10 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,095 g) e em seguida a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. O metanol foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e acetato de etilo, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de amónia aquosa “880” e 9% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,108 g.

m/z 775 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(9-(3-(2-(2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etilamino)etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo



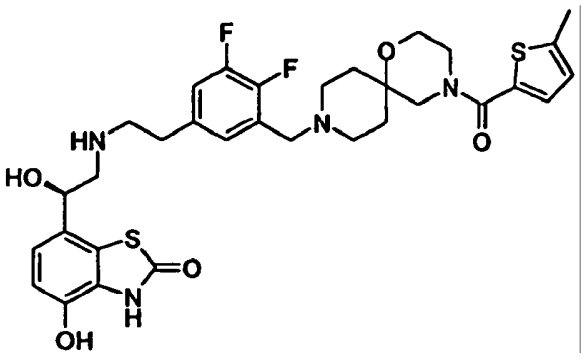
(*R*)-5-(9-(3-(2-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etilamino)etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carbonil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (exemplo 31, passo a) (0,108 g) em THF (4 mL) foi tratado com trifluoridrato de trietilamina (0,029 mL) em metanol (1 mL) e a solução deixado em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,055 g.

m/z 661 $(M+H)^+$ (APCI)

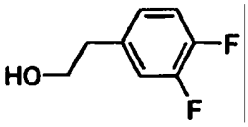
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 8 8,18 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 7,45 - 7,32 (m, 5H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 5,40 - 5,34 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,75 - 3,70 (m, 2H), 3,66 - 3,61 (m, 2H), 3,53 (s, 2H), 3,29 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,22 - 3,01 (m, 8H), 2,10 - 1,99 (m, 2H), 1,78 (s, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 32

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3,4-difluoro-5-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(3,4-Difluorofenil)etanol

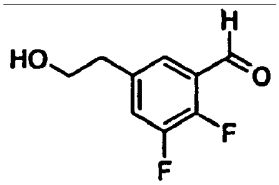


Foi cuidadosamente adicionada uma solução de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 18,30 mL) a uma solução de ácido 2-(3,4-difluorofenil)acético (2,1 g) em THF (20 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. A reacção foi arrefecida num banho de gelo e foi adicionado gota a gota metanol (5 mL). A reacção foi agitada até parar o borbulhamento e o solvente evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano até iso-hexano:acetato de etilo 4:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in*

vacuo para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1,92 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,14 - 7,00 (m, 2H), 6,98 - 6,90 (in, 1H), 3,85 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,82 (t, J = 6,4 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

b) 2,3-Difluoro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído

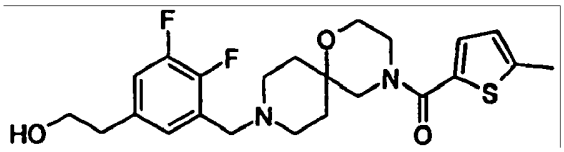


Foi adicionada 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (6,15 mL) a uma solução de n-butil-lítio em hexanos (1,6 M, 22,8 mL) a -70 °C. Foi adicionada, gota a gota, uma solução de 2-(3,4-difluorofenil)etanol (exemplo 32, passo a) (1,92 g) em THF (25 mL). Foi adicionado THF (25 mL) e a mistura agitada a -70 °C durante 6 h. Foi então adicionada DMF (4,7 mL) e a mistura agitada durante 1 h a -70 °C. A mistura foi então deixada aquecer até à TA e agitada durante 70 h. Foi adicionada solução aquosa de HCl (2 M, 10 mL) seguida de acetato de etilo (20 mL) e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:éter dietílico 4:1 até 2:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in*

vacuo para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 1,9 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,33 (s, 1H), 7,54 - 7,47 (m, 1H), 7,39 - 7,32 (m, 1H), 3,92 - 3,86 (m, 2H), 2,88 (t, J = 6,3 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

c) (9-(2,3-Difluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

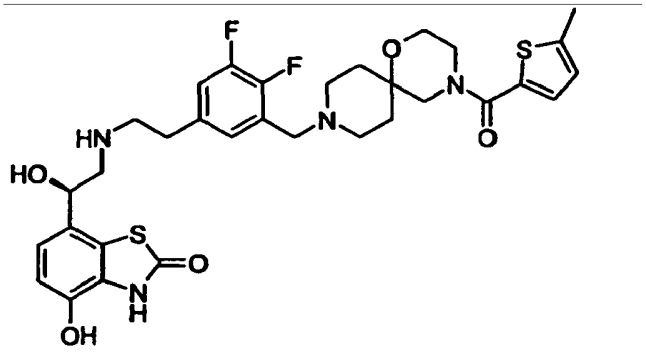


Foi adicionado trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,53 g) a uma solução de 2,3-difluoro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 32, passo b) (0,25 g) e ácido acético (0,08 mL) em metanol (5 mL). A reacção foi agitada durante 30 min e arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,13 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 18 h. A reacção foi concentrada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 99:1:0,1 até 97:3:0,3. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,08 g.

m/z 451 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,18 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,14 - 7,06 (m, 1H), 7,04 - 6,99 (m, 1H), 6,80 - 6,77 (m, 1H), 4,34 -4,29 (m, 1H), 3,68 - 3,57 (m, 6H), 3,53 - 3,46 (m, 4H), 2,70 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,47 2,34 (m, 7H), 1,77 - 1,67 (m, 2H), 1,55 - 1,45 (m, 2H).

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3,4-difluoro-5-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,013 mL) a uma solução de (9-(2,3-difluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 32, passo c) (0,077 g) em DCM (2 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,11 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (1 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL) e acetato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi agitada vigorosamente durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (25 mL). As soluções orgânicas

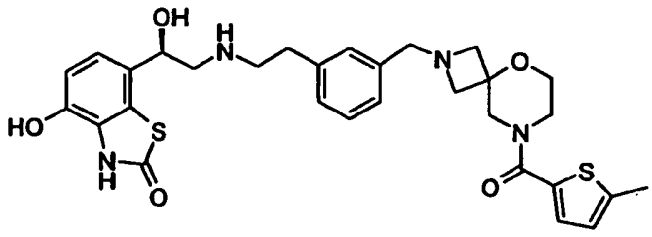
combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,005 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,045 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,016 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado in *vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,052 g.

m/z 659 $(M+H)^+$ (APCI)

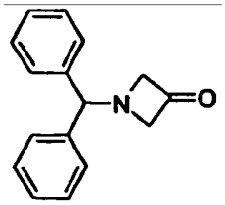
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,46 - 7,37 (m, 1H), 7,28 - 7,23 (m, 1H), 7,20 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,81- 6,74 (m, 2H), 4-91 (dd, J = 8,1, 5,0 Hz, 1H), 4,28 - 4,19 (m, 2H), 3,74 - 3,62 (m, 4H), 3,53 (s, 2H), 3,25 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,15 - 2,95 (m, 8H), 2,46 (s, 3H), 2,01 - 1,93 (m, 2H), 1,80 - 1,67 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 33

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((8-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]triazol-2(3H)-ona



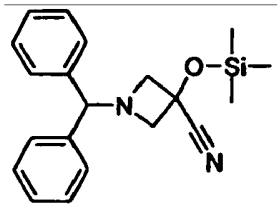
a) 1-Benzidrilazetidin-3-ona



Foi adicionada trietilamina (24,7 mL) a uma solução de 1-benzidrilazetidin-3-ol (5 g) em DMSO (25 mL). Foi adicionada, gota a gota, uma solução de piridina-trióxido de enxofre (18 g) em DMSO (65 mL) e a mistura agitada a 20 °C durante 90 minutos. A mistura foi vertida sobre gelo/água e extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados três vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, antes de serem secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de trietilamina em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,9 g.

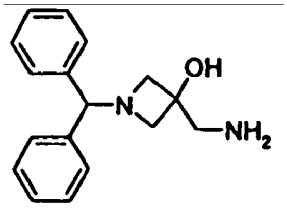
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,50 - 7,46 (m, 4H), 7,30 (t, J = 11,4 Hz, 4H), 7,24 - 7,19 (m, 2H), 4,59 (s, 1H), 4,00 (s, 4H).

b) 1-Benzidril-3-(trimetilsililoxi)azetidina-3-carbonitrilo



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 15 minutos, cianeto de tetrabutilamónio (0,283 g) em diclorometano (50 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 1-benzidrilazetidin-3-ona (exemplo 33, passo a) (2,5 g) e cianeto de trimetilsililo (2,82 mL) em diclorometano (50 mL) a 20 °C sob azoto. A mistura foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi lavada com água, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 3,5 g. Utilizado directamente sem purificação.

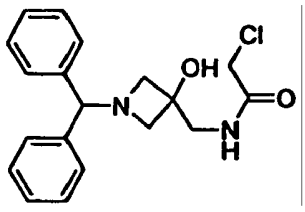
c) 3-(Aminometil)-1-benzidrilazetidin-3-ol



Uma solução de 1-benzidril-3-(trimetilsililoxi)azetidina-3-carbonitrilo (exemplo 33, passo b) (3,5 g) em THF (50 mL) foi tratada com complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 20,8 mL) e a mistura resultante aquecida a 70 °C durante 1 hora sob azoto. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e cuidadosamente desactivada com metanol (50 mL), seguido de tratamento com etilenodiamina (2,81 mL). Esta mistura foi agitada a 20 °C durante 1 hora e em seguida a 55 °C durante 1 hora. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e tratada com fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 15,6 mL), em seguida agitada à temperatura ambiente durante 40 minutos. Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 6 a 7% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,95 g.

m/z 269 $(M+H)^+$ (APCI)

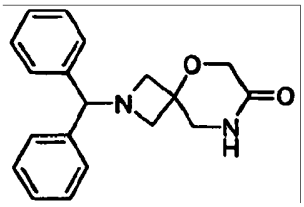
d) *N*-((1-Benzidril-3-hidroxiazetidin-3-il)metil)-2-cloroacetamida



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 30 minutos, cloreto de cloroacetilo (0,846 mL) a um mistura, mantida sob agitação vigorosa, de 3-(aminometil)-1-benzidrilazetidin-3-ol (exemplo 33, passo c) (2,1 g) em acetato de etilo (100 mL) e carbonato de potássio (3,03 g) em água (100 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante mais 30 minutos a 0 °C e em seguida extraída com acetato de etilo, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,6 g.

m/z 345 $(M+H)^+$ (APCI)

e) 2-Benzidril-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-7-ona

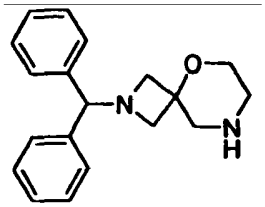


Foi adicionada, gota a gota ao longo de 90 minutos, *N*-((1-benzidril-3-hidroxiazetidin-3-il)metil)-2-cloroacetamida (exemplo 33, passo d) (2,6 g) em THF (50 mL) a uma solução, mantida sob agitação vigorosa, a 75 °C de terc-butóxido de potássio (1 M em *terc*-butanol, 15,08 mL) e THF (150 mL) sob azoto. Depois de a adição estar concluída a mistura foi agitada a 75 °C durante 10 minutos e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido

sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,05 g.

m/z 309 $(M+H)^+$ (APCI)

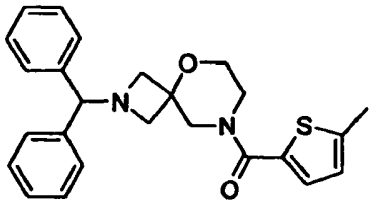
f) 2-Benzidril-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonano



Foi adicionado complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 10,7 mL) a uma solução de 2-benzidril-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-7-ona (exemplo 33, passo e) (2 g) em THF seco (40 mL) e a solução resultante foi agitada a 70 °C sob azoto durante 50 minutos. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e tratada, gota a gota, com metanol (40 mL) seguida de *N1,N2*-dimetiletano-1,2-diamina (3,43 g). A mistura foi aquecida a 70 °C durante 6 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de trietilamina e 5% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,35 g.

m/z 295 $(M+H)^+$ (APCI)

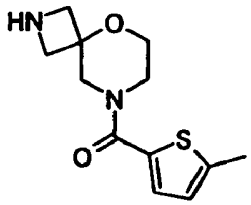
g) (2-Benzidril-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-8-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona



Foi adicionado HATU (2,267 g) numa porção a uma solução de ácido 5-metiltiofeno-2-carboxílico (0,652 g) e 2-benzidril-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonano (exemplo 33, passo f) (1,35 g) e trietilamina (1,917 mL) em DMF (20 mL) a 0 °C. O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio antes de serem secos sobre sulfato de sódio, filtrado e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 0,4 a 5% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,5 g.

m/z 419 $(M+H)^+$ (APCI)

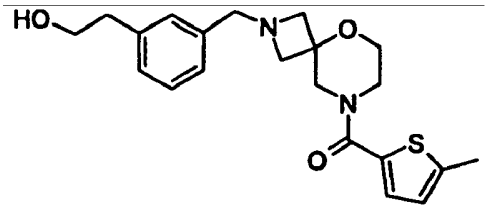
h) Cloridrato de (5-metiltiofen-2-il)(5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-8-il)metanona



Foi adicionado, gota a gota, cloroformato de 1-cloroetilo (0,508 mL) a uma solução de (2-benzidril-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-8-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 33, passo g) (1,5 g) em acetonitrilo (30 mL) a 0 °C. A mistura foi então aquecida a refluxo durante 1 hora sob azoto. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo dissolvido em metanol (50 mL). Esta solução foi aquecida a refluxo sob azoto durante 30 minutos. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo triturado com acetato de etilo (40 mL) e em seguida com acetonitrilo (7 mL) para produzir o composto em subepígrafe. Rendimento 0,29 g.

m/z 253 $(M+H)^+$ (APCI)

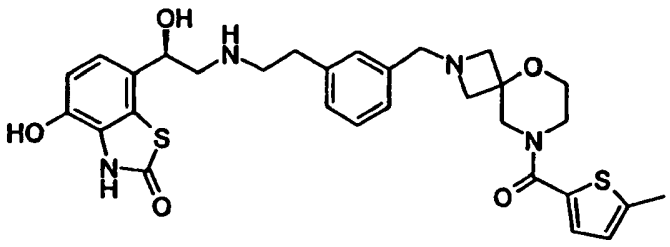
i) (2-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-8-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona



Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,281 g) a uma solução de cloridrato de (5-metiltiofen-2-il)(5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-8-il)metanona (exemplo 33, passo h) (0,29 g) e trietilamina (0,42 mL) em acetonitrilo (15 mL) a 20 °C e a mistura resultante foi agitada durante 3 horas a 20 °C. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 3% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,32 g.

m/z 387 $(M+H)^+$ (APCI)

j) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((8-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-2-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (2-(3-(2-hidroxietil)benzil)-5-oxa-2,8-diazaespiro[3.5]nonan-8-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 33, passo i) (0,16 g) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,032 mL) seguida de

periodinano de Dess-Martin (0,246 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,024 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução a 0 °C de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) e ácido acético (0,024 mL) em metanol (10 mL). Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,039 g) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A maior parte do metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o remanescente partilhado entre THF (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,13 g.

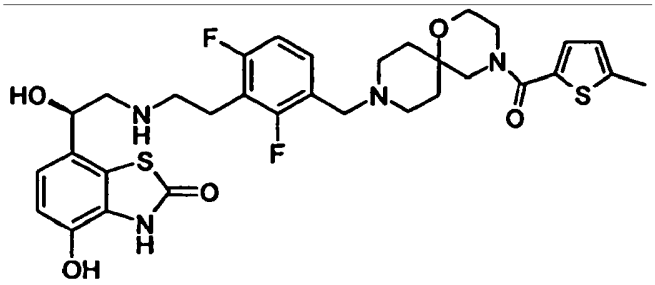
m/z 595 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 7,42 - 7,29 (m, 4H), 7,24 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,82 - 6,75 (m, 2H), 4,95 - 4,88 (m, 1H), 4,36 (s, 2H), 4,09 - 3,97 (m, 4H), 3,87 (s, 2H), 3,73 - 3,69 (m, 2H), 3,66 -

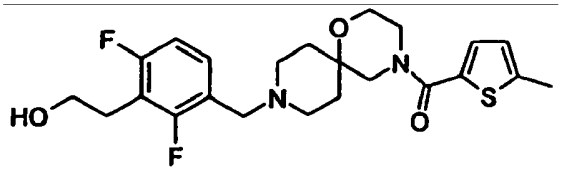
3,62 (m, 2H), 3,24 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,15 - 2,97 (m, 4H), 2,46 (s, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 34

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2,6-difluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(2,4-Difluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

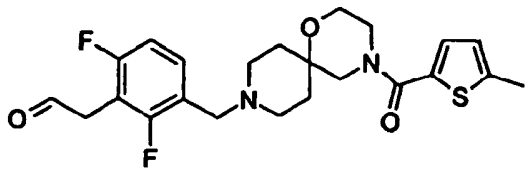


Foi adicionado peróxido de dibenzoílo (0,03 g) a uma mistura de NBS (0,53 g) e ácido 2-(2,6-difluoro-3-metilfenil)acético (0,5 g) em DCM (10 mL). A reacção foi aquecida a refluxo durante 4 h. Foram adicionados DCM (10 mL) e água (20 mL) e a fase orgânica separada. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. O resíduo foi

redissolvido em THF (10 mL) e arrefecido num banho de gelo. Foi adicionada, gota a gota, uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 4 mL) e a mistura agitada durante 1 h. Foi cuidadosamente adicionado, gota a gota, metanol (2 mL) e uma vez terminado o borbulhamento o solvente foi evaporado. O resíduo foi redissolvido em acetonitrilo (10 mL) e foi adicionado trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,8 g) seguido de trietilamina (1,12 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro, evaporada e purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 99:1:0,1 até 97:3:0,3 para dar o composto em subepígrafe como uma espuma transparente. Rendimento 0,37 g.

m/z 451 $(M+H)^+$ (APCI)

b) 2-(2,6-Difluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído

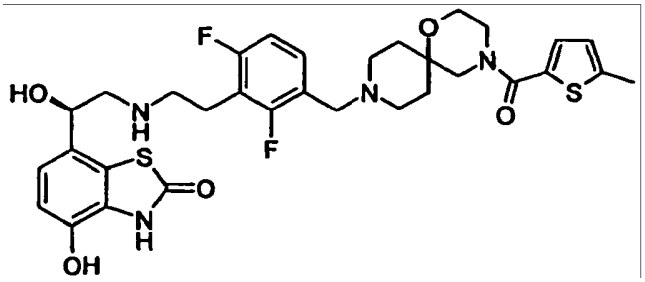


Foi adicionado TFA (0,05 mL) a uma solução de (9-(2,4-difluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 34, passo a) (0,27 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,38 g) e a mistura agitada à TA

durante 45 min. Foram então adicionadas solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura agitada vigorosamente durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,27 g.

m/z 449 $(M+H)^+$ (APCI)

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2,6-difluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionada uma solução de 2-(2,6-difluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 34, passo b) (0,135 g) em metanol (3 mL) a uma mistura de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,11 g) e ácido acético

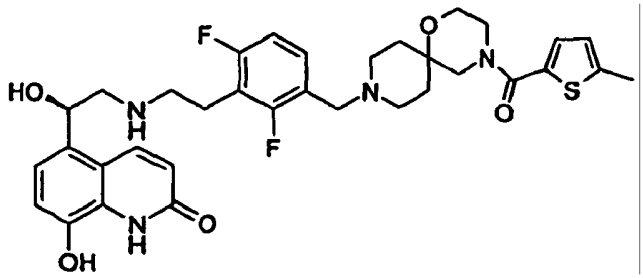
(0,015 mL) em metanol (0,5 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,025 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. A reacção foi concentrada e purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e purificadas por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%) para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,1 g.

m/z 659 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,64 - 7,50 (m, 1H), 7,26 - 7,12 (m, 2H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,84 - 6,69 (m, 2H), 4,91 (dd, J = 8,5, 4,9 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,77 - 3,47 (m, 6H), 3,29 - 2,99 (m, 10H), 2,46 (s, 3H), 2,10 - 1,90 (m, 2H), 1,88 - 1,68 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 35

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2,6-difluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino-1-hidroxietil-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionada uma solução de 2-(2,6-difluoro-3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 34, passo b) (0,135 g) em metanol (3 mL) a uma mistura de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,12 g) e ácido acético (0,017 mL) em metanol (3 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,028 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. A reacção foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e o resíduo foi dissolvido em THF (3 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,074 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e o resíduo purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções

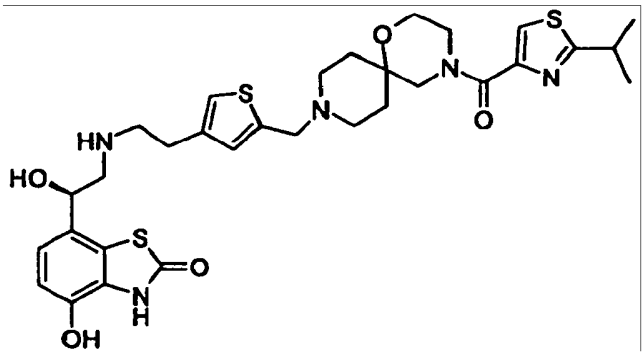
contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,12 g.

m/z 653 $(M+H)^+$ (APCI)

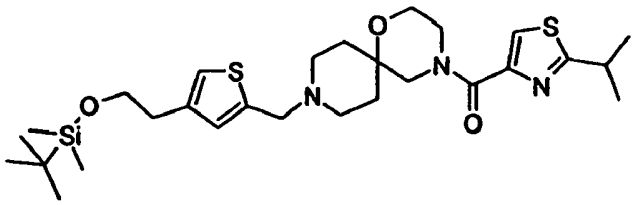
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,18 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,64 - 7,51 (m, 1H), 7,22 - 7,10 (m, 3H), 7,00 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,36 (dd, J = 8,7,4,1 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,76 - 3,46 (m, 6H), 3,33 - 3,03 (m, 10H), 2,46 (s, 3H), 2,09 - 1,95 (m, 2H), 1,87 - 1,66 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 36

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



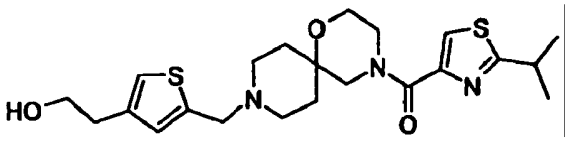
a) (9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,50 g) a uma solução, mantida sob agitação, de uma mistura 4:1 de 4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído e 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 27, passo b) (0,40 g) e AcOH (0,085 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (6 mL). Após 5 min foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,48 g). Após 16 h foi adicionada água e a mistura foi extraída com acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada três vezes com água e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina, 20:80:5 separou os dois produtos isoméricos e deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,27 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,75 (s, 1H), 3,99 - 3,91 (m, 1H), 3,88 - 3,82 (m, 1H), 3,81 - 3,72 (m, 5H), 3,69 - 3,58 (m, 3H), 3,37 - 3,25 (m, 1H), 2,76 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,59 - 2,44 (m, 3H), 2,41 - 2,29 (m, 1H), 1,89 - 1,81 (m, 2H), 1,78 - 1,67 (m, 1 H),1,56-1,50 (m, 1H) 1,46 - 1,34 (m, 6H), 0,87 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

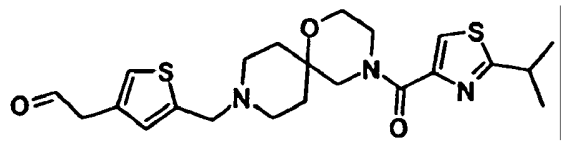
b) (9-((4-(2-Hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em tetra-hidrofurano, 2 mL) a uma solução de (9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 36, passo a) (0,27 g) em tetra-hidrofurano (4 mL). Após 1 h, a solução foi evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 20:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,18 g.

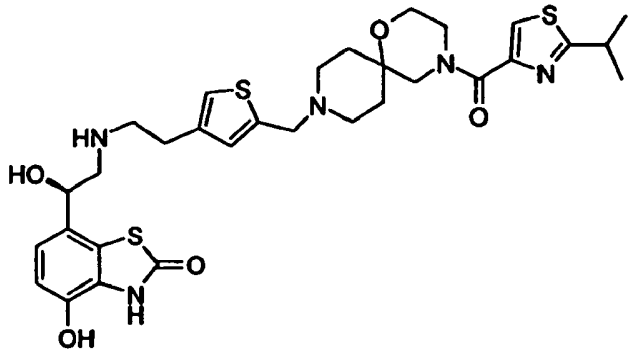
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 4,00 - 3,90 (m, 1H), 3,87 - 3,80 (m, 3H), 3,79 - 3,72 (m, 3H), 3,71 - 3,60 (m, 3H), 3,36 - 3,25 (m, 1H), 2,82 (t, J = 6,6 Hz, 3H), 2,61 - 2,42 (m, 3H), 2,42 - 230 (m, 1H), 1,90 - 1,82 (m, 2H), 1,78 - 1,67 (m, 1H), 1,67 - 1,58 (m, 1H), 1,44 - 1,36 (m, 6H).

c) 2-(5-((4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído



Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,25 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 36, passo b) (0,17 g) e ácido trifluoroacético (0,07 mL) em DCM (5 mL). Após 1 h foi adicionado acetato de etilo (30 mL) seguido de uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL). A mistura reaccional foi bem agitada e separada. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,07 mL), a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* (temperatura do banho ~30 °C) para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,19 g. Utilizado directamente

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



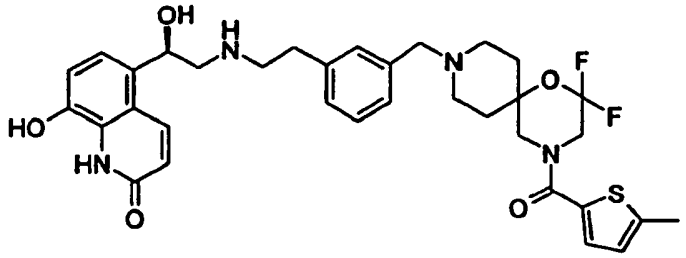
Foi adicionado ácido acético (0,037 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,170 g) e 2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído (exemplo 36, passo c) (0,170 g) em metanol (8 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,08 g). Após 3 h, a mistura reaccional foi concentrada *in vacuo* até ~2 mL, adicionado THF (20 mL) e a solução lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (2 mL). A solução orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O sólido foi dissolvido em metanol e purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas até à secura. A trituração com éter dietílico deu o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,026 g.

m/z 658 $(M+H)^+$ (APCI)

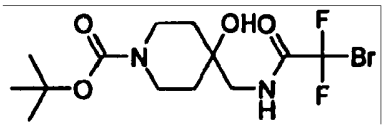
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,67 (s, 1H), 10,24 (s, 1H), 10,09 - 9,78 (m, 1H), 8,91 - 8,68 (m, 2H), 8,03 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,51 - 6,46 (m, 1H), 4,93 - 4,85 (m, 1H), 4,67 - 4,51 (m, 2H), 3,85 - 2,88 (m, 17H), 2,14 - 2,05 (m, 2H), 1,82 - 1,58 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,8 Hz, 6H).

Exemplo 37

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-((2,2-difluoro-4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



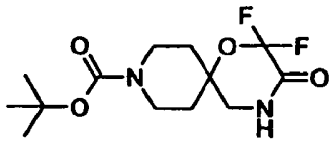
a) 4-((2-Bromo-2,2-difluoroacetamido)metil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Uma solução de 4-(aminometil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,702 g) em DMF (20 mL) a 20 °C foi tratada com 2-bromo-2,2-difluoroacetato de etilo (1,5 g) e a mistura agitada durante 90 minutos a 20 °C sob azoto. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,5 g.

m/z 385/387 $(M-H)^-$ (APCI)

b) 2,2-Difluoro-3-oxo-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

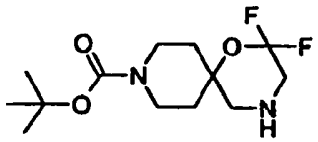


Foi adicionada, gota a gota ao longo de 15 minutos, uma solução de 4-((2-bromo-2,2-difluoroacetamido)metil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 37, passo a) (3,2 g) em THF (40 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de *terc*-butóxido de potássio (1 M em t-butanol, 16,53 mL) e THF (60 mL) a 70 °C sob azoto. No final da adição a mistura foi aquecida durante mais 10 minutos e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 30% iso-hexano em acetato de etilo. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,55 g.

m/z 305 $(M-H)^-$ (APCI)

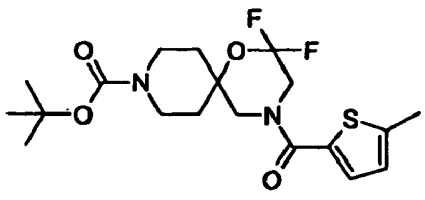
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,98 (s, 1H), 3,74 (d, J = 13,3 Hz, 2H), 3,43 (d, J = 2,8 Hz, 2H), 3,05 (s, 2H), 1,81 - 1,73 (m, 2H), 1,70 - 1,61 (m, 2H), 1,40 (s, 9H).

c) 2,2-Difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado, gota a gota, complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 2,69 mL) a uma solução de 2,2-difluoro-3-oxo-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 37, passo b) (0,55 g) em THF (15 mL). A mistura reaccional foi aquecida a 55 °C sob azoto durante 25 minutos e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. A mistura foi desactivada pela adição, cuidadosa, gota a gota, de metanol (5 mL). Foi então adicionada *N1,N2*-dimetiletano-1,2-diamina (0,633 g) e a mistura aquecida a 70 °C durante 40 minutos. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 4% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,32 g. Utilizado directamente.

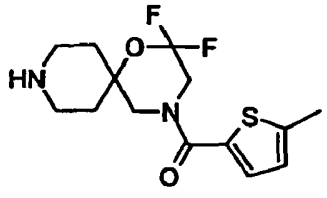
d) 2,2-Difluoro-4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado HATU (0,541 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de 2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 37, passo c) (0,32 g) e ácido 5-metiltiofeno-2-carboxílico (0,171 g) e trietilamina (0,458 mL) em DMF (20 mL). A mistura foi então agitada a 20 °C durante 7 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 0,5 a 5% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,4 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,29 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,84 (dd, J = 3,6, 1,0 Hz, 1H), 4,08 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,79 (s, 2H), 3,65 - 3,58 (m, 2H), 3,21 - 3,11 (m, 2H), 1,81 - 1,73 (m, 2H), 1,66 - 1,56 (m, 2H), 1,39 (s, 9H) + 3H (metil) não observado (sob solvente).

e) Trifluoroacetato de (2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona



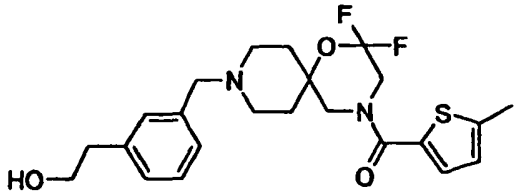
Foi adicionado ácido trifluoroacético (5 mL) a uma solução de 2,2-difluoro-4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-

diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 37, passo d) (0,4 g) em diclorometano (20 mL) a 20 °C. A solução foi deixada em repouso a 20 °C durante 25 minutos. Foi adicionado tolueno (40 mL) e os solventes foram removidos sob pressão reduzida. O resíduo foi evaporado duas vezes com acetonitrilo. A goma resultante foi triturada com éter para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,39 g.

m/z 317 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,53 (s, 2H), 7,31 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 6,88 - 6,85 (m, 1H), 4,14 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,27 - 3,21 (m, 2H), 3,13 - 3,04 (m, 2H), 2,05 - 1,98 (m, 2H), 1,91 - 1,81 (m, 2H). Protões do metilo não observados (sob o solvente).

f) (2,2-Difluoro-9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

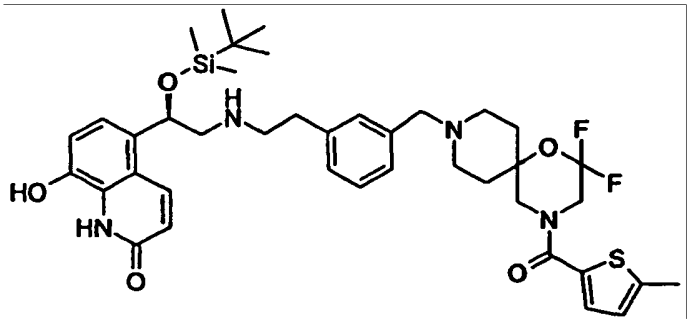


Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,095 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 37, passo e) (0,19 g) e trietilamina (0,185 mL) em acetonitrilo (10 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi

evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,188 g.

m/z 451 $(M+H)^+$ (APCI)

g) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((2,2-difluoro-4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

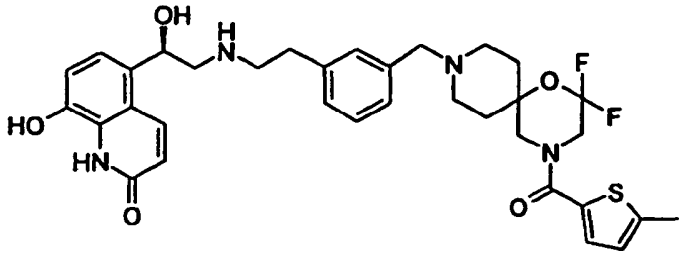


Uma solução de (2,2-difluoro-9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 37, passo f) (0,188 g) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,032 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,248 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de

sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados, tratados com ácido acético (0,024 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,14 g) e ácido acético (0,024 mL) em metanol (10 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,133 g) e agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. O metanol foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e acetato de etilo, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de amónia aquosa “880” e 8% de metanol em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,114 g.

m/z 767 $(M+H)^+$ (APCI)

h) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-((2,2-difluoro-4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,03 mL) em metanol (1 mL) a uma solução de *(R)*-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((2,2-difluoro-4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil-amino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 37, passo g) (0,114 g) em THF (4 mL) e a solução resultante foi deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida, o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,080 g.

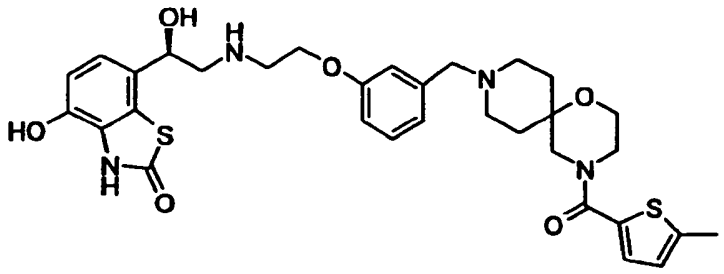
m/z 653 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,16 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,46 - 7,26 (m, 5H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,86 - 6,83 (m, 1H), 6,57 - 6,52 (m, 1H), 5,37 - 5,31 (m, 1H), 4,25 (s, 2H), 4,13 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,30 - 2,99 (m, 10H), 2,10 - 1,88 (m, 4H). Seis protões

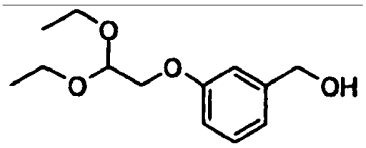
permutáveis não observados. Protões do metilo não observados (sob o solvente).

Exemplo 38

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (3-(2,2-Dietoxietoxi)fenil)metanol

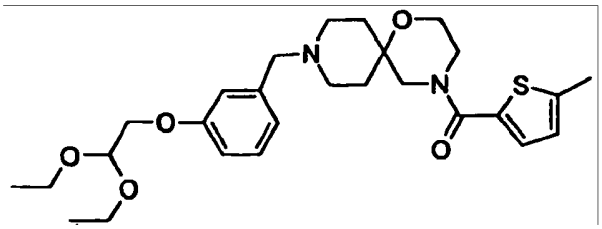


Foi adicionado carbonato de césio (7,87 g) a uma solução de 3-(hidroximetil)fenol (2,5 g) e 2-bromo-1,1-dietoxietano (3,97 g) em DMF (40 mL) e a mistura resultante foi aquecida a 90 °C durante 18 horas. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi

purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 30% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,9 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,21 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 6,91- 6,86 (m, 2H), 6,82 - 6,78 (m, 1H), 5,14 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 4,79 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 4,46 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,93 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 3,71 - 3,63 (m, 2H), 3,61 - 3,52 (m, 2H), 1,14 (t, J = 7,0 Hz, 6H).

b) (9-(3-(2,2-Dietoxietoxi)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

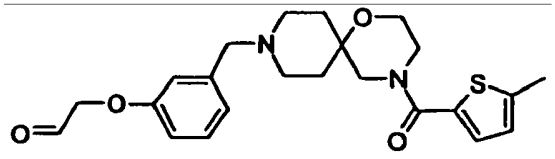


Foi adicionado, gota a gota, cloreto de metanossulfonilo (0,1 mL) a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de (3-(2,2-dietoxietoxi)fenil)metanol (exemplo 38, passo a) (0,307 g) e trietilamina (0,178 mL) em diclorometano (30 mL). A mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi lavada com água e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em acetonitrilo (30 mL) e tratado com trietilamina (1 mL) seguida de trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-metanona (exemplo 9, passo b) (0,42 g). A mistura foi agitada a

20 °C durante 2 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 3% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,45 g.

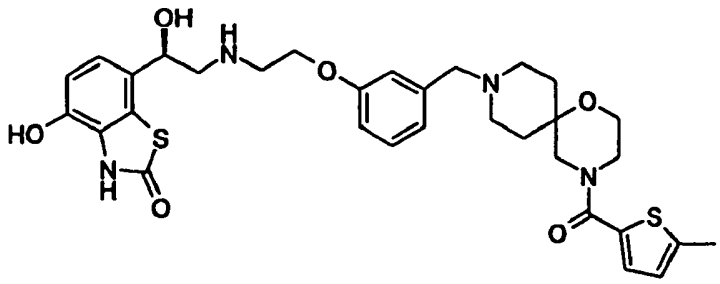
m/z 503 $(M+H)^+$(APCI)

c) 2-(3-((4-(5-Metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)acetaldeído



Uma solução de (9-(3-(2,2-dietoxietoxi)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 38, passo b) (0,45 g) numa mistura de ácido acético (25 mL) e água (25 mL) foi aquecida a 65 °C sob azoto durante 16 horas. A maior parte dos solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio em excesso. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e filtrada, foi adicionado ácido acético (0,051 mL) e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,38 g. Utilizado directamente.

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(3-((4-(5-metiltiofeno-1-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)etilamino)etil)-benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



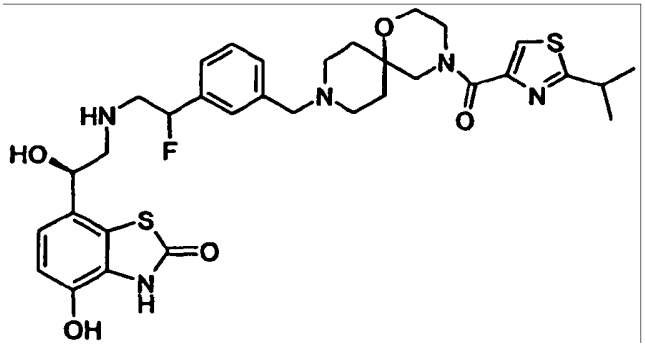
Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,084 g) a uma solução, mantida sob agitação, a 20 °C de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,303 g) e 2-(3-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)fenoxi)acetaldeído (exemplo 38, passo c) (0,38 g) e ácido acético (0,051 mL) em metanol (12 mL). A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 5 horas. A mistura reaccional foi evaporada sob pressão reduzida até um volume de 3 mL e em seguida partilhada entre acetato de etilo (20 mL) e água (20 mL). A camada aquosa foi tratada com solução saturada de bicarbonato de sódio (3 mL). A mistura aquosa foi então tratada com cloreto de sódio sólido para dar uma solução saturada, a qual foi extraída com THF (20 mL). A camada de THF foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,1 g.

m/z 639 $(M+H)^+$ (APCI)

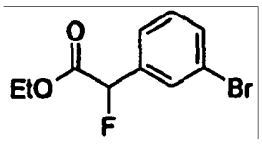
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,28 (s, 1H), 7,43 - 7,36 (m, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,14 (s, 2H), 7,07 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,82 - 6,76 (m, 2H), 5,00 - 4,91 (m, 1H), 4,36 - 4,28 (m, 4H), 3,73 - 3,69 (m, 2H), 3,68 - 3,63 (m, 2H), 3,54 (s, 2H), 3,45 (s, 2H), 3,25 - 3,04 (m, 6H), 2,46 (s, 3H), 2,09 - 1,98 (m, 2H), 1,87 1,72 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 39

Ditrifluoroacetato de 7-((1R)-2-(2-fluoro-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)etilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



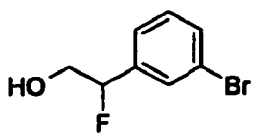
a) 2-(3-Bromofenil)-2-fluoroacetato de etilo



Uma solução de 2-(3-bromofenil)acetato de etilo (1,00 g) e *terc*-butildimetilclorossilano (0,749 g) em THF (4 mL) foi arrefecida até -78 °C sob uma atmosfera de azoto e tratada com bis(trimetilsilil)amida de lítio (1 M em THF, 4,6 mL), adicionada gota a gota ao longo de 10 minutos. A solução foi agitada a -78 °C durante 5 minutos, em seguida retirada do banho de arrefecimento e deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de 30 minutos. A solução foi concentrada *in vacuo* e o resíduo suspenso em iso-hexano e filtrado para remover o cloreto de lítio precipitado. O filtrado foi concentrado *in vacuo* para dar um óleo (1,49 g), o qual foi dissolvido em acetonitrilo (2 mL) e adicionado gota a gota a uma suspensão, mantida sob agitação, de reagente de fluoração Selectfluor™ (1,93 g) em acetonitrilo (17 mL) à temperatura ambiente, completando a adição com acetonitrilo (3 x 1 mL). A mistura resultante foi agitada durante 1,5 horas, em seguida concentrada sobre sílica e purificada por cromatografia flash sobre sílica eluído com 10% de éter dietílico em iso-hexano, para proporcionar o composto em subepígrafe contaminado com material de partida como um óleo incolor. Rendimento 0,884 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,63 (s, 1H), 7,53 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,28 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 5,73 (d, J = 47,7 Hz, 1H), 4,33 - 4,19 (m, 2H), 1,28 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

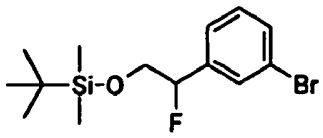
b) 2-(3-Bromofenil)-2-fluoroetanol



Foi adicionado, em porções ao longo de 7 minutos, hidreto de alumínio lítio (1 M em THF, 13,0 mL) a uma solução de 2-(3-bromofenil)-2-fluoroacetato de etilo (exemplo 39, passo a) (2,94 g) em THF (35 mL), pré-arrefecida em gelo-água. A mistura resultante foi agitada em gelo-água durante 30 minutos, em seguida desactivada através da adição cuidadosa de metanol (5 mL), adicionado em porções ao longo de 30 minutos. A mistura foi vertida para HCl aquoso 2 molar e extraída três vezes com acetato de etilo. Os extractos orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de magnésio anidro e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 25% de éter dietílico em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 1,39 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,53 - 7,46 (m, 2H), 7,30 - 7,24 (m, 2H), 5,53 (ddd, J = 48,2, 7,2, 3,3 Hz, 1H), 3,97 - 3,77 (m, 2H), 1,95 (dd, J = 8,2, 5,1 Hz, 1H).

c) (2-(3-Bromofenil)-2-fluoroetoxi)(*terc*-butil)dimetilsilano

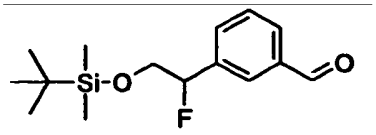


Uma solução de 2-(3-bromofenil)-2-fluoroetanol (exemplo 39, passo b) (1,38 g) e imidazole (1,29 g) em DMF (14 mL) foi arrefecida em gelo-água, tratada com *terc*-butildimetilcloro-silano (1,049 g), em seguida retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A

solução foi vertida para água e extraída duas vezes com éter dietílico. Os extractos orgânicos combinados foram lavados duas vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida secos sobre sulfato de magnésio anidro e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluído com 10% de diclorometano em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 1,94 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,51 - 7,49 (m, 1H), 7,46 (dt, J = 7,0, 2,0 Hz, 1H), 7,28 - 7,21 (m, 2H), 5,43 (ddd, J = 47,5, 6,5, 3,8 Hz, 1H), 3,95 - 3,76 (m, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,03 (d, J = 4,6 Hz, 6H).

d) 3-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-1-fluoroetil)-benzaldeído

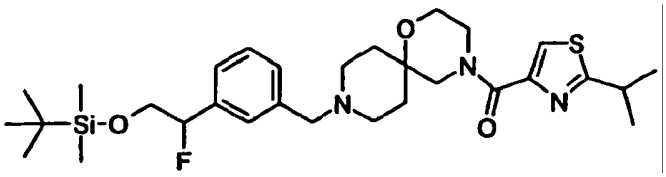


Uma solução de (2-(3-bromofenil)-2-fluoroetoxi)(*terc*-butil)dimetilsilano (exemplo 39, passo c) (1,8 g) em THF (36 mL) foi arrefecida até -78 °C sob uma atmosfera de azoto e tratada com butil-lítio (1,8 M em hexanos, 3,3 mL), adicionado gota a gota ao longo de 5 minutos. A solução foi agitada a -78 °C durante 30 minutos, tratada com *N,N*-dimetilformamida (0,63 mL), agitada a -78 °C durante mais 30 minutos, em seguida retirada do banho de arrefecimento e deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de 140 minutos. A solução foi desactivada pela adição de cloreto de amónio aquoso a 10% e a mistura resultante foi extraída duas vezes com éter dietílico. As fases orgânicas

combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de magnésio anidro e purificadas por cromatografia flash sobre sílica eluído com 50% de diclorometano em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 1,26 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,04 (s, 1H), 7,88 - 7,84 (m, 2H), 7,63 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,56 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 5,55 (ddd, J = 47,3, 6,2, 4,0 Hz, 1H), 4,00 - 3,83 (m, 2H), 0,87 (s, 9H), 0,02 (d, J = 3,9 Hz, 6H).

e) (9-(3-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-1-fluoroetil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

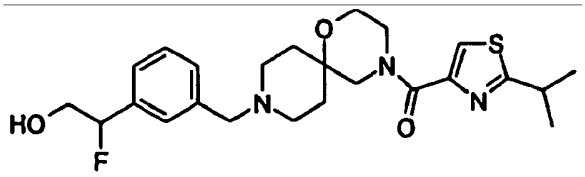


Uma solução de 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)-1-fluoroetil)benzaldeído (exemplo 39, passo d) (0,329 g) em MeOH (4 mL) foi tratada com ácido acético (0,055 mL) seguido de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,408 g) e agitada à temperatura ambiente durante 5 minutos. A solução foi arrefecida num banho de água com gelo, tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,309 g), agitada em gelo-água durante 135 minutos, em seguida retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante mais 65 minutos. A solução foi novamente arrefecida em gelo-água,

tratada com mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,310 g) e agitada em gelo-água durante 75 minutos. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,312 g) e a mistura foi agitada durante 70 minutos. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,619 g) e a mistura foi agitada de um dia para o outro, permitindo que o banho de arrefecimento acabasse lentamente. No dia seguinte foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,307 g) e a mistura foi agitada durante 70 minutos. Foi adicionado mais ácido acético (0,055 mL) e a mistura foi agitada durante 80 minutos. A mistura foi aquecida até 40 °C e agitada a essa temperatura durante 25 minutos, em seguida foi concentrada sobre sílica flash *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluído com 5% de metanol em diclorometano para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido branco pegajoso. Rendimento 0,344 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,93 (s, 1H), 7,57 - 7,11 (m, 4H), 5,64 - 5,43 (m, 1H), 4,00 - 3,81 (m, 2H), 3,77 - 3,55 (m, 6H), 3,31 (septeto, J = 6,8 Hz, 1H), 3,13 - 2,88 (m, 2H), 2,57 - 2,35 (m, 4H), 2,16 - 1,94 (m, 2H), 1,74 - 1,54 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,7 Hz, 6H), 0,84 (s, 9H), 0,01 (s, 6H).

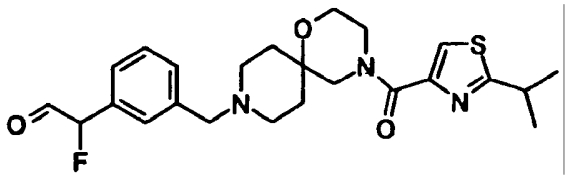
f) (9-(3-(1-Fluoro-2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Uma solução de (9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)-1-fluoroetil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 39, passo e) (0,33 g) em THF (5 mL) foi tratada com fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 0,69 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 50 minutos. Foi adicionado mais fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 0,69 mL) e a mistura foi agitada durante mais 80 minutos. A solução foi então concentrada sobre sílica flash e o resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluído com 7,5% de metanol em diclorometano para proporcionar o composto em subepígrafe como uma espuma branca. Rendimento 0,221 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,36 - 7,19 (m, 4H), 5,45 (ddd, J = 48,5, 6,6, 3,7 Hz, 1H), 4,86 - 4,76 (m, 1H), 3,80 - 3,58 (m, 9H), 3,58 - 3,44 (m, 1H), 3,31 (septeto, J = 6,8 Hz, 1H), 2,46 - 2,28 (m, 4H), 1,79 -1,67 (m, 2H), 1,66 - 1,50 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

g) 2-Fluoro-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído

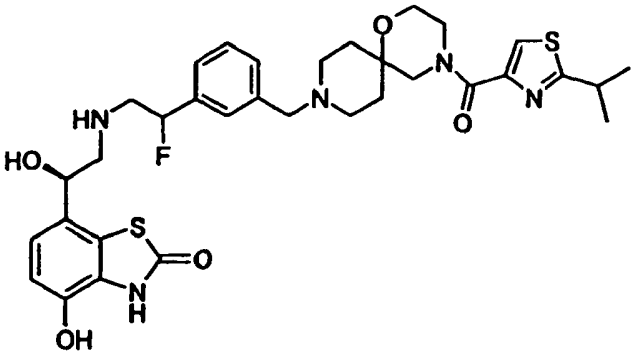


Uma solução de (9-(3-(1-fluoro-2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 39, passo f) (0,213 g) em DCM (5 mL) foi arrefecida em gelo-água e tratada com ácido trifluoroacético

(0,053 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,296 g) e a mistura foi retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante 20 minutos. Foi adicionado mais periodinano de Dess-Martin (0,295 g) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante mais 30 minutos. A reacção foi então desactivada pela adição de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (5 mL), e a mistura bifásica resultante foi agitada durante 10 minutos. A mistura foi então extraída duas vezes com acetato de etilo e os extractos orgânicos combinados lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,1 mL), em seguida os extractos acidificados foram secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* para proporcionar o subproduto em epígrafe em bruto como uma espuma esbranquiçada. Rendimento 0,240 g.

m/z 460 $(M+H)^+$ (APCI)

h) Ditrifluoroacetato de 7-((1*R*)-2-(2-fluoro-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)etilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1 passo d) (0,182 g) em metanol (3 mL) foi tratada com ácido acético (0,039 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-fluoro-2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 39, passo g) (0,239 g) em metanol (4 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 5 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,146 g). A mistura foi agitada em gelo durante 25 minutos, em seguida foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,444 g). A mistura foi então agitada ao longo do fim-de-semana, permitindo que aquecesse lentamente até à temperatura ambiente. Na segunda-feira seguinte, a mistura foi concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de metanol (3 mL) e água (1,5 mL) e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 15-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi removido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o produto em epígrafe como um sólido branco (0,03 g).

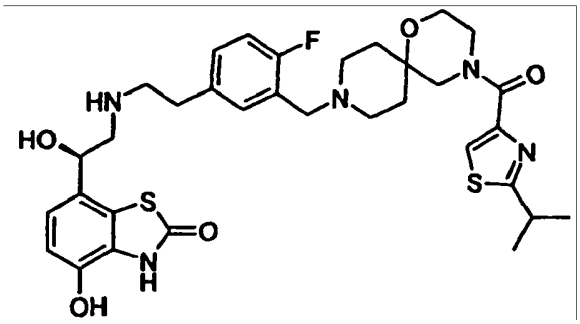
m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,94 (s, 1H), 7,60 - 7,45 (m, 4H), 6,93 (dd, J = 8,2, 2,3 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,97 (dt, J = 49,2, 9,7 Hz, 1H), 4,99 - 4,89 (m, 1H), 4,36 - 4,17 (m, 2H), 3,75 - 3,62 (m, 6H), 3,60 - 2,90

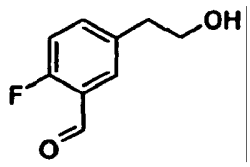
(m, 9H), 2,08 - 1,92 (m, 2H), 1,81 - 1,64 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 40

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(4-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído

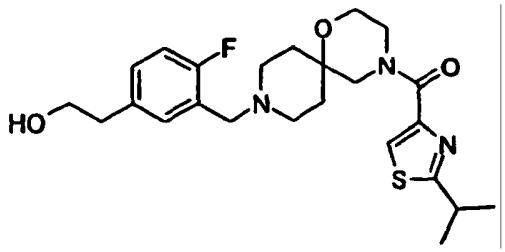


Foi adicionada, gota a gota, 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (3,0 g) a uma solução, mantida sob agitação, de n-butil-lítio (1,6 M em hexanos, 13 mL) em tetra-hidrofurano seco (12 mL) a -78 °C. Após 10 min foi adicionado gota a gota 2-(4-fluorofenil)etanol (1,00 g). A mistura reaccional foi agitada a -78 °C durante 5 h e em seguida foi adicionada, gota a gota ao longo de 5 min, DMF seca (3,18 mL). O banho de

arrefecimento foi retirado e a mistura reaccional deixada aquecer até à temperatura ambiente de um dia para o outro, foram adicionados acetato de etilo e HCl aquoso (2 M) e a solução separada. A camada de acetato de etilo foi lavada com água, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano, 1:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo. Rendimento 0,43 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,35 (s, 1H), 7,73 (dd, J = 6,4 & 2,0 Hz, 1H), 7,52 - 7,46 (m, 1H), 7,12 (dd, J = 10,0 & 8,4 Hz, 1H), 3,88 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,90 (t, J = 6,5 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

b) (9-(2-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

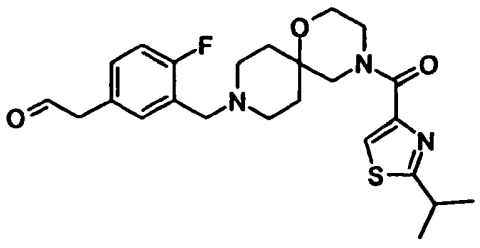


Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,339 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 40, passo a) (0,135 g), trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,339 g) e ácido acético (0,046 mL) em NMP (7 mL). Após 16 h foi adicionado mais 2-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído

(exemplo 40, passo a) (0,135 g) seguido de triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,339 g). Após 2 h, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo (60 mL) e lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (30 mL). A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo. A solução de acetato de etilo combinada foi evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 10:1 para dar o composto em subepígrafe como uma goma que continha NMP. A NMP foi removida aplicando a goma num cartucho de SCX de 10 g, eluindo primeiro com metanol e em seguida com 20% de amónia aquosa "880" em metanol para recolher o composto em subepígrafe. A solução foi evaporada até à secura e a goma resultante aplicada a uma coluna de sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 10:1 para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,31 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 7,19 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,13 - 7,07 (m, 1H), 6,97 (t, J = 9,3 Hz, 1H), 4,28 - 4,24 (m, 1H), 3,71 - 3,55 (m, 6H), 3,46 (s, 2H), 3,35 - 3,26 (m, 1H), 3,00 (s, 2H), 2,70 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,45 - 2,26 (m, 4H), 1,74 - 1,65 (m, 2H), 1,59 - 1,49 (m, 2H), 1,36 (d, J = 7,0 Hz, 6H).

c) 2-(4-Fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído

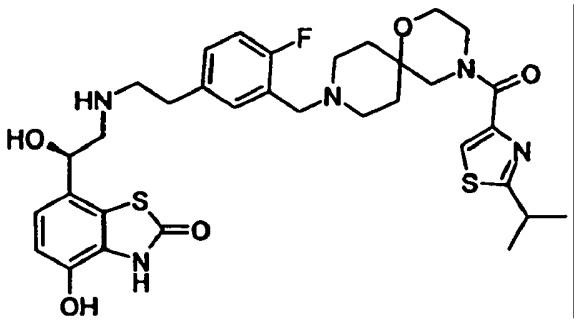


Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,284 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-(2-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 40, passo b) (0,21 g) e ácido trifluoroacético (0,046 mL) em DCM (5 mL). Após 1 h foi adicionado acetato de etilo (30 mL) seguido de uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL). A mistura reaccional foi bem agitada e separada. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,07 mL), a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* (temperatura do banho ~30 °C) para dar o composto em subepígrafe como uma goma.

Rendimento 0,2 g. Utilizado directamente.

m/z 460 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(4-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



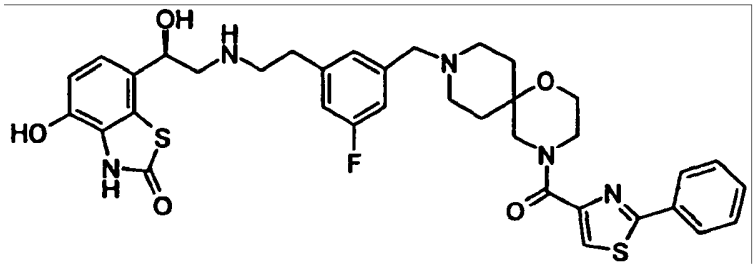
Foi adicionado ácido acético (0,037 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,17 g) e 2-(4-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 40, passo c) (0,20 g) em metanol (8 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,10 g). Após 3 h, a mistura reaccional foi concentrada *in vacuo* até ~2 mL, foi adicionado THF (20 mL) e a solução lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (2 mL). A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo. As soluções de THF e acetato de etilo foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A goma foi dissolvida em metanol e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas até à secura. A trituração com éter dietílico deu o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,126 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

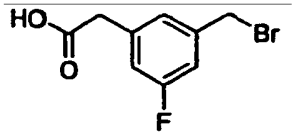
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,33 - 11,22 (m, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,46 - 7,36 (m, 2H), 7,25 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,93 - 4,88 (m, 1H), 4,30 - 4,20 (m, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,66 (s, 2H), 3,35 - 2,93 (m, 11H), 2,05 - 1,95 (m, 2H), 1,83 - 1,67 (m, 2H), 1,35 (d, J = 7,0 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 41

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5((4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



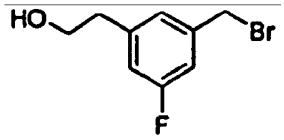
a) Ácido 2-(3-(bromometil)-5-fluorofenil)acético



Foi adicionado peróxido de benzoílo (0,5 g) a uma mistura, mantida sob agitação, de ácido 2-(3-fluoro-5-metilfenil)acético (5,19 g) e NBS (6,04 g) em diclorometano (100 mL). A mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 5 horas. A mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e em seguida lavada duas vezes com água, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de ácido acético e 17% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 43 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) 8 7,22 - 7,17 (m, 2H), 7,09 - 7,05 (m, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,61 (s, 2H). Um protão permutável não observado.

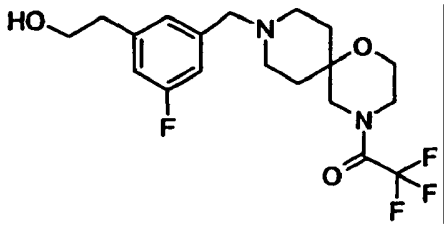
b) 2-(3-(Bromometil)-5-fluorofenil)etanol



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 10 minutos, complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 17,4 mL) a uma solução de ácido 2-(3-(bromometil)-5-fluorofenil)acético (exemplo 41, passo a) (4,3 g) em THF, (60 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada a 0 °C durante 10 minutos e em seguida a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi desactivada por adição gota a gota de metanol e os solventes foram removidos sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 30% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 3,7 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,15 (s, 1H), 7,14 - 7,09 (m, 1H), 7,05 - 6,99 (m, 1H), 4,66 (s, 2H), 3,61 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,72 (t, J = 6,7 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

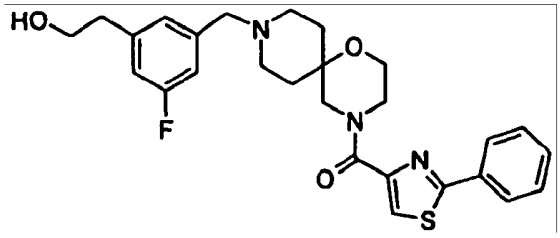
c) 2,2,2-Trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona



Uma solução de 2-(3-(bromometil)-5-fluorofenil)etanol (exemplo 41, passo b) (3,6 g) e trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (5,66 g) em acetonitrilo (80 mL) foi tratada com trietilamina (5,38 mL) e a mistura agitada a 20 °C durante 20 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 4,9 g.

m/z 405 $(M+H)^+$ (APCI)

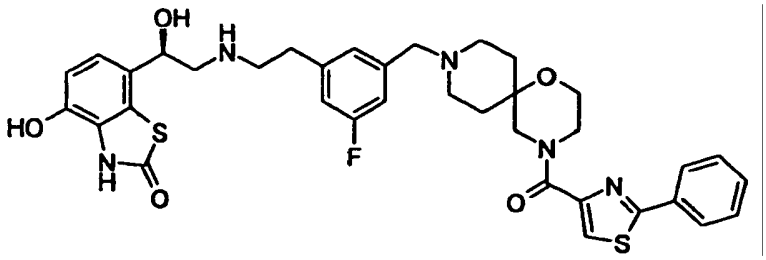
d) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-feniltiazol-4-il)metanona



Foi adicionada uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo c) (0,21 g) em metanol (3 mL) a amónia (solução aquosa a 35%, 15 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e o resíduo submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O resíduo foi dissolvido em DMF (7 mL) e tratado com ácido 2-feniltiazole-4-carboxílico (0,117 g) seguido de trietilamina (0,29 mL) e em seguida HATU (0,257 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,27 g.

m/z 496 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-feniltiazol-4-il)metanona (exemplo 41, passo d) (0,25 g) em diclorometano (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,039 mL) seguido de periodinano de Dess-Martin (0,278 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,029 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2-(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,199 g) e ácido acético (0,029 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,063 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3

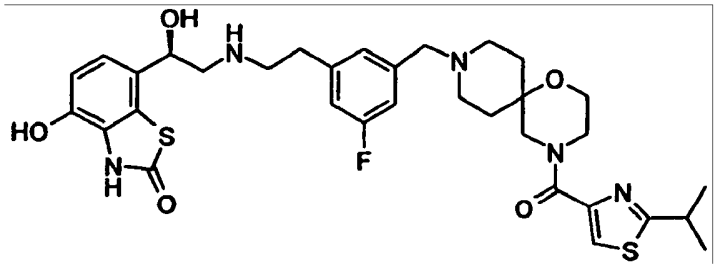
horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida até um volume de 3 mL e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,19 g.

m/z 704 $(M+H)^+$ (APCI)

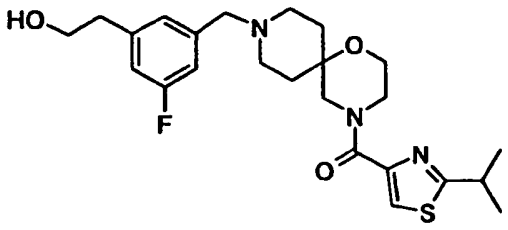
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 8 11,28 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,96 - 7,91 (m, 2H), 7,54 - 7,49 (m, 3H), 7,28 - 7,18 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 114), 4,94 - 4,87 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 3,83 - 3,66 (m, 6H), 3,26 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,21 - 2,99 (m, 8H), 2,10 - 2,00 (m, 2H), 1,84 - 1,69 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 42

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

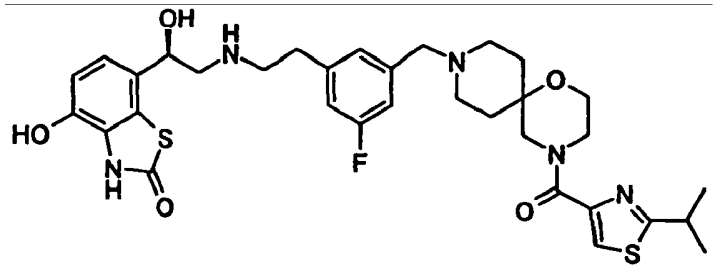


Foi adicionada uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo d) (0,21 g) em metanol (3 mL) a amónia (solução aquosa a 35%, 15 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e o resíduo submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O resíduo foi dissolvido em DMF (7 mL) e tratado com ácido 2-isopropiltiazole-4-carboxílico (0,098 g) seguido de trietilamina (0,290 mL) e em seguida HATU (0,257 g) e a mistura

resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,25 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 42, passo a) (0,23 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,038 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,275 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os

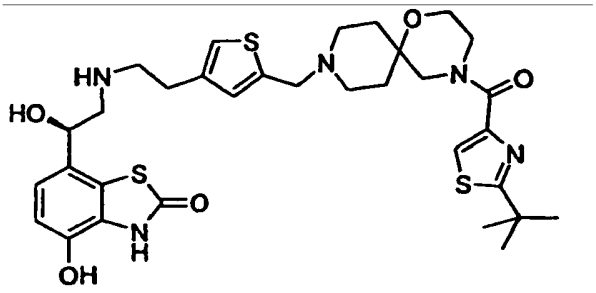
orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,029 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,196 g) e ácido acético (0,029 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,063 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida até um volume de 3 mL e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,15 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

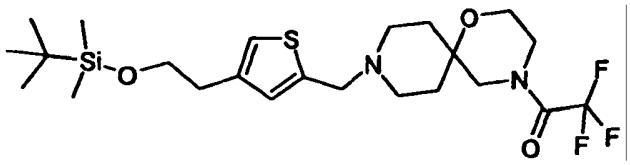
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,94 - 4,88 (m, 1H), 4,27 (s, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,66 (s, 2H), 3,32 - 3,23 (m, 3H), 3,17 - 2,99 (m, 8H), 2,07 - 1,96 (m, 2H), 1,81 -1,69 (m, 2H), 1,35 (d, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 43

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-(5-((4-(2-*terc*-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 1-(9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-2,2,2-trifluoroetanona

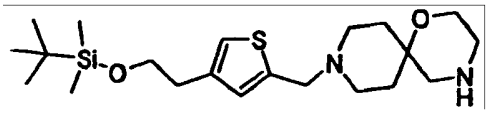


Foi adicionado trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (1,084 g) a uma solução, mantida sob agitação, de uma mistura 4:1 de 4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído e 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 27, passo b) (1,0 g), e AcOH (0,16 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (15 mL). Após 5 min foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (1,57 g). Após 16 h foi adicionada água e a mistura extraída com acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada três vezes com água e

evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina, 1:20:1 separou os dois produtos isoméricos e deu o composto em subepígrafe como um óleo. Rendimento 1,04 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,87 (s, 1H), 6,75 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 3,79 - 3,72 (m, 4H), 3,65 (s, 3H), 3,59 - 3,55 (m, 1H), 3,52 (s, 1H), 3,37 (s, 1H), 2,76 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,68 - 2,61 (m, 1H), 2,57 - 2,50 (m, 1H), 2,46 - 2,38 (m, 1H), 2,31 (t, J = 11,5 Hz, 1H), 1,89 - 1,75 (m, 2H), 1,68 - 1,52 (m, 2H), 0,87 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

b) 9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano

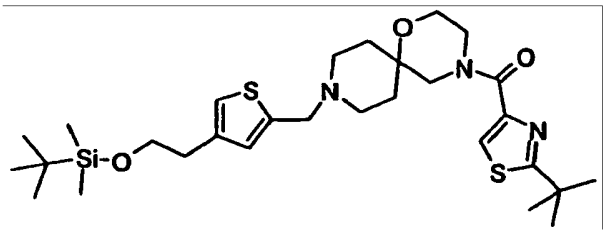


Foi adicionado amónia aquosa "880" (1,5 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 1-(9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-2,2,2-trifluoroetanona (exemplo 43, passo a) (1,0 g) em metanol (5 mL). Após 16 h a mistura reaccional foi evaporada até à secura. Foi adicionado acetonitrilo, a solução foi evaporada até à secura *in vacuo,* e este processo foi repetido três vezes para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,78 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,94 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 3,91 - 3,85 (m, 2H), 3,78 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,72 - 3,68 (m,

2H), 2,93 - 2,82 (m, 4H), 2,80 - 2,73 (m, 4H), 2,62 - 2,53 (m, 2H), 2,11 - 2,01 (m, 2H), 1,76 - 1,64 (m, 2H), 0,87 (s, 9H), 0,00 (s, 6H) + 1 protão permutável não observado.

c) (9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-*terc*-butiltiazol-4-il)metanona

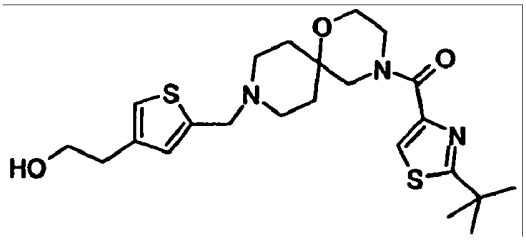


Foi adicionado HATU (0,306 g) a uma solução, mantida sob agitação, de ácido 2-*terc*-butiltiazole-4-carboxílico (0,16 g), 9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano (exemplo 43, passo b) (0,300 g) e trietilamina (0,41 mL) em DMF (3 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada duas vezes com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina. 12:90:10 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,3 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,82 (s, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 4,01 - 3,92 (m, 1H), 3,92 - 3,84 (m, 1H), 3,82 - 3,71 (m, 7H), 3,69 - 3,58 (m, 3H), 2,79 - 2,71 (m, 2H); 2,60 -

2,28 (m, 4H), 1,93 - 1,79 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 0,87 (s, 9H), -0,01 (s, 6H).

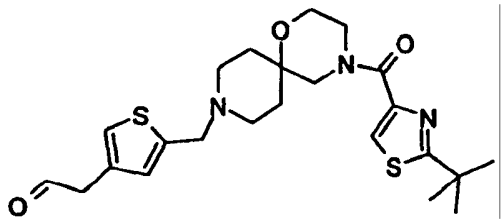
d) (2-*terc*-Butiltiazol-4-il)(9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado TBAF (1,5 mL de uma solução 1 M em THF) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-*terc*-butiltiazol-4-il)metanona (exemplo 43, passo c) (0,300 g) em THF (3 mL). Após 1 h a reacção foi evaporada até uma goma. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 20:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,22 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,00 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,84 - 6,73 (m, 1H), 4,59 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,77 - 3,48 (m, 10H), 2,64 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,54 - 2,16 (m, 4H), 1,74 - 1,63 (m, 2H), 1,58 - 1,43 (m, 2H), 1,41 (s, 9H).

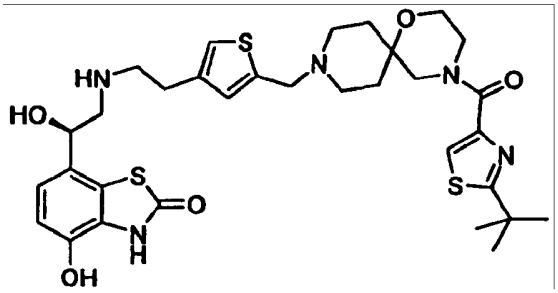
e) 2-(5-((4-(2-*terc*-Butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído



Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,316 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (2-*terc*-butiltiazol-4-il)(9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 43, passo d) (0,23 g) e TFA (0,05 mL) em DCM (5 mL). Após 40 min, a mistura reaccional foi tratada com solução aquosa saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (30 mL). A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, foi adicionado ácido acético (0,08 mL), em seguida a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e, em seguida, evaporada *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,23 g. Utilizado directamente.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-(5-((4-(2-*terc*-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,039 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,180 g) e 2-(5-((4-(2-*terc*-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído (exemplo 43, passo e) (0,230 g) em MeOH (8 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,125 g). Após 3 h, a mistura reaccional foi filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas até à secura. A trituração com éter dietílico deu o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,14 g.

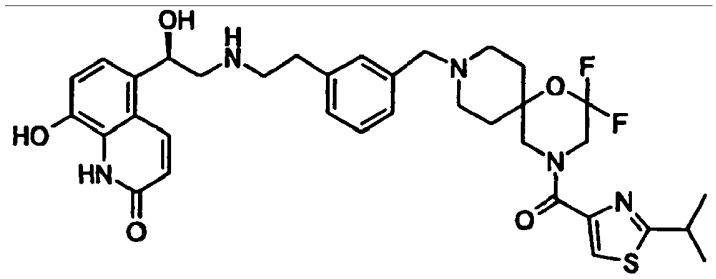
m/z 672 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,67 (s, 1H), 10,24 (s, 1H), 8,91 - 8,71 (m, 2H), 8,04 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,54 - 6,44 (m, 1H), 4,93 - 4,86 (m, 1H), 4,68 - 4,51 (m, 2H), 3,82 - 3,47

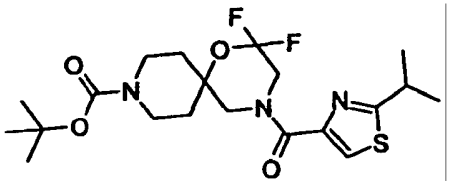
(m, 8H), 3,32 - 3,15 (m, 4H), 3,12 - 2,87 (m, 5H), 2,15 - 2,07 (m, 2H), 1,83 - 1,54 (m, 2H), 1,39 (s, 9H).

Exemplo 44

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



a) 2,2-Difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

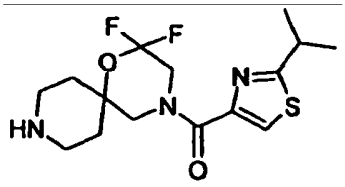


Foi adicionado HATU (1,184 g) a uma solução de 2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (exemplo 37, passo c) (0,7 g) e ácido 2-isopropiltiazole-4-carboxílico (0,41 g) e trietilamina (1 mL) em DMF (12 mL) a 20 °C e a mistura resultante foi agitada durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica

foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 30% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,78 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,11 (s, 1H), 4,29 - 4,20 (m, 2H), 4,03 - 3,98 (m, 2H), 3,58 - 3,51 (m, 2H), 3,37 - 3,30 (m, 1H), 3,26 - 3,17 (m, 2H), 1,81 - 1,74 (m, 2H), 1,66 - 1,57 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,35 (d, 6H)

b) Trifluoroacetato de (2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

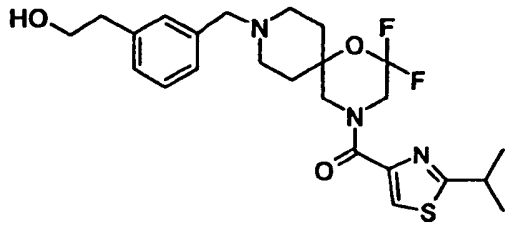


Uma solução de 2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 44, passo a) (0,78 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (5 mL) e a mistura reaccional deixado em repouso a 20 °C durante 30 minutos. Foi adicionado tolueno (40 mL) e os solventes evaporados sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,8 g.

m/z 346 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,57 (s, 2H), 8,16 (s, 1H), 4,39 - 4,22 (m, 2H), 4,04 (s, 2H), 3,39 - 3,28 (m, 1H, 3,27 - 3,19 (m, 2H), 3,16 - 3,04 (m, 2H), 2,07 - 1,97 (m, 2H), 1,93 - 1,80 (m, 2H), 1,37 (d, 6H).

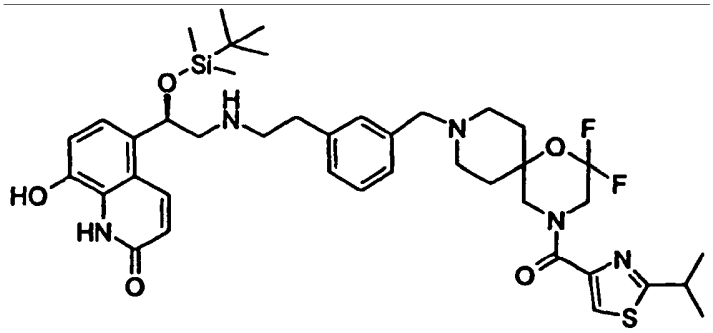
c) (2,2-Difluoro-9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,21 g) a uma mistura de trifluoroacetato de (2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropil-tiazol-4-il)metanona (exemplo 44, passo b) (0,40 g) e trietilamina (0,37 mL) em acetonitrilo (15 mL). A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 2 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,40 g.

m/z 480 $(M+H)^+$ (APCI)

d) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinlin-2(1H)-ona

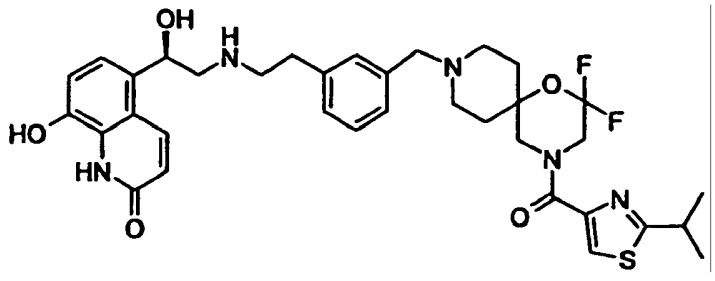


Uma solução de (2,2-difluoro-9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 44, passo c) (0,38 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,061 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,437 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,045 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-

hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,345 g) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,252 g) numa porção. A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 10% de metanol em diclorometano com 1% de amónia aquosa "880" como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,32 g.

m/z 796 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(3-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,082 mL) em metanol (2 mL) a uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-

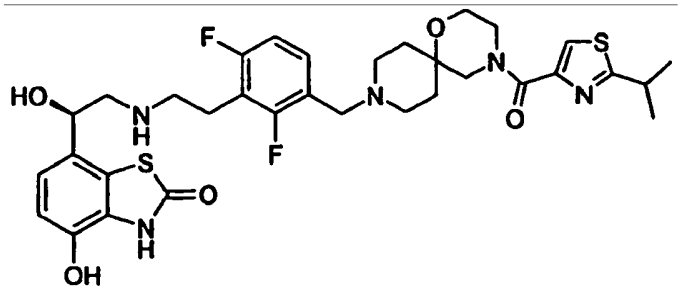
4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 44, passo d) (0,32 g) em THF (8 mL) e a mistura reaccional deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,21 g.

m/z 682 $(M+H)^+$ (APCI)

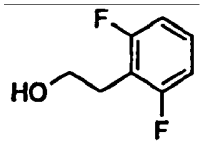
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,18 - 8,11 (m, 2H), 7,44 - 7,31 (m, 4H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,55 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,37 - 5,31 (m, 1H), 4,31 (s, 2H), 4,23 (s, 2H), 4,01 (s, 2H), 3,40 - 2,98 (m, 11H), 2,08 - 1,99 (m, 2H), 1,98 - 1,88 (m, 2H), 1,36 (d, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 45

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2,6-difluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



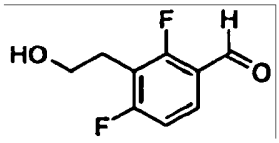
a) 2-(2,6-Difluorofenil)etanol



Foi adicionada cuidadosamente uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 26 mL) a uma solução de ácido 2-(2,6-difluorofenil)acético (3 g) em THF, (50 mL) a 0 °C. A reacção foi então deixada aquecer até à TA e agitada durante 3 h. A reacção foi arrefecida num banho de gelo e cuidadosamente desactivada com metanol (10 mL). O solvente foi evaporado e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 9:1 até 4:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 2,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,20 - 7,13 (m, 1H), 6,94 - 6,82 (m, 2 M, 3,85 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,97 (t, J = 6,7 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

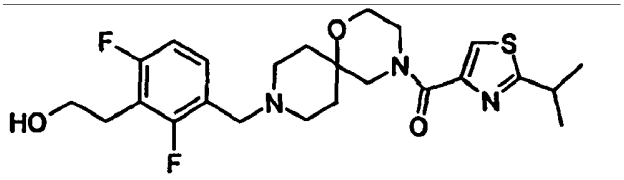
b) 2,4-Difluoro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído



Foi adicionada 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (5 mL) a uma solução de butil-lítio (1,6 M em hexanos, 19 mL) em THF (25 mL) a -70 °C. Foi adicionada, gota a gota, uma solução de 2-(2,6-difluorofenil)etanol (exemplo 45, passo a) (1,6 g) em THF (25 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 2 h. Foi então adicionada DMF (3,9 mL) e a mistura agitada durante 1 h a -70 °C. A mistura foi então deixada aquecer até à TA e agitada durante 70 h. A reacção foi desactivada com solução de HCl (2 M, 50 mL), diluída com acetato de etilo (100 mL) e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secos sobre sulfato de magnésio, filtrados e evaporados. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de *iso*-hexano:éter 4:1 até 2:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas. O óleo resultante foi dissolvido em acetato de etilo (50 mL) e lavado com solução de HCl (2 M, 30 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL), seco sobre sulfato de magnésio, filtrado e evaporado para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1,1 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,28 (s, 1H). 7,84 - 7,74 (m, 1H), 7,05 - 6,95 (m, 1H), 3,89 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,01 (t, J = 6,6 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

c) (9-(2,4-Difluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

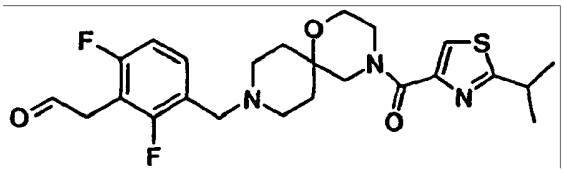


Foi adicionado 2,4-difluoro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 45, passo b) (0,35 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,67 g) e ácido acético (0,09 mL) em N-metil-2-pirrolidinona (1 mL). A mistura resultante foi agitada durante 1 h, em seguida desactivada com a adição em porções de triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,335 g) ao longo de 5 min. A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro, diluída com acetonitrilo (20 mL) e aplicada a um cartucho de SCX (10 g Varian, pré-humedecido com acetonitrilo, (50 mL)). O cartucho foi lavado com acetonitrilo (50 mL) e eluído com solução de amónia aquosa “880” a 10% em acetonitrilo (50 mL). O eluente foi evaporado, submetido a evaporação azeotrópica com tolueno e purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de *iso*-hexano:acetato de etilo:trietilamina 77,5:17,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para dar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,74 g.

m/z 480 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 8,00 (s, 1H), 7,32 - 7,16 (m, 1H), 7,00 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 4,80 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,78 - 3,38 (m, 11H), 2,77 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,46 - 2,26 (m, 4H), 1,76 - 1,40 (m, 4H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

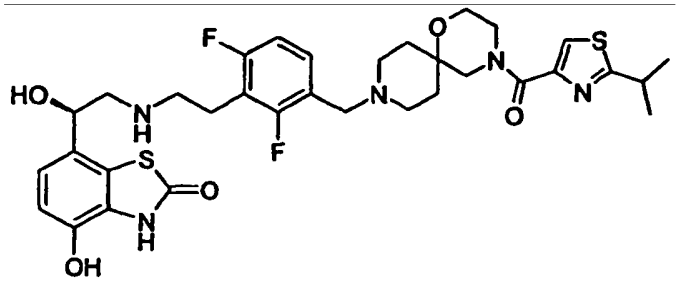
d) 2-(2,6-Difluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Foi adicionado TFA (0,11 mL) a uma solução de (9-(2,4-difluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 45, passo c) (0,7 g) em DCM (5 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi então adicionado periodinano de Dess-Martin (0,93 g) e a mistura agitada à TA durante 45 min. Foi então adicionada solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura agitada durante 10 min. A camada aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificados com algumas gotas de ácido acético, a mistura foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,64 g.

m/z 478 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2,6-difluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado uma solução de 2-(2,6-difluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 45, passo d) (0,323 g) em metanol (3 mL) a uma mistura de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,23 g) e ácido acético (0,034 mL) em metanol (2 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min, em seguida arrefecida até 0 °C. Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,057 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. Os solventes foram evaporados e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e purificadas por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas,

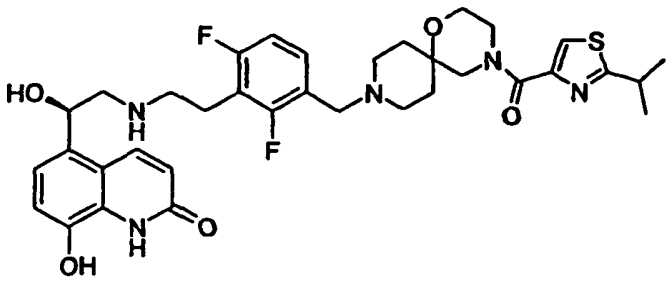
evaporadas e trituradas com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,21 g.

m/z 688 $(M+H)^+$(APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,62 - 7,53 (m, 1H), 7,23 - 7,14 (m, 1H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,92 (dd, J = 8,1, 4,7 Hz, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,75 - 3,61 (m, 6H), 3,34 - 3,02 (m, 11H), 2,10 - 1,95 (m, 2H), 1,86 - 1,71 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 46

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2,6-difluoro-3-((4-2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionada uma solução de 2-(2,6-difluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 45, passo d) (0,29 g) em metanol (3 mL) a uma mistura de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

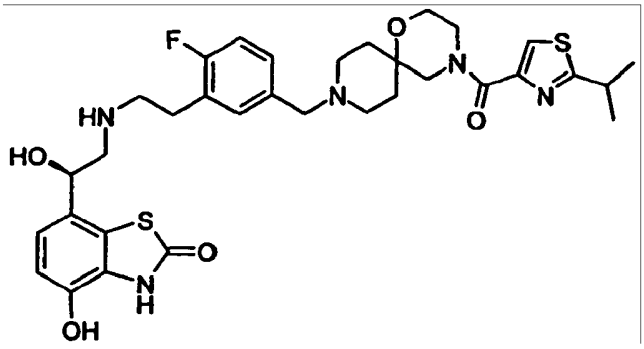
(documento WO2004106333) (0,20 g) e ácido acético (0,034 mL) em metanol (3 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,057 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. O solvente foi evaporado e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas. O resíduo foi dissolvido em THF (3 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,29 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e o resíduo purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e trituradas com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,23 g.

m/z 682 $(M+H)^+$ (APCI)

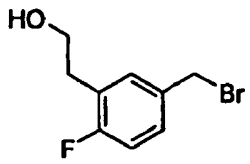
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,19 (d, J = 10,0 Hz, I H), 7,94 (s, 1H), 7,65 - 7,51 (m, 1H), 7,24 - 7,10 (m, 2H), 7,01 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,53 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,37 (dd, J = 8,6, 4,0 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,75 - 3,59 (m, 6H), 3,34 - 3,03 (m, 11H), 2,11 - 1,95 (m, 2H), 1,88 - 1,72 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 47

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



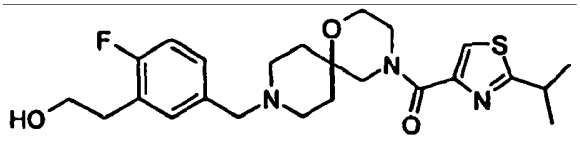
a) 2-(5-Bromometil)-2-fluorofenil)etanol



Foi adicionado peróxido de dibenzoílo (0,14 g) a uma solução de NBS (1,53 g) e ácido 2-(2-fluoro-5-metilfenil)acético (1,45 g) em DCM (50 mL) e a mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 12 h. O solvente foi evaporado e o sólido branco partilhado entre acetato de etilo (100 mL) e solução de cloreto de sódio a 10% (50 mL). As camadas foram separadas e a fase orgânica lavada com solução de cloreto de sódio a 10% (50 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. O sólido branco obtido foi redissolvido em tetra-hidrofurano (25 mL) e arrefecida num banho de gelo. Foi cuidadosamente adicionada uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF,

13 mL) e a mistura foi então deixada aquecer até à TA e agitada durante 2 h. A reacção foi arrefecida num banho de gelo e cuidadosamente desactivada com metanol. Uma vez terminado o borbulhamento, o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de acetato de etilo:iso-hexano 9:1 até 4:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1,35 g. RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,32 - 7,21 (m, 2H), 7,04 - 6,97 (m, 1H), 4,46 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,93 - 2,87 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

b) (9-(4-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



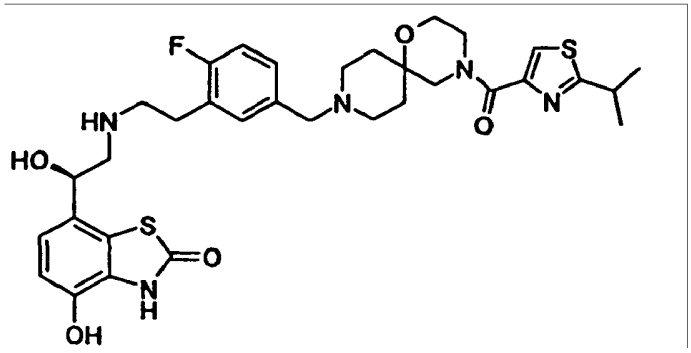
Foi adicionado 2-(5-(bromometil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 47, passo a) (0,16 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,3 g) e trietilamina (0,3 mL) em acetonitrilo (10 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro, diluída com acetonitrilo (20 mL) e aplicada a um cartucho de SCX (10 g Varian, pré-humedecido com acetonitrilo (50 mL)). O cartucho foi lavado com acetonitrilo (50 mL) e eluído com solução de amónia aquosa "880" a 10% em acetonitrilo (50 mL). O eluente foi evaporado, submetido a evaporação azeotrópica com tolueno e purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 77,5:17,5:5 até acetato

de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar ao composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,22 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 7,22 - 7,14 (m, 1H), 7,14 - 7,06 (m, 1H), 7,00 (dd, J = 10,0, 8,3 Hz, 1H), 4,40 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,72 - 3,52 (m, 8H), 3,43 - 3,23 (m, 3H), 2,74 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,42 - 2,23 (m, 4H), 1,75 - 1,65 (m, 2H), 1,59 - 1,47 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,033 mL) a uma solução de (9-(4-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 47, passo b) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,28 g). A solução amarela resultante foi

deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (1 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL) e acetato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (5 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL), foram em seguida adicionados ácido acético (0,025 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,17 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,04 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,14 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

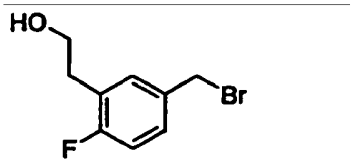
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,52 - 7,42 (m, 2H), 7,25 (t, J = 9,2 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,93 (dd, J = 7,9,

4,6 Hz, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,80 - 3,58 (m, 6H), 3,34 - 2,95 (m, 11H), 2,11 - 1,95 (m, 2H), 1,87 - 1,64 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 47A

(R)-7-(2-(2-Fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona

a) 2-(5-(Bromometil)-2-fluorofenil)etanol

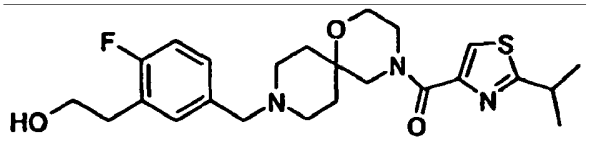


Foi adicionado peróxido de dibenzoílo (1 g) a uma solução de NBS (10,6 g) e ácido 2-(2-fluoro-5-metilfenil)acético (10 g) em DCM (250 mL) e a mistura resultante foi aquecida sob refluxo durante 12 h. O solvente foi evaporado e o sólido branco partilhado entre acetato de etilo (250 mL) e solução de cloreto de sódio a 10% (500 mL). As camadas foram separadas e a fase orgânica lavada com solução de cloreto de sódio a 10% (500 mL), seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada. O sólido branco obtido foi redissolvido em tetra-hidrofurano (150 mL) e arrefecido num banho de gelo. Foi cuidadosamente adicionada uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 89 mL) e a mistura foi então deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi arrefecida num banho de gelo e cuidadosamente desactivada com metanol. Uma vez terminado

o borbulhamento, o solvente foi evaporado e o resíduo foi triturado com uma mistura 4:1 de iso-hexanos e éter. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de acetato de etilo:iso-hexano 9:1 até 4:1 para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 6,5 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,32 - 7,21 (m, 2H), 7,04 - 6,97 (m, 1H), 4,46 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,93 - 2,87 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

b) (9-(4-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado 2-(5-(bromometil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 47A, passo a) (5,2 g) a uma suspensão de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (9,4 g) e carbonato de potássio (6,8 g) em etanol (75 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro e filtrada. O bolo de filtração foi lavado com etanol (50 mL) e o filtrado e lavagens combinados foram evaporados. O resíduo foi partilhado entre água (100 mL) e acetato de etilo (250 mL), as camadas foram separadas e a orgânica lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de acetato de

etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar ao composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 7,9 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 7,22 - 7,14 (m, 1H), 7,14 - 7,06 (m, 1H), 7,00 (dd, J = 10,0, 8,3 Hz, 1H), 4,40 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,72 - 3,52 (m, 8H), 3,43 - 3,23 (m, 3H), 2,74 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,42 - 2,23 (m, 4H), 1,75 - 1,65 (m, 2H), 1,59 - 1,47 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

c) (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona

Foi adicionado ácido trifluoroacético (1,32 mL) a uma solução de (9-(4-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 47A, passo b) (7,9 g) em DCM (200 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (12,3 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (100 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (100 mL) e acetato de etilo (500 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), acidificadas com ácido acético (2 mL), secas

sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (140 mL) e foi então adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (4,5 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (1,6 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada *in vacuo* e partilhada entre THF (100 mL) e uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio e solução saturada de bicarbonato de sódio (10:1, 100 mL). As camadas foram separadas e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada, evaporada e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 4,1 g

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,52 - 7,42 (m, 2H), 7,25 (t, J = 9,2 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,93 (dd, J = 7,9, 4,6 Hz, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,80 - 3,58 (m, 6H), 3,34 - 2,95 (m, 11H), 2,11 - 1,95 (m, 2H), 1,87 - 1,64 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 47B

Sal do ácido di(1S)-(+)-10-canforsulfónico de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona

Foi adicionado ácido 1S-(+)-canforsulfónico (41 mg) a uma solução de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil-amino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (exemplo 47A) (59 mg) em etanol (5 mL) e a solução transparente resultante evaporada até à secura para dar sal do ácido dicanforsulfónico de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona como um sólido branco amorfo. Rendimento 0,1 g

Foi adicionado *iso*-propanol (1 mL) ao sal do ácido dicanforsulfónico de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (20 mg) e a solução transparente resultante foi agitada 2 dias. Formou-se um sólido branco e a suspensão foi agitada durante mais 5 dias. O sólido foi isolado por filtração centrífuga e seco sob alto vácuo para dar sal do ácido dicanforsulfónico de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxi-etil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona como um sólido cristalino branco. Rendimento 5 mg.

Uma mistura de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (4,3 g, 6,42 mmol) (exemplo 47A), ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico (2,98 g, 12,84 mmol) e *iso*-propanol (300 mL) foi aquecida a 50 °C até se formar uma solução transparente, adicionados núcleos de cristalização, deixada arrefecer até à TA e agitada durante 4 dias. O sólido foi isolado por filtração, lavado com *iso*-propanol (100mL), éter (2 x 200mL) e seco por sucção para dar o composto em epígrafe como um sólido cristalino branco. Rendimento 5,1 g

O excesso enantiomérico do composto em epígrafe é superior ao composto obtido no exemplo 47A. (exemplo 47A = 86% ee, composto em epígrafe >96% ee)

Método Quiral Analítico: Chiralcel OJ-H 4,6x250 mm, iso-hexano:etanol 80:20 + 0,1% de etilenodiamina, 1 mL/min, 35C, 225 +-10 nm ao longo de 30 min.

Tempo de retenção para o enantiómero R = 15,91 min

Tempo de retenção para o enantiómero S = 22,85 min

RMN de ^{1}H (300 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,42 (s, 1H), 9,95 (s, 1H), 8,89 (s, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,61 - 7,54 (m, 1H), 7,53 - 7,46 (m, 1H), 7,27 (t, *J* = 9,2 Hz, 1 H), 6,94 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,97 - 4,90 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,74 - 3,59 (m, 6H), 3,35 - 3,02 (m, 9H), 2,93 (d, *J* = 14,6 Hz, 2H), 2,76 - 2,61 (m, 2H), 2,44 (d, *J* = 14,6 Hz, 2H), 2,29 - 2,23 (m, 2H), 2,22 - 2,16 (m, 2H), 2,13 - 2,00 (m, 2H), 1,96 - 1,68 (m, 6H), 1,34 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H), 1,32 - 1,20

(m, 4H), 1,06 (s, 6H), 0,76 (s, 6H) dois protões permutáveis não observados.

Um padrão de XRPD do di-sal de ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico da modificação A é apresentado na Figura 1.

Alguns picos característicos para a modificação A

Pos. [°2Th.]	espaçamento d [Å]
4,9	18,1
9,8	9,1
12,5	7,1
16,1	5,5
17,3	5,1

Exemplo 47C

Fumarato de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil-amino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona Modificação A

Uma solução de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (13 mg) (exemplo 47D, passo a) e ácido fumárico (2 mg) em metanol (0,75 mL) foi agitada à TA durante 7 dias. O sólido branco resultante que se formou foi isolado por filtração e seco sob alto vácuo para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 5 mg.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

Um padrão de XRPD do sal de fumarato da modificação A é apresentado na Figura 2.

Alguns picos característicos para o sal de fumarato da modificação A

Pos. [°2Th.]	espaçamento d [Å]
6,1	14,4
8,9	9,9
13,8	6,4
21,5	4,1
23,5	3,8

Exemplo 47D

Monofumarato de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona Modificação B

a) (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil-amino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona

Sal do ácido di-(1S)-(+)-10-canforsulfónico de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (Exemplo 47B) (4,1 g) foi

partilhado entre 2-metil-THF recentemente destilado (100 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (100 mL). As camadas foram separadas e a camada orgânica lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (100 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O sólido vítreo resultante foi triturado três vezes com éter para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 2,6 g.

b) Monofumarato de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona Modificação B

(R)-7-(2-(2-Fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (2,4 g) foi dissolvido em etanol (240 mL) a 50 °C. Foi adicionado ácido fumárico (0,416 g) e a mistura aquecida sob refluxo até se formar uma solução transparente. A solução resultante foi deixada arrefecer até 60 °C e adicionados núcleos de cristalização da forma A (exemplo 47C) (50 mg). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro a 50 °C e em seguida deixada arrefecer até à TA ao longo de 3 h. O sólido branco resultante foi isolado por filtração, lavado com etanol (50 mL.), éter (2x200 mL) e seco por sucção para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 2,3 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 7,89 (s, I H), 7,19 - 7,09 (m, 2H), 7,01 (dd, J = 9,9, 8,3 Hz, 1 H), 6,86 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,59 (d, J = 1,0 Hz, 2H), 4,65 - 4,59 (m, 1H), 3,73 - 3,56 (m, 6H), 3,41 (s, 2H), 3,30 (septeto, J = 3,3 Hz, 1H), 2,90 - 2,71 (m, 6H), 2,42 - 2,26 (m, 4H), 1,75 - 1,64 (m, 2H), 1,59 - 1,48 (m, 2H), 1,35 (dd, J = 6,8, 1,2 Hz, 6H) + 6 permutáveis não observados

Um padrão de XRPD do sal de fumarato da modificação B é apresentado na Figura 3.

Alguns picos característicos para o sal de fumarato da modificação B

Pos. [°2Th.]	espaçamento d [Å]
14,3	6,2
16,3	5,4
18,0	4,9
19,6	4,5
23,0	3,9
26,1	3,4

XRPD - PANalytical CubiX PRO

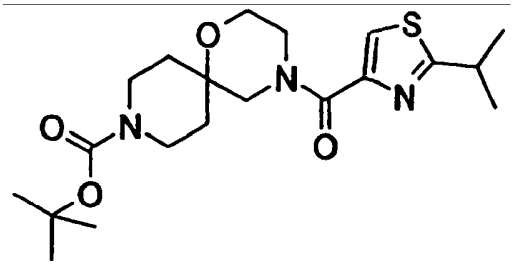
Os dados de XRPD foram recolhidos com um equipamento PANalytical CubiX PRO na configuração θ-2θ ao longo da gama de varrimento de 2° até 40° 2θ com uma exposição de 100 segundos por incremento de 0,02°. Os raios X foram gerados por um tubo longo de cobre operado a 45 kV e 40 mA. O comprimento de onda dos raios X de cobre foi de 1,5418 Å. Os dados foram recolhidos em suportes de fundo nulo onde foram colocados 2 mg do composto.

O suporte foi feito de um único cristal de silício, o qual tinha sido cortado ao longo de um plano de não difracção e, em seguida, polido com um acabamento opticamente plano. O raios X incidentes neste superfície foram negados por extinção de Bragg.

Exemplo 47E

(R)-7-(2-(2-Fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona

a) 4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo

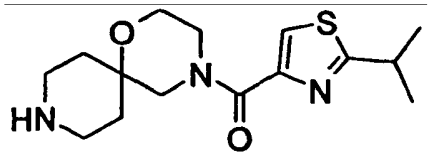


Uma mistura de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (reagente limitante) e ácido 2-isopropiltiazole-4-carboxílico (1,1 molar equivalentes) foi suspenso em 2-MeTHF (10 volumes) e arrefecida até 10-15 °C. Foi adicionada trietilamina (7,2 equivalentes molares) em porções a 10-15 °C. A suspensão espessa foi arrefecida até 5-10 °C e foi adicionado T3P (1,3 equivalentes molares de uma solução 1,57 M em THF) gota a gota a 5-10 °C ao longo de 0,5 h. A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente (35 min) e agitada durante 2,5 h. A mistura

foi diluída com água (10 volumes, exotérmica de 5 °C) e a mistura agitada vigorosamente; a aquosa (pH 10) foi separada e extraída com 2-MeTHF (2x2 volumes). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (2 volumes) e água (2x2 volumes). A fase orgânica foi evaporada e submetida a evaporação azeotrópica com MeCN (2x2 volumes) para dar uma goma castanha; a qual foi seca a 35 °C *in vacuo* durante 24 h. Rendimento: 89% do teórico.

RMN de ^{1}H (300 MHz, DMSO) δ 8,03 (s, 1H), 3,76 - 3,44 (m, 8H), 3,37 - 3,25 (m, 3H), 3,16 - 3,00 (m, 2H), 1,76 - 1,66 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,33 (d, J = 6,9 Hz, 6H)

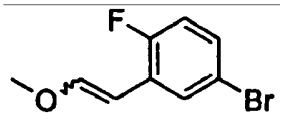
b) (2-Isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona, sal de trifluoroacetato



A uma solução de 4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (reagente limitante) (passo a) em DCM (5 volumes) foi adicionado ácido trifluoroacético (13,4 equivalentes molares) em porções a 10-15 °C. A solução foi deixada aquecer até à ambiente e agitada durante 16 h. Solvente foi evaporado e o resíduo foi dissolvido em éter dietílico (10 volumes). A solução foi arrefecida em gelo e raspada para dar precipitação; a suspensão espessa foi agitada a 0°-10 °C durante 0,5 h, em seguida filtrada fria. O bolo foi lavado com éter dietílico (5 volumes) e seco *in vacuo* a 35 °C para dar um pó de cor bege. Rendimento: 91% do teórico.

RMN de ^{1}H (300 MHz, DMSO) δ 8,70 - 8,37 (m, 2H), 8,05 (s, 1H), 3,82 - 3,52 (m, 6H), 3,42 - 3,25 (m, 1H), 3:19 - 3,07 (m, 2H), 3,05 - 2,90 (m, 2H), 2,02 - 1,91 (m, 2H), 1,74 - 1,54 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,7 Hz, 6H)

c) 4-Bromo-1-fluoro-2-(2-metoxivinil)benzeno (mistura de isómeros cis e trans)



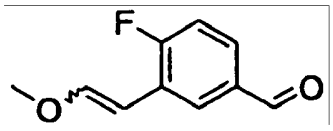
Foi adicionado em porções, ao longo de 30 minutos, *terc*-butóxido de potássio (1,2 equivalentes molares) a uma suspensão, mantida sob agitação, de cloreto de (metoximetil)trifenilfosfónio (1,3 equivalentes molares) em THF (2,5 volumes) a -3 °C (+ ou - 2 °C). Desenvolveu-se uma cor vermelha escura. A temperatura foi aumentada até 18 °C ao longo de 0,5 horas e a reacção agitada durante mais 1,5 horas. Foi então adicionado 5-bromo-2-fluorobenzaldeído (reagente limitante) como uma solução em THF (5 volumes) ao longo de 90 minutos, de tal forma que a temperatura da reacção não excedeu 24 °C. A reacção foi então agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. A mistura reaccional foi vertida para solução aquosa saturada de cloreto de amónio (10 volumes) e extraída com t-BME (2 x 2,5 volumes). Os extractos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (3x 2 volumes), seca (Na_2SO_4), filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo oleoso foi extraído com iso-hexano (8 x 0,5 volumes). Os extractos de *iso*-hexano combinados foram filtrados, em seguida lavados com ácido acético glacial (2 volumes) e ácido acético

glacial a 50% em água (2 volumes). Após secagem (Na_2SO_4) e filtração, o solvente foi removido num evaporador rotativo para dar um óleo laranja pálido. O rendimento foi 90% do teórico.

Isómero cis: RMN de ^1H (300 MHz, D6-DMSO) δ 8,07 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,41 - 7,39 (m, 1H), 7,13 (q, *J* = 1,8 Hz, 1H), 6,54 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 5,31 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H)

Isómero trans. RMN de ^1H (300 MHz, D6-DMSO) δ 7,73 - 7,68 (m, 1H), 7,44 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H), 7,41 - 7,39 (m, 1H), 7,18 - 7,09 (m, 1H), 5,79 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H)

d) 4-Fluoro-3-(2-metoxivinil)benzaldeído



4-Bromo-1-fluoro-2-(2-metoxivinil)benzeno (reagente limitante) (passo c) foi dissolvido em 2-metiltetra-hidrofurano (5 volumes) e a solução arrefecida até -10 °C. Foi adicionado cloreto de *iso*-propilmagnésio (0,37 equivalentes molares de uma solução 2 M em THF) gota a gota, mantendo a temperatura a -7 °C (+ ou - 2 °C), ao longo de cerca de 30 minutos, seguido de butil-lítio (0,74 equivalentes molares de uma solução 1,5 M em hexano), controlando a temperatura a -6 °C (+ ou - 2 °C), ao longo de cerca de 1 hora. Agitada durante 45 minutos, em seguida adicionada a uma solução de 4-formilmorfolina (2 equivalentes molares) em 2-metiltetra-hidrofurano (7 volumes) a -5 °C. Esta adição demorou cerca de 90 minutos. A reacção foi então agitada durante 1 hora, durante a qual a temperatura interna aumentou

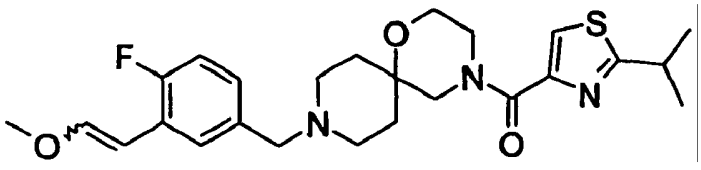
até 5 °C. A mistura reaccional foi vertida para solução aq. saturada de cloreto de amónio (10 volumes) e extraída com t-BME (2x 3 volumes). Os extractos combinados foram lavados com cloreto de amónio aq. saturado (até o pH da lavagem ser aprox. 6) (2 x 3 volumes), água (5 volumes), secos (Na_2SO_4), filtrados e evaporados para dar um óleo laranja móvel.

O óleo foi submetido a cromatografia sobre sílica utilizando 5% de acetato de etilo em *iso*-hexano como eluente. O rendimento foi 80% do teórico.

Isómero trans: RMN de ^1H (400 MHz, $CDCL_3$) δ 9,93 (s, 1H), 7,83 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,66 - 7,61 (m, 1H), 7,25 (d, J = 13,1 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 5,87 (d, J = 13,1 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H)

Isómero cis: RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,95 (s, 1H), 8,57 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,70 - 7,66 (m, 1H), 7,12 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 6,34 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 5,48 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H)

e) (9-(4-Fluoro-3-(2-metoxivinil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



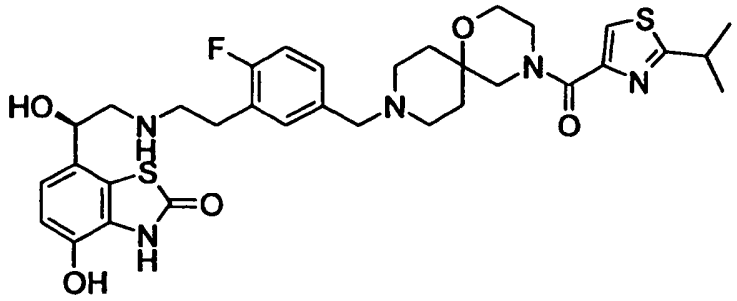
A uma suspensão de 4-fluoro-3-(2-metoxivinil)benzaldeído (reagente limitante) (passo d) e trifluoroacetato de

(2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-metanona (1,05 equivalentes molares) (passo b) em 2-metiltetra-hidrofurano (25 volumes) foi adicionada trietilamina (1,73 equivalentes molares) numa porção (exotérmica de 4 °C). A mistura foi agitada durante 0,5 h; foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (1,5 equivalentes molares) numa porção (sem exotérmica) e a solução resultante foi agitada durante 16 h.

Foi adicionado $NaHCO_3$ aq. Saturado (25 volumes) e a mistura agitada vigorosamente. A fase orgânica foi separada e a aquosa (pH 8) foi extraída com 2-MeTHF (100mL); os orgânicos combinados foram lavados com água (2x50mL) e secos (Na_2SO_4), filtrados e evaporados para dar um óleo escuro. Rendimento: 78% do teórico.

RMN de ^1H (300 MHz, D6-DMSO) mistura de isómeros cis e trans: δ 7,97 (s, 1H), 7,86 - 7,79 (m, 0,5H), 7,34 - 7,20 (m, 1H), 7,07 - 6,98 (m, 2H), 6,41 (d, J = 7,1 Hz, 0,5H), 5,82 (d, J = 12,9 Hz, 0,5 M, 5,32 (d, J = 6,9 Hz, 0,5H), 3,77 (s, 0,5H), 3,66 (s, 2,5H), 3,42 - 3,19 (m, 7H), 2,41 - 2,26 (m, 4H), 1,76 - 1,63 (m, 3H), 1,59 - 1,45 (m, 3H), 1,35 (d, J = 6,7 Hz, 6H)

f) (R)-7-(2-(2-Fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(4-fluoro-3-(2-metoxivinil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (reagente limitante) (passo e) em THF (5 volumes) foi tratada com água (2,5 volumes) seguida de ácido clorídrico conc. (6 equivalentes molares) . A solução foi aquecida a 55-60 °C durante 1,5 h; a solução foi arrefecida até ambiente e diluída com água (2,5 volumes). O THF foi removido por evaporação e o resíduo aquoso foi adicionado a uma mistura, mantida sob agitação, de bicarbonato de sódio (7 equivalentes molares), água (5 volumes) e DCM (10 volumes). O orgânico foi separado e a aquosa (pH 8) foi extraída com DCM (5 volumes). O orgânico combinado foi lavado com solução aquosa saturada de $NaHCO_3$ (5 volumes), água (2 x 5 volumes), seco (sulfato de sódio) e filtrado. O filtrado foi diluído com MeOH (10 volumes) e o DCM evaporado a 35 °C/405 mbar. A solução de aldeído em metanol foi tratada com ácido acético (2 equivalentes molares) e adicionada a cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (1 molar equivalente) numa porção; a mistura foi arrefecida até 0-5 °C e agitada durante 5 min para dar uma solução. A esta foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (1,5 equivalentes molares) numa porção e a

mistura foi agitada a 5 °C durante 0,5 h em seguida aquecida até à ambiente e agitada durante 0,5 h. O solvente foi evaporado e o resíduo foi partilhado entre 2-MeTHF (10 volumes) e solução saturada de NaHCO3 (5 volumes); os orgânicos foram lavados com solução aquosa de cloreto de sódio a 20% (5 volumes), secos (Na_2SO_4), filtrados e evaporados. Deu uma espuma amarela que foi suspensa em acetato de etilo (13 volumes) e o sólido resultante foi recolhido por filtração e seco *in vacuo*. Deu um sólido amarelo pálido que foi purificado sobre sílica (20 vezes peso da mistura reaccional em bruto), eluente DCM/10-15% de MeOH/1-1,5% de amónia.

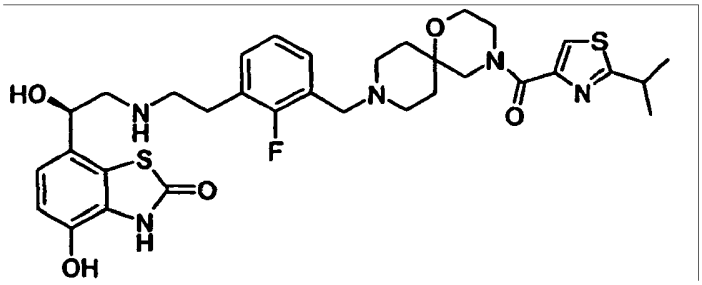
Rendimento: 29% do teórico.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

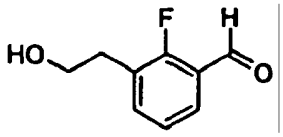
RMN de ^1H (300 MHz, D6-DMSO) δ 7,99 (s, 1H), 7,23 - 7,02 (m, 3H), 6,84 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,69 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,58 (q, *J* = 4,1 Hz, 1H), 3,75 - 3,24 (m l, 10H), 2,80 - 2,59 (m, 6H), 2,41 - 2,11 (m, 7H), 1,76 - 1,41 (m, 4H), 1,34 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H)

Exemplo 48

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído



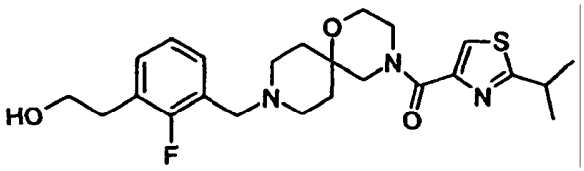
Foi adicionado 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (10,8 mL) a uma solução de butil-lítio (1,6 M em hexanos, 40,1 mL) em THF (40 mL) a -70 °C. Foi adicionado, gota a gota, uma solução de 2-(2-fluorofenil)etanol (3 g) em THF (40 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 6 h a -70 °C. Foi então adicionada DMF (8,29 mL) e a mistura agitada durante 1 h a -70 °C. A mistura foi então deixada aquecer até à TA e agitada durante 70 h. A reacção foi desactivada com solução de HCl (2 M, 50 mL), diluída com acetato de etilo (100 mL) e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução de HCl (2 M, 50 mL), solução aquosa saturada de cloreto

de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 até 2:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo.

Rendimento 1,2 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,37 (s, 1H), 7,80 -7,71 (m, 1H), 7,54 (td, J = 7,4, 1,9 Hz, 1H), 7,22 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,96 - 3,87 (m, 2H), 2,99 (td, J = 6,5, 1,2 Hz, 2H), 1,53 (t, J = 5,6 Hz, 1H).

b) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



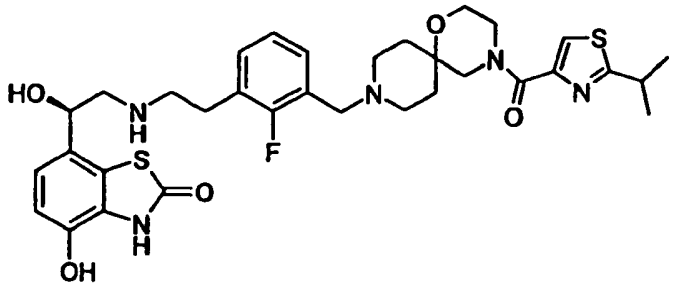
Foi adicionado 2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 48, passo a) (0,19 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,32 g) e ácido acético (0,043 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (5 mL). A mistura resultante foi agitada durante 1 h, em seguida foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,24 g) em porções ao longo de 5 min. A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro, diluída com acetonitrilo (20 mL) e aplicada a um cartucho de SCX

(10 g Varian, pré-humedecido com acetonitrilo (50 mL)). O cartucho foi lavado com acetonitrilo (50 mL) e eluído com solução de amónia aquosa "880" a 10% em acetonitrilo (50 mL). O eluente foi evaporado, submetido a evaporação azeotrópica com tolueno e purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 77,5:17,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,33 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 7,23 - 7,13 (m, 2H), 7,03 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 4,40 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,72 - 3,56 (m, 9H), 3,48 (s, 2H), 2,75 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,46 - 2,26 (m, 4H), 1,75 - 1,63 (m, 2H), 1,59 - 1,46 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



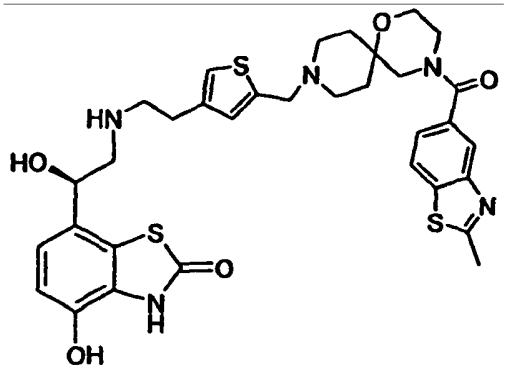
Foi adicionado TFA (0,044 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 48, passo b) (0,3 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,37 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (5 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL), foram então adicionados ácido acético (0,033 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,28 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,054 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa “880” 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,14 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

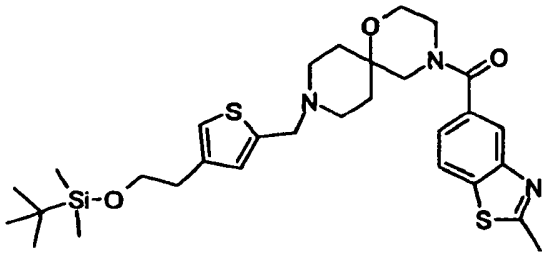
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,51 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 7,44 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 7,25 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,93 (dd, J = 8,3, 4,7 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,77 - 3,60 (m, 6H), 3,36 - 3,04 (m, 11H), 2,09 - 1,97 (m, 2H), 1,87 - 1,72 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 49

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(2-metilbenzo[d]tiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



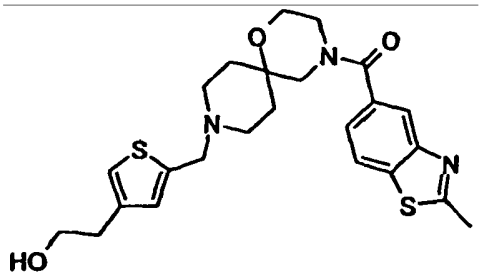
a) (9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metilbenzo[d]tiazol-5-il)metanona



Foi adicionado HATU (0,333 g) a uma solução, mantida sob agitação, de ácido 2-metilbenzo[d]tiazole-5-carboxílico (0,17 g), 9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano (exemplo 43, passo b) (0,3 g) e trietilamina (0,407 mL) em DMF (3 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada duas vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina, 2:8:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,36 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,06 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 3,77 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,68 - 3,63 (m, 2H), 3,58 (s, 2H), 3,53 - 3,46 (m, 2H), 3,42 - 3,36 (m, 2H), 2,82 (s, 3H), 2,70 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,42 - 2,31 (m, 4H), 1,81 - 1,72 (m, 2H), 1,52 - 1,41 (m, 2H), 0,86 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

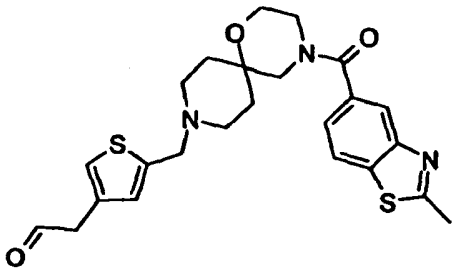
b) (9-((4-(2-Hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metilbenzo[d]tiazol-5-il)metanona



Foi adicionado TBAF (solução 1 M em THF, 1,5 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metilbenzo[d]tiazol-5-il)metanona (exemplo 49, passo a) (0,36 g) em THF (2 mL). Após 1 h, a reacção foi evaporada até uma goma. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 20:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,05 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,76 (s, 1H), 4,30 - 4,23 (m, 1H), 3,68 - 3,54 (m, 6H), 3,54 - 3,44 (m, 2H), 3,43 - 3,33 (m, 2H), 2,81 (s, 3H), 2,71 - 2,62 (m, 2H), 2,47 - 2,29 (m, 4 M, 1,81 - 1,71 (m, 2H), 1,55 - 1,40 (m, 2H).

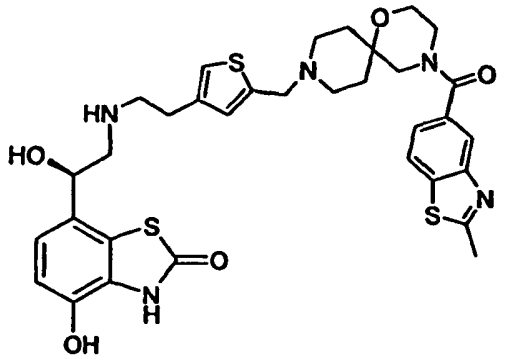
c) 2-(5-((4-(2-Metilbenzo[d]tiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído



Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,27 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metilbenzo[d]tiazol-5-il)metanona (exemplo 49, passo b) (0,20 g) e ácido trifluoroacético (0,033 mL) em DCM (5 mL). Após 40 min, a mistura reaccional foi tratada com solução aquosa saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (30 mL). A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, foi adicionado ácido acético (0,08 mL), em seguida a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. Rendimento 0,2 g. Utilizado directamente no passo seguinte.

m/z 470 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(2-metilbenzo[d]tiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,037 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,168 g) e 2-(5-((4-(2-metilbenzo[d]tiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído (exemplo 49, passo c) (0,200 g) em MeOH (8 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,107 g). Após 3 h, a mistura reaccional foi filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas até à secura. A trituração com éter dietílico deu o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,15 g.

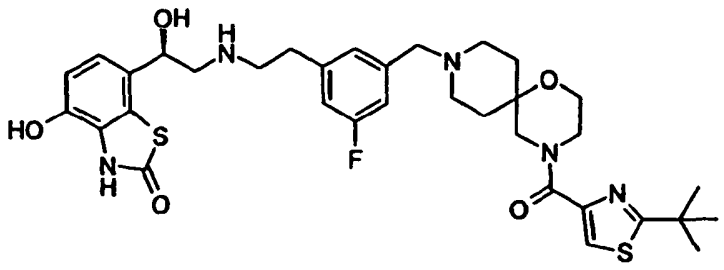
m/z 680 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,29 (s, 1H), 8,07 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,42 - 7,37 (m, 2H), 7,15 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 4,94 -

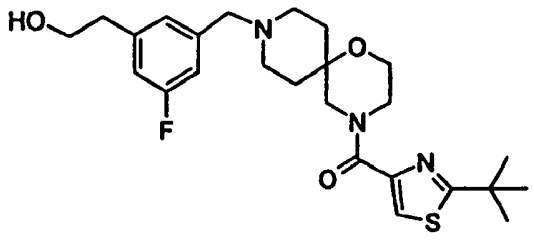
4,86 (m, 1H), 4,50 - 4,41 (m, 2H), 3,73 - 3,63 (m, 2H), 3,58 - 3,33 (m, 4H), 3,29 - 2,90 (m, 10H), 2,81 (s, 3H), 2,16 - 2,00 (m, 2H), 1,78 - 1,62 (m, 2H). 4 protões permutáveis não observados.

Exemplo 50

Ditrifluoroacetato de (R)-7-(2-(3-((4-(2-*terc*-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (2-*terc*-Butiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

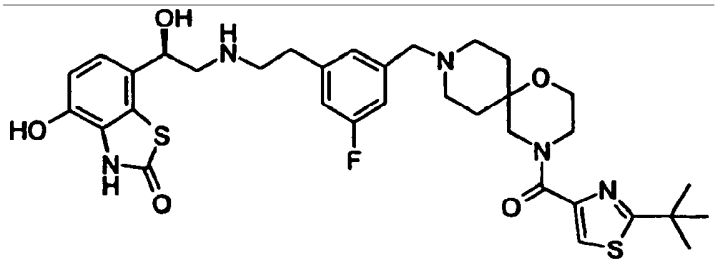


Foi adicionada uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo d) (0,21 g) em metanol

(3 mL) a amónia (solução aquosa a 35%, 15 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e o resíduo submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O resíduo foi dissolvido em DMF (7 mL) e tratado com ácido 2-terc-butiltiazole-4-carboxílico (0,096 g), seguido de trietilamina (0,290 mL) e em seguida HATU (0,257 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,22 g.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI).

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-*terc*-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (2-*terc*-butiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 50, passo a) (0,22 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,036 mL) seguido de

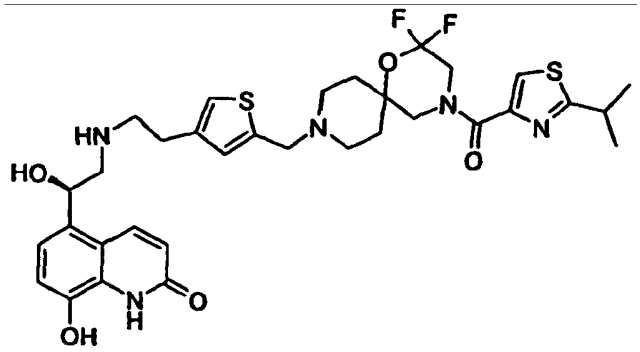
periodinano de Dess-Martin (0,255 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,026 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,182 g) e ácido acético (0,026 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,058 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,135 g.

m/z 684 $(M+H)^+$ (APCI)

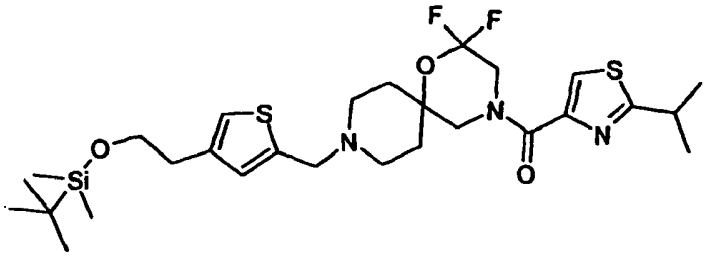
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,95 (s, 1H), 7,27 - 7,16 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,94 - 4,88 (m, 1H), 4,21 (s, 2H), 3,71 (s, 4H), 3,66 (s, 2H), 3,26 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,15 - 2,98 (m, 8H), 2,06 - 1,95 (m, 2H), 1,79 - 1,67 (m, 2H), 1,41 (s, 9H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 51

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2-(5-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



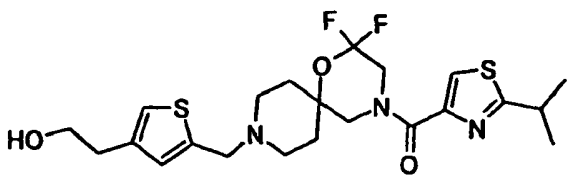
a) (9-((4-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado trifluoroacetato de (2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 44, passo b) (0,40 g) a uma solução, mantida sob agitação, de uma mistura 4:1 de 4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído e 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 27, passo b) (0,36 g) e AcOH (0,05 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (5 mL). Após 5 min foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,28 g). Após 16 h foi adicionada água e a mistura extraída com acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada três vezes com água e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina 20:80:5 separou os dois produtos isoméricos e deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,24 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,11 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,82 (s, 1H), 4,28 - 4,16 (m, 2H), 4,05 - 3,95 (m, 2H), 3,78 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,64 (s, 2H), 3,40 - 3,31 (m, 1H), 2,71 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 1,85 - 1,77 (m, 2H), 1,74 - 1,64 (m, 2H), 1,39 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 0,86 (s, 9H), 0,86 (s, 6H), 4 protões sob solvente picos.

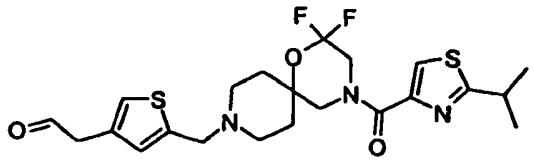
b) (2,2-Difluoro-9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro(5,5)undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado TBAF (1 M em THF, 1,5 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de (9-((4-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-2,2-difluoro-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 51, passo a) (0,30 g) em THF (3 mL). Após 1 h, a reacção foi evaporada *in vacuo* até uma goma. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 20:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,19 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,81 (s, 1H), 4,60 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,54 - 4,39 (m, 1H), 4,20 - 3,98 (m, 3H), 3,88 - 3,75 (m, 1H), 3,66 - 3,53 (m, 5H), 2,65 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,81 - 1,73 (m, 2H), 1,72 - 1,60 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,4 Hz, 6H). 2 protões obscurecidos pelos picos do solvente.

c) 2-(5-((2,2-Difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5-5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído

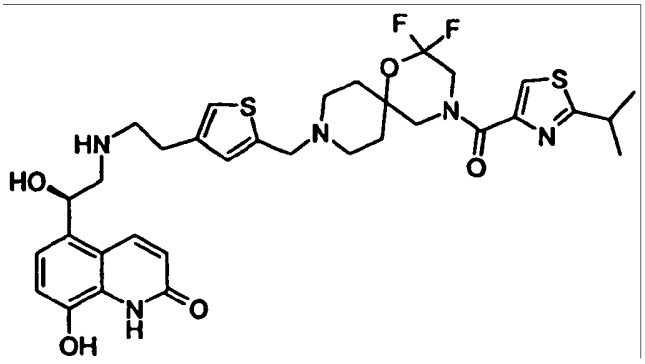


Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,20 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (2,2-difluoro-9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 51, passo b) (0,15 g) e ácido trifluoroacético (0,031 mL) em DCM

(4 mL). Após 40 min, a mistura reaccional foi tratada com solução aquosa saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (30 mL). A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, foi adicionado ácido acético (0,08 mL), em seguida o solvente foi seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. Rendimento 0,19 g. Utilizado directamente.

m/z 484 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (R)-5-(2-(2-(5-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,156 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(5-((2,2-difluoro-4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído (exemplo 51, passo c) (0,15 g) e ácido acético (0,027 mL) em metanol (8 mL). Após 5 minutos foi adicionado

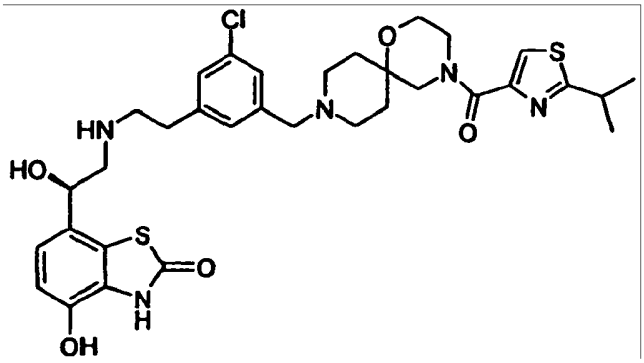
cianoboro-hidreto de sódio (0,078 g). Após 3 h, a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* até ~3 mL e partilhada entre acetato de etilo e bicarbonato de sódio saturado. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A goma resultante foi dissolvida em THF (2 mL) e adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,064 g). Após 16 h foi adicionado tolueno e a solução foi evaporada *in vacuo*. A purificação por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas até à secura, submetidas a evaporação azeotrópica com MeCN, em seguida trituradas com éter dietílico para dar o composto em epígrafe as sólido.
Rendimento 0,14 g.

m/z 688 $(M+H)^+$ (APCI)

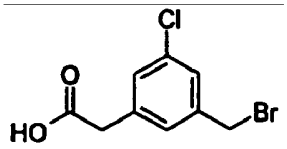
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10,52 - 10,47 (m, 2H), 8,85 - 8,70 (m, 2H), 8,22 (s, 1H), 8,15 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,49 - 7,43 (m, 1H), 7,21 - 7,12 (m, 1H), 7,15 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,58 (d, J = 10,6 Hz, 1H), 6,24 - 6,17 (m, 1H), 5,33 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,66 - 4,51 (m, 2H), 3,44 - 2,91 (m, 10H), 2,15 - 2,03 (m, 2H), 1,95 - 1,77 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). 6 protões obscurecidos pelos picos do solvente.

Exemplo 52

Ditrifluoroacetato de (R)-7-(2-(3-cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Ácido 2-(3-(bromometil)-5-clorofenil)acético

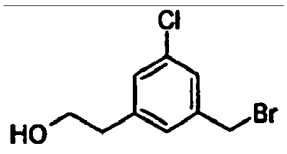


Foi adicionado peróxido de benzoílo (0,112 g) a uma suspensão de ácido 2-(3-cloro-5-metilfenil)acético (0,752 g) e *N*-bromossuccinimida (0,801 g) em DCM (15 mL), e a mistura resultante foi aquecida a 50 °C sob azoto de um dia para o outro. A mistura foi concentrada *in vacuo* para remover o diclorometano e o resíduo foi dissolvido em acetato de etilo (10 mL). A solução foi aquecida a 85 °C sob azoto durante 4 horas, em seguida arrefecida. A solução foi lavada três vezes com água e uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca sobre sulfato de magnésio anidro e purificada por cromatografia flash sobre sílica eluído com ácido

acético:acetato de etilo:iso-hexano 1:20:79 para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um sólido amarelo pálido. Rendimento 0,735 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,33 - 7,31 (m, 1H), 7,24 - 7,22 (m, 1H), 7,21 - 7,18 (m, 1H), 4,41 (s, 2H), 3,64 (s, 2H). Um protão permutável não observado.

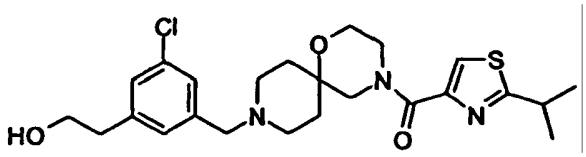
b) 2-(3-(Bromometil)-5-clorofenil)etanol



Foi adicionada, em porções ao longo de 5 minutos, uma solução de complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 2,8 mL) a uma solução de ácido 2-(3-(bromometil)-5-clorofenil)acético (exemplo 52, passo a) (0,73 g) em THF seco (10 mL) à temperatura ambiente. A solução efervescente resultante foi agitada durante 1 hora, em seguida arrefecida em gelo-água e desactivada pela adição de metanol (3 mL) em porções ao longo de 5 minutos. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante mais 20 minutos e em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluído com 25% de acetato de etilo em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um sólido branco. Rendimento 0,46 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,29 - 7,24 (m, 1H), 7,19 - 7,13 (m, 2H), 4,41 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,84 (t, J = 6,4 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

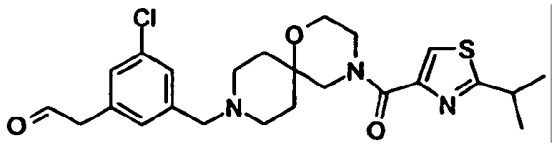
c) (9-(3-Cloro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionada trietilamina (0,18 mL) a uma suspensão de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,217 g) e 2-(3-(bromometil)-5-clorofenil)etanol (exemplo 52, passo b) (0,160 g) em acetonitrilo (5 mL) e a solução resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A solução foi então purificada por cromatografia flash sobre sílica eluída com trietilamina:metanol:diclorometano 1:5:94 para proporcionar uma goma. A goma foi dissolvida em diclorometano e a solução foi lavada três vezes com água, seca sobre sulfato de magnésio anidro e concentrada *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como uma espuma amarela pálida. Rendimento 0,254 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 7,21 - 6,92 (m, 3H), 4,31 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,79 - 3,49 (m, 8H), 3,42 (s, 2H), 3,31 (septeto, J = 6,8 Hz, 1H), 2,71 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,43 - 2,22 (m, 4H), 1,77 - 1,65 (m, 2H), 1,60 - 1,48 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

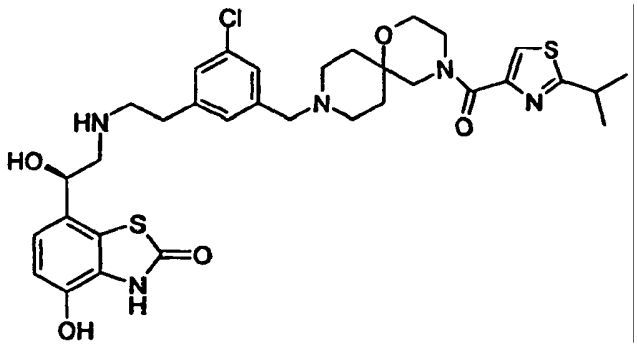
d) 2-(3-Cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Uma solução de (9-(3-cloro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 52, passo c) (0,242 g) em DCM (5 mL) foi arrefecida em gelo-água, tratada com ácido trifluoroacético (0,059 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,323 g), em seguida a mistura foi retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos. A solução foi diluída com solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 minutos. A mistura foi então extraída duas vezes com acetato de etilo, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com ácido acético (0,1 mL), secas sobre sulfato de magnésio anidro e concentradas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe em bruto como uma espuma amarela. Rendimento 0,297 g.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,220 g) em metanol (3 mL) foi tratada com ácido acético (0,047 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(3-cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 52, passo d) (0,296 g) em metanol (4 mL), e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 5 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,181 g). A mistura foi agitada em gelo-água durante 10 minutos e em seguida à temperatura ambiente durante 45 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,533 g). A mistura foi então agitada de um dia para o outro, permitindo que aquecesse lentamente até à temperatura ambiente. Na manhã seguinte a mistura foi concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de metanol (1,5 mL), acetonitrilo (1,5 mL) e água (1,5 mL) e purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a

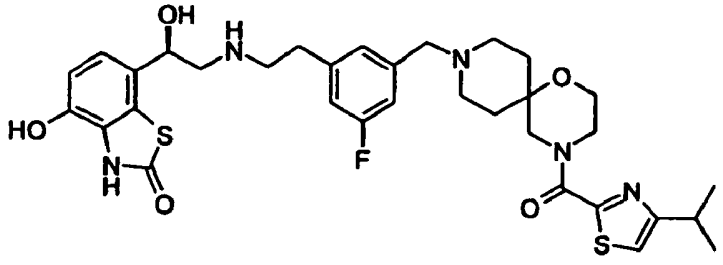
0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi removido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,092 g.

m/z 686 $(M+H)^+$ (APCI)

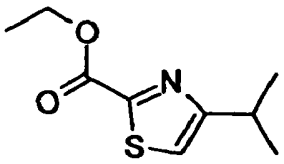
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,94 (s, 1H), 7,50 - 7,44 (m, 1H), 7,44 - 7,37 (m, 1H), 7,34 - 7,26 (m, 1H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,90 (dd, J = 7,9, 5,4 Hz, 1H), 4,26 - 4,08 (m, 2H), 3,77 - 3,59 (m, 6H), 3,35 - 3,21 (m, 3H), 3,16 - 2,91 (m, 8H), 2,06 - 1,90 (m, 2H), 1,81 - 1,63 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 53

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



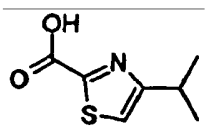
a) 4-Isopropiltiazole-2-carboxilato de etilo



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 15 minutos, 1-bromo-3-metilbutan-2-ona (3,72 g) em etanol (15 mL) a uma solução, a refluxo, de 2-amino-2-tioxoacetato de etilo (3 g) em etanol (120 mL). A mistura foi aquecida a refluxo durante 2 horas e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida até um volume de 30 mL, esta solução foi adicionada a gelo/água (200 mL) e a mistura neutralizada por adição gota a gota de amónia aquosa concentrada "880". A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 20% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,2 g.

m/z 200 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ácido 4-isopropiltiazole-2-carboxílico

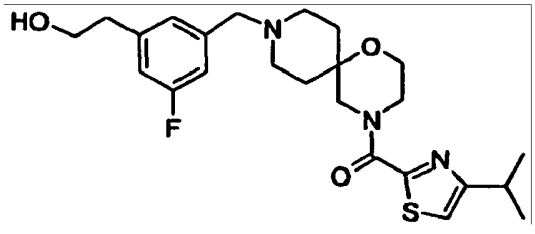


Uma solução de 4-isopropiltiazole-2-carboxilato de etilo (exemplo 53, passo a) (2,2 g) numa mistura de metanol (10 mL) e THF (20 mL) foi tratada com uma solução de hidróxido de lítio (0,264 g) em água (20 mL). A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 24 horas. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida e a mistura aquosa remanescente foi partilhada entre acetato de etilo e água. A camada aquosa foi acidificada com ácido clorídrico 2 M e extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi triturado com ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,93 g.

m/z 170 $(M-H)^-$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,67 (s, 1H), 3,16 - 3,05 (m, 1H), 1,26 (d, 6H). Um protão permutável não observado.

c) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiazol-2-il)metanona

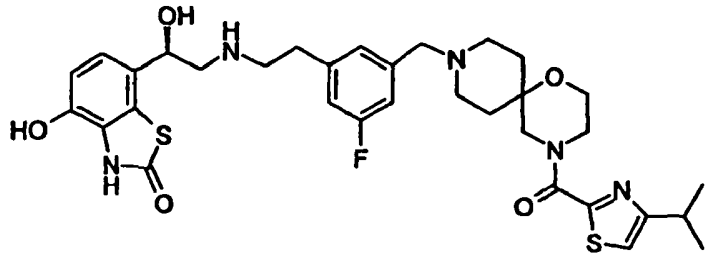


Foi adicionada uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo d) (0,21 g) em metanol

(3 mL) a amónia (solução aquosa a 35%, 15 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e o resíduo submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O resíduo foi dissolvido em DMF (7 mL) e tratado com ácido 4-isopropiltiazole-2-carboxílico (exemplo 53, passo b) (0,089 g) seguido de trietilamina (0,290 mL) e em seguida HATU (0,257 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,325 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiazol-2-il)metanona (exemplo 53, passo c) (0,23 g) em DCM (20 mL) foi

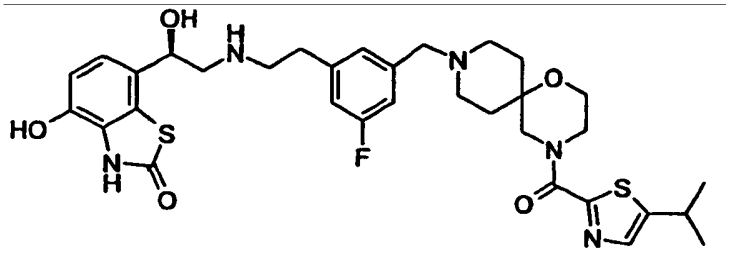
tratada com ácido trifluoroacético (0,038 mL) seguido de periodinano de Dess-Martin (0,275 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,029 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,196 g) e ácido acético (0,029 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,063 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,140 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

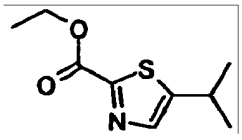
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,95 - 4,88 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 4,19 - 3,82 (m, 4H), 3,80 - 3,74 (m, 2H), 3,27 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,19 - 2,98 (m, 9H), 2,09 - 1,98 (m, 2H), 1,85 - 1,73 (m, 2H), 1,27 (d, J = 7,1 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 54

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 5-Isopropiltiazole-2-carboxilato de etilo

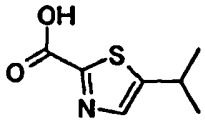


Foi lentamente adicionada, gota a gota, uma solução de bromo (0,162 mL) numa mistura de DCM (1,2 mL) e dioxano (0,3 mL) a uma solução arrefecida a 0 °C de 3-metilbutanal (0,272 g) numa mistura de DCM (1,6 mL) e dioxano (0,4 mL). A mistura foi agitada a 5 °C durante 2 horas. A mistura reaccional foi

arrefecida até 0 °C e os solventes foram removidos sob uma corrente de azoto gasoso. O resíduo, ainda a 0 °C foi tratado em porções com 2-amino-2-tioxoacetato de etilo (0,42 g). A mistura resultante foi aquecida sob azoto desde 0 °C até 70 °C ao longo de um período de 15 minutos. No final deste período, a mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 30% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,105 g.

m/z 200 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ácido 5-isopropiltiazole-2-carboxílico

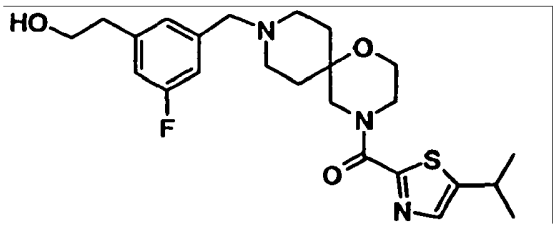


Uma solução de 5-isopropiltiazole-2-carboxilato de etilo (exemplo 54, passo a) (0,105 g) em metanol (5 mL) foi tratada com uma solução de hidróxido de lítio (0,025 g) em água (3 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada a 20 °C durante 2 horas. O metanol foi evaporado sob pressão reduzida e a solução aquosa residual foi diluída com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL). A camada aquosa foi lavada com éter, em seguida arrefecida num banho de gelo e acidificada por adição gota a gota de ácido clorídrico aquoso concentrado. A

mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo. As camadas de acetato de etilo combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,048 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,84 (s, 1H), 3,34 - 3,26 (m, 1H), 1,31 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

c) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiazol-2-il)metanona

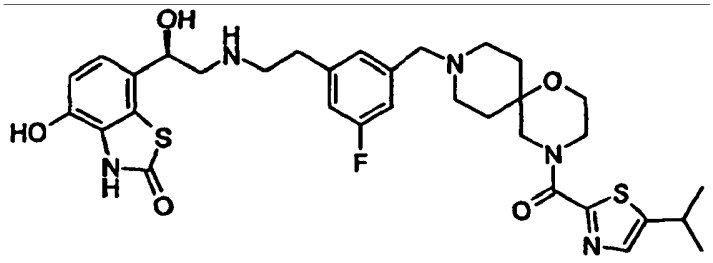


Foi adicionada uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo d) (0,113 g) em metanol (3 mL) a amónia (solução aquosa a 35%, 15 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e o resíduo submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O resíduo foi dissolvido em DMF (7 mL) e tratado com ácido 5-isopropiltiazole-2-carboxílico (exemplo 54, passo b) (0,048 g) seguido de trietilamina (0,156 mL) e em seguida HATU (0,139 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa

saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 104 mg.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-isopropiltiazole-2-carbonil)-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiazol-2-il)metanona (exemplo 54, passo c) (0,104 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,017 mL) seguido de periodinano de Dess-Martin (0,124 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A

mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,013 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,089 g) e ácido acético (0,013 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,028 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,045 mg.

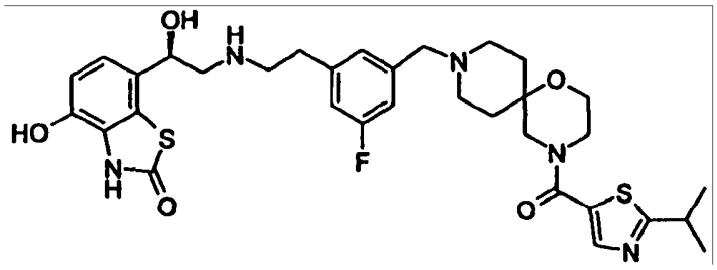
m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,67 (s, 1H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,94 - 4,89 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 4,11 - 3,79 (m, 4H), 3,78 - 3,73 (m, 2H), 3,31 - 3,24 (m, 2H), 3,18 - 2,99 (m, 9H),

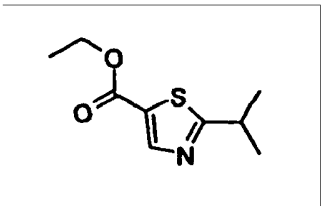
2,06 - 1,97 (m, 2H), 1,85 - 1,74 (m, 2H), 1,31 (d, J = 7,0 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 55

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-Isopropiltiazole-5-carboxilato de etilo

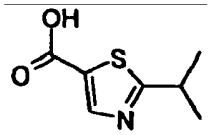


Uma mistura de 2-metilpropanotioamida (3,3 g) e 2-cloro-3-oxopropanoato de etilo (4,82 g) em acetona (50 mL) foi aquecida a refluxo sob azoto durante 3 horas. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 12% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à

secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,6 g.

m/z 200 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ácido 2-isopropiltiazole-5-carboxílico

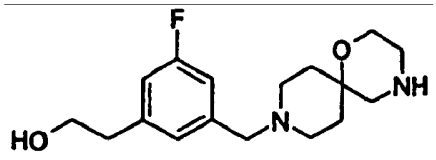


Uma solução de 2-isopropiltiazole-5-carboxilato de etilo (exemplo 55, passo a) (0,33 g) em metanol (6 mL) foi tratada com uma solução de hidróxido de lítio (0,079 g) em água (3 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 2 horas a 20 °C. O metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre éter e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada aquosa foi acidificada por adição gota a gota de ácido clorídrico diluído e a mistura extraída com acetato de etilo. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,185 g.

m/z 172 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 13,38 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 3,35 - 3,26 (m, 1H), 1,34 (d, J = 6,8 Hz,6H).

c) 2-(3-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)etanol

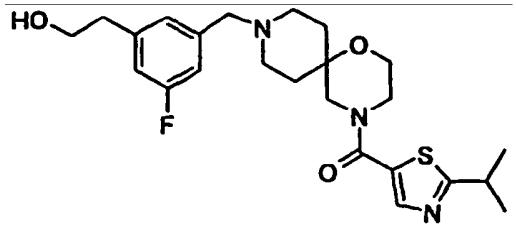


Foi adicionada solução de amónia "880" (5 mL) a uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)-benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo d) (2,2 g) em metanol (25 mL). A mistura resultante foi agitada durante 90 min e o solvente evaporado. O resíduo foi submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo e concentrado para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 1,96 g.

m/z 309 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 6,97 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 3,65 - 3,56 (m, 4H), 3,49 - 3,39 (m, 2H), 2,85 - 2,78 (m, 2H), 2,76 - 2,68 (m, 4H), 2,48 - 2,39 (m, 2H), 2,32 - 2,21 (m, 2H), 1,89 - 1,77 (m, 2H), 1,58 - 1,44 (m, 2H). Dois protões permutáveis não observados.

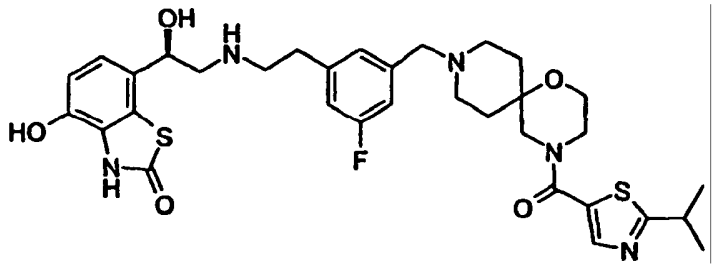
d) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-5-il)metanona



Uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)etanol (exemplo 55, passo c) (0,153 g) em DMF (7 mL) foi tratada com trietilamina (0,208 mL) seguida de ácido 2-isopropiltiazole-5-carboxílico (exemplo 55, passo b) (0,085 g). A mistura foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado HATU (0,245 g). A mistura reaccional foi agitada durante 2 horas a 20 °C. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,130 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-5-il)metanona (exemplo 55, passo d) (0,13 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,022 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,155 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,016 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,111 g) e ácido acético (0,016 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,035 g). O banho de

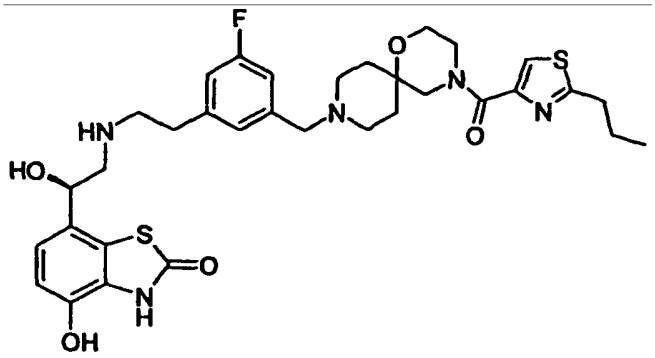
arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,1 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

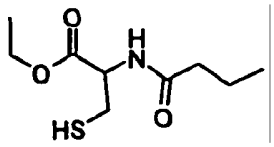
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,30 - 7,18 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,95 - 4,89 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,75 - 3,70 (m, 2H), 3,68 - 3,63 (m, 2H), 3,54 (s, 2H), 3,33 - 3,24 (m, 3H), 3,22 - 3,00 (m, 8H); 2,07 - 1,98 (m, 2H), 1,84 - 1,72 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 56

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-propiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-Butiramido-3-mercaptopropanoato de etilo



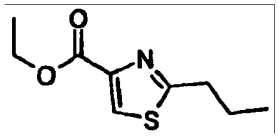
Foi adicionada trietilamina (4,5 mL) a uma suspensão de cloridrato de 2-amino-3-mercaptopropanoato de etilo (5 g) em DCM (50 mL). A mistura resultante foi arrefecida num banho de gelo/sal e foi adicionado cloreto de butirilo (3,3 mL) gota a gota. A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada com solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL) e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com DCM (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O sólido branco resultante foi

purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com um gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 até 1:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,21 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,43 - 4,37 (m, 1H), 4,13 - 4,06 (m, 2H), 2,88 - 2,80 (m, 1H), 2,78 - 2,69 (m, 1H), 2,12 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,60 - 1,47 (m, 2H), 1,22 - 1,14 (m, 3H), 0,90 - 0,81 (m, 3H). Um protão permutável não observado.

m/z 218 $(M-H)^-$ (APCI)

b) 2-Propiltiazole-4-carboxilato de etilo

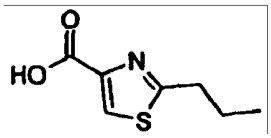


Foi adicionado uma solução de HCl (4 M em 1,4-dioxano, 20 mL) a uma solução de 2-butiramido-3-mercaptopropanoato de etilo (exemplo 56, passo a) (3 g) em etanol (20 mL) e a mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com tolueno. O resíduo foi redissolvido em acetonitrilo (50 mL), foi adicionado dióxido de manganês (11,9 g) e a mistura aquecida a refluxo de um dia para o outro. A reacção foi filtrada através de uma almofada de Celite. A almofada do filtro foi lavada com MeCN (3 x 100 mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados e o resíduo foi

purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 9:1. O produto contendo as fracções foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,24 g.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,05 (s, 1H), 4,42 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,04 (t, 1= 7,7 Hz, 2H), 1,89 - 1,77 (m, 2H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,02 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

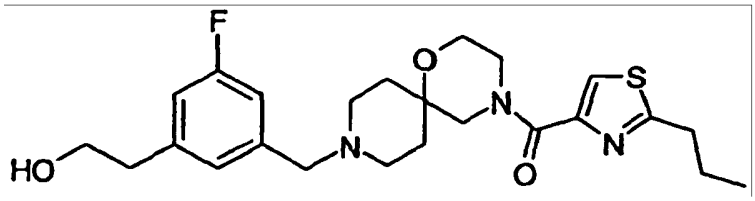
c) Ácido 2-propiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidrato (0,2 g) a uma solução de 2-propiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 56, passo b) (024 g) numa mistura de THF (4 mL) e água (1 mL). A suspensão resultante foi agitada de um dia para o outro à TA. A reacção foi acidificada com solução aquosa de HCl (2 M, 3 mL) e evaporada. O resíduo foi partilhado entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento. 0,17 g.

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 12,91 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 2,96 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,79 - 1,68 (m, 2H), 0,95(t, J = 7,4 Hz, 3H).

d) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-propiltiazol-4-il)metanona



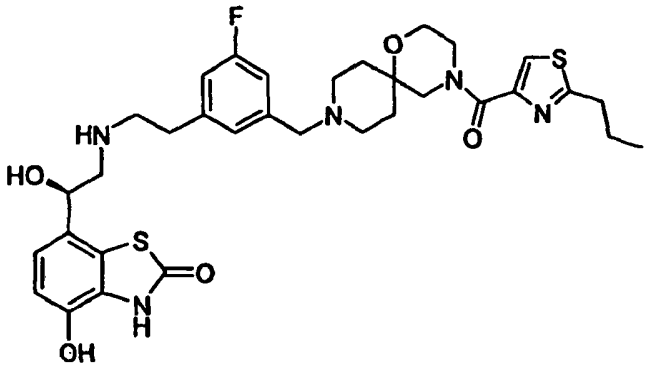
Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,25 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)-etanol (exemplo 55, passo c) (0,16 g), ácido 2-propiltiazole-4-carboxílico (exemplo 56, passo c) (0,09 g) e trietilamina (0,29 mL) em DMF (7 mL) e a solução amarela resultante foi agitada durante 30 min. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL). A fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com um gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e a mistura evaporada para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,14 g.

m/z 462 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,89 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 431 (t, J = 4,7 Hz, 1H), 3,69-

3,59 (m, 8H), 3,44 (s, 2H), 2,98 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,72 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,43 - 2,28 (m, 4H), 1,82 - 1,66 (m, 4H), 1,59 - 1,50 (m, 2H), 0,97 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-propiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,023 mL) a (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-propiltiazol-4-il)metanona (exemplo 56, passo d) (0,14 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,19 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL),

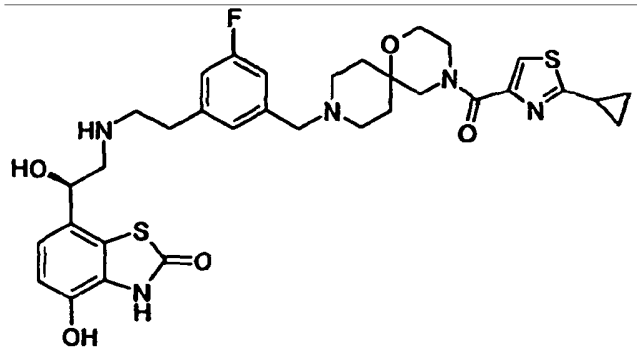
acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,017 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,12 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,029 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado in vacuo. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,077 g.

m/z 670 $(M+H)^+$ (APCI)

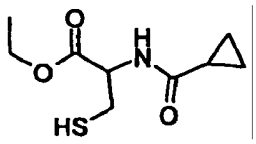
RMN de ^{1}H(400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,29 - 7,15 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,95 - 4,88 (m, 1H), 4,28 - 4,21 (m, 2H), 3,73 - 3,61 (m, 6H), 3,27 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,16 - 2,93 (m, 10H), 2,05 - 1,95 (m, 2H), 1,83 - 1,70 (m, 4H), 0,96 (t, J = 7,3 Hz, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 57

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-ciclopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(Ciclopropanocarboxamido)-3-mercaptopropanoato de etilo

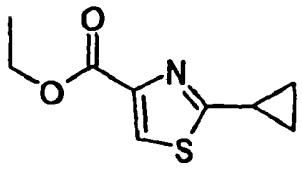


Foi adicionado cloreto de ciclopropanocarbonilo (3,1 mL) a uma suspensão de trietilamina (4,68 mL) e cloridrato de 2-amino-3-mercaptopropanoato de etilo (5,2 g) em DCM (200 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro A reacção foi desactivada com etanol e o solvente evaporado. O resíduo foi suspenso em acetato de etilo (200 mL) e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 150 mL), solução aquosa de HCl (2 M, 2 x 150 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (150 mL), em seguida seco sobre sulfato de magnésio, filtrado e evaporado. O sólido branco

resultante foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 4:1 para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 5 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 8,51 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,44 (td, J = 7,5, 5,3 Hz, 1H), 4,17 - 4,05 (m, 2H), 2,91 - 2,67 (m, 2H), 2,53 - 2,52 (m, 1H), 1,78 - 1,60 (m, 1H), 1,19 (t, J = 6,8 Hz, 3H), 0,71 - 0,66 (m, 4H).

b) 2-Ciclopropiltiazole-4-carboxilato de etilo

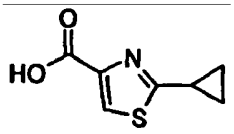


Uma solução de 2-(ciclopropanocarboxamido)-3-mercaptopropanoato de etilo (exemplo 57, passo a) (5 g) e ácido tósico (0,875 g) em tolueno (100 mL) foi aquecida a refluxo sob condições de Dean e Stark de um dia para o outro. A reacção foi deixada arrefecer e a solução de tolueno foi lavada com solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (3 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A goma castanha resultante foi redissolvida em acetonitrilo (100 mL). Foi adicionado dióxido de manganês (40 g) e a mistura aquecida a refluxo de um dia para o outro. A reacção foi filtrada através de Celite e a almofada do filtro lavada com MeCN (3 x 100 mL). O filtrado e lavagens combinadas foram evaporadas e o resíduo purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 9:1 a 4:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o

composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,15 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,94 (s, 1H), 4,40 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,45 - 2,37 (m, 1H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,20 - 1,04 (m, 4H).

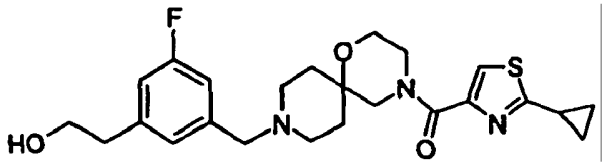
c) Ácido 2-ciclopropiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidrato (0,13 g) a uma solução de 2-ciclopropiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 57, passo b) (0,15 g) numa mistura de THF (8 mL) e água (2 mL) e a mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. A reacção foi acidificada com HCl aquoso (2 M, 3 mL) e o solvente evaporado. O resíduo foi partilhado entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 30 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido esbranquiçado. Rendimento 0,12 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,88 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 2,48 - 2,37 (m, 1H), 1,18 - 1,09 (m, 2H), 1,01- 0,94 (m, 2H).

d) (2-Ciclopropiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



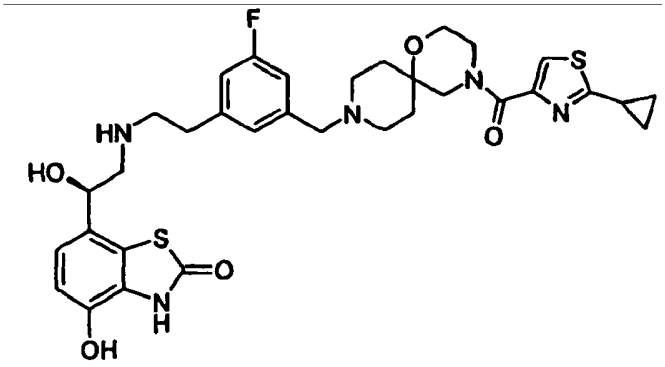
Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,34 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)-etanol (exemplo 55, passo c) (0,21 g), ácido 2-ciclopropiltiazole-4-carboxílico (exemplo 57, passo c) (0,12 g) e trietilamina (0,38 mL) em DMF (7 mL) e a solução amarela resultante foi agitada durante 30 min. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,15 g.

m/z 460 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,79 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 4,35 (s, 1H), 3,67 - 3,56 (m,

8H), 3,44 (s, 2H), 2,72 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,46 - 2,30 (m, 5H), 1,75 - 1,66 (m, 2H), 1,58 - 1,47 (m, 2H), 1,17 - 1,10 (m, 2H), 1,01 - 0,94 (m, 2H).

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-ciclopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,025 mL) a (2-ciclopropiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 57, passo d) (0,15 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,21 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre

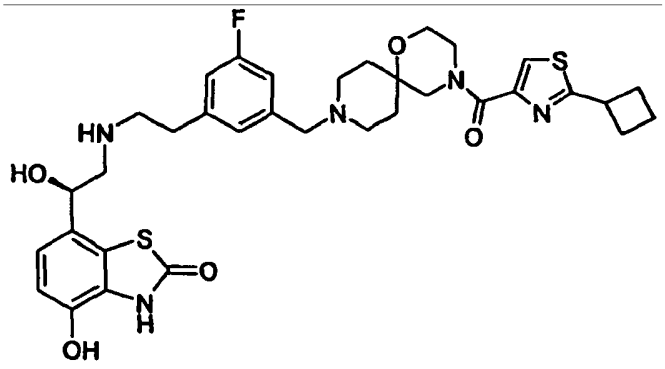
sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,019 mL) e cloridrato (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,13 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,031 g) a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,085 g.

m/z 668 $(M+H)^+$(APCI)

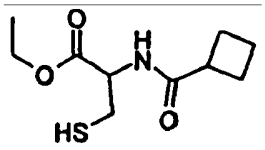
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,81 (s, 1H), 7,28 - 7,16 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,97 - 4,86 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,72 - 3,58 (m, 6H), 331 - 2,99 (m, 10H), 2,06- 1,92 (m, 2H), 1,82 - 1,68 (m, 2H), 1,19 - 0,90 (m, 4H). Um protão obscurecido pelo DMSO e seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 58

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-ciclobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(Ciclobutanocarboxamido)-3-mercaptopropanoato de etilo



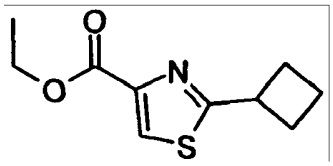
Foi adicionada trietilamina (15 mL) a uma suspensão de ácido ciclobutanocarboxílico (2,57 mL) e cloridrato de 2-amino-3-mercaptopropanoato de etilo (5 g) em DMF (40 mL). A mistura resultante foi arrefecida num banho de gelo e foi adicionada, gota a gota, uma solução de T3P (1,57 M em THF, 20,6 mL). A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada com solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL) e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com DCM (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e

evaporadas. O sólido branco resultante foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 a 1:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 3,20 g.

m/z 230 $(M-H)^-$(APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,05 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 4,41 - 4,32 (m, 1 H), 4,14 - 4,05 (m, 2H), 2,89 - 2,68 (m, 2H), 2,21 - 1,70 (m, 7H), 1,18 (t, J = 7,1 Hz, 3H). Um protão permutável não observado.

b) 2-Ciclobutiltiazole-4-carboxilato de etilo

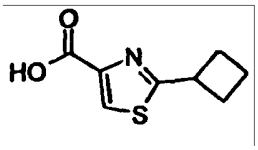


Foi adicionada uma solução de HCl (4 M em 1,4-dioxano, 3,46 mL) a uma solução de 2-(ciclobutanocarboxamido)-3-mercaptopropanoato de etilo (exemplo 58, passo a) (3,2 g) em etanol (20 mL) e a mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com tolueno. O resíduo foi redissolvido em acetonitrilo (50 mL), foi adicionado dióxido de manganês (12 g) e a mistura aquecida a refluxo de um dia para o outro. A reacção foi filtrada através de uma almofada de Celite, a qual foi então lavada com MeCN (3 x 100 mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados e o resíduo foi purificado

por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 9:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,48 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,06 (s, 1H), 4,42 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,00 - 3,89 (m, 1H), 2,56 - 2,45 (m, 2H), 2,41 - 2,29 (m, 2H), 2,16 - 1,90 (m, 2H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

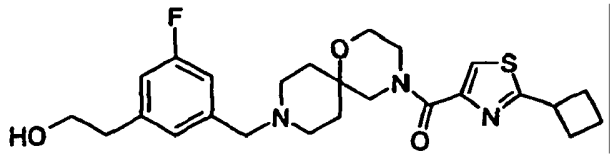
c) Ácido 2-ciclobutiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidrato (0,38 g) a uma solução de 2-ciclobutiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 58, passo b) (0,48 g) numa mistura de THF (8 mL) e água (2 mL). A suspensão resultante foi agitada de um dia para o outro à TA. A reacção foi acidificada com solução aquosa de HCl (2 M, 5 mL) e evaporada até à secura. O resíduo foi partilhado entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,38 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 12,91 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 3,94 - 3,83 (m, 1H), 2,46 - 2,35 (m, 2H), 2,32 - 2,21 (m, 2H), 2,09 - 1,97 (m, 1H), 1,94 - 1,81 (m, 1H).

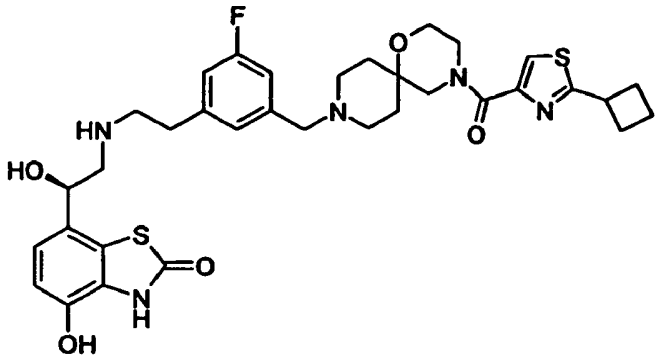
d) (2-Ciclobutiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,32 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)-etanol (exemplo 55, passo c) (0,2 g), ácido 2-ciclobutiltiazole-4-carboxílico (exemplo 58, passo c) (0,12 g) e trietilamina (0,36 mL) em DMF (7 mL) e a solução amarela resultante foi agitada durante 30 min. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL) e as camadas separadas. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,18 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 4,36 - 4,25 (m, 1H), 3,87 (q, J = 8,3 Hz, 1H), 3,70 - 3,57 (m, 8H), 3,43 (s, 2H), 2,72 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,46 - 2,26 (m, 8H), 2,11 - 1,91 (m, 2H), 1,76 - 1,66 (m, 2H), 1,60 - 1,51 (m, 2H).

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-ciclobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,026 mL) a uma solução de (2-ciclobutiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 58, passo d) (0,16 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,22 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,019 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento

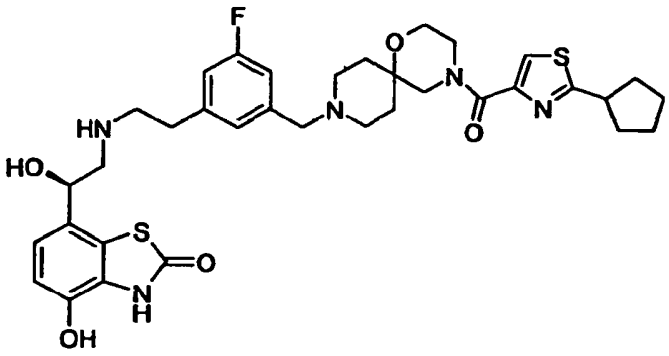
WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,13 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,032 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,12 g.

m/z 682 $(M+H)^+$(APCI)

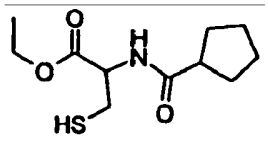
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,30 - 7,17 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,99 - 4,89 (m, 1H), 4,35 - 4,25 (m, 2H), 3,93 - 3,81 (m, 1H), 3,75 - 3,62 (m, 6H), 3,32 - 2,99 (m, 10H), 2,47 - 2,39 (m, 2H), 2,31 - 2,20 (m, 2H), 2,10 - 1,72 (m, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 59

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-ciclopentiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-flurofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(Ciclopentanocarboxamido)-3-mercaptopropanoato de etilo

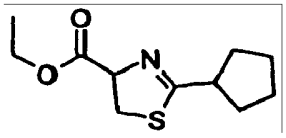


Foi adicionado CDI (8,5 g) a uma solução de ácido ciclopentanocarboxílico (5,2 mL) em DMF (40 mL). A mistura resultante foi agitada durante 1 h e arrefecida num banho de gelo. Foi adicionado cloridrato de 2-amino-3-mercaptopropanoato de etilo (8,88 g), seguido de trietilamina (10 mL). A mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada com solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL) e as camadas separadas. A aquosa foi extraída com DCM (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto

de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O sólido resultante foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 até 1:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 7,7 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,15 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,41 - 4,34 (m, 1H), 4,14 - 4,05 (m, 2H), 2,89 - 2,61 (m, 3H), 1,81 - 1,45 (m, 9H), 1,18 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

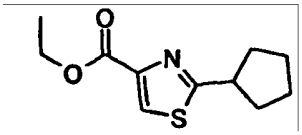
b) 2-Ciclopentil-4,5-di-hidrotiazole-4-carboxilato de etilo



Foi adicionado ácido tósico mono-hidrato (0,78 g) a uma solução de 2-(ciclopentanocarboxamido)-3-mercaptopropanoato de etilo (exemplo 59, passo a)(5 g) em tolueno (40 mL). A mistura resultante foi aquecida a refluxo sob condições de Dean e Stark durante 6 h. A reacção foi deixada arrefecer, em seguida a solução de tolueno foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e o solvente evaporado. O resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com tolueno. O sólido branco resultante foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 9:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 3,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,08 - 4,99 (m, 1H), 4,26 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,56 - 3,44 (m, 2H), 3,08 - 2,99 (m, 1H), 2,03 - 1,93 (m, 2H), 1,83 - 1,70 (m, 4H), 1,64 - 1,59 (m, 2H), 1,31 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

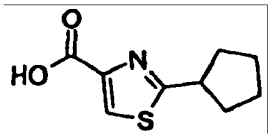
c) 2-Ciclopentiltiazole-4-carboxilato de etilo



Foi adicionado dióxido de manganês (24 g) a uma solução de 2-ciclopentil-4,5-di-hidrotiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 59, passo b) (3,2 g) em acetonitrilo (100 mL) e a mistura resultante aquecida a refluxo de um dia para o outro. A reacção foi deixada arrefecer e filtrada através de uma almofada de Celite. A almofada do filtro foi lavada com acetonitrilo (2 x 100 mL) e o filtrado e lavagens combinados evaporados. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 9:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e redissolvidas em etanol (20 mL). Foi adicionado uma suspensão espessa de paládio sobre carvão (5%, 0,66 g) em água (0,5 mL) e a suspensão resultante foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio a 5 bar de pressão durante 2 h. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite, a qual foi lavada com etanol (3 x 50 mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,9 g.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,04 (s, 1H), 4,41 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,60 - 3,48 (m, 1H), 2,29 - 2,18 (m, 2H), 1,89 - 1,67 (m, 6H), 1,40 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

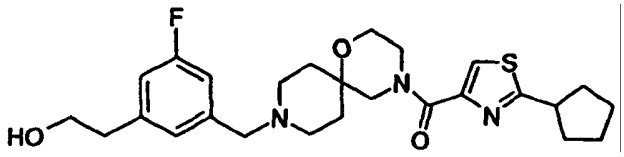
d) Ácido 2-ciclopentiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidrato (0,67 g) a uma solução de 2-ciclopentiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 59, passo c) (0,9 g) numa mistura de THF (40 mL) e água (10 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. A reacção foi acidificada com solução aquosa de HCl (2 M, 10 mL) e o solvente evaporado. O resíduo foi partilhado entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL) e acetato de etilo (50 mL) e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo pálido. Rendimento 0,77 g.

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 12,89 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 3,51 - 3,41 (m, 1H), 2,17 - 2,07 (m, 2H), 1,82 - 1,59 (m, 6H).

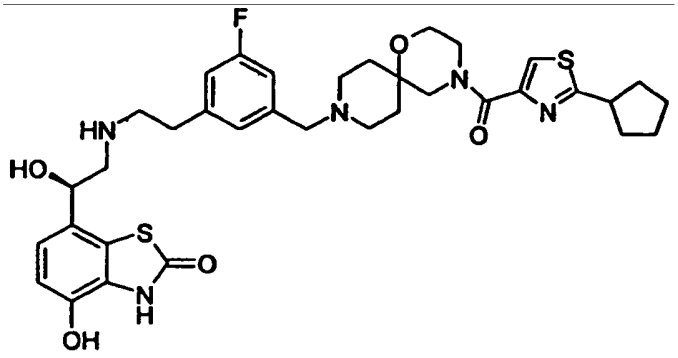
e) (2-Ciclopentiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,33 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)-etanol (exemplo 55, passo c) (0,21 g), ácido 2-ciclopentiltiazole-4-carboxílico (exemplo 59, passo d) (0,13 g) e trietilamina (0,38 mL) em DMF (7 mL) e a solução amarela resultante foi agitada durante 30 min. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,19 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,89 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 4,30 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,69 - 3,61 (m, 8H), 3,43 (s, 2H), 2,76 - 2,69 (m, 3H), 2,42 - 2,28 (m, 4H), 2,18 - 2,06 (m, 2H), 1,86 - 1,64 (m, 8H), 1,60 - 1,49 (m, 2H).

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-ciclopentil-tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,028 mL) a uma solução de (2-ciclopentiltiazol-4-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxi-etil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 59, passo e) (0,18 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,23 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,021 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,14 g) e a

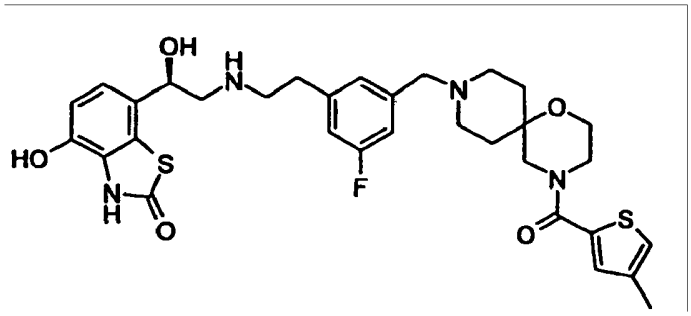
mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,034 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,7 g.

m/z 696 $(M+H)^+$ (APCI)

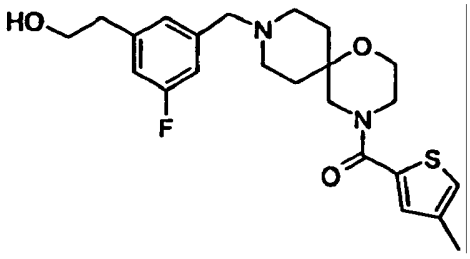
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,92 (s, 1H), 7,28 - 7,15 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,97 - 4,86 (m, 1H), 4,30 - 4,20 (m, 2H), 3,74 - 3,58 (m, 6H), 3,52 - 3,42 (m, 1H), 3,27 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,19 - 2,96 (m, 8H), 2,18 - 1,93 (m, 4H), 1,84 - 1,59 (m, 8H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 60

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(3-Fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-il)(4-metiltiofen-2-il)metanona

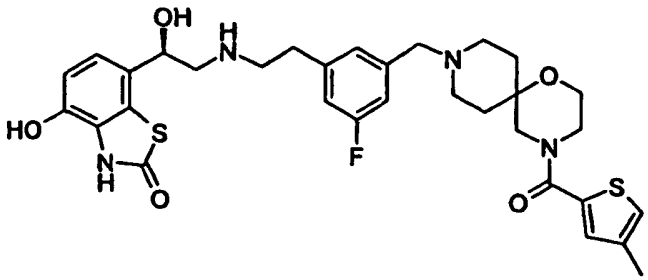


Foi adicionada uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo d) (0,17 g) em metanol (3 mL) a amónia (solução aquosa a 35%, 15 mL) e a mistura reaccional agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi evaporada até à secura sob pressão reduzida e o resíduo submetido três vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O resíduo foi dissolvido em DMF (6 mL) e tratado com ácido 4-metiltiofeno-2-carboxílico (0,060 g) seguido de trietilamina

(0,176 mL) e em seguida HATU (0,208 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,120 g.

m/z 433 $(M+H)^+$(APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 60, passo a) (0,120 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,021 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,153 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C

durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,016 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,109 g) e ácido acético (0,016 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,035 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,075 g.

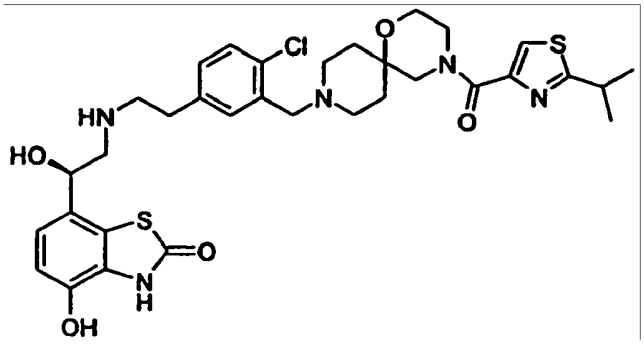
m/z 641 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,30 - 7,17 (m, 5H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,94 - 4,89

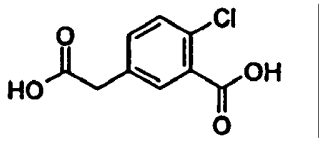
(m, 1H), 4,27 (s, 2H), 3,73 - 3,69 (m, 2H), 3,67 - 3,63 (m, 2H), 3,54 (s, 2H), 3,27 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,19 - 2,99 (m, 8H), 2,22 (s, 3H), 2,05 - 1,97 (m, 2H), 1,82 - 1,71 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 61

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(4-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Ácido 5-(carboximetil)-2-clorobenzóico

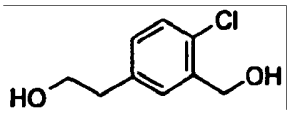


Foi adicionado hidróxido de potássio (0,969 g) em água (10 mL) a uma solução de ácido 2-cloro-5-(cianometil)benzóico (1,25 g) em etanol (10 mL) e a mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 2,25 horas, em seguida deixada arrefecer. A mistura foi concentrada *in vacuo* para remover o etanol e em

seguida diluída com água e lavada duas vezes com acetato de etilo. As fases orgânicas foram rejeitadas, enquanto a fase aquosa foi acidificada até pH 1 com ácido clorídrico concentrado e extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma castanha. Rendimento 1,38 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 12,93 (s l, 2H), 7,69 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,42 (dd, J = 8,3, 2,2 Hz, 1H), 3,66 (s, 2H).

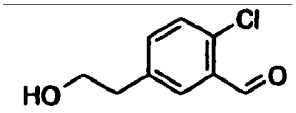
b) 2-(4-Cloro-3-(hidroximetil)fenil)etanol



Foi adicionada, em porções ao longo de 5 minutos, uma solução de complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 6,50 mL) a uma solução de ácido 5-(carboximetil)-2-clorobenzóico (exemplo 61, passo a) (1,37 g) em THF seco (20 mL) à temperatura ambiente. A solução efervescente resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1,5 horas, em seguida aquecida até refluxo durante 1 hora. A mistura arrefecida foi desactivada pela adição de metanol em porções (5 mL) ao longo de 5 minutos. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas e em seguida purificada por cromatografia flash sobre sílica eluída com 5% de metanol em diclorometano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,933 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,36 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,11 (dd, J = 8,1, 2,2 Hz, 1H), 4,77 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,86 (t, J = 6,5 Hz, 2H). Dois protões permutáveis não observados.

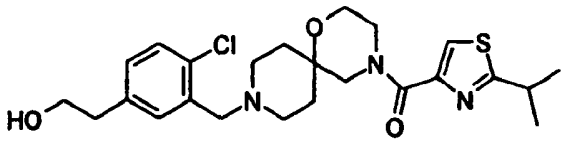
c) 2-Cloro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído



Foi adicionado dióxido de manganês (IV) (1,00 g) a uma solução de 2-(4-cloro-3-(hidroximetil)fenil)etanol (exemplo 61, passo b) (0,200 g) em DCM (5 mL), e a suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi então filtrada através de Celite, lavando bem o resíduo com DCM. O filtrado e lavagens foram concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,197 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,47(s, 1H), 7,80(d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,42(d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,41 (s, 1H), 3,89 (t l, J = 5,9 Hz, 2H), 2,90 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,42 (s l, 1H).

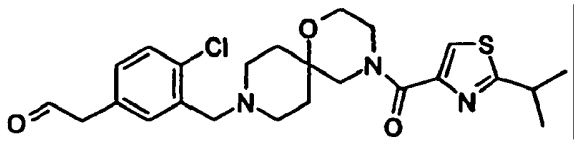
d) (9-(2-Cloro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,294 g) em NMP (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,039 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-cloro-5-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 61, passo c) (0,189 g) em NMP (3 mL), a solução resultante foi agitada durante 1 hora e foi então tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,217 g). A mistura foi agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente, em seguida vertida para bicarbonato de sódio saturado e extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram lavados três vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida secos sobre sulfato de magnésio anidro e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluído com trietilamina:metanol:diclorometano 1:2:97 para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma incolor. Rendimento 0,238 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 7,29 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,25 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,09 (dd, J = 8,2, 2,1 Hz, 1H), 4,29 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,70 - 3,59 (m, 8H), 3,51 (s, 2H), 3,32 (septeto, J = 6,9 Hz, 1H), 2,7 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,45 - 2,29 (m, 4H), 1,75 - 1,66 (m, 2H), 1,60 - 1,51 (m,2H), 1,36 (d, J = 6,7 Hz, 6H).

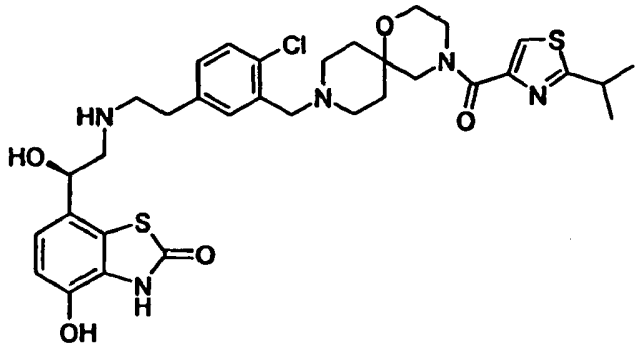
e) 2-(4-Cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Uma solução de (9-(2-cloro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 61, passo d) (0,230 g) em DCM (5 mL) foi arrefecida em gelo-água, tratada com ácido trifluoroacético (0,074 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,313 g), em seguida a mistura foi retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante 40 minutos. A solução foi diluída com solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 minutos. A mistura foi então extraída duas vezes com acetato de etilo, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com ácido acético (0,1 mL), secas sobre sulfato de magnésio anidro e concentradas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma espuma amarela em bruto. Rendimento 0,274 g.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI)

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(4-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,225 g) em metanol (3 mL) foi tratada com ácido acético (0,029 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(4-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 61, passo e) (0,274 g) em metanol (4 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 5 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,051 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 140 minutos, antes de ser tratada com mais cianoboro-hidreto de sódio (0,055 g). A mistura foi então agitada de um dia para o outro. Na manhã seguinte, a mistura foi concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de metanol (1,5 mL), acetonitrilo (1,5 mL) e água (1,5 mL) e purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo

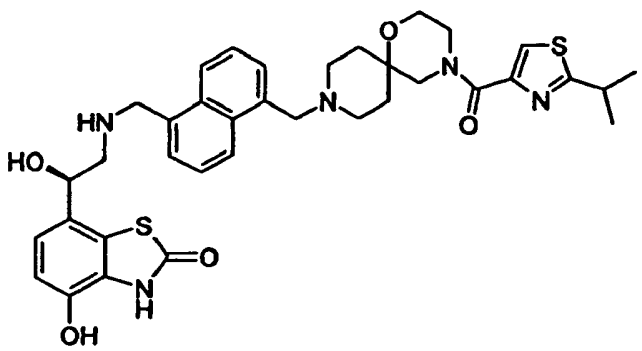
para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,062 g.

m/z 686 $(M+H)^+$ (APCI)

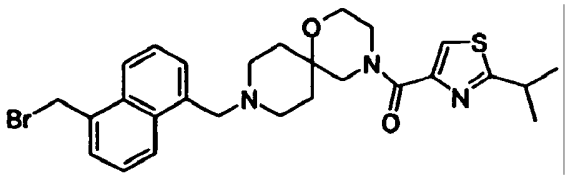
RMN de ^1H(400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,93 (s, 1H), 7,52 - 7,43 (m, 2H), 7,35 - 7,26 (m, 1H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,89 (dd, J = 7,8, 5,5 Hz, 1H), 3,76 - 3,60 (m, 6H), 3,36 - 3,16 (m, 3H), 3,15 - 2,83 (m, 8H), 2,02 - 1,84 (m, 2H), 1,80 - 1,63 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Um metileno (dois protões) muito largo e seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 62

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-((5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)naftalen-1-il)metilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



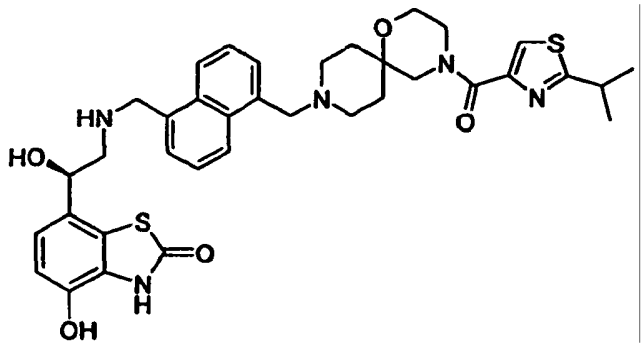
a) (9-((5-(Bromometil)naftalen-1-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionada trietilamina (0,185 mL) a uma suspensão de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,225 g) em acetonitrilo (5 mL) para dar uma solução incolor que foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro, em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em NMP (5 mL) e tratado com mais trietilamina (0,111 mL). Entretanto, uma suspensão de 1,5-bis(bromometil)naftaleno (0,500 g) em acetonitrilo (5 mL) e NMP (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro, em seguida concentrada *in vacuo* para remover o acetonitrilo para dar uma solução. A solução de amina anterior foi então adicionada gota a gota ao longo de 35 minutos, terminando a adição com mais NMP (1 mL). A solução resultante foi agitada durante 75 minutos, em seguida vertida para água e extraída três vezes com éter dietílico. Os extractos combinados foram lavados três vezes com água e uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida secos sobre sulfato de magnésio anidro e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluído com trietilamina:diclorometano:acetato de etilo (1:49:50) para proporcionar o composto em subepígrafe como uma espuma branca. Rendimento 0,132 g.

m/z 542/544 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-Hidroxi-7-(1-hidroxi-2-((5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)naftalen-1-il)metilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionada trietilamina (0,16 mL) a uma solução de cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,188 g) em metanol (5 mL) para dar uma suspensão, o qual foi concentrada *in vacuo* e redissolvida em NMP (4 mL). Foi adicionada mais trietilamina (0,16 mL), em conjunto com uma solução de (9-((5-(bromometil)naftalen-1-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 62, passo a) (0,126 g) em NMP (3 mL), adicionada gota a gota ao longo de 30 minutos, terminando a adição com mais NMP (1 mL). A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A solução foi então filtrada, acidificada com ácido trifluoroacético (0,27 mL) e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas uma vez de acetonitrilo e duas vezes de metanol. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi removido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente

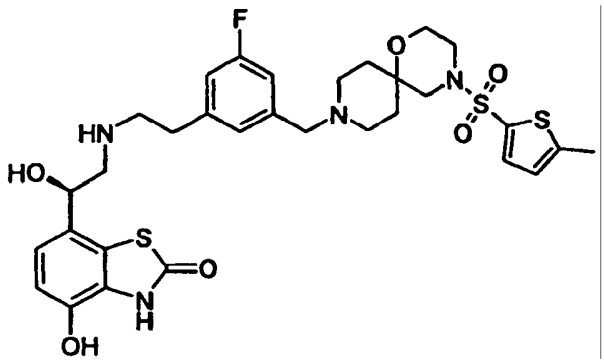
para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido amarelo pálido. Rendimento 0,056 g.

m/z 688 $(M+H)^+$ (APCI)

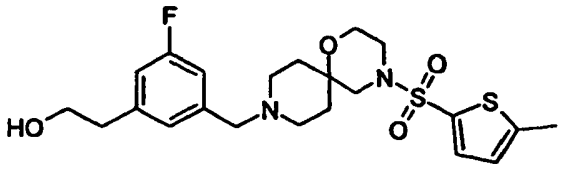
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,42 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,31 (d l, J = 8,4 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,87 - 7,61 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,00 - 4,94 (m, 1H), 4,75 (dd, J = 23,6, 14,1 Hz, 2H), 3,80 - 3,56 (m, 6H), 3,45 - 2,99 (m, 9H), 2,08 - 1,87 (m, 2H), 1,81 - 1,58 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 63

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-metiltiofen-2-ilsulfonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



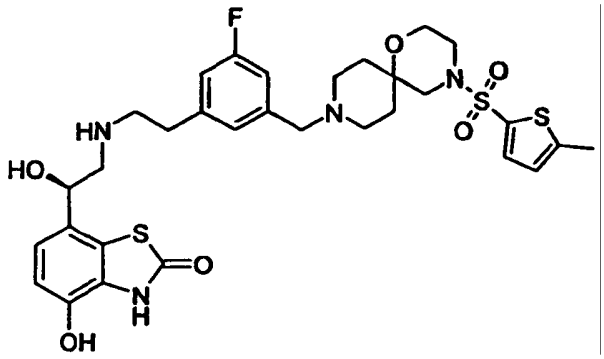
a) 2-(3-Fluoro-5-((4-(5-metiltiofen-2-ilsulfonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)etanol



Foi adicionada, gota a gota, uma solução de cloreto de 5-metiltiofeno-2-sulfonilo (0,15 g) em DCM (3 mL) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluoro-fenil)etanol (exemplo 55, passo c) (0,21 g) e *N*-etil-*N*-isopropilpropan-2-amina (0,14 mL) em DCM (20 mL). A mistura resultante foi agitada durante 1 h e o solvente evaporado. O resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (50 mL) e solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (50 mL). As camadas foram separadas e a aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de acetato de etilo:iso-hexano:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,21 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,46 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 3,6, 1,0 Hz, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 4,64 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,73 - 3,67 (m, 2H), 3,63 - 3,57 (m, 2H), 3,44 (s, 2H), 2,88 - 2,83 (m, 2H), 2,74 - 2,69 (m, 4H), 2,53 (s, 3H), 2,44 - 2,35 (m, 2H), 2,31 - 2,22 (m, 2H), 1,80 - 1,72 (m, 2H), 1,60 - 1,51 (m, 2H)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-metiltiofen-2-ilsulfonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,033 mL) a uma solução de 2-(3-fluoro-5-((4-(5-metiltiofen-2-ilsulfonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)fenil)etanol (exemplo 63, passo a) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,27 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,024 mL) e cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,17 g) e a mistura agitada

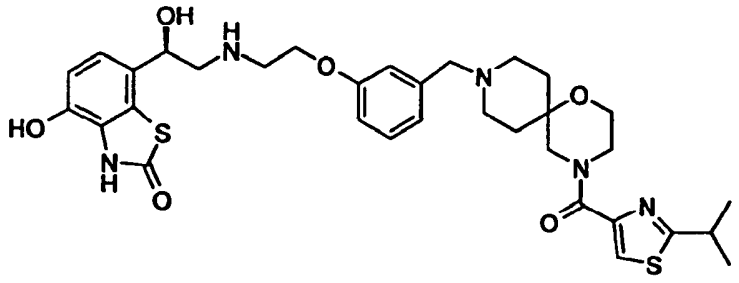
durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,04 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™. Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,7 g.

m/z 677 $(M+H)^+$ (APCI)

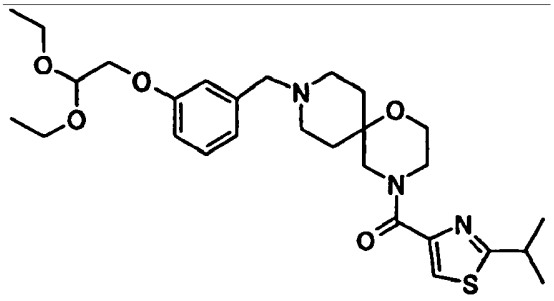
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,43 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 7,30 - 7,16 (m, 3H), 7,00 - 6,96 (m, 1H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,92 (dd, J = 7,9, 5,4 Hz, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,79 - 3,71 (m, 2H), 3,32 - 3,23 (m, 2H), 3,17 - 2,93 (m. 10H), 2,85 (s, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,13 - 2,02 (m, 2H), 1,90 - 1,74 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 64

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(3-(2,2-Dietoxietoxi)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

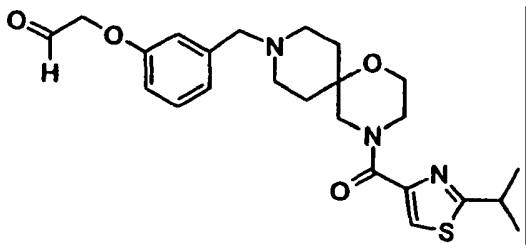


Foi adicionado, gota a gota, cloreto de metanossulfonilo (0,110 mL) a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de (3-(2,2-dietoxietoxi)fenil)metanol (exemplo 38, passo a) (0,307 g) e trietilamina (0,196 mL) em DCM (30 mL). A mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura foi lavada com água e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em acetonitrilo (30 mL) e tratado com

trietilamina (1 mL) seguida de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-metanona (exemplo 22, passo b) (0,400 g). A mistura foi agitada a 20 °C durante 2 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,360 g.

m/z 532 $(M+H)^+$(APCI)

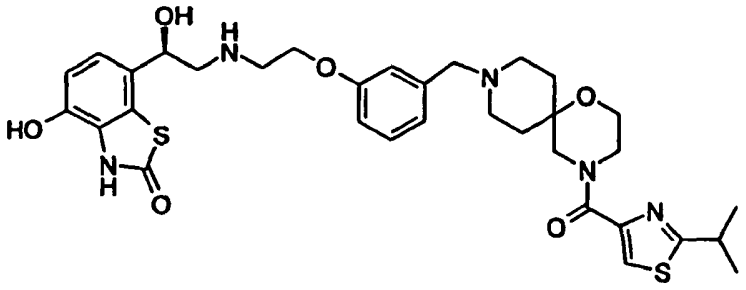
b) 2-(3-((4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)acetaldeído



Uma solução de (9-(3-(2,2-dietoxietoxi)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 64, passo a) (0,36 g) em ácido acético (20 mL) foi tratada com água (20 mL) e a mistura reaccional em seguida aquecida a 65 °C durante 18 horas sob azoto. Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e o resíduo foi submetido a

evaporação azeotrópica com tolueno para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,31 g. Utilizado directamente.

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



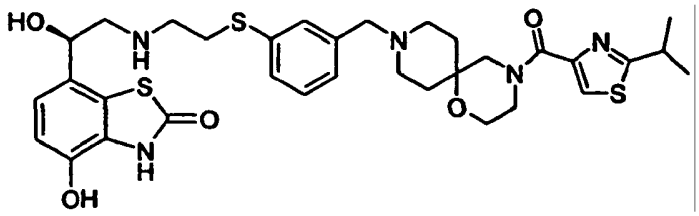
Uma solução de 2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenoxi)acetaldeído (exemplo 64, passo b) (0,31 g) em metanol (10 mL) foi tratada com cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,267 g) seguida de ácido acético (0,039 mL) e a mistura arrefecida num banho de gelo. Foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,085 g) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 4 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi

purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,2 g. m/z 668 $(M+H)^+$ (APCI)

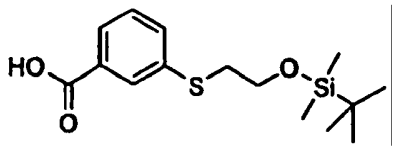
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,39 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,16 - 7,13 (m, 2H), 7,09 - 7,05 (m, 1H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,98 - 4,93 (m, 1H), 4,36 - 4,28 (m, 4H), 3,70 (s, 4H), 3,65 (s, 2H), 3,47 - 3,42 (m, 2H), 3,34 - 3,26 (m, 1H), 3,23 - 3,05 (m, 6H), 2,09 - 1,98 (m, 2H), 1,84 - 1,71 (m, 2H), 1,35 (d, J = 7,1 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 65

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)feniltio)etilamino)etil)benz[d]tiazol-2(3H)-ona



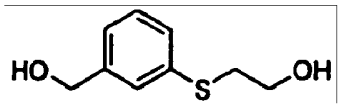
a) Ácido 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etiltio)benzóico



Foi adicionado, gota a gota, (2-bromoetoxi)(*terc*-butil)dimetilsilano (1,48 mL) a uma suspensão de ácido 3-mercaptobenzóico (1,07 g) e carbonato de potássio (1,91 g) em DMF (15 mL). A suspensão resultante foi agitada durante 2 h. A reacção foi cuidadosamente acidificada por adição, gota a gota, de solução aquosa de HCl (2 M, 10 mL) e vertida para água (100 mL). A aquosa resultante foi extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 2,8 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 13,11 (s, 1H), 7,89 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,79 - 7,74 (m, 1H), 7,66 - 7,61 (m, 1H), 7,47 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 3,82 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,19 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 0,87 (s, 9H), 0,05 (s, 6H).

b) 2-(3-(Hidroximetil)feniltio)etanol

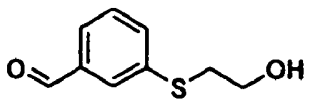


Foi adicionado, gota a gota, complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 17,3 mL) a uma solução gelada de ácido 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etiltio)benzóico (exemplo 65,

passo a) (2,16 g) em THF (50 mL). A reacção foi deixada aquecer até à TA, em seguida aquecida a refluxo durante 2 h. A reacção foi arrefecida num banho de gelo e foi adicionada, gota a gota, solução aquosa de HCl (2 M, 50 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. A reacção foi concentrada até metade do seu volume original e a aquosa resultante extraída com DCM (3 x 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 até 100% de acetato de etilo. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,77 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,29 - 7,23 (m, 2H), 7,21 - 7,17 (m, 1H), 7,13 - 7,09 (m, 1H), 5,20 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,92(t, J = 5,6 Hz, 1H), 4,47 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,59 - 3,53 (m, 2H), 3,02 (t, J = 6,9 Hz, 2H).

c) 3-(2-Hidroxietiltio)benzaldeído

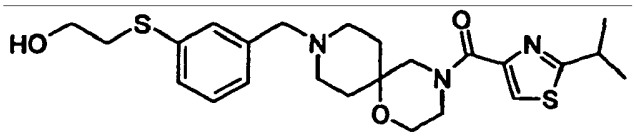


Foi adicionado dióxido de manganês (1,36 g) a uma solução de 2-(3-(hidroximetil)feniltio)etanol (exemplo 65, passo b) (0,29 g) em DCM (10 mL). A mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 4 h, arrefecida e filtrada através de Celite. A almofada do filtro foi lavada com DCM (3 x 20 mL). O filtrado e lavagem foram combinados e evaporados para dar o composto em

subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 9,99 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,71- 7,64 (m, 2H), 7,54 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 4,99 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 3,64 - 3,57 (m, 2H), 3,13 (t, J = 6,7 Hz, 2H).

d) (9-(3-(2-hidroxietiltio)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

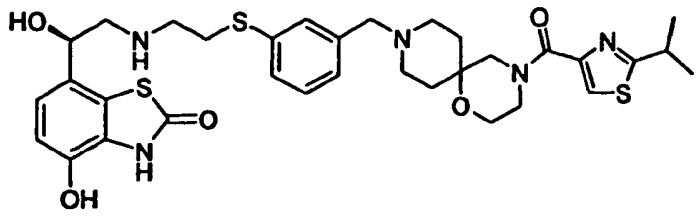


Foi adicionado 3-(2-hidroxietiltio)benzaldeído (exemplo 65, passo c) (0,16 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,25 g) e ácido acético (0,046 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (5 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 1 h e arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,26 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi vertida para uma mistura de solução de bicarbonato de sódio (20 mL) e água (80 mL). A fase aquosa foi extraída com éter (3 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O produto em bruto foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas

para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,22 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,94 - 7,83 (m, 1H), 7,28 - 7,18 (m, 3H), 7,12 - 7,05 (m, 1H), 4,61 - 4,53 (m, 1H), 3,70 - 3,54 (m, 8H), 3,47 - 3,39 (m, 2H), 3,37 - 3,27 (m, 1H), 3,06 - 2,96 (m, 2H), 2,42 - 2,25 (m, 4H), 1,75 - 1,65 (m, 2H), 1,59 - 1,50 (m, 2H), 1,41-1,32 (m, 6H).

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)feniltio)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,033 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietiltio)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 65, passo d) (0,22 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,29 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada

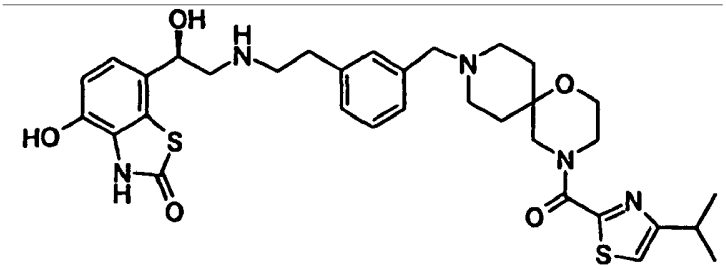
e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,026 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,044 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,54 g.

m/z 684 $(M+H)^+$ (APCI)

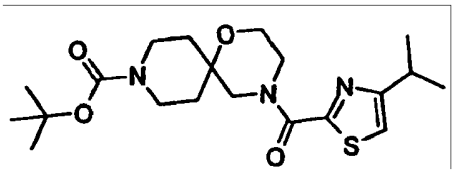
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 8 7,94 (s, 1H), 7,54 - 7,34 (m, 4H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,88 (dd, J = 8,7, 4,6 Hz, 1 H), 4,24 (s, 2H), 3,74 - 3,61 (m, 6H), 3,38 - 2,95 (m, 11H), 2,08 - 1,94 (m, 2H), 1,82 - 1,68 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 66

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 4-(4-Isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

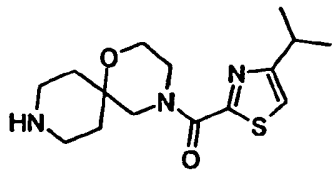


Foi adicionado HATU (0,924 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de ácido 4-isopropiltiazole-2-carboxílico (0,32 g) e 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo, 12, passo b) (0,547 g) e trietilamina (0,781 mL) em DMF (12 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre

sílica utilizando 30% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,54 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,50 (s, 1H), 3,77 - 3,72 (m, 2H), 3,52 - 3,45 (m, 2H), 3,21 - 3,13 (m, 2H), 3,12 - 3,04 (m, 1H), 3,00 (s, 4H), 1,74 - 1,67 (m, 2H), 1,52 - 1,43 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,26 (d, J = 6,8 Hz, 6H).

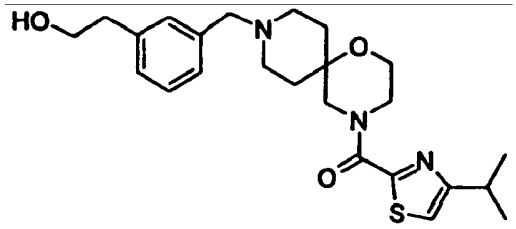
b) (4-Isopropiltiazol-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Uma solução de 4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 66, passo a) (0,54 g) em DCM (20 mL) foi tratado com ácido trifluoroacético (5 mL) e a mistura reaccional deixada em repouso a 20 °C durante 20 minutos. Foi adicionado tolueno (40 mL) e os solventes removidos sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,56 g.

m/z 310 $(M+H)^+$ (APCI)

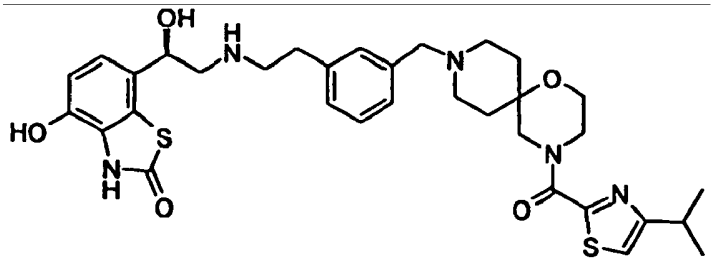
c) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiazol-2-il)metanona



Uma solução de (4-isopropiltiazol-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 66, passo b) (0,28 g) e 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,171 g) em acetonitrilo (20 mL) foi tratada com trietilamina (0,276 mL) e a mistura reaccional agitada durante 2 horas a 20 °C. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,25 g.

m/z 444 $(M+H)^+$(APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiazol-2-il)metanona (exemplo 66, passo c) (0,25 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,043 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,311 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,032 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,222 g) e ácido acético (0,032 mL) em metanol (20 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,071 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um

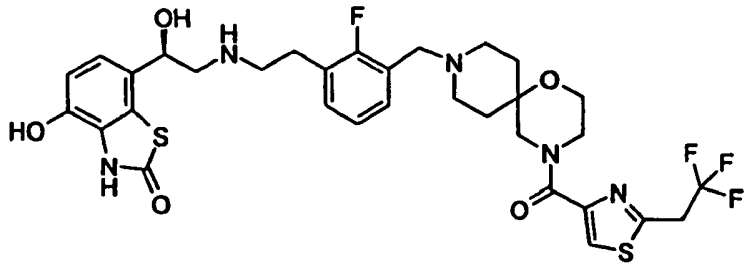
volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,18 g

m/z 652 $(M+H)^+$ (APCI)

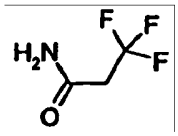
RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,35 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,43 - 7,32 (m, 4 Hz, 6,93 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,97 - 4,89 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,76 (s, 2H), 4,17 - 3,30 (m, 4H), 3,28 - 3,15 (m, 4H), 3,14 - 2,98 (m, 7H), 2,10 - 1,97 (m, 2H), 1,87 - 1,70 (m, 2H), 1,26 (d, J = 7,1 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 67

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-(2,2,2-trifluoroetil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



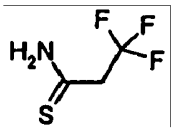
a) 3,3,3-Trifluoropropanamida



Uma solução de ácido 3,3,3-trifluoropropanóico (4 g) em éter (150 mL) a 0 °C foi tratado numa porção com pentacloreto de fósforo (6,06 g). A mistura foi aquecida a refluxo sob azoto durante 2,5 horas. A mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente. Foi adicionado mais éter (100 mL) e a mistura arrefecida num banho de gelo. Foi borbulhada amónia gasosa através da mistura, mantida sob agitação, durante 30 minutos. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e acetato de etilo. A camada aquosa foi reextraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente foi removido sob

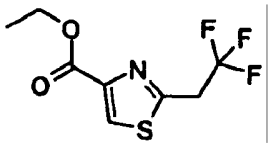
pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 3,9 g. Utilizado directamente.

b) 3,3,3-Trifluoropropanotioamida



Foi adicionado pentassulfureto de fósforo (1,603 g) numa porção a uma solução de 3,3,3-trifluoropropanamida (exemplo 67, passo a) (3,9 g) em MTBE (150 mL). A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 20 horas. A mistura foi filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 4 g. O produto foi utilizado directamente no passo seguinte.

c) 2-(2,2,2-Trifluoroetil)tiazole-4-carboxilato de etilo



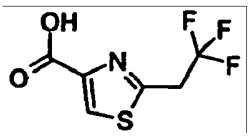
Uma solução de 3,3,3-trifluoropropanotioamida (exemplo 67, passo b) (4 g) e 3-bromo-2-oxopropanoato de etilo (5,45 g) em THF (120 mL) foi aquecida a refluxo durante 2 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto

em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 17% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,9 g.

m/z 240 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,23 (s, 1H), 4,45 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,94 (q, J = 10,2 Hz, 2H), 1,42 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

d) Ácido 2-(2,2,2-trifluoroetil)tiazole-4-carboxílico

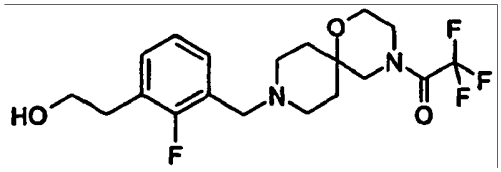


Uma mistura de 2-(2,2,2-trifluoroetil)tiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 67, passo c) (0,3 g) em ácido clorídrico concentrado (7 mL) e água (7 mL) foi aquecida a 80 °C durante 5 horas sob azoto. O solvente foi evaporado sob uma corrente de azoto e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (40 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (3 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,23 g.

m/z 210 $(M-H)^-$ (APCI)

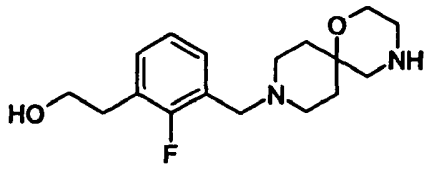
RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,36 (s, 1H), 3,95 (q, J = 10,0 Hz, 2H). Um protão permutável não observado.

e) 2,2,2-Trifluoro-1-(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona



Foi adicionado 2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 48, passo a) (1,05 g) a uma solução de trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (2,08 g) e ácido acético (0,33 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (10 mL). A mistura resultante foi agitada durante 15 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (1,81 g) e a mistura agitada de um dia para o outro. A reacção foi vertida para uma mistura de solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (20 mL) e água (100 mL). A aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com água (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 + 5% de trietilamina até acetato de etilo + 5% de trietilamina. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1,9 g. Utilizado imediatamente.

f) 2-(3-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol

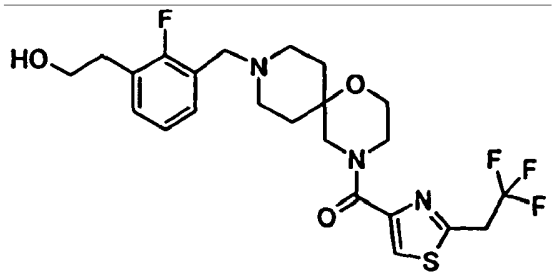


Foi adicionada solução aquosa de amónia "880" (5 mL) a uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 67, passo e) (1,9 g) em metanol (25 mL). A mistura resultante foi agitada durante 90 min e o solvente evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol: amónia "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar uma goma que solidificou em repouso. O sólido branco foi triturado com iso-hexano e seco sobre sulfato de sódio para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 1 g.

m/z 309 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,24 - 7,15 (m, 2H), 7,06 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 4,69 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,64 - 3,54 (m, 2H), 3,53 - 3,43 (m, 4H), 2,74 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,60 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 2,45 - 2,35 (m, 2H), 2,34 - 2,24 (m, 2H), 1,83 - 1,74 (m, 2H), 1,47 - 1,36 (m, 2H). Dois protões obscurecidos pelos picos do solvente e um protão permutável não observado.

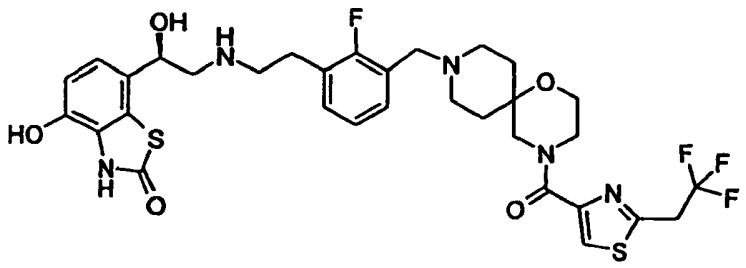
g) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(2,2,2-trifluoroetil)tiazol-4-il)metanona



Foi adicionado HATU (0,181 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de ácido 2-(2,2,2-trifluoroetil)tiazole-4-carboxílico (exemplo 67, passo d) (0,077 g) e 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,113 g) e trietilamina (0,153 mL) em DMF (5 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,180 g.

m/z 502 $(M+H)^+$ (APCI)

h) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-(2,2,2-trifluoroetil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(2,2,2-trifluoroetil)-tiazol-4-il)metanona (exemplo 67, passo g) (0,18 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,028 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,198 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,021 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,141 g) e ácido acético (0,021 mL) em metanol (15,0 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,045 g). O banho de

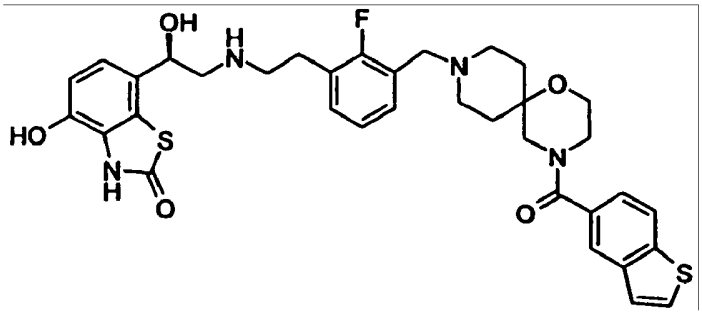
arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,091 g.

m/z 710 $(M+H)^+$ (APCI)

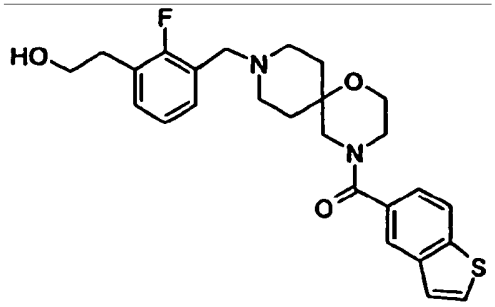
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,15 (s, 1H), 7,52 - 7,40 (m, 2H), 7,25 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,94 - 4,89 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 4,20 (q, J = 11,0 Hz, 2H), 3,74 - 3,61 (m, 6H), 3,28 - 3,02 (m, 10H), 2,06-1,96 (m, 2H), 1,85 - 1,72 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 68

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(benzo[b]tiofeno-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Benzo[b]tiofen-5-il(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

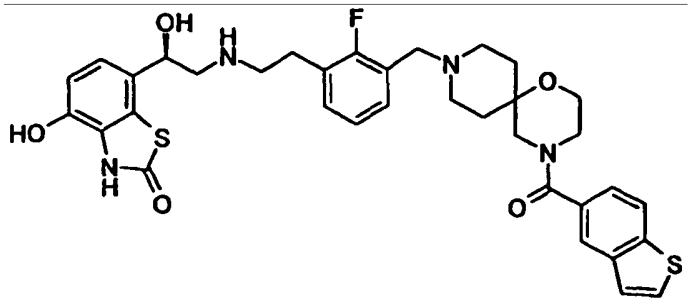


Foi adicionado HATU (0,181 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de ácido benzo[b]tiofeno-5-carboxílico (0,065 g) e 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,113 g) e trietilamina (0,153 mL) em DMF (5 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com

solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,160 g.

m/z 469 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(benzo[b]tiofeno-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de benzo[b]tiofen-5-il(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 68, passo a) (0,160 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,026 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,188 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,02 mL) a esta solução e o

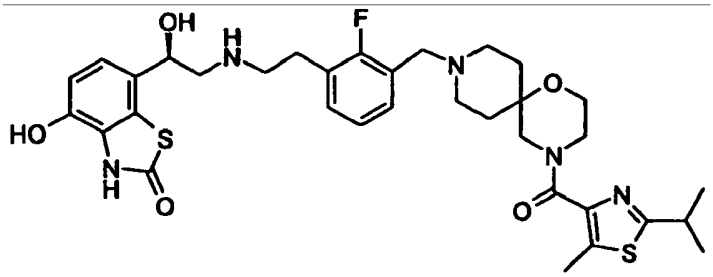
solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,135 g) e ácido acético (0,02 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,043 mg). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,116 g.

m/z 677 $(M+H)^+$ (APCI)

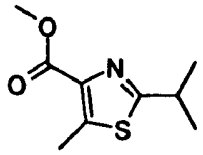
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO; 90 °C) δ 11,28 (s, 1H), 8,04 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,80 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 7,52 - 7,42 (m, 3H), 738 - 7,35 (m, 1H), 7,25 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,78 (t, J = 4,1 Hz, 1H), 4,95 - 4,90 (m, 1H), 4,35 (s, 2H), 3,69 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,53 - 3,44 (m, 4H), 3,28 - 3,19 (m, 4H), 3,16 - 3,04 (m, 6H), 2,11 - 2,03 (m, 2H), 1,80 - 1,68 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 69

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropil-5-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



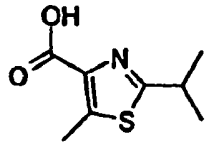
a) 2-Isopropil-5-metiltiazole-4-carboxilato de metilo



Uma mistura de 3-bromo-2-oxobutanoato de metilo (4,6 g) e 2-metilpropanotioamida (2,5 g) em THF (100 mL) foi aquecida a refluxo durante 18 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 17% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,7 g.

m/z 200 $(M+H)^+$ (APCI)

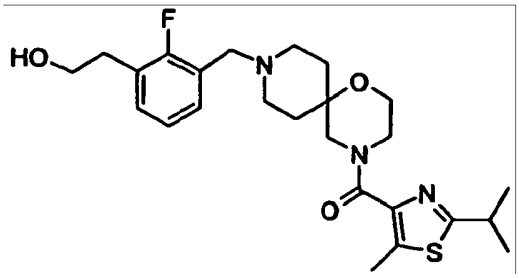
b) Ácido 2-isopropil-5-metiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionada uma solução de hidróxido de lítio mono-hidratado (02 g) em água (3 mL) a uma solução de 2-isopropil-5-metiltiazole-4-carboxilato de metilo (exemplo 69, passo a) (0,5 g) em metanol (7 mL) e a mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 3 horas. O metanol foi removido sob pressão reduzida e a solução aquosa remanescente foi lavada com acetato de etilo. A camada aquosa foi acidificada por adição gota a gota de HCl aquoso concentrado e esta mistura foi extraída com acetato de etilo. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. A goma resultante cristalizou em repouso. A trituração com uma mistura de iso-hexano (4 mL) e éter (1 mL) proporcionou o composto em subepígrafe. Rendimento 0,160 g.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3,29 - 3,18 (m, 1H), 2,78 (s, 3H), 1,38 (d, J = 7,1 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

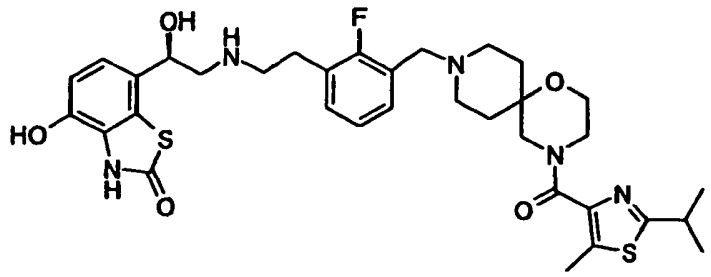
c) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropil-5-metiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionado HATU (0,175 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de ácido 2-isopropil-5-metiltiazole-4-carboxílico (exemplo 69, passo b) (0,066 mg) e 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)-etanol (exemplo 67, passo f) (0,109 g) e trietilamina (0,148 mL) em DMF (5 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,155 mg.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropil-5-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropil-5-metiltiazol-4-il)metanona (exemplo 69, passo c) (0,155 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,025 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,180 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,019 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,128 g) e ácido acético (0,019 mL) em metanol (15,00 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (41 mg). O banho de arrefecimento foi

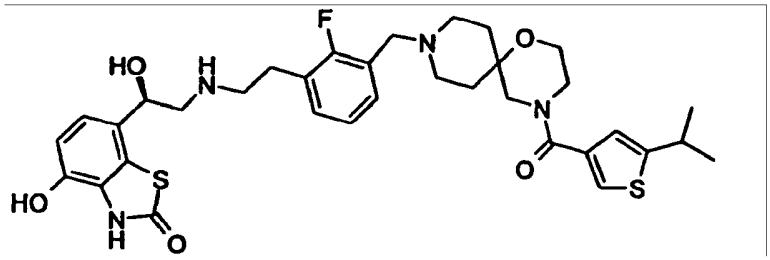
retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,12 g.

m/z 684 $(M+H)^+$ (APCI)

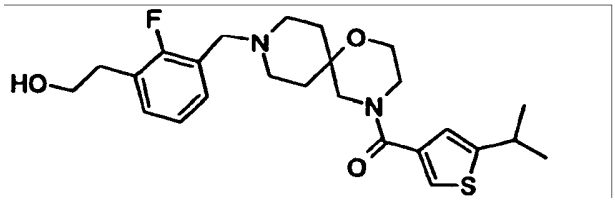
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,28 (s, 1H), 7,50 - 7,39 (m, 2H), 7,28 - 7,22 (m, 1H), 6,93 (d, J = 24,1 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 26,1 Hz, 1H), 4,93 - 4,88 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,67 (s, 2H), 3,58 - 3,43 (m, 4H), 3,26 - 3,00 (m, 11H), 2,43 (s, 3H), 2,03 - 1,94 (m, 2H), 1,81 - 1,65 (m, 2H), 1,30 (d, J = 6,8 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 70

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona

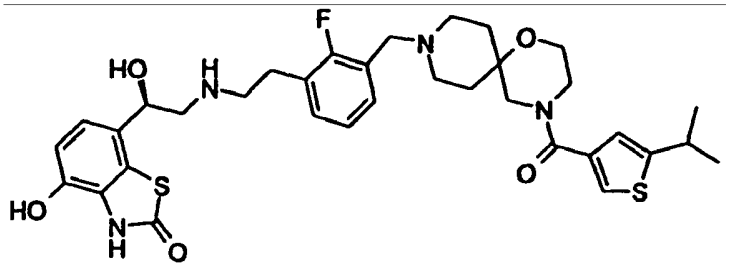


Foi adicionado HATU (0,183 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de ácido 5-isopropiltiofeno-3-carboxílico (0,063 g) e 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,114 g) e trietilamina (0,155 mL) em DMF (5 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre

sílica utilizando 2,5% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,100 g.

m/z 461 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-2-(2-fluoro-3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona (exemplo 70, passo a) (0,100 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,017 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,120 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados.

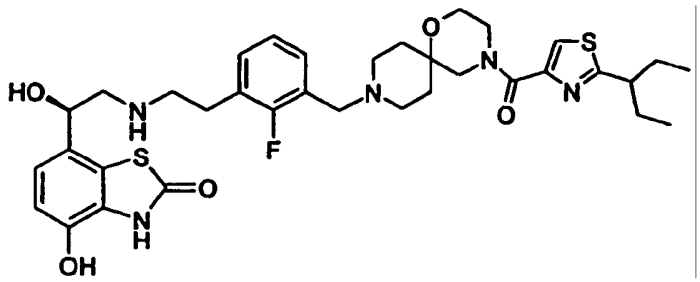
Foi adicionado ácido acético (0,012 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,086 g) e ácido acético (0,012 mL) em metanol (15,00 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,027 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,052 mg.

m/z 669 $(M+H)^+$ (APCI)

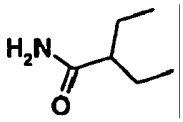
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,51 - 7,46 (m, 2H), 7,43 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,25 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 6,95 - 6,89 (m, 2H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,95 - 4,90 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,69 - 3,65 (m, 2H), 3,55 - 3,51 (m, 2H), 3,45 (s, 2H), 3,24 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,20 - 3,03 (m, 9H), 2,05 - 1,97 (m, 2H), 1,79 - 1,69 (m, 2H), 128 (d, J = 6,8 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 71

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



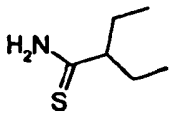
a) 2-Etilbutanamida



Foi cuidadosamente adicionado, gota a gota, cloreto de 2-etilbutanoílo (5 g) a amónia aquosa a 35% gelada (50 mL) e a suspensão resultante foi agitada durante 1 h. A mistura reaccional foi extraída com DCM (3 x 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 3,4 g.

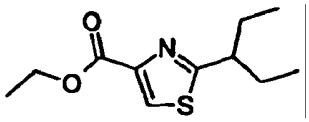
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,23 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 1,98 - 1,88 (m, 1H), 1,50 - 1,27 (m, 4H), 0,81 (t, J = 7,4 Hz, 6H).

b) 2-Etilbutanotioamida



Foi adicionado pentassulfureto de fósforo (1,54 g) a uma solução de 2-etilbutanamida (exemplo 71, passo a) (3,4 g) em MTBE (300 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 3 h. A reacção foi filtrada através de Celite e a almofada do filtro lavada com MTBE (100 mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 3,8 g. Utilizado directamente.

c) 2-(Pentan-3-il)tiazole-4-carboxilato de etilo

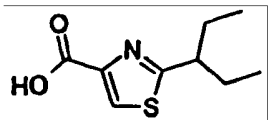


Foi adicionado, gota a gota, 3-bromo-2-oxopropanoato de etilo (2,5 mL) a uma solução de 2-etilbutanotioamida (exemplo 71, passo b) (3,8 g) em etanol (100 mL) e a mistura resultante aquecida a refluxo de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (100 mL) e solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (100 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 20:1. As

fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 2,8 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,42 (s, 1H), 4,29 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,99 - 2,89 (m, 1H), 1,82 - 1,58 (m, 4H), 1,30 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 0,81 (t, J = 7,4 Hz, 6H).

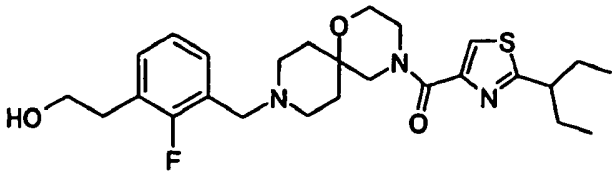
d) Ácido 2-(pentan-3-il)tiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidrato (2,07 g) a uma solução de 2-(pentan-3-il)tiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 71, passo c) (2,8 g) numa mistura de THF (80 mL) e água (20 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. A reacção foi acidificada com ácido clorídrico concentrado (6 mL) e os voláteis evaporados. A mistura aquosa resultante foi saturada com cloreto de sódio e extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 2,3 g

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,91 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 2,98 - 2,86 (m, 1H), 1,84 - 1,56 (m, 4H), 0,81 (t, J = 7,3 Hz, 6H).

e) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(pentan-3-il)tiazol-4-il)metanona



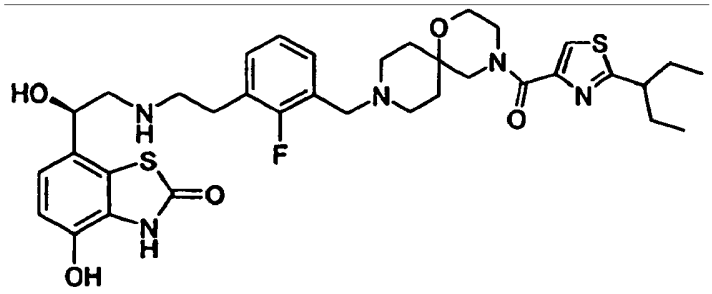
Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,2 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,13 g), ácido 2-(pentan-3-il)tiazole-4-carboxílico (exemplo 71, passo d) (0,081 g) e trietilamina (0,23 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e em seguida evaporada. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,25 g.

m/z 490 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,93 (s, 1H), 7,22 - 7,14 (m, 2H), 7,03 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 4,39 - 4,32 (m, 1H),

3,69 - 3,58 (m, 6H). 3,52 - 3,46 (m, 2H), 2,97 - 2,90 (m, 1H), 2,75 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,70 (s, 2H), 2,46 - 2,29 (m, 4H), 1,82 - 1,66 (m, 6H), 1,58 - 1,47 (m, 2H), 0,85 (t, J = 7,3 Hz, 6H).

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,031 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(pentan-3-il)tiazol-4-il)metanona (exemplo 71, passo e) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,25 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de

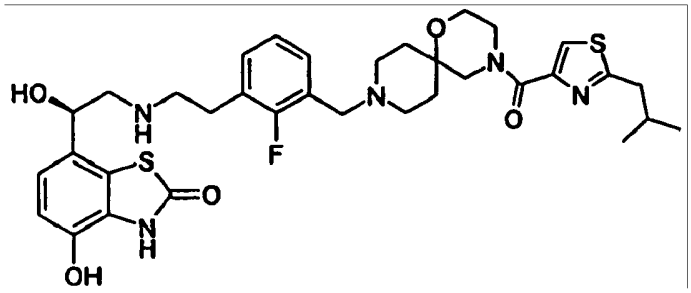
ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,023 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,13 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,038 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,17 g.

m/z 698 $(M+H)^+$ (APCI)

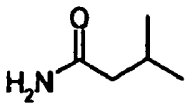
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 8,01 - 7,83 (m, 1H), 7,56 - 7,38 (m, 2H), 7,30 - 7,19 (m, 1H), 7,01 - 6,89 (m, 1H), 6,83 - 6,71 (m, 1H), 4,99 - 4,88 (m, 1H, 4,38 - 4,23 (m, 2H), 3,78 - 3,57 (m, 6H), 3,33 - 2,86 (m, 11H), 2,10 - 1,97 (m, 2H), 1,87 - 1,61 (m, 6H), 0,91 - 0,76 (m, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 72

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazapiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



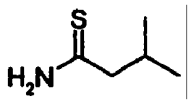
a) 3-Metilbutanamida



Foi cuidadosamente adicionado, gota a gota, cloreto de 3-metilbutanoílo (10 mL) a amónia aquosa a 35% gelada (50 mL) e a suspensão resultante foi agitada durante 1 h. A mistura reaccional foi extraída com DCM (3 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 5,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 7,20 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 1,99 - 1,88 (m, 3H), 0,87 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

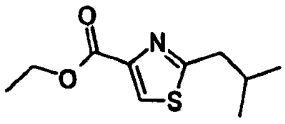
b) 3-Metilbutanotioamida



Foi adicionado pentassulfureto de fósforo (2,9 g) a uma suspensão de 3-metilbutanamida (exemplo 72, passo a) (5,6 g) em MTBE (300 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 3 h. A reacção foi filtrada através de Celite e a almofada do filtro lavada com MTBE (100 mL). O filtrado e lavagens combinadas foram evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 5,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9,32 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 2,33 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 2,22 - 2,07 (m, 1H), 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

c) 2-Isobutiltiazole-4-carboxilato de etilo

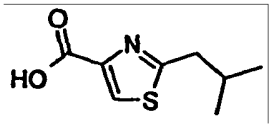


A uma solução de 3-metilbutanotioamida (exemplo 72, passo b) (5,6 g) em etanol (100 mL) foi adicionado 3-bromo-2-oxopropanoato de etilo (6,7 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro à TA, em seguida aquecida a refluxo durante 5 h. O solvente foi evaporado e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (250 mL) e solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (100 mL). As camadas foram separadas e a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de

cloreto de sódio (100 mL), seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 20:1 até 10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 5,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,39 (s, 1H), 4,29 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,88 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,10 - 1,97 (m, 1H), 1,30 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 6,7 Hz, 6H).

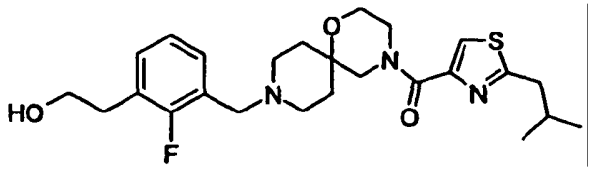
d) Ácido 2-isobutiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidrato (4,1 g) a uma solução de 2-isobutiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 72, passo c) (5,2 g) numa mistura de THF (80 mL) e água (20 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. A reacção foi cuidadosamente acidificada com ácido clorídrico concentrado (10 mL) e os voláteis evaporados. A mistura aquosa resultante foi vertida para solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 3,8 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,90 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 2,87 (d, J = 7,1 Hz, 2H), 2,11 - 1,96 (m, 1H), 0,94 (d, J = 6,7 Hz, 6H).

e) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il(2-isobutiltiazol-4-il)metanona

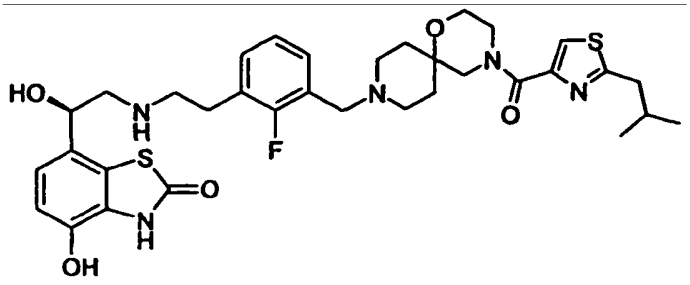


Foi adicionado hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,2 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,13 g), ácido 2-isobutiltiazole-4-carboxílico (exemplo 72, passo d) (0,08 g) e trietilamina (0,23 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C e a solução amarela resultante deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e em seguida evaporada. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,24 g.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 7,22-7,14 (m, 2H), 7,03 (t, J = 7,4 Hz, 18), 4,35 (t, J = 4,7 Hz, 1H), 3,68 - 3,57 (m, 6H), 3,52 - 3,42 (m, 2H), 2,89 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,70 (s, 2H), 2,45 - 2,28 (m, 4H), 2,12 - 2,03 (m, 1H), 1,74 - 1,65 (m, 2H), 1,57 - 1,48 (m, 2H), 0,96 (d, J = 6,7 Hz, 6H).

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,031 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isobutiltiazol-4-il)metanona (exemplo 72, passo e) (0,19 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,25 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi

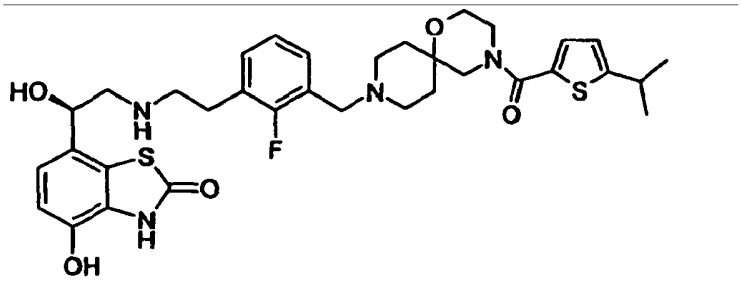
vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,023 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,13 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,038 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,10 g.

m/z 684 $(M+H)^+$ (APCI)

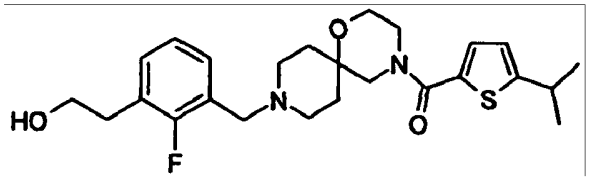
RMN de ^1H (400 MHz, D6-DMSO, 90 °C) δ 11,39 - 11,19 (m, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,53 - 7,40 (m, 2H), 7,25 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,92 (dd, J = 8,5, 4,9 Hz, 1H), 4,33 - 4,26 (m, 2H), 3,72 - 3,59 (m, 6H), 3,28 - 3,0 (m, 10H), 2,88 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 2,11 - 1,95 (m, 3H), 1,84 - 1,69 (m, 2H), 0,95 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 73

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(5-isopropiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-2-il)metanona



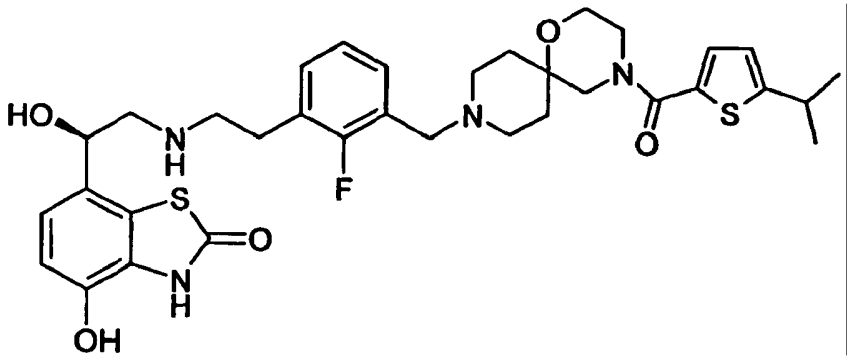
Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametilurónio (0,2 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,13 g), ácido 5-isopropiltiofeno-2-carboxílico (0,07 g) e trietilamina (0,23 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente

evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,23 g.

m/z 461 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,22 - 7,15 (m, 3H), 7,03 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,35 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 3,69 - 3,58 (m, 6H), 3,49 (s, 2H), 3,21 - 3,13 (m, 1H), 2,76 (t, J = 8,4 Hz, 2H), 2,70 (s, 2H), 2,42 - 2,36 (m, 4H), 1,75 - 1,68 (m, 2H), 1,56 - 1,46 (m, 2H), 1,29 (d, J = 6,7 Hz, 6H)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(5-isopropiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,031 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-

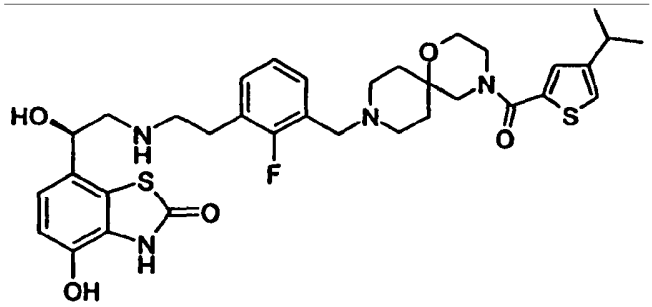
diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-2-il)metanona (exemplo 73, passo a) (0,18 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,25 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,023 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,13 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,025 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa “880” 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,12 g.

m/z 669 $(M+H)^+$(APCI)

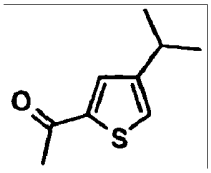
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 11,26 (s, 1H), 7,54 - 7,40 (m, 2H), 7,28 - 7,21 (m, 2H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,84 (dd, J = 3,6, 0,8 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,93 (dd, J = 8,5, 4,9 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,73 - 3,64 (m, 4H), 3,54 (s, 2H), 3,29 - 3,03 (m, 11H), 2,07 - 1,98 (m, 2H), 1,85 - 1,73 (m, 2H), 1,29 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 74

Ditrifluoroacetato de (R)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(4-isopropiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 1-(4-Isopropiltiofen-2-il)etanona

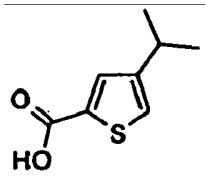


Foi adicionado 1-(tiofen-2-il)etanona (5,4 mL) a uma suspensão gelada de cloreto de alumínio (33 g) em clorofórmio

seco (100 mL). Foi então adicionado gota a gota 2-bromopropano (5,2 mL) ao longo de 5 min. A reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A suspensão escura foi cuidadosamente vertida sobre gelo e a mistura agitada durante 10 min. As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com DCM (100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução de hidróxido de sódio (2 M, 200 mL) e água (200 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 2% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo claro. Rendimento 5,4 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,58 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 3,01 - 2,92 (m, 1H), 2,55 (s, 3H), 1,27 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Um tiofeno protão obscurecido pelo sinal de $CDCl_3$ a ~7,26.

b) Ácido 4-isopropiltiofeno-2-carboxílico

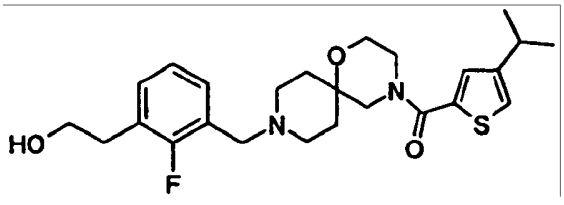


Foi cuidadosamente adicionada uma solução de 1-(4-isopropiltiofen-2-il)etanona (exemplo 74, passo a) (1 g) em 1,4-dioxano (10 mL) a uma solução de hidróxido de sódio (1,19 g)

em hipoclorito de sódio aquoso (8%, 50 mL) a 60 °C. A mistura resultante foi aquecida até 75 °C e agitada durante 1 h. A reacção foi deixada arrefecer e a fase aquosa lavada com DCM (50 mL). A fase aquosa foi tratada com solução aquosa de bissulfito de sódio (10%, 20 mL) e cuidadosamente acidificada com ácido clorídrico concentrado. A mistura resultante foi extraída com DCM (3 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar um óleo amarelo. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-95% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e seca sob alto vácuo para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,5 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,95 (s, 1H), 7,65 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,51 - 7,49 (m, 1H), 2,94 (septeto, J = 6,9 Hz, 1H), 1,20 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

c) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiofen-2-il)metanona



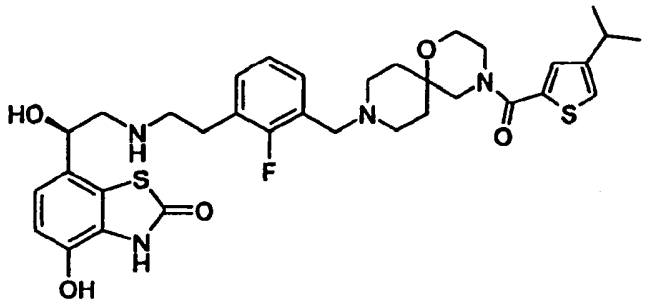
Foi adicionado hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,2 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 67, passo f) (0,13 g), ácido 4-isopropiltiofeno-2-carboxílico (exemplo 74, passo b) (0,07 g)

e trietilamina (0,23 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,23 g.

m/z 461 $(M+H)^+$(APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,3,0 - 7,14 (m, 4H), 7,05 - 7,00 (m, 1H), 4,35 (s, 1H), 3,68 - 3,58 (m, 6H), 3,51-3,47 (m, 2H), 2,98 - 2,92 (m, 1H), 2,75 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,70 (s, 2H), 2,41 - 2,34 (m, 4H), 1,75 - 1,68 (m, 2H), 1,56 - 1,47 (m, 2H), 1,21 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(4-isopropiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,031 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiofen-2-il)metanona (exemplo 74, passo c) (0,18 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,25 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,023 mL) e cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,13 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,025 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até

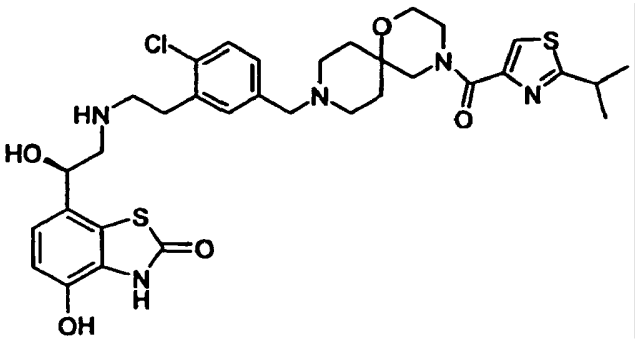
89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,13 g.

m/z 669 $(M+H)^+$ (APCI)

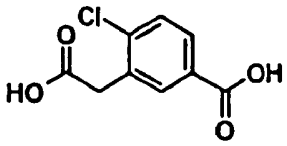
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 7,53 - 7,47 (m, 1H), 7,47 - 7,41 (m, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,25 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,93 (dd, J = 8,3, 4,7 Hz, 1H), 4,35 - 4,31 (m, 2H), 3,73 - 3,62 (m, 4H), 3,54 (s, 2H), 3,26 - 3,03 (m, 10H), 2,94 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 2,08 - 1,98 (m, 2H), 1,85 - 1,71 (m, 2H), 1,21 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 75

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



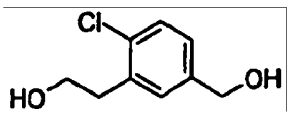
a) Ácido 3-(carboximetil)-4-clorobenzóico



Foi adicionado hidróxido de potássio (1,549 g) em água (15 mL) a uma suspensão de ácido 4-cloro-3-(cianometil)benzóico (2,07 g) em etanol (15 mL) e a solução resultante foi aquecida a refluxo durante 4 horas, em seguida deixada arrefecer. A mistura foi concentrada *in vacuo* para remover o etanol e em seguida diluída com água e lavada duas vezes com acetato de etilo. As fases orgânicas foram rejeitadas, enquanto a fase aquosa foi acidificada até pH 1 com ácido clorídrico concentrado e extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho pálido. Rendimento 2,06 g.

m/z 214 (M^+) (EI)

b) 2-(2-Cloro-5-(hidroximetil)fenil)etanol

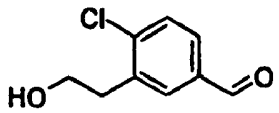


Foi adicionada, em porções ao longo de 3 minutos, uma solução de complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF,

12,0 mL) a uma suspensão de ácido 3-(carboximetil)-4-clorobenzóico (exemplo 75, passo a) (2,06 g) em THE seco (30 mL) à temperatura ambiente. A suspensão densa efervescente resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, em seguida aquecida a refluxo durante 1 hora. A mistura arrefecida foi desactivada pela adição de metanol em porções (10 mL) ao longo de 2 minutos. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos e em seguida concentrada sobre sílica e purificada por cromatografia flash sobre sílica eluído com 5% de metanol em diclorometano para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,983 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,35 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,18 (dd, J = 8,2, 2,1 Hz, 1H), 4,65 (s, 2H), 3,89 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,02 (t, J = 6,5 Hz, 2H). Dois protões permutáveis não observados.

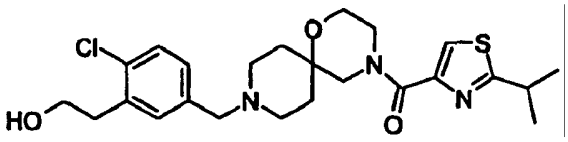
c) 4-Cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído



Foi adicionado dióxido de manganês (IV) (1,00 g) a uma solução de 2-(2-cloro-5-(hidroximetil)fenil)etanol (exemplo 75, passo b) (0,205 g) em DCM (10 mL), e a suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi então filtrada através de Celite, lavando bem a almofada do filtro com DCM. O filtrado e lavagens foram concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,159 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,97 (s, 1 M, 7,81 (d, J = 2,0, 1H), 7,70 (dd, J = 2,0, 8,2, 1H), 7,53 (t, J = 6,7, 1H), 3,94 (dd, J = 6,4, 11,6, 2H), 3,10 (t, J = 6,6, 21-1), 1,46 (t, J = 5,2, 1H).

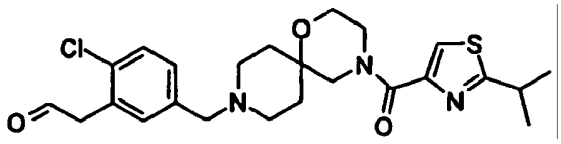
d) (9-(4-Cloro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,178 g) em NMP (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,032) mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 4-cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 75, passo c) (0,154 g) em NMP (3 mL), a solução resultante foi agitada durante 1 hora e foi então tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,181 g) e agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,404 g) e a mistura foi agitada durante mais 6 horas, em seguida vertida para bicarbonato de sódio saturado e extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram lavados três vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida secos sobre sulfato de magnésio anidro e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluída com trietilamina:metanol:diclorometano 1:2:97 para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma incolor. Rendimento 0,157 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 7,29 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,11 (dd, J = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 4,37 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,73 - 3,56 (m, 8H), 3,41 (s, 2H), 3,35 - 3,28 (m, 1H), 2,85 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,41 - 2,10 (m, 4H), 1,75 - 1,62 (m, 2H), 1,60 - 1,46 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,7 Hz, 6H).

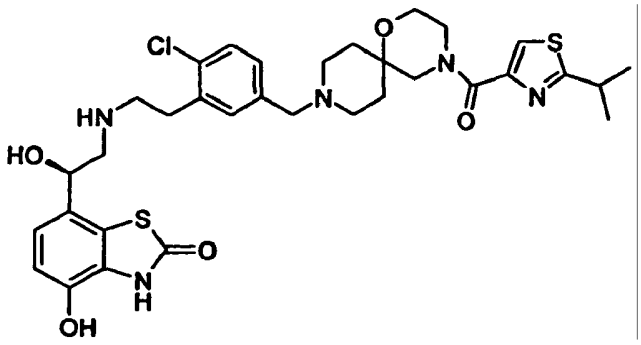
e) 2-(2-Cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Uma solução de (9-(4-cloro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 75, passo d) (0,152 g) em DCM (5 mL) foi arrefecida em gelo-água, tratada com ácido trifluoroacético (0,049 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,205 g), em seguida a mistura foi retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos. A solução foi diluída com solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 minutos. A mistura foi então extraída duas vezes com acetato de etilo, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com ácido acético (0,1 mL), secas sobre sulfato de magnésio anidro e concentradas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe em bruto como uma goma amarela. Rendimento 0,197 g.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI)

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,145 g) em metanol (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,024 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(2-cloro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5:5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 75, passo e) (0,197 g) em metanol (3 mL), e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 5 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,039 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 140 minutos, antes de ser tratada com mais cianoboro-hidreto de sódio (0,040 g). A mistura foi então agitada de um dia para o outro. Na manhã seguinte, a mistura foi desactivada com uma gota de água e a solução foi filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 15-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter

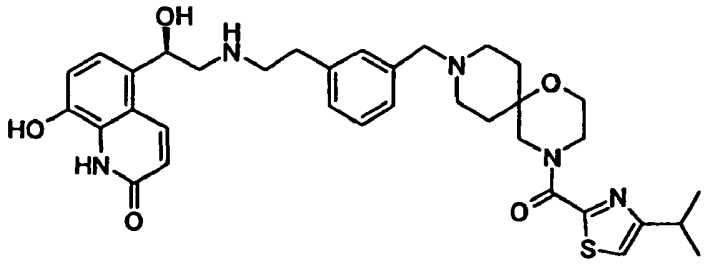
dietílico para dar um sólido, o qual foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,077 g.

m/z 686/688 $(M+H)^+$ (APCI)

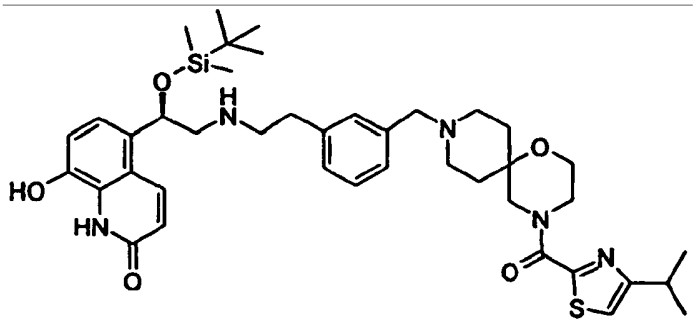
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,94 (s, 1H), 7,53 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,48 - 7,39 (m, 2H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,9 (dd, J = 8,5, 4,9 Hz, 1H), 4,22 (s, 2H), 3,75 - 3,60 (m, 6H), 3,52 - 2,96 (m, 11H), 2,09 - 1,90 (m, 2H), 1,83 - 1,62 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 76

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



a) (R)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

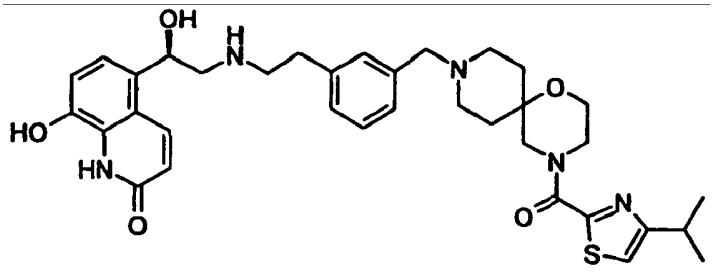


Uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(4-isopropiltiazol-2-il)metanona (exemplo 66, passo c) (0,195 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,034 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,242 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,025 mL) a esta solução e o solvente foi removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (191 mg) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,140 g) numa porção. A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi removido sob pressão

reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 9% de metanol em diclorometano com 1% de amónia aquosa "880" como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,133 g.

m/z 760 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,034 mL) em metanol (1 mL) a uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(4-isopropiltiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 76, passo a) (0,133 g) em THF (4 mL) e a mistura reaccional deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa

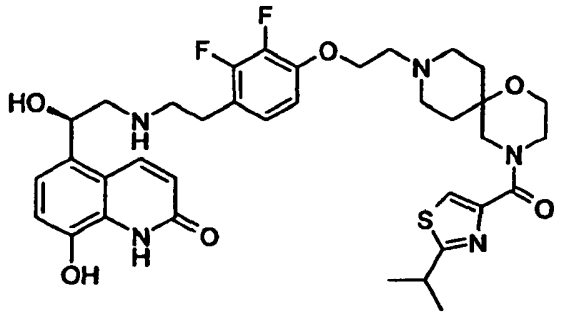
(Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,090 g.

m/z 646 $(M+H)^+$(APCI)

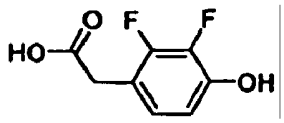
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,17 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,51 (s, 114), 7,44 - 7,33 (m, 4H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,38 - 5,33 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 3,78 - 3,74 (m, 2H), 4,13 - 3,47 (m, 4H), 3,28 (t, J = 8,2 Hz, 2H), 3,21 - 3,00 (m, 9H), 2,09 - 1,99 (m, 2H), 1,84 - 1,72 (m, 2H), 1,26 (d, J = 6,8 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 77

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2,3-difluoro-4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



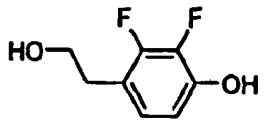
a) Ácido 2-(2,3-difluoro-4-hidroxifenil)acético



Foi adicionada, gota a gota, uma solução de tribrometo de boro (1 M em DCM, 13,4 mL) a uma suspensão de ácido 2-(2,3-difluoro-4-metoxifenil)acético (1,18 g) em DCM (5 mL) a -78 °C. A reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi arrefecida até -78 °C e foi adicionada uma solução de tribrometo de boro (1 M em DCM, 13,4 mL). A reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. A reacção foi vertida sobre gelo. A solução aquosa resultante foi extraída com DCM (5 x 50 mL). A fase aquosa foi então extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). As soluções orgânicas foram combinadas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido castanho-amarelado. Rendimento 1,09 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 12,43 (s, 1H), 10,24 (s, 1H), 6,91 (td, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 6,72 (td, J = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 3,54 (s, 2H).

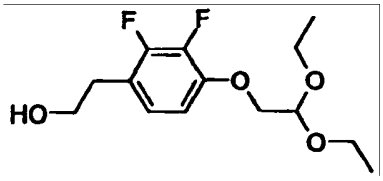
b) 2,3-Difluoro-4-(2-hidroxietil)fenol



Foi adicionada, gota a gota, uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 14,4 mL) a uma solução de ácido 2-(2,3-difluoro-4-hidroxifenil)acético (exemplo 77, passo a) (1,08 g) em tetra-hidrofurano (25 mL) a 0 °C e a mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada com metanol e quando o borbulhamento terminou o solvente evaporou. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 até acetato de etilo. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,95 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 10,08 (s, 1H), 6,87 (td, J = 8,3, 2,2 Hz, 1H), 6,69 (td, J = 8,4, 1,9 Hz, 1H), 4,68 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,58 - 3,49 (m, 2H), 2,66 (t, J = 7,0 Hz, 2H).

c) 2-(4-(2,2-Dietoxietoxi)-2,3-difluorofenil)etanol

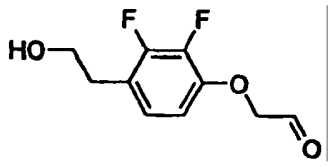


Foi adicionado carbonato de césio (0,99 g) a uma solução de 2,3-difluoro-4-(2-hidroxietil)fenol (exemplo 77, passo b)

(0,44 g) e 2-bromo-1,1-dietoxietano (0,4 mL) em DMF (10 mL). A suspensão resultante foi aquecida a 90 °C durante 18 h. A reacção foi deixada arrefecer e vertida para água (100 mL). A mistura aquosa foi extraída com éter dietílico (3 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (200 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (200 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas. O material em bruto foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano até acetato de etilo:iso-hexano 1:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,49 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,06 - 6,93 (m, 2H), 4,81 (t, J = 5,1 Hz, 1 H), 4,70 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,02 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 3,73 - 3,62 (m, 2H), 3,61 - 3,50 (m, 4H), 2,71 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 1,13 (t, J = 7,0 Hz, 6H).

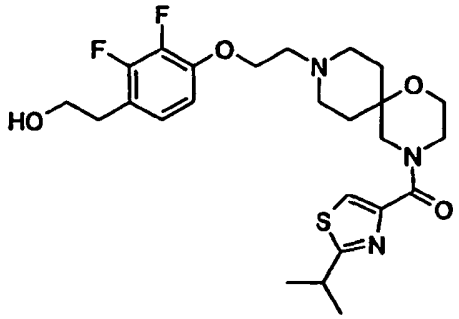
d) 2-(2,3-Difluoro-4-(2-hidroxietil)fenoxi)acetaldeído



Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (5 mL) a uma solução de 2-(4-(2,2-dietoxietoxi)-2,3-difluorofenil)etanol (exemplo 77, passo c) (0,49 g) em 1,4-dioxano (10 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 1 h. A mistura foi cuidadosamente diluída com água (50 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 50 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com

água (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados para dar o composto em subepígrafe, o qual foi directamente utilizado. Rendimento 0,31 g.

e) (9-(2-(2,3-Difluoro-4-(2-hidroxietil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



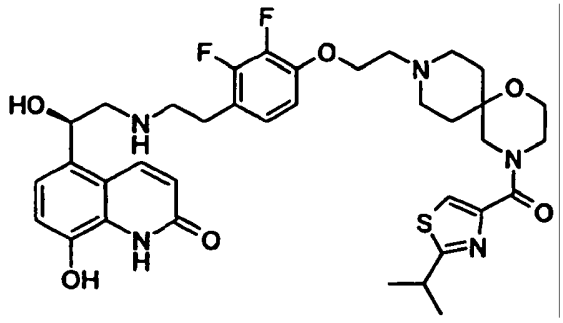
Foi adicionado trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,5 g) a uma solução de 2-(2,3-difluoro-4-(2-hidroxietil)fenoxi)acetaldeído (exemplo 77, passo d) (0,31 g) em *N*-metil-2-pirrolidinona (10 mL) e ácido acético (0,07 mL). A mistura resultante foi agitada durante 30 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,38 g) e a reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e água (100 mL). A fase aquosa foi basificada com solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água(100 mL) e

solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até 5% de trietilamina em acetato de etilo. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,41 g.

m/z 510 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,93 (s, 1H), 7,06 - 6,85 (m, 2H), 4,58 - 4,36 (m, 1H), 4,13 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 3,73 - 3,51 (m, 8H), 3,36 - 3,23 (m, 1H), 2,76 - 2,63 (m, 4H), 1,76 - 1,45 (m, 4H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H) + 4 protões obscurecidos pelo pico do DMSO.

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2,3-Difluoro-4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,03 mL) a uma solução de (9-(2-(2,3-difluoro-4-(2-hidroxietil)fenoxi)etil)-1-

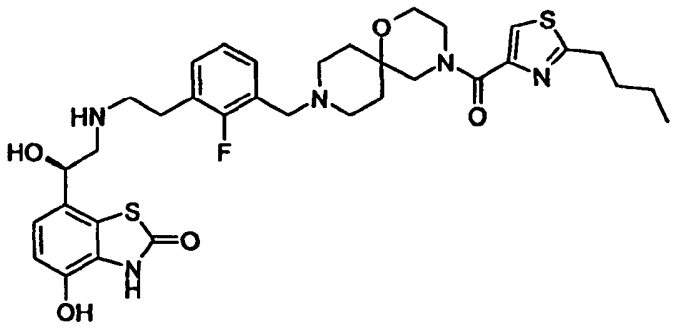
oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 77, passo e) (0,18 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A reacção foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,225 g). A mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a aquosa extraída com acetato de etilo (20 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificados com algumas gotas de ácido acético, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi redissolvido em metanol (5 mL), foram adicionados ácido acético (0,02 mL) e (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,12 g), a mistura foi agitada durante 5 min e arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,033 g), a reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia “880” 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas. O resíduo foi dissolvido em THF (5 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,17 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com tolueno. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e trituradas com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,11 g.

m/z 712 $(M+H)^+$(APCI)

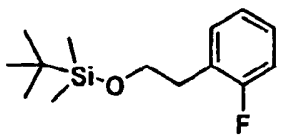
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,18 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,18 - 6,96 (m, 4H), 6,54 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,36 (dd, J = 8,7, 4,1 Hz, 1H), 4,50 - 4,42 (m, 2H), 3,76 - 3,65 (m, 6H), 3,62 - 3,54 (m, 2H), 3,44 - 2,98 (m, 11H), 2,12 - 2,01 (m, 2H), 1,90 - 1,75 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 78

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) *terc*-Butil(2-fluorofenetoxi)dimetilsilano

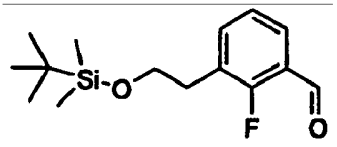


Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (6,45 g) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(2-fluorofenil)etanol

(5,00 g) e 1H-imidazole (7,29 g) em DMF seca (30 mL) arrefecida num banho de gelo. Após 45 min, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo, lavada três vezes com água e evaporada *in vacuo*. A goma resultante foi dissolvida em iso-hexano e aplicada a uma coluna de sílica gel eluindo com iso-hexano seguido de acetato de etilo:iso-hexano 1:3 para recolher o produto como um óleo. Rendimento 9,0 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) 8 7,28-7,18 (m, 2H), 7,13-7,00 (m, 2H), 3,84 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 0,89 (s, 9H), 0,008 (s, 6H).

b) 3-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzaldeído

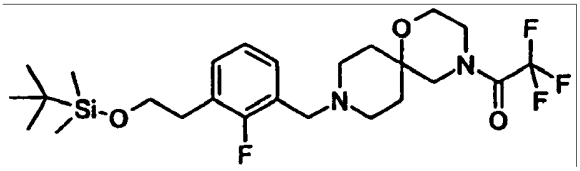


Foi adicionado, ao longo de 5 minutos, *terc*-butil(2-fluorofenetoxi)dimetilsilano (exemplo 78, passo a) (5,00 g) a uma solução, mantida sob agitação, de *sec*-butil-lítio (solução 1,4 molar em ciclo-hexano, 14,0 mL) e *N1*-(2-(dimetilamino)etil)-*N1,N2,N2*-trimetiletano-1,2-diamina (4,10 mL) em THF (25 mL) arrefecida até -78 °C. Após 2 h foi adicionada *N,N*-dimetilformamida (10,06 g), a mistura reaccional foi agitada a -78 °C durante 1 h, e em seguida o banho de arrefecimento foi retirado. Após mais 0,5 h, a reacção foi desactivada com água. Foi adicionado acetato de etilo (300 mL) e a mistura reaccional lavada com água (3 x 150 mL), HCl 2 M (2 x 50 mL), água (2 x 50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em

seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo. Rendimento 5,3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,40 (s, 1H), 7,76 (dt, J = 2,0 e 6,8 Hz, 1H), 7,54 (dt, J = 1,6 e 7,2 Hz, 1H), 7,21 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 3,88 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,95 (dt, J = 1,2 e 6,4 Hz, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,008 (s, 6H).

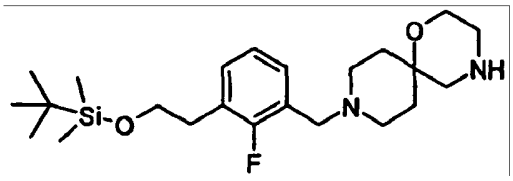
c) 1-(9-(3-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-2,2,2-trifluoroetanona



Foi adicionado 3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzaldeído (exemplo 78, passo b) (2,159 g) a uma solução, mantida sob agitação, de trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (2,80 g) e ácido acético (0,438 mL) em NMP (25 mL). Após 5 minutos foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (3,24 g). Após 16 h foi adicionada água e a mistura partilhada entre água (250 mL) e acetato de etilo (250 mL). A solução de acetato de etilo foi lavada com água (3 x 250 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida evaporada até à secura. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 20:1:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 2,5 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,27 - 7,20 (m, 1H), 7,20 - 7,13 (m, 1H), 7,08 - 7,01 (m, 1H), 3,84 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 3,80 - 3,77 (m, 2H), 3,71 - 3,67 (m, 1H), 3,64 - 3,58 (m, 3H), 3,56 (s, 1H), 3,41 (s, 1H), 2,90 (q, J = 6,4 Hz, 2H), 2,69 - 2,62 (m, 1H), 2,52 - 2,44 (m, 1H), 2,43 - 2,35 (m, 1H), 1,92 - 1,80 (m, 2H), 1,72 - 1,60 (m, 2H), 0,89 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

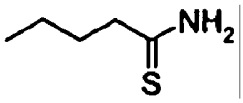
d) 9-(3-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano



Foi adicionado amónia aquosa "880" (3,0 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 1-(9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-2,2,2-trifluoroetanona (exemplo 78, passo c) (2,5 g) em MeOH (10 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi evaporada até à secura. Foi adicionado acetonitrilo, a solução foi evaporada até à secura *in vacuo*, e o processo repetido três vezes para dar o composto em subepígrafe como um óleo. Rendimento 2,07 g. Utilizado directamente.

m/z 423 $(M+H)^+$ (APCI)

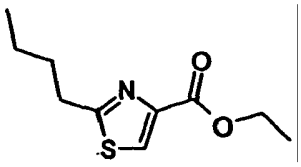
e) Pentanotioamida



Foi adicionado pentassulfureto de fósforo (5,56 g) a uma suspensão, mantida sob agitação, de pentanamida (10,0 g) em éter *terc*-butilmetílico (300 mL). Após 16 h, a mistura foi filtrada através de Celite e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 11,4 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 9,35-9,23 (s l, 1H), 9,15-9,05 (s l, 1H), 2,52-2,42 (m, 2H), 1,68-1,55 (m, 2H), 1,35-1,22 (m, 2H), 0,87 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

f) 2-Butiltiazole-4-carboxilato de etilo

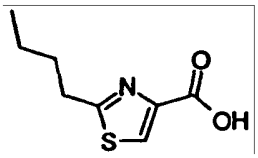


Foi adicionado, muito cuidadosamente, 3-bromo-2-oxo-propanoato de etilo (6,76 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de pentanotioamida (exemplo 78, passo e) (6,30 g) em etanol (100 mL). A solução foi então aquecida a refluxo durante 16 h. Depois de arrefecer, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo, lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo: iso-hexano 1:6

deu o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 6,5 g.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,05 (s, 1H), 4,42 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,02-3,05 (m, 2H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,50-1,38 (m, 5H), 0,95 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

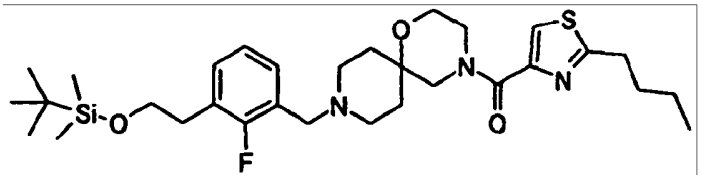
g) Ácido 2-butiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio (5,00 g) a uma mistura, mantida sob agitação, de 2-butiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 78, passo f) (6,50 g) em THF (80 mL) e água (20 mL). Após 16 h foi adicionado ácido clorídrico concentrado (10 mL) e a solução concentrada até ~40 mL. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada aquosa foi extraída três vezes com acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um sólido esbranquiçado. Rendimento 4,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,18 (s, 1H), 3,11-3,03 (m, 2H), 1,88-1,78 (m, 2H), 1,52-1,38 (m, 2H), 0,97 (t, J = 7,2 Hz, 3H). Um protão permutável não observado.

h) (9-(3-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-butiltiazol-4-il)metanona

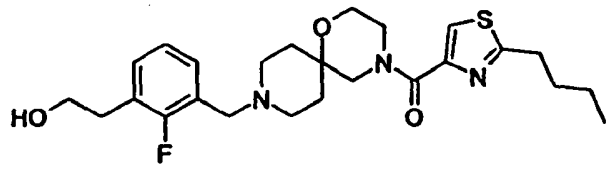


Foi adicionado hexafluorofosfato de 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-il)-1,1,3,3-tetrametilisourónio (V) (0,378 g) a uma solução, mantida sob agitação, de ácido 2-butiltiazole-4-carboxílico (exemplo 78, passo g) (0,193 g), 9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano (exemplo 78, passo d) (0,4 g) e trietilamina (0,383 g) em DMF (4 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada duas vezes com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 7:1:0,5 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,35 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,94 (s, 1H), 7,30 - 7,16 (m, 2H), 7,13 - 7,05 (m, 1H), 3,88 - 3,80 (m, 2H), 3,74 - 3,62 (m, 6H), 3,55 - 3,49 (m, 2H), 3,09 - 3,00 (m, 2H sob pico

da água), 2,87 - 2,79 (m, 2H), 2,49 - 2,32 (m, 4H), 1,84 - 1,68 (m, 4H), 1,62 - 1,51 (m, 2H), 1,50 - 1,39 (m, 2H), 0,97 (t, J = 7,9 Hz, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

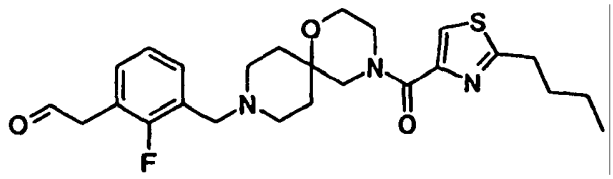
i) (2-Butiltiazol-4-il)(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado TBAF (solução 1 M em THF, 2,0 mL) a uma solução de (9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-butiltiazol-4-il)metanona (exemplo 78, passo h) (0,350 g) em THF (4 mL). Após 0,5 h, a solução foi concentrada. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo: trietilamina 10:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,24 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,88 (s, 1H), 7,22 - 7,13 (m, 2H), 7,03 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 4,35 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 3,68 - 3,56 (m, 12H), 3,48 (s, 2H), 3,00 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,44 - 2,28 (m, 4H), 1,78 - 1,65 (m, 2H), 1,45 - 1,33 (m, 2H), 0,91 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

j) 2-(3-((4-(2-Butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenil)acetaldeído



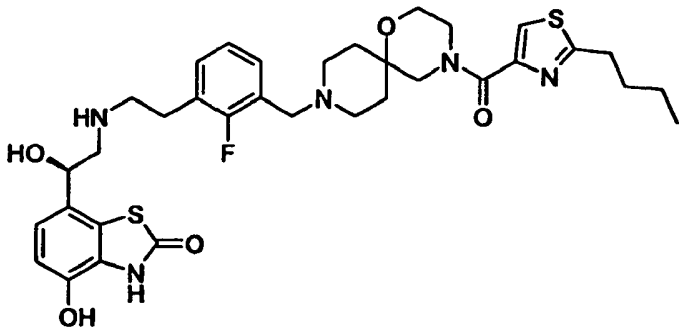
Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,278 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (2-butiltiazol-4-il)(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)metanona (exemplo 78, passo i) (0,240 g) e ácido trifluoroacético (0,058 mL) em DCM (5 mL). Após 1 h foi adicionado acetato de etilo (30 mL) seguido de uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL). A mistura reaccional foi bem agitada e separada. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,08 mL), a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* (temperatura do banho ~30 °C) para dar o composto em subepígrafe como uma goma.

Rendimento 0,24 g. Utilizado directamente.

m/z 474 $(M+H)^+$ (APCI)

k) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(2-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-

fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,044 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,200 g) e 2-(3-((4-(2-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenil)acetaldeído (exemplo 78, passo j) (0,240 g) em MeOH (10 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,064 g). Após 1,5 h, a mistura reaccional foi filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo (200 mL) e a solução foi evaporada *in vacuo* até uma goma. Este processo foi repetido duas vezes. Foi adicionado éter dietílico e o composto em epígrafe recolhido como um sólido. Rendimento 0,15 g.

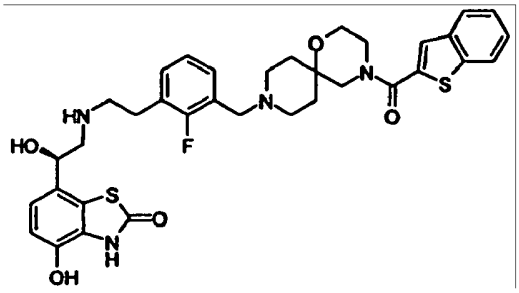
m/z 684 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,28 (s l, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,52 - 7,37 (m, 2H), 7,25 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,94 - 4,87 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,70 (s l, 6H), 3,63 (s, 2H), 3,28 - 2,92 (m, 10H), 2,06 - 1,94 (m, 2H), 1,82 - 1,66 (m, 4H), 1,43 - 1,31 (m,

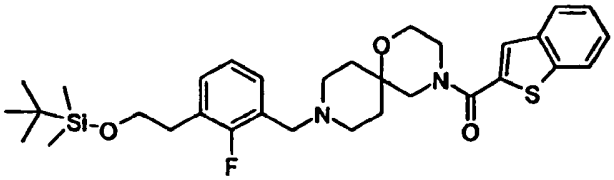
2H), 0,90 (t, J = 7,6 Hz, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 79

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(benzo[b]tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)*m*etil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Benzo[b]tiofen-2-il(9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

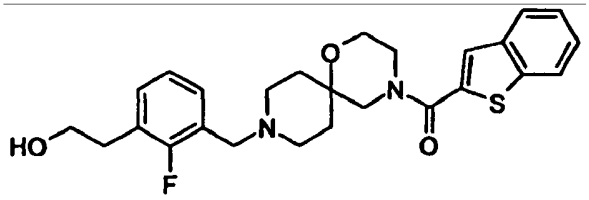


Foi adicionado hexafluorofosfato de 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-il)-1,1,3,3-tetrametilisourónio (V) (0,378 g) a uma solução, mantida sob agitação, de ácido benzo[b]tiofeno-2-carboxílico (0,186 g), 9-(3-(2-(*terc*-butil-dimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro-[5.5]undecano (exemplo 78, passo d) (0,40 g) e trietilamina (0,383 g) em DMF (4 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada duas vezes com água e uma

vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 7:1:0,5 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,38 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,14 - 8,08 (m, 1H), 8,05 - 7,99 (m, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,57 - 7,51 (m, 2H), 7,33 - 7,23 (m, 2H), 7,14 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 3,86 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 3,81 - 3,72 (m, 4H), 3,63 (s, 2H), 3,56 (s, 2H), 3,38 (s, 2H), 2,86 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,46 - 2,34 (m, 2H), 1,89 - 1,81 (m, 2H), 1,66 - 1,52 (m, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

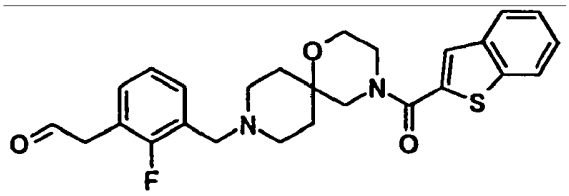
b) Benzo[b]tiofen-2-il(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado TBAF (solução 1 M em THF, 2 mL) a uma solução de benzo[b]tiofen-2-il(9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 79, passo a) (0,370 g) em THF (4 mL). Após 0,5 h, a solução foi concentrada. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina 10:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,26 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,99 - 7,95 (m, 1H), 7,93 - 7,88 (m, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,46 - 7,39 (m, 2H), 7,17 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 7,01 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 4,39 - 4,33 (m, 1H), 3,72 - 3,57 (m, 4H), 3,54 (s, 2H), 3,48 (s, 2H), 2,99 (s, 2H), 2,75 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,46 - 2,32 (m, 4H), 1,80 - 1,71 (m, 2H), 1,58 - 1,48 (m, 2H).

c) 2-(3-((4-(Benzo[b]tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenil)acetaldeído



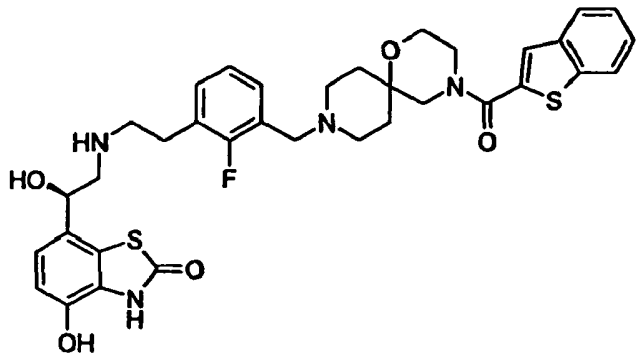
Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,282 g) a uma solução, mantida sob agitação, de benzo[b]tiofen-2-il(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)metanona (exemplo 79, passo b) (0,240 g) e ácido trifluoroacético (0,059 mL) em DCM (5 mL). Após 1 h foi adicionado acetato de etilo (30 mL) seguido de uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL). A mistura reaccional foi bem agitada e separada. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,08 mL), em seguida a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* (temperatura do

banho ~30 °C) para dar o composto em subepígrafe como uma goma.

Rendimento 0,24 g. Utilizado directamente.

m/z 467 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(benzo[b]tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,044 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,203 g) e 2-(3-((4-(benzo[b]tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenil)acetaldeído (exemplo 79, passo c) (0,240 g) em MeOH (10 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,081 g). Após 1,5 h, a mistura reaccional foi filtrada e purificada por HPLC

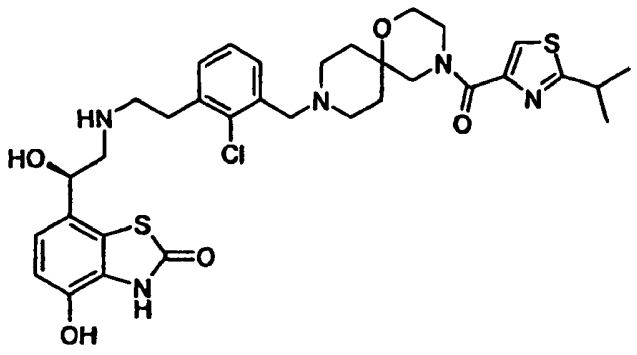
preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo (200 mL) e a solução foi evaporada *in vacuo* até uma goma. Este processo foi repetido duas vezes. Foi adicionado éter dietílico e o composto em epígrafe recolhido como um sólido. Rendimento 0,19 g.

m/z 677 $(M+H)^+$ (APCI)

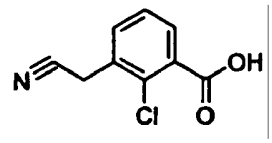
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,28 (s, 1H), 8,00 - 7,95 (m, 1H), 7,92 - 7,88 (m, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,50 - 7,38 (m, 4H), 7,25 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,90 (dd, J = 4,2 e 8,56 Hz, 1H), 4,35 - 4,19 (m, 2H), 3,76 - 3,68 (m, 4H), 3,59 (s, 2H), 3,27 - 2,99 (m, 10H), 2,09 - 1,99 (m, 2H), 1,82 - 1,70 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 80

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



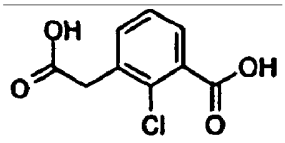
a) Ácido 2-cloro-3-(cianometil)benzóico



Uma solução de ácido 3-(bromometil)-2-clorobenzóico (6,39 g) em DMF (75 mL) foi tratada com uma solução de cianeto de potássio (3,34 g) em água (25 mL) e a solução resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi diluída com água e extraída duas vezes com acetato de etilo. As fases orgânicas foram rejeitadas, enquanto a fase aquosa foi cuidadosamente acidificada com ácido clorídrico concentrado (25 mL), deixando sair qualquer HCN libertado através de uma solução de lixívia via uma corrente de azoto. Depois de ter sido agitada durante 2 horas, a fase aquosa foi extraída mais duas vezes com acetato de etilo. As fases orgânicas combinadas foram lavadas três vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida secas sobre sulfato de magnésio anidro e concentradas *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um sólido castanho pálido. Rendimento 4,12 g.

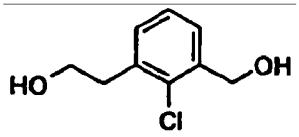
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,73 (dd, J = 7,7, 1,5 Hz, 1H), 7,69 (dd, J = 7,8, 1,7 Hz, 1H), 7,48 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 4,16 (s, 2H) + 1 protão permutável não observado.

b) Ácido 3-(carboximetil)-2-clorobenzóico



Foi adicionado hidróxido de potássio (2,976 g) em água (30 mL) a uma suspensão de ácido 2-cloro-3-(cianometil)benzóico (exemplo 80, passo a) (4,12 g) em etanol (30 mL) e a solução resultante foi aquecida a refluxo durante 2 horas, em seguida deixada arrefecer de um dia para o outro. A mistura foi concentrada *in vacuo* para remover o etanol e em seguida diluída com água e lavada duas vezes com acetato de etilo. As fases orgânicas foram rejeitadas, enquanto a fase aquosa foi acidificada até pH 1 com ácido clorídrico concentrado e extraída três vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um sólido amarelo. Rendimento 4,11 g. Utilizado directamente.

c) 2-(2-Cloro-3-(hidroximetil)fenil)etanol

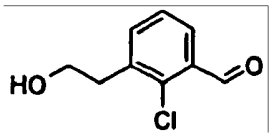


Foi adicionada, em porções ao longo de 5 minutos, uma solução de complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 20 mL) a uma suspensão de ácido 3-(carboximetil)-2-clorobenzóico (exemplo 80, passo b) (4,11 g) em THF seco (100 mL) à temperatura ambiente. A suspensão efervescente resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos, em seguida aquecida até refluxo durante 60 minutos, e deixada arrefecer até à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi desactivada pela adição de metanol em porções (15 mL) ao longo de 15 minutos. A mistura foi ainda diluída com metanol para dar

uma solução, o qual foi então concentrada *in vacuo* para dar um xarope. O xarope foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluída com 2% de metanol em diclorometano para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um sólido branco. Rendimento 1,44 g.

m/z 186 (M^+) (EI)

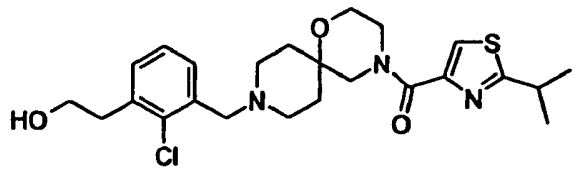
d) 2-Cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído



Foi adicionado dióxido de manganês (IV) (1,599 g) a uma solução de 2-(2-cloro-3-(hidroximetil)fenil)etanol (exemplo 80, passo c) (0,342 g) em DCM (20 mL) e a suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi então concentrada sobre sílica e purificada por cromatografia flash sobre sílica eluída com 25% de acetato de etilo em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido cristalino branco. Rendimento 0,223 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,54 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,83 (dd, J = 7,7, 1,5 Hz, 1H), 7,55 (dd, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H), 7,35 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,94 (dd, J = 11,0, 6,4 Hz, 2H), 3,11 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 1,46 (t, J = 4,9 Hz, 1H).

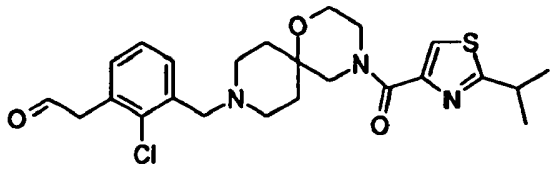
e) (9-(2-Cloro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,325 g) em NMP (3 mL) foi tratada com ácido acético (0,067 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldeído (exemplo 80, passo d) (0,217 g) em NMP (4 mL), a solução resultante foi agitada durante 1 hora e em seguida tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (1,025 g). A mistura foi agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente, em seguida vertida para bicarbonato de sódio saturado e extraída duas vezes com acetato de etilo. Os extractos combinados foram lavados três vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida secos sobre sulfato de magnésio anidro e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluída com trietilamina:metanol:diclorometano 1:2:97 para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma incolor. Rendimento 0,411 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,24 - 7,16 (m, 2H), 4,36 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,73 - 3,59 (m, 8H), 3,55 (s, 2H), 3,32 (septeto, J = 6,8 Hz, 1H), 2,89 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,46 - 2,40 (m, 1H), 2,40 - 2,28 (m, 1H), 2,17 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 1,91 (quinteto, J = 7,5 Hz, 1H), 1,77 - 1,65 (m, 2H), 1,62 - 1,50 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

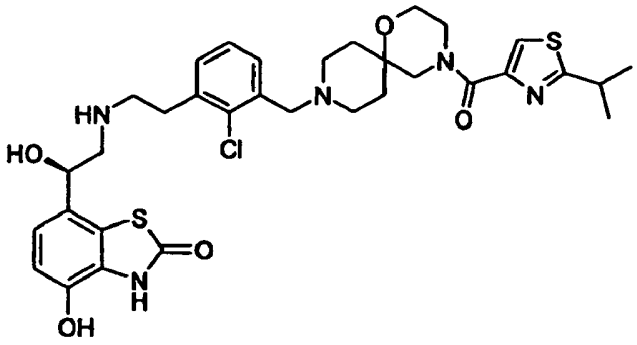
f) 2-(2-Cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



Uma solução de (9-(2-cloro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 80, passo e) (0,386 g) em DCM (5 mL) foi arrefecida em gelo-água, tratada com ácido trifluoroacético (0,125 mL) e agitada durante 5 minutos. Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,519 g), em seguida a mistura foi retirada do banho de arrefecimento e agitada à temperatura ambiente durante 35 minutos. A solução foi diluída com solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 minutos. A mistura foi então extraída duas vezes com acetato de etilo, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, acidificadas com ácido acético (0,1 mL), secas sobre sulfato de magnésio anidro e concentradas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe em bruto como uma goma amarela pálida. Rendimento 0,494 g.

m/z 476 $(M+H)^+$ (APCI)

g) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,181 g) em metanol (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,030 mL) e agitada durante 10 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 80, passo f) (0,247 g) em metanol (3 mL), e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 10 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,102 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. No dia seguinte foi adicionado mais cianoboro-hidreto de sódio (0,099 g) e a mistura foi agitada durante mais 4 horas. A solução foi desactivada pela adição de uma gota de água, filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para

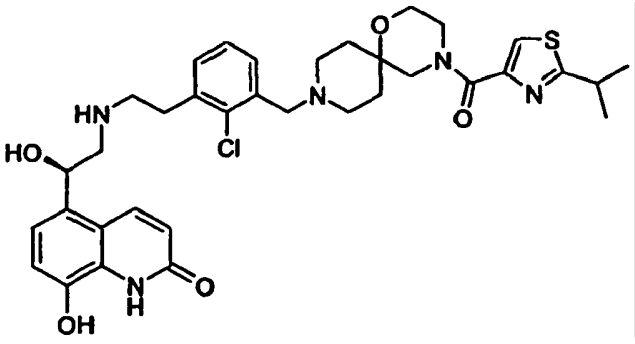
dar um sólido, o qual foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,053 g.

m/z 686/688 $(M+H)^+$ (APCI)

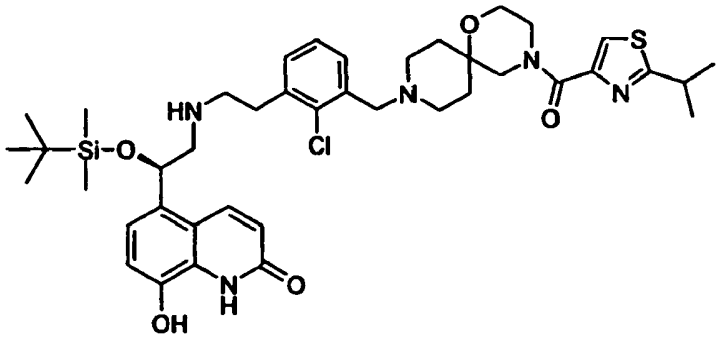
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) β 11,68 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 8,91 (d l, J = 26,7 Hz, 2H), 8,03 (s, 1H), 7,68 - 7,56 (m, 1H), 7,54 - 7,40 (m, 2H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,56 - 6,43 (m, 1H), 4,91 (d l, J = 8,5 Hz, 1H), 4,57 - 4,43 (m, 2H), 3,90 - 3,42 (m, 6H), 3,38 - 3,25 (m, 4H), 3,24 - 3,02 (m, 7H), 2,08 (d l, J = 13,3 Hz, 2H), 1,92 - 1,54 (m, 2H), 1,34 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

Exemplo 81

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



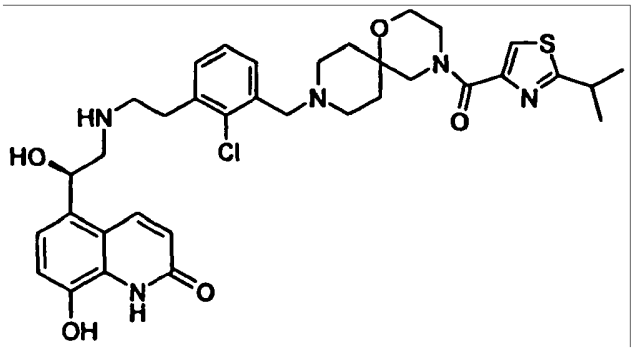
a) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetil-sililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,261 g) em metanol (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,030 mL) e agitada durante 10 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-acetaldeído (exemplo 80, passo f) (0,247 g) em metanol (3 mL), e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 10 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,102 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foi adicionado mais cianoboro-hidreto de sódio (0,101 g) e a mistura foi agitada uma segunda vez de um dia para o outro. A solução foi então concentrada sobre sílica flash *in vacuo* e o pó resultante foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluída com trietilamina:metanol:diclorometano 1:3:96 até 1:5:94 para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,130 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,40 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,48 (dd, J = 7,3, 2,1 Hz, 1H), 7,38 - 7,30 (m, 2H), 7,17 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,65 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 5,26 (dd, J = 7,6, 5,0 Hz, 1H), 3,91 - 3,78 (m, 6H), 3,72 (s, 2H), 3,55 - 3,46 (m, 1H), 3,10 - 3,03 (m, 1H), 2,99 (s, 4H), 2,93 - 2,86 (m, 1H), 2,68 - 2,47 (m, 4H), 1,94 - 1,84 (m, 2H), 1,80 - 1,68 (m, 2H), 1,55 (d, J = 7,0 Hz, 6H), 0,99 (s, 9H), 0,18 (d, J = 4,6 Hz, 6H). Três protões permutáveis não observados.

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 81, passo a) (0,124 g) e trifluoridrato de trietilamina (0,05 mL) em THF (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (4 mL) e a solução resultante foi filtrada e purificada por HPLC

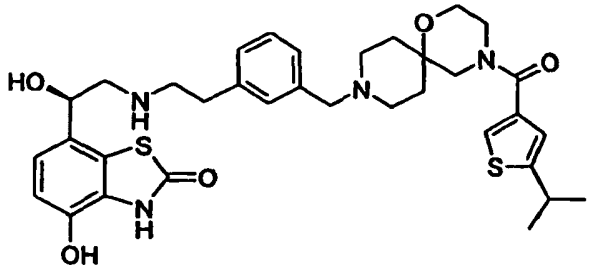
preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um pó branco. Rendimento 0,076 g.

m/z 680/682 $(M+H)^+$ (APCI)

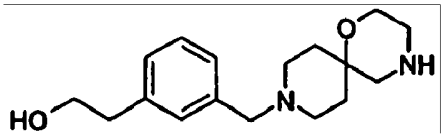
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,17 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,55 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,47 - 7,34 (m, 2H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6:55 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,34 (dd, J = 9,1, 4,0 Hz, 1H), 4,33 - 4,09 (m l, 2H), 3,77 - 3,60 (m, 6H), 3,44 - 2,87 (m, 11H), 2,02 - 1,87 (m, 2H), 1,81 - 1,65 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 82

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(3-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenil)etanol

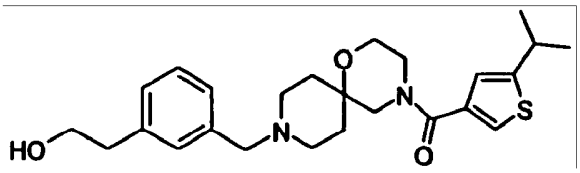


Foi adicionada solução de amónia "880" (5 mL) a uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo e) (2,02 g) em metanol (25 mL). A mistura resultante foi agitada durante 90 min e o solvente evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1,44 g.

m/z 291 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,18 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,13 - 7,02 (m, 3H), 4,34 (s, 1H), 3,61 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,51 - 3,45 (m, 2H), 3,41 (s, 2H), 2,71 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,62 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 2,52 (s, 2H), 2,42 - 2,23 (m, 4H), 1,82 - 1,72 (m, 2H), 1,53 - 1,38 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

b) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona

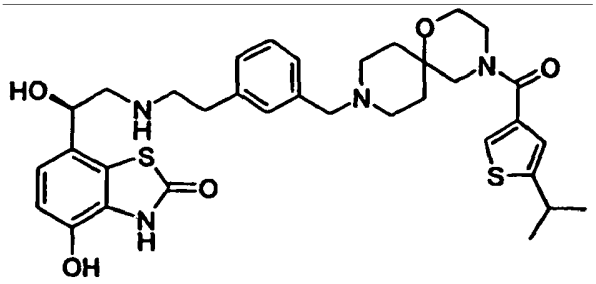


Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametilurónio (0,55 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenil)etanol (exemplo 82, passo a) (0,32 g), ácido 5-isopropiltiofeno-3-carboxílico (0,19 g) e trietilamina (0,61 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o

composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,4 g.

m/z 443 $(M+H)^+$ (APCI)

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,035 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro-[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona (exemplo 82, passo b) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,29 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi

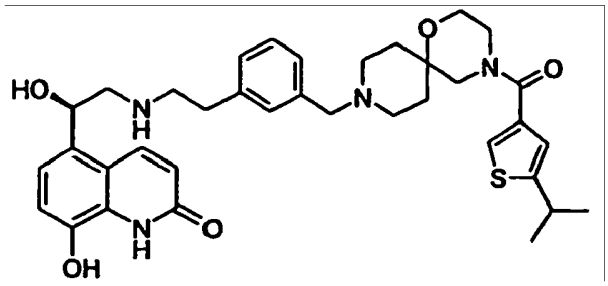
dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,026 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,14 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,043 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,07 g.

m/z 651 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,50 - 7,32 (m, 5H), 6,96 - 6,88 (m, 2H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,98 - 4,88 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 3,72 - 3,63 (m, 2H), 3,59 - 3,34 (m, 4H), 3,29 - 2,97 (m, 11H), 2,11 - 1,93 (m, 2H), 1,86 - 1,68 (m, 2H), 1,28 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 83

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado TFA (0,04 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona (exemplo 82, passo b) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A reacção foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,29 g). A mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foram adicionadas solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a aquosa extraída com acetato de etilo (20 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificados com algumas gotas de ácido acético, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi redissolvido em metanol (5 mL), foram adicionados ácido acético (0,03 mL) e (R)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,15 g), em seguida a mistura foi agitada durante 5 min e arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio

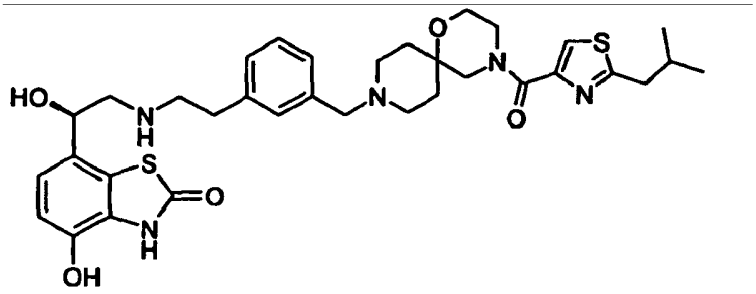
(0,043 g), a reacção foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas. O resíduo foi dissolvido em THF (5 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,22 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com tolueno. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e trituradas com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,06 g.

m/z 645 $(M+H)^+$ (APCI)

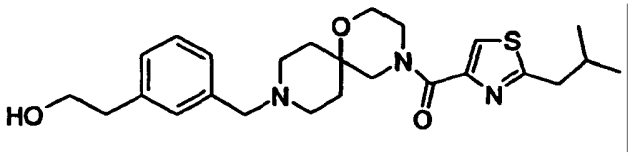
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,17 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,45 - 7,33 (m, 4H), 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,54 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,36 (dd, J = 8,5, 4,1 Hz, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,72 - 3,63 (m, 2H), 3,57 - 3,38 (m, 4H), 3,28 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,22 - 2,98 (m, 9H), 2,10 - 1,95 (m, 2H), 1,81 - 1,62 (m, 2H), 1,28 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 84

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-isobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isobutiltiazol-4-il)metanona



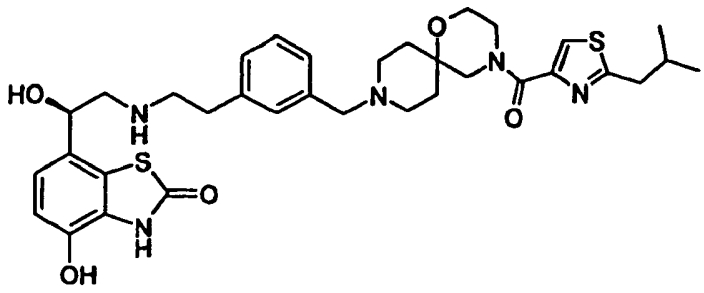
Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,34 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenil)etanol (exemplo 82, passo a) (02 g), ácido 2-isobutiltiazole-4-carboxílico (0,13 g) e trietilamina (0,38 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com

gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,2 g.

m/z 458 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,99 (s, 1H), 7,26 - 7,03 (m, 4H), 4,60 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,72 - 3,50 (m, 8H), 3,46 - 3,34 (m, 2H), 2,94 - 2,84 (m, 2H), 2,71 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,43 - 2,01 (m, 5H), 1,74 - 1,37 (m, 4H), 1,01 - 0,90 (m, 6H)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-isobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,032 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isobutiltiazol-4-il)metanona (exemplo 84, passo a) (0,19 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura

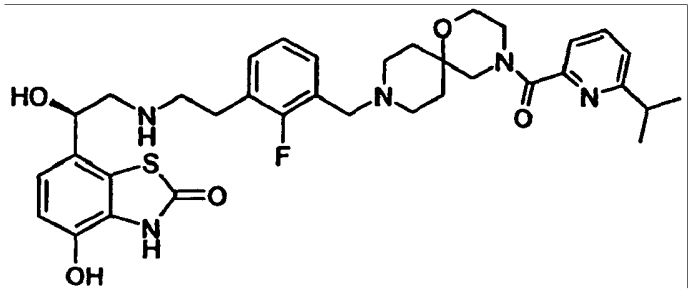
foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,26 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,024 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,11 g) e a mistura foi agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,04 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,1 g.

m/z 666 $(M+H)^+$ (APCI)

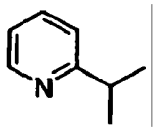
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,44 - 7,33 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,92 (dd, J = 7,9, 5,1 Hz, 1H), 4,34 - 4,21 (m, 2H), 3,73 - 3,60 (m, 6H), 3,28 - 2,96 (m, 10H), 2,88 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 2,11 - 1,95 (m, 3H), 1,84 - 1,64 (m, 2H), 0,95 (d, J = 6,7 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 85

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(6-isopropilpicolinoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-Isopropilpiridina



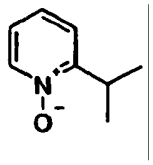
Foi adicionada, gota a gota ao longo de 20 min, uma solução de butil-lítio (1,6 M em hexanos, 50 mL) a uma solução de 2-etilpiridina (9,34 mL) em tetra-hidrofurano (50 mL) a -70 °C. A mistura foi agitada durante 2 h, em seguida foi adicionado

iodeto de metilo (5 mL) gota a gota ao longo de 15 min. A suspensão laranja espessa resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo diluído com éter dietílico (100 mL). A camada orgânica foi lavada com água (2 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 9,1 g.

m/z 122 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,56 - 8,52 (m, 1H), 7,60 (td, J = 7,7, 2,1 Hz, 1H), 7,19 - 7,15 (m, 1H), 7,09 (ddd, J = 7,4, 4,9, 1,2 Hz, 1H), 3,06 (septeto, J = 6,9 Hz, 1H), 1,31 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

b) 1-Óxido de 2-isopropilpiridina



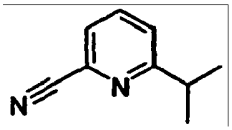
Foi adicionado MCPBA (22,0 g) a uma solução de 2-isopropilpiridina (exemplo 85, passo a) (9,1 g) em DCM (250 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 3 h. A mistura reaccional foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (4 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de acetato de etilo até

10% de metanol em acetato de etilo. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 3,9 g.

m/z 138 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,23 (dd, J = 6,2, 1,5 Hz, 1H), 7,41 (dd, J = 7,7, 2,3 Hz, 1H), 7,35 - 7,24 (m, 2H), 3,56 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,20 (d, J = 7 Hz, 6H).

c) 6-Isopropilpicolinonitrilo

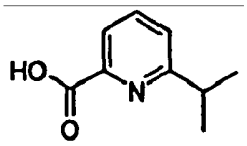


Foi adicionado cianeto de trimetilsililo (1,53 mL) a uma solução de 1-óxido de 2-isopropilpiridina (exemplo 85, passo b) (1,3 g) em DCM (40 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 5 min. Foi adicionado cloreto de dietilcarbamoílo (1,2 mL) e a mistura agitada durante 3 dias. Foi adicionada uma solução aquosa de carbonato de potássio (10%, 40 mL) e a mistura agitada durante 10 min. As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com DCM (2 x 40 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (40 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 3:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1,23 g.

m/z 147 $(M+H)^+$(APCI)

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,74 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 7,6, 0,9 Hz, 1H), 7,39 (dd, J = 8,1, 0,9 Hz, 1H), 3,11 (septeto, J = 6,7 Hz, 1H), 1,31 (d, J = 6,7 Hz, 6H).

d) Ácido 6-isopropilpicolínico

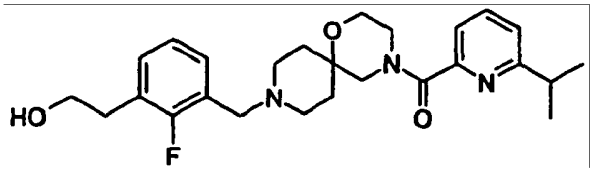


Foi adicionado ácido clorídrico concentrado (15 mL) a uma solução de 6-isopropilpicolinonitrilo (exemplo 85, passo c) (1,23 g) em metanol (30 mL). A mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 17 h e deixada arrefecer até à TA. A mistura foi cuidadosamente vertida para solução de hidróxido de sódio (10 M, 50 mL) e agitada à TA de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e o pH ajustado a 5 utilizando solução de HCl 2 M. A mistura aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 100 mL). As soluções orgânicas foram combinadas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,94 g.

m/z 166 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,89 - 7,81 (m, 2H), 7,48 (dd, J = 7,2, 1,3 Hz, 1H), 3,05 (septeto, J = 6,9 Hz, 1 H), 1,22 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

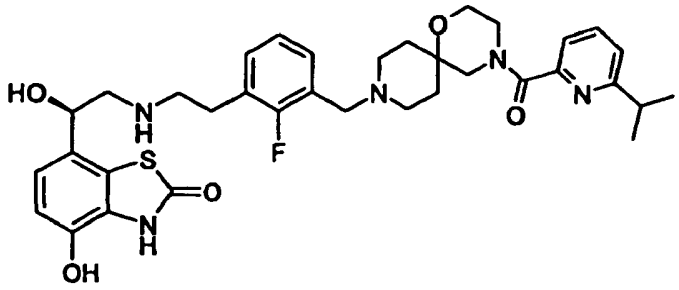
e) (9-(2-Fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(6-isopropilpiridin-2-il)metanona



Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,20 g) a uma solução de 9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano (exemplo 78, passo d) (0,17 g), ácido 6-isopropilpicolínico (exemplo 85, passo d) (0,07 g) e trietilamina (0,22 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL). A fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. O resíduo foi dissolvido em THF (10 mL) e foi adicionada uma solução de TBAF em THF (1 M, 0,8 mL). A mistura resultante foi agitada durante 2 h e o solvente evaporado. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (50 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,2 g.

m/z 456 $(M+H)^+$ (APCI)

f) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-fluoro-3-((4-(6-isopropilpicolinoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,034 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(6-isopropilpiridin-2-il)metanona (exemplo 85, passo e) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,28 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,025 mL) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,12 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho

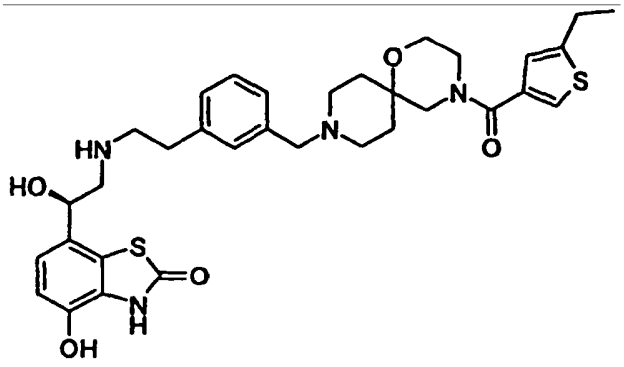
de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,04 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,057 g.

m/z 664 $(M+H)^+$ (APCI)

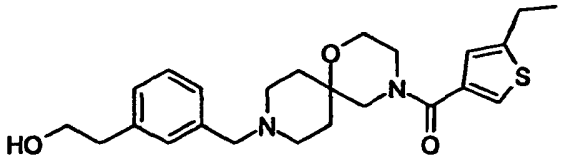
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,81 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,54 - 7,21 (m, 5H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,97 - 4,82 (m, 1H), 4,40 - 4,25 (m, 2H), 3,77 - 3,47 (m, 6H), 3,29 - 2,99 (m, 11H), 2,11 - 1,62 (m, 4H), 1,24 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 86

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (5-Etiltiofen-3-il)(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

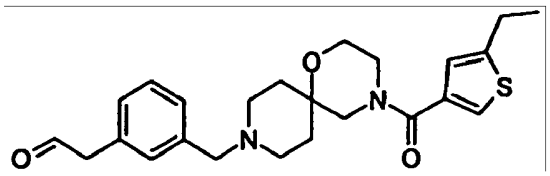


Foi adicionado HATU (0,209 g) a uma solução, mantida sob agitação, de ácido 5-etiltiofeno-3-carboxílico (0,086 g), 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenil)etanol (exemplo 82, passo a) (0,160 g) e trietilamina (0,3 mL) em DMF (2 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo (25 mL) e lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 25 mL). A camada de acetato de etilo foi evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel

eluindo com acetato de etilo:trietilamina 10:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,18 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,52 (s, 1H), 7,20 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,13 - 7,05 (m, 3H), 6,90 (s, 1H), 4,60 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,64 - 3,55 (m, 4H), 3,53 - 3,46 (m, 2H), 3,31 (s, 4H), 2,81 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 2,74 - 2,66 (m, 2H), 2,37 - 2,23 (m, 4H), 1,75 - 1,65 (m, 2H), 1,56 - 1,35 (m, 2H), 1,24 (t, J = 7,7 Hz, 3H).

b) 2-(3-((4-(5-Etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metilfenil)acetaldeído

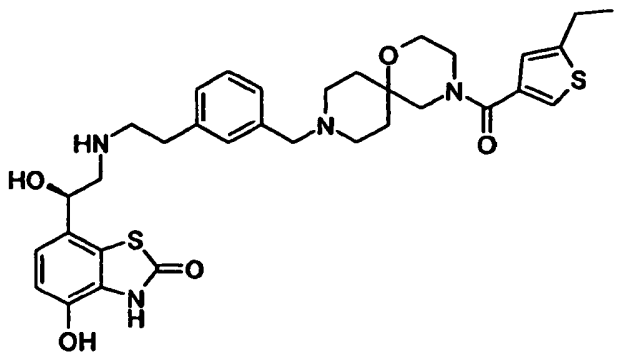


Foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,232 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (5-etiltiofen-3-il)(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 86, passo a) (0,180 g) e ácido trifluoroacético (0,042 mL) em DCM (5 mL). Após 1 h foi adicionado acetato de etilo (30 mL) seguido de uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL). A mistura reaccional foi bem agitada e separada. A solução de acetato de etilo foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,08 mL), a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* (temperatura do banho

~30 °C) para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,17 g. Utilizado directamente.

m/z 427 $(M+H)^+$ (APCI)

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,036 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,166 g) e 2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (exemplo 86, passo b) (0,180 g) em metanol (8 mL). Após 1 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,080 g). Após 1,5 h, a mistura reaccional foi filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%. As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo (200 mL) e a solução foi evaporada *in vacuo* para dar uma goma. Este processo foi repetido duas

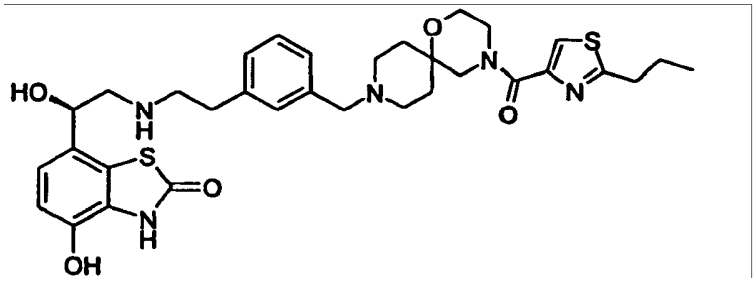
vezes. Foi adicionado éter dietílico e o composto em epígrafe recolhido como um sólido branco. Rendimento 0,13 g.

m/z 637 $(M+H)^+$ (APCI)

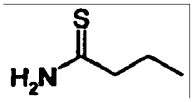
RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,37 (s, 1H), 7,51 - 7,30 (m, 5H), 6,93 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,91 - 6,86 (m, 1H), 4,94 - 4,86 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,71 - 3,31 (m, 8H), 3,29 - 2,93 (m, 8H), 2,81 (q, J = 7,9 Hz, 2H), 2,15 - 1,91 (m, 2H), 1,75 - 1,51 (m, 2H), 1,25 (t, J = 7,6 Hz, 3H). 5 protões permutáveis não observados.

Exemplo 87

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-propiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Butanotioamida

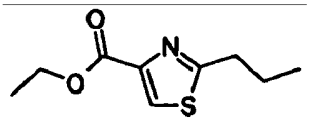


Foi adicionado pentassulfureto de fósforo (3 g) a uma suspensão de butiramida (5 g) em MTBE (300 mL) e a mistura

resultante foi agitada durante 3 h. A reacção foi filtrada através de Celite e a almofada do filtro lavada com MTBE (100 mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 5,2 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9,32 (s, 1H), 9,12 (s, 1H), 2,43 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,72 - 1,59 (m, 2H), 0,86 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

b) 2-Propiltiazole-4-carboxilato de etilo

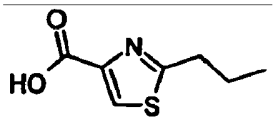


Foi adicionado 3-bromo-2-oxopropanoato de etilo (6,32 mL) a uma solução de butanotioamida (exemplo 87, passo a) (5,2 g) em etanol (100 mL) e a mistura resultante aquecida a refluxo de um dia para o outro. O solvente foi evaporado e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (100 mL) e solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (100 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL) seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano:acetato de etilo 10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 5,24 g.

m/z 200 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,05 (s, 1H), 4,42 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,04 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 1,89 - 1,78 (m, 2H), 1,40 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,02 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

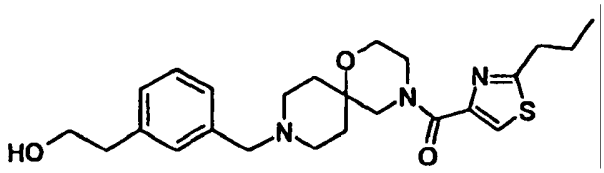
c) Ácido 2-propiltiazole-4-carboxílico



Foi adicionado hidróxido de lítio mono-hidratado (4,4 g) a uma solução de 2-propiltiazole-4-carboxilato de etilo (exemplo 87, passo b) (5,24 g) numa mistura de THF (80 mL) e água (20 mL). A mistura resultante foi agitada de um dia para o outro. A reacção foi acidificada com ácido clorídrico concentrado e os voláteis evaporados. A mistura aquosa resultante foi saturada com cloreto de sódio e extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 2,5 g.

RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12,91 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 2,97 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,81 - 1,67 (m, 2H), 0,95 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

d) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-propiltiazol-4-il)metanona



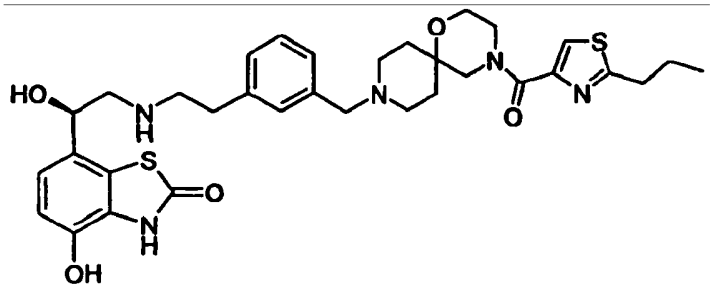
Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*-tetrametilurónio (0,24 g) a uma solução de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)fenil)etanol (exemplo 82, passo a) (0,14 g), ácido 2-propiltiazole-4-carboxílico (exemplo 87, passo c) (0,084 g) e trietilamina (0,27 mL) em DMF (7 mL) a 0 °C. A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e foi agitada durante 2 h. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), a fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 100 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5. As fracções contendo o produto foram combinadas, foi adicionado tolueno (200 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida para dar o composto em subepígrafe como uma goma transparente. Rendimento 0,14 g.

m/z 444 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 7,18 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,12 - 7,04 (m, 3H), 4,37 - 4,30 (m, 1H), 3,69 - 3,57 (m, 8H), 3,41 (s, 2H), 2,98 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,71 (t,

J = 7,1 Hz, 2H), 2,40 - 2,23 (m, 4H), 1,82 - 1,64 (m, 4H), 1,59 - 1,46 (m, 2H), 0,97 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-propiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado TFA (0,023 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-propiltiazol-4-il)metanona (exemplo 87, passo d) (0,13 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,19 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,017 mL)

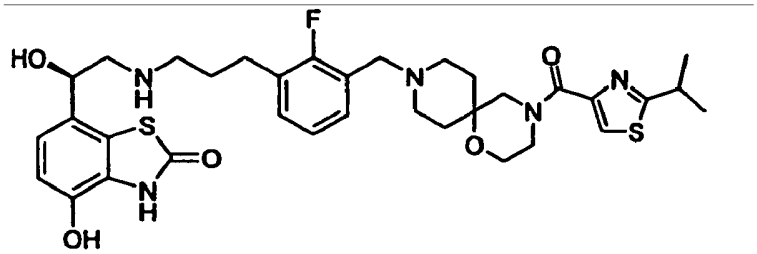
e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,077 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,028 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in* vacuo. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,09 g.

m/z 652 $(M+H)^+$ (APCI)

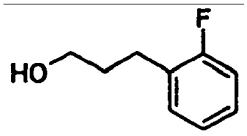
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,29 (s, 1H), 7,96 - 7,92 (m, 1H), 7,46 - 7,32 (m, 4H), 6,98 - 6,92 (m, 1H), 6,81 - 6,75 (m, 1H), 4,98 - 4,90 (m, 1H), 4,34 - 4,27 (m, 2H), 3,76 - 3,62 (m, 6H), 3,30 - 2,94 (m, 12H), 2,08 - 1,98 (m, 2H), 1,85 - 1,70 (m, 4H), 1,01 - 0,92 (m, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 88

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)propilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



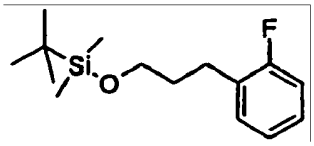
a) 3-(2-Fluorofenil)propan-1-ol



Foi adicionada, gota a gota, uma solução de complexo de borano-sulfureto de dimetilo (2 M em THF, 27,6 mL) a uma solução de ácido 3-(2-fluorofenil)propanóico (3,09 g) em tetra-hidrofurano (25 mL) e a mistura resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada com metanol e, quando o borbulhamento terminou, é evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 a 1:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente: Rendimento 2,72 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,24 - 7,13 (m, 2H), 7,09 - 6,97 (m, 2H), 3,67 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,74 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,95 - 1,83 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

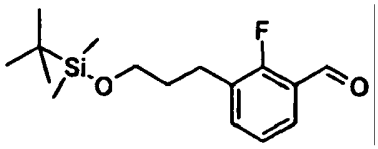
b) *terc*-Butil(3-(2-fluorofenil)propoxi)dimetilsilano



Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (3,19 g) a uma solução de imidazole (3,6 g) e 3-(2-tluorofenil)propan-1-ol (exemplo 88, passo a) (2,72 g) em DMF seca (30 mL) arrefecida num banho de gelo. Após 45 min, a mistura reaccional foi diluída com acetato de etilo (100 mL), lavada com água (3 x 100 mL) e evaporada. A goma resultante foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com iso-hexano. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 4,4 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,23 - 7,09 (m, 2H), 7,09 - 6,94 (m, 2H), 3,64 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,75 - 2,66 (m, 2H), 1,89 - 1,76 (m, 2H), 0,91 (s, 9H), 0,05 (s, 6H).

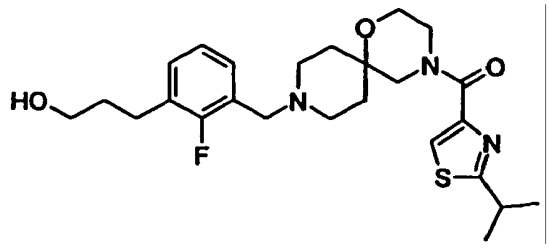
c) 3-(3-(*terc*-Butildimetilsililoxi)propil)-2-fluorobenzaldeído



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 5 min, *terc*-butil(3-(2-fluorofenil)propoxi)dimetilsilano (exemplo 88, passo b) (4,4 g) a uma solução de *sec*-butil-lítio (1,4 M em ciclo-hexano, 11,7 mL) e 1,1,4,7,7-pentametildietilenotriamina (3,4 mL) em THF (25 mL) a -78 °C. A mistura resultante foi agitada durante 2 h, em seguida foi cuidadosamente adicionado DMF (6,4 mL) e a mistura resultante deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada com água (100 mL) e em seguida foi adicionado acetato de etilo (250 mL). As fases foram separadas e a fase orgânica lavada com água (2 x 100 mL), solução de HCl 2 M (2 x 50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), em seguida secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano até 10% de éter em iso-hexano. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,38 (s, 1H), 7,73 - 7,67 (m, 1H), 7,48 (td, J = 7,4, 1,8 Hz, 1H), 7,18 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 3,66 (1 J = 6,0 Hz, 2H), 2,82 - 2,75 (m, 2H), 1,90 1,80 (m, 2H), 0,91 (s, 9H), 0,06 (s, 6H).

d) (9-(2-Fluoro-3-(3-hidroxipropil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

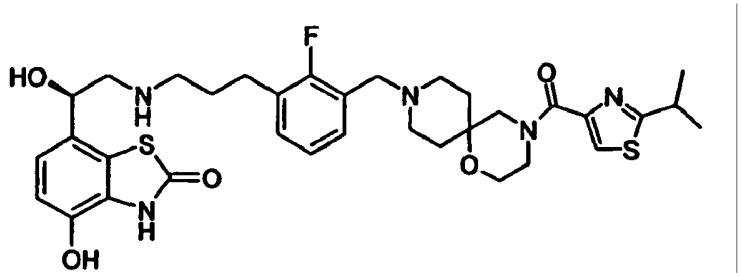


Foi adicionado 3-(3-(*terc*-butildimetilsililoxi)propil)-2-fluorobenzaldeído (exemplo 88, passo c) (0,15 g) a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,19 g) e ácido acético (0,03 mL) em *N*-metil-2-pirrolidinona (10 mL). A mistura resultante foi agitada durante 15 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,16 g) e a mistura agitada de um dia para o outro. A reacção foi vertida para uma mistura de solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio (20 mL) e água (100 mL). A aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com água (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi redissolvido em THF (10 mL) e foi adicionada uma solução de TBAF (1 M em THF, 1,52 mL). A mistura resultante foi agitada durante 2 h e o solvente evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com gradiente de iso-hexano:acetato de etilo 4:1 + 5% de trietilamina até acetato de etilo + 5% de trietilamina. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,22 g.

m/z 476 $(M+H)^+$(APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,99 (s, 1H), 7,24 - 7,12 (m, 2H), 7,08 - 7,01 (m, 1H), 4,48 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,74 - 3,38 (m, 10H), 2,62 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,46 - 2,13 (m, 4H), 1,74-1,44 (m, 6H), 1,35 (d, J = 6,4 Hz, 6H). Um protão obscurecido pelo pico da água.

e) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metilfenil)propilamino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,032 mL) a uma solução de (9-(2-fluoro-3-(3-hidroxipropil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 88, passo d) (0,2 g) em DCM (5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,27 g). A solução amarela resultante foi deixada aquecer até à TA e agitada durante 1 h. Foi então adicionada uma mistura de solução saturada de tiossulfato de sódio (5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (5 mL) e acetato de etilo (20 mL) e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 10 min. A fase aquosa foi separada

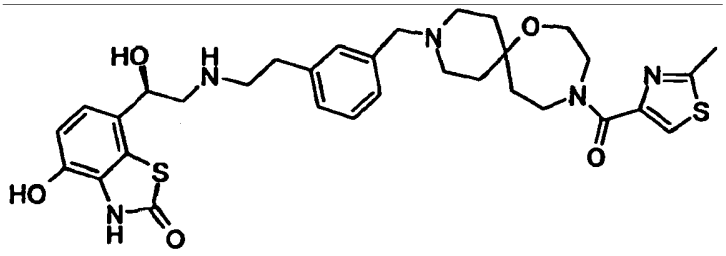
e extraída com acetato de etilo (20 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), acidificadas com algumas gotas de ácido acético, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL), foram então adicionados ácido acético (0,024 mL) e cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,11 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,040 g), a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,14 g.

m/z 684 $(M+H)^+$ (APCI)

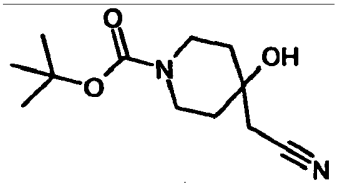
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,25 (s, 1H), 7,98 - 7,89 (m, 1H), 7,52 - 7,35 (m, 2H), 7,28 - 7,16 (m, 1H), 6,98 - 6,86 (m, 1H), 6,82 - 6,70 (m, 1H), 4,96 - 4,84 (m, 1H), 4,39 - 4,24 (m, 2H), 3,77 - 3,58 (m, 6H), 3,34 - 2,94 (m, 9H), 2,80 - 2,66 (m, 2H), 2,10 - 1,70 (m, 6H), 1,41 - 1,27 (m, 6H) e 5 permutáveis não observados

Exemplo 89

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((10-(2-metiltiazole-4-carbonil)-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecan-3-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



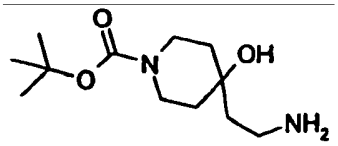
a) 4-(Cianometil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Uma solução de 1-oxa-6-azaespiro[2.5]octano-6-carboxilato de *terc*-butilo (2 g) em DMF (20 mL) foi tratada com cianeto de potássio (0,672 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 4 dias. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 60% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,18 g.

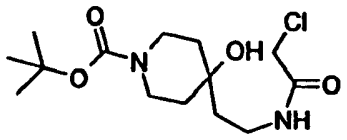
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) 8 3,95 - 3,85 (m, 2H), 3,19 - 3,10 (m, 2H), 2,54 (s, 2H), 1,86 (s, 1H), 1,76 - 1,61 (m, 4H), 1,46 (s, 9H).

b) 4-(2-Aminoetil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Uma solução de 4-(cianometil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 89, passo a) (1,4 g) numa mistura de etanol (20 mL) e ácido acético (20 mL) foi hidrogenada a 4 atmosferas de pressão de hidrogénio na presença de óxido de platina(IV) (0,25 g) durante 4 horas. O catalisador foi filtrado e os solventes removidos sob pressão reduzida. O resíduo foi partilhado entre NaOH aquoso diluído e acetato de etilo e a camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,1 g. Utilizado directamente.

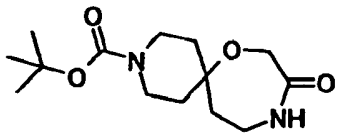
c) 4-(2-(2-Cloroacetamido)etil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 10 minutos, cloreto de cloroacetilo (0,483 mL) a uma mistura, mantida sob agitação vigorosa, a 0 °C de 4-(2-aminoetil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 89, passo b) (1,1 g) em acetato de etilo (25 mL) e carbonato de potássio (1,77 g) dissolvido em água (20 mL). A mistura foi então agitada a 0 °C durante 45 minutos, antes de ter sido extraída com acetato de etilo. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com acetato de etilo. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,9 g.

m/z 319 $(M-H)^-$ (APCI)

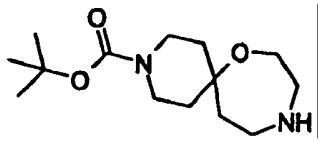
d) 9-Oxo-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecano-3-carboxilato de *terc*-butilo



Uma solução de 4-(2-(2-cloroacetamido)etil)-4-hidroxi-piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 89, passo c) (0,3 g) em THF seco (18 mL) foi adicionada gota a gota ao longo de 6 horas a uma mistura, a refluxo, de terc-butóxido de potássio (1 M em *terc*-butanol, 3 mL) e THF seco (60 mL). No final da adição a mistura foi aquecida a refluxo durante mais 15 minutos e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. A trituração com éter dietílico proporcionou o composto em subepígrafe. Rendimento 0,117 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,67 (s, 1H), 4,01 (s, 2H), 3,57 (d, J = 13,1 Hz, 2H), 3,11 (dd, J = 9,6, 4,2 Hz, 2H), 3,05 - 2,95 (m, 2H), 1,85 - 1,76 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 1,37 - 1,32 (m, 2H).

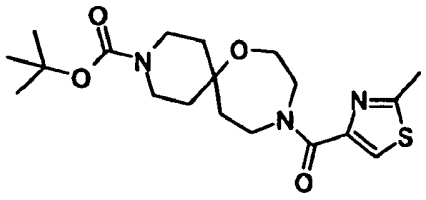
e) 7-Oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecano-3-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado complexo de borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 2,88 mL) a uma solução de 9-oxo-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 89, passo d) (0,41 g) em THF seco (40 mL) e a mistura reaccional em seguida aquecida a 70 °C durante 30 minutos sob azoto. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e desactivada com metanol. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo dissolvido em metanol (100 mL). Foi adicionada *N1,N2*-dimetiletano-1,2-diamina (1,0 g) e a mistura aquecida a refluxo sob azoto durante 16 h. Foi adicionada mais *N1,N2*-dimetiletano-1,2-diamina (1,0 g) e o refluxo continuou durante 16 h. Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com tolueno. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 6% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,176 g.

m/z 271 $(M+H)^+$ (APCI).

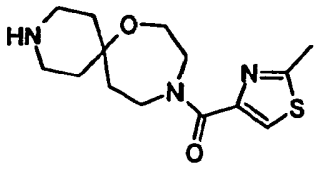
f) 10-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecano-3-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado HATU (0,322 g) numa porção a uma solução a 0 °C de 7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 89, passo e) (0,176 g) e ácido 2-metiltiazole-4-carboxílico (0,093 g) e trietilamina (0,36 mL) em DMF (10 mL). A mistura foi então agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com acetato de etilo. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 210 mg.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,78 (s, 1H), 3,69 (s, 4H), 3,65 - 3,62 (m, 2H), 3,59 - 3,53 (m, 2H), 3,11 - 3,03 (m, 2H), 2,66 (s, 3H), 1,85 - 1,81 (m, 2H), 1,74 - 1,67 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,38 - 1,33 (m, 2H).

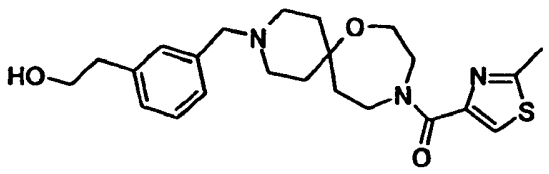
g) Trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecan-10-il)metanona



Uma solução de 10-(2-metiltiazole-4-carbonil)-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecano-3-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 89, passo f) (0,21 g) em DCM (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (10 mL) e a solução deixada em repouso a 20 °C durante 25 minutos. Foi adicionado tolueno (40 mL) e os solventes evaporados sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,21 g.

m/z 296 $(M+H)^+$ (APCI)

h) (3-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecan-10-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona

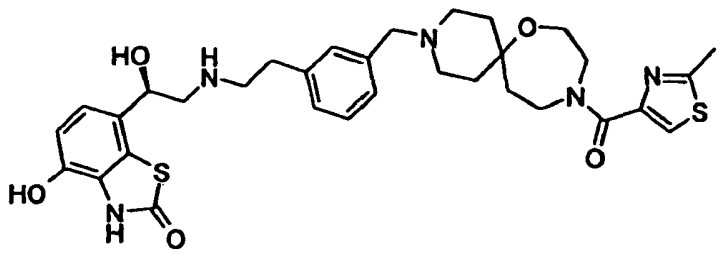


Uma solução de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecan-10-il)metanona (exemplo 89, passo g) (0,21 g) em acetonitrilo (15 mL) foi tratada com trietilamina (0,214 mL) seguida de 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (exemplo 6, passo a) (0,121 g). A mistura reaccional foi agitada

durante 3 horas a 20 °C. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre DCM e solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada aquosa foi reextraída duas vezes com DCM e os orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 6% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,21 g.

m/z 430 $(M+H)^+$ (APCI)

i) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((10-(2-metiltiazole-4-carbonil)-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecan-3-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (3-3-(2-hidroxietil)benzil)-7-oxa-3,10-diazaespiro[5.6]dodecan-10-il)(2-metiltiazol-il)metanona (exemplo 89, passo h) (0,21 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,038 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,311 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de

bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,028 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,193 g) e ácido acético (0,028 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,061 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,145 g.

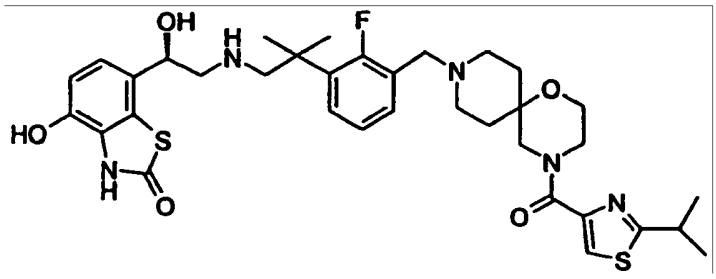
m/z 638 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,44 - 7,32 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,94 - 4,89 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 3,71 (s, 4H), 3,68 - 3,64 (m, 2H), 3,25 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,20 - 2,99

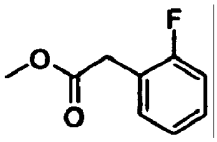
(m, 8H), 2,66 (s, 3H), 2,04 - 1,95 (m, 2H), 1,91 - 1,83 (m, 2H), 1,78 - 1,67 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 90

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



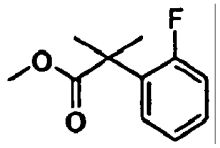
a) 2-(2-Fluorofenil)acetato de metilo



Uma solução de ácido 2-(2-fluorofenil)acético (9,6 g) em metanol (200 mL) foi tratada com cloreto de trimetilsililo (10 mL) e a mistura aquecida a refluxo durante 2 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 9,7 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,29 - 7,23 (m, 2H), 7,13 - 7,03 (m, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,68 (s, 2H).

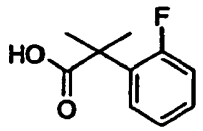
b) 2-(2-Fluorofenil)-2-metilpropanoato de metilo



A uma solução de iodometano (3,2 mL) em DMF seca (80 mL) a 0 °C foi adicionado hidreto de sódio (suspensão a 60%, 2 g) seguida de 2-(2-fluorofenil)acetato de metilo (exemplo 90, passo a) (2,75 g). A mistura foi deixada aquecer lentamente até à temperatura ambiente e em seguida agitada à temperatura ambiente durante 5 horas. A reacção foi desactivada pela adição cuidadosa de cloreto de amónio aquoso saturado (120 mL). A mistura foi extraída três vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 8% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,6 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,46 - 7,40 (m, 1H), 7,35 - 7,29 (m, 1H), 7,22 - 7,11 (m, 2H), 3,58 (s, 3H), 1,48 (s, 6H).

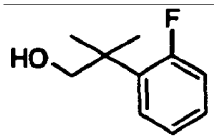
c) Ácido 2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanóico



Foi adicionada uma solução de hidróxido de sódio (1 g) em água (50 mL) a uma solução de 2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanoato de metilo (exemplo 90, passo b) (2,6 g) em metanol (50 mL) e THF (50 mL). A mistura reaccional foi aquecida a 40 °C durante 40 horas. Os orgânicos foram removidos sob pressão reduzida e a solução aquosa remanescente lavada com acetato de etilo. A camada aquosa foi arrefecida e acidificada por adição de HCl concentrado. A mistura foi extraída com acetato de etilo e a camada orgânica lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio antes de ser seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,5 g.

m/z 181 $(M-H)^-$ (APCI)

d) 2-(2-Fluorofenil)-2-metilpropan-1-ol

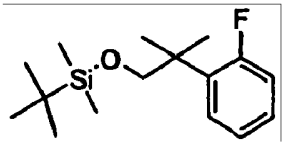


Foi adicionado, gota a gota, borano-sulfureto de metilo (2 M em THF, 12,35 mL) a uma solução de ácido 2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanóico (exemplo 90, passo c) (1,5 g) em THF (30 mL). A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 8 horas. A

mistura foi desactivada através da adição cuidadosa de metanol até parar a libertação de gás. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com tolueno. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 30% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,36 - 7,31 (m, 1H), 7,25 - 7,19 (m, 1H), 7,13 - 7,08 (m, 1H), 7,04 - 6,99 (m, 1H), 3,79 (dd, J = 6,4, 1,0 Hz, 2H), 1,39 (d, J = 1,0 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

e) *terc*-Butil(2-(2-fluorofenil)-2-metilpropoxi)dimetil-silano

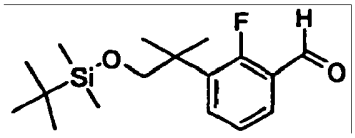


Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (1,4 g) em porções a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(2-fluorofenil)-2-metilpropan-1-ol (exemplo 90, passo d) (1,3 g) e imidazole (0,631 g) em DMF (7 mL) a 20 °C. A mistura reaccional foi agitada durante 3 horas à temperatura ambiente e em seguida partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por

cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 100% de iso-hexano até 1% de éter dietílico em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 1,4 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,34-7,29 (m, 1H), 7,20-7,14 (m, 1H), 7,08-7,03 (m, 1H), 7,00-6,94 (m, 1H), 3,71 (s, 2H), 1,35 (s, 6H), 0,80 (s, 9H), -0,06 (s, 6H).

f) 3-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)-2-ftuorobenzaldeído

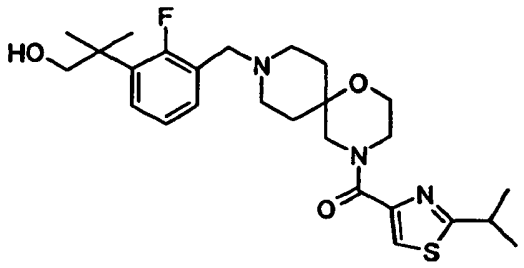


Foi adicionado sec-butil-lítio (1,4 M em ciclo-hexano, 3,54 mL) a tetra-hidrofurano seco (10 mL) sob azoto e a solução arrefecida até -78 °C. Foi adicionada lentamente, gota a gota, *N1*-(2-(dimetilamino)etil)-*N1,N2,N2*-trimetiletano-1,2-diamina (0,859 g). Foi então adicionada, gota a gota ao longo de 5 minutos, uma solução de *terc*-butil(2-(2-fluorofenil)-2-metilpropoxi)dimetilsilano (exemplo 90, passo e) (1,4 g) em tetra-hidrofurano seco (3 mL). A mistura reaccional foi agitada durante 2 horas a - 78 °C. Foi adicionada, gota a gota ao longo de 5 minutos, DMF (2,69 mL) e a mistura agitada a -78 °C durante 1 hora seguida de temperatura ambiente durante 45 minutos. A mistura reaccional foi desactivada por adição de água. Foi adicionado acetato de etilo (200 mL) e o orgânico lavado três vezes com água seguido de duas vezes com HCl 2 M e duas vezes com água, em seguida solução aquosa saturada de cloreto de sódio

e seco sobre sulfato de sódio, filtrado e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 1 a 5% de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,98 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,39 (s, 1H), 7,75-7,70 (m, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,19 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 3,74 (s, 2H), 1,39 (d, J = 1,3 Hz, 6H), 0,79 (s, 9H), -0,05 (s, 6H).

g) (9-(2-Fluoro-3-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

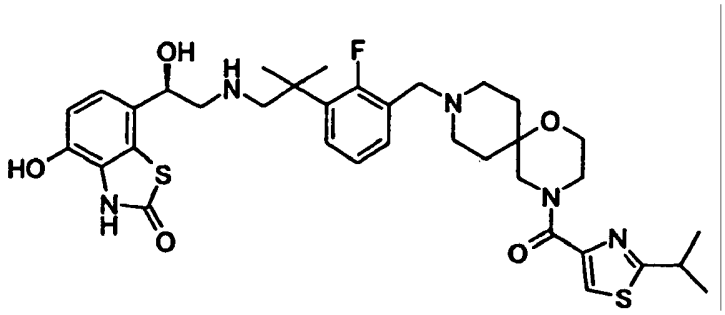


Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,502 g) a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,668 g) e 3-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)-2-fluorobenzaldeído (exemplo 90, passo f) (0,49 g) e ácido acético (0,090 mL) em NMP (20 mL). A mistura reaccional foi então agitada a 20 °C durante 18 horas. A mistura foi partilhada entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi

lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. A goma resultante foi dissolvida em THF (20 mL) e tratada com fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 3,16 mL). A solução foi deixada em repouso a 20 °C durante 8 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, gradiente de eluição 0 a 1% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,63 g.

m/z 490 $(M+H)^+$ (APCI)

h) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(2-fluoro-3-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 90, passo g) (0,21 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,033 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,273 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura

reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,025 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,169 g) e ácido acético (0,025 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,054 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,125 g.

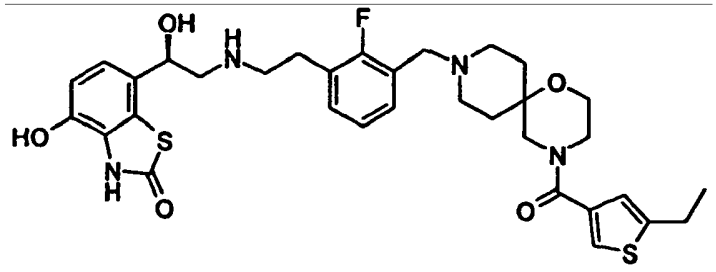
m/z 698 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,25 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,56 - 7,46 (m, 2H), 7,31 - 7,25 (m, 1H), 6,89 (d,

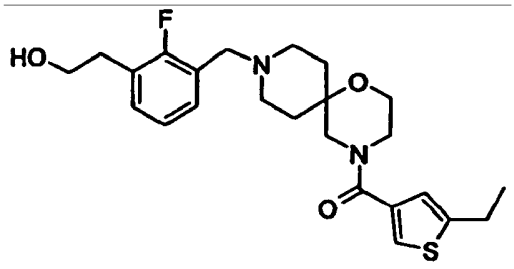
J = 8,5 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,97 - 4,91 (m, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,70 (s, 4H), 3,65 (s, 2H), 3,50 - 3,37 (m, 2H), 3,33 - 3,26 (m, 1H), 3,23 - 3,15 (m, 2H), 3,12 - 3,02 (m, 4H), 2,06 - 1,97 (m, 2H), 1,83 - 1,72 (m, 2H), 1,50 (s, 6H), 1,34 (d, J = 6,8 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 91

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (5-Etiltiofen-3-il)(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

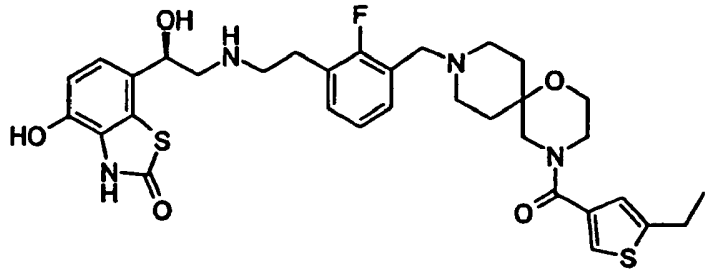


Foi adicionado HATU (0,316 g) numa porção a uma solução a 0 °C de 9-(3-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-

fluorobenzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano (exemplo 78, passo d) (0,271 g) e ácido 5-etiltiofeno-3-carboxílico (0,1 g) e trietilamina (0,36 mL) em DMF (10 mL). A mistura foi então agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em THF (20 mL) e tratado com fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em THF, 1,921 mL). A mistura reaccional foi deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas e o solvente foi então removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,12 g.

m/z 447 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (5-etiltiofen-3-il)(9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 91, passo a) (0,12 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,021 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,171 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e foi vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,015 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-1-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,106 g) e ácido acético (0,015 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,034 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 m). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à

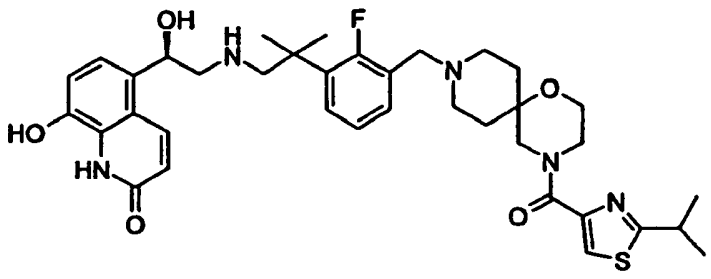
secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,095 g.

m/z 655 $(M+H)^+$ (APCI)

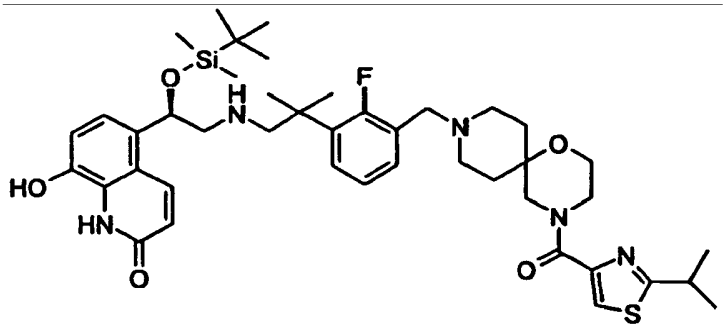
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,52 - 7,41 (m, 3H), 7,25 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,95 - 4,89 (m, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,67 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,53 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,45 (s, 2H), 3,24 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,18-3,03 (m, 8H), 2,81 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 2,05 - 1,97 (m, 2H), 1,79 - 1,68 (m, 2H), 1,25 (t, J = 7,6 Hz, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 92

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



a) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

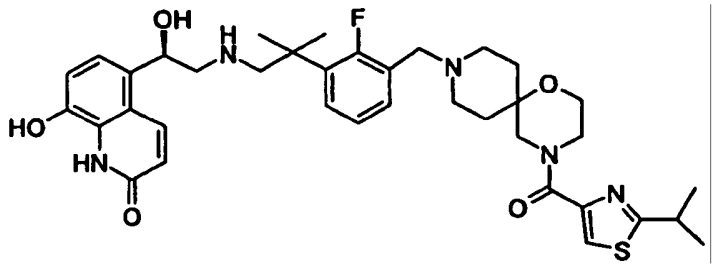


Uma solução de (9-(2-fluoro-3-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 90, passo g) (0,21 g) em DCM (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,033 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,236 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,025 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de (*R*)-5-(2-amino-1-(terc-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,186 g) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,136 g) numa

porção. A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 9% de metanol em diclorometano com 1% de amónia aquosa "880" como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,28 g.

m/z 806 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,074 mL) em metanol (2 mL) a uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(2-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 92, passo a) (0,28 g) em THF (8 mL) e a mistura

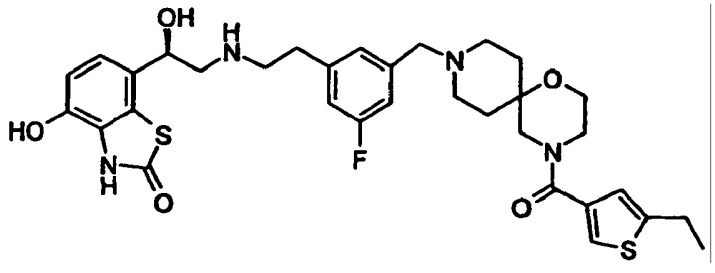
reaccional deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,175 g.

m/z 692 $(M+H)^+$ (APCI)

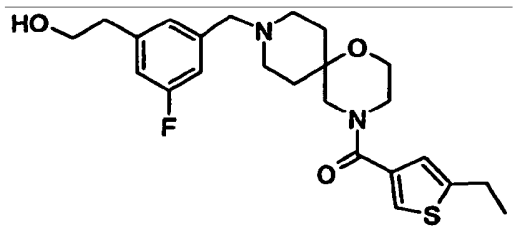
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,14 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,57 - 7,50 (m, 2H), 7,29 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,52 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,40 - 5,34 (m, 1H), 4,34 (s, 2H), 3,69 (s, 4H), 3,65 (s, 2H), 3,56 - 3,43 (m, 2H), 3,33 - 3,18 (m, 3H), 3,15 - 3,06 (m, 4H), 2,06 - 1,98 (m, 2H), 1,83 - 1,72 (m, 2H), 1,52 (s, 6H), 1,34 (d, J = 7,8 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 93

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



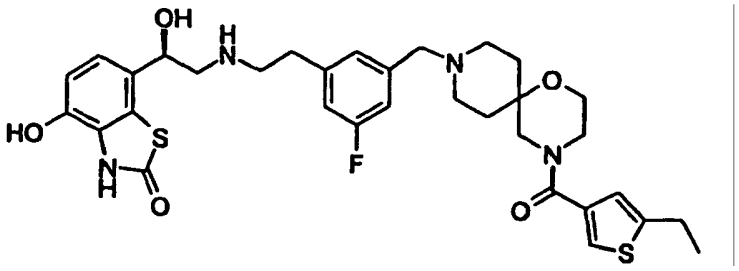
a) (5-Etiltiofen-3-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado HATU (0,449 g) numa porção a uma solução a 0 °C de 2-(3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenil)etanol (exemplo 55, passo c) (0,28 g) e ácido 5-etiltiofeno-3-carboxílico (0,142 g) e trietilamina (0,506 mL) em DMF (10 mL). A mistura foi então agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,21 g.

m/z 447 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (5-etiltiofen-3-il)(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 93, passo a) (0,21 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,036 mL) seguido de periodinano de Dess-Martin (0,299 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,027 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,185 g) e ácido acético (0,027 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,059 g). O banho de arrefecimento

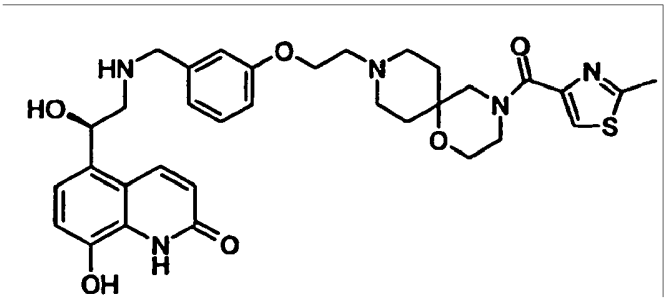
foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,115 g.

m/z 655 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,28 - 7,17 (m, 3H), 6,93 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,95 - 4,90 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 3,67 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,53 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,45 (s, 2H), 327 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 3,19 - 3,00 (m, 8H), 2,81 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 2,07 - 1,99 (m, 2H), 1,80 - 1,68 (m, 2H), 1,25 (t, J = 7,4 Hz, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 94

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado 3-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzaldeído (exemplo 10, passo b) (0,24 g) a uma mistura de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,187 g) e ácido acético (0,032 mL) em metanol (2 mL). A mistura foi agitada durante 30 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,178 g) e a mistura agitada durante 2 h e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi partilhado entre acetato de etilo (50 mL) e tampão a pH 7,2 (50 mL). A aquosa foi separada e extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 92:8:0,8. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e dissolvidas em tetra-hidrofurano (5 mL). Foi adicionado

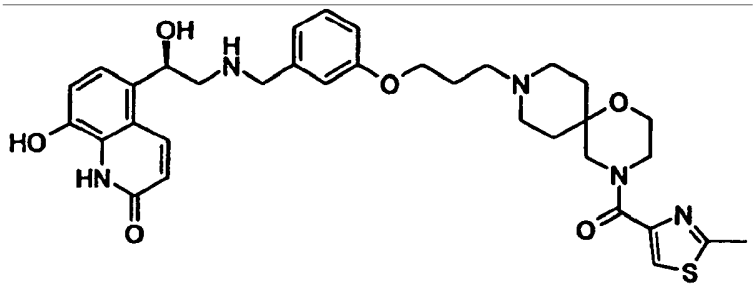
trifluoridrato de trietilamina (0,091 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo* e o resíduo dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água (1:1, 5 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar os compostos em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,15 g.

m/z 634 $(M+H)^+$ (APCI)

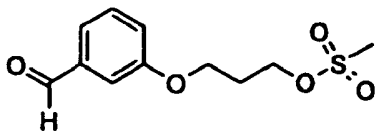
RMN de ^1H (300 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,09 (d, J = 10,0 Hz, 1), 7,92 (s, 1H), 7,37 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,20 - 6,94 (m, 5H), 6,50 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,37 (dd, J = 8,2, 4,5 Hz, 1H), 4,37 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 4,30 - 4,16 (m, 2H), 3,76 - 3,62 (m, 6H), 3,61 - 3,54 (m, 2H), 3,46 - 3,35 (m, 2H), 3,31 - 3,17 (m, 2H), 3,11 - 3,01 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,11 - 1,98 (m, 2H), 1,94 - 1,78 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 95

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



a) Metanossulfonato de 3-(3-formilfenoxi)propilo

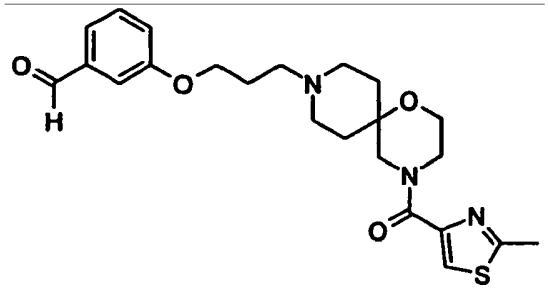


Foram adicionados 3-bromo-1-propanol (3,94 mL) e carbonato de potássio (6,22 g) a 3-hidroxibenzaldeído (5 g) em acetonitrilo (100 mL). A mistura resultante foi agitada a refluxo durante 5 horas sob azoto. A mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e partilhada entre acetato de etilo e hidróxido de sódio aquoso diluído, gelado. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em DCM (30 mL) e tratado com trietilamina (5,7 mL). A solução foi arrefecida até 0 °C e tratada gota a gota com cloreto de metanossulfonilo (3,2 mL). A mistura reaccional foi agitada a

0 °C durante 10 minutos e em seguida à temperatura ambiente durante 1 hora. A mistura foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 33% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 5,20 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,98 (s, 1H), 7,50 - 7,43 (m, 2H), 7,40 - 7,39 (m, 1H), 7,20 - 7,16 (m, 1H), 4,46 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 4,17 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,01 (s, 3H), 2,30 - 2,23 (m, 2H).

b) 3-(3-(4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzaldeído

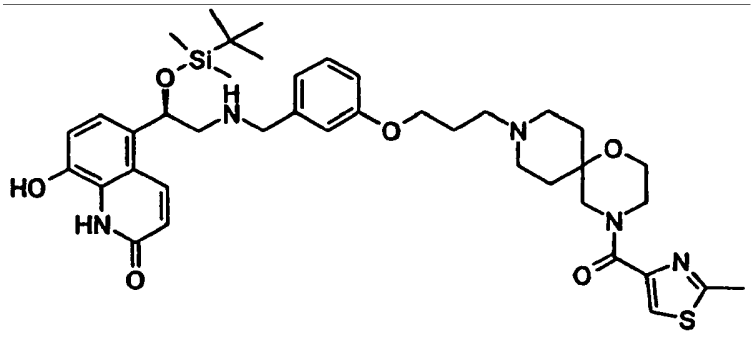


Uma solução de metanossulfonato de 3-(3-formilfenoxi)propilo (exemplo 95, passo a) (0,209 g) e trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,32 g) e trietilamina (0,282 mL) em acetonitrilo (10 mL) foi aquecida a 65 °C durante 18 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de

etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de metanol e 1% de trietilamina em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,157 g.

m/z 444 $(M+H)^+$ (APCI)

c) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

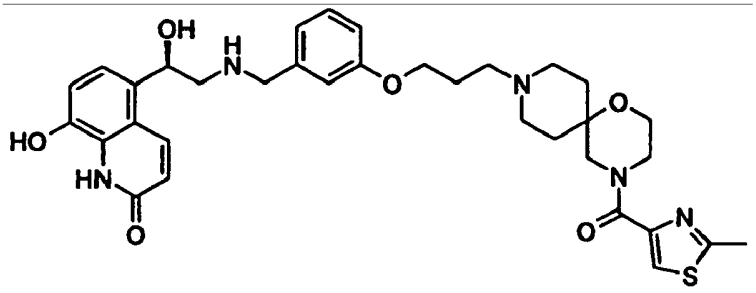


Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,113 g) numa porção a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de 3-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)propoxi)benzaldeído (exemplo 95, passo b) (0,157 g), (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (WO2004106333) (0,118 g) e ácido acético (0,020 mL) em metanol (7 mL). A mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 2 horas. A maior parte do metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre

acetato de etilo e tampão aquoso de fosfato (pH = 7,2), a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 8% de metanol e 1% de amónia aquosa "880" em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,160 g.

m/z 762 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propoxi)benzilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-(3-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)propoxi)benzilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 95, passo c) (0,160 g) em THF (2 mL) foi tratada com trifluoridrato de trietilamina (0,041 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 18 horas a 20 °C. O solvente foi evaporado e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-35% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram

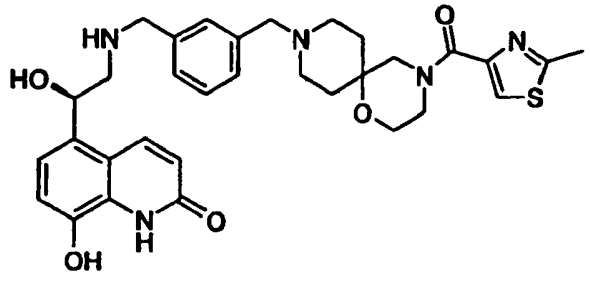
evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,081 mg.

m/z 648 $(M+H)^+$ (APCI)

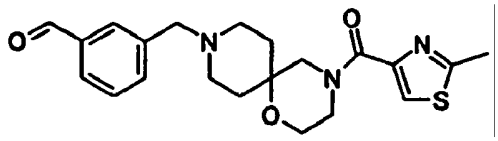
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10,75 - 10,43 (m, 2H), 10,00 - 9,74 (m, 1H), 9,30 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 8,07 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,36 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,16 - 7,09 (m, 3H), 7,01 - 6,94 (m, 2H), 6,54 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 5,35 (d, J = 9,5 Hz 1H), 4,21 (s, 2H), 4,07 - 4,00 (m, 2H), 3,83 - 3,16 (m, 10H), 3,08 - 2,90 (m, 4H), 2,70 (s, 3H), 2,18 - 2,04 (m, 4H), 1,83 - 1,66 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

Exemplo 96

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)benzilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



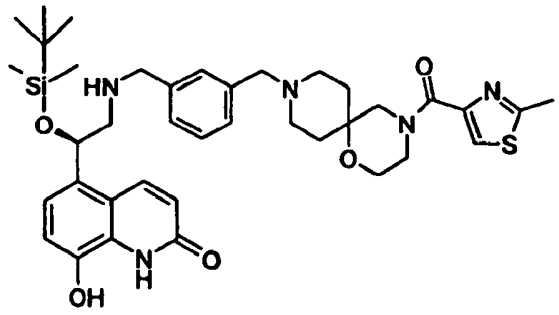
a) 3-((4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)benzaldeído



Uma solução de trifluoroacetato de (2-metiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 4, passo h) (0,408 g), 3-(bromometil)benzaldeído (0,205 g) e trietilamina (0,36 mL) em acetonitrilo (10 mL) foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A solução foi concentrada *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e bicarbonato de sódio saturado. A fase orgânica foi lavada duas vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca sobre sulfato de magnésio anidro e purificada por cromatografia flash sobre sílica eluído com 5% de metanol em diclorometano para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,325 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 10,01 (s, 1H), 7,85 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,76 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,52 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 3,71 - 3,46 (m, 8H), 2,68 (s, 3H), 2,44 - 2,29 (m, 4H), 1,78 - 1,65 (m, 2H), 1,61 - 1,46 (m, 2H).

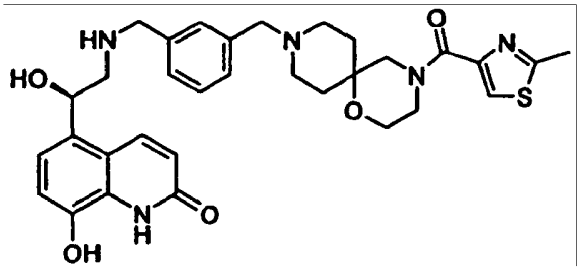
b) (*R*)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)benzilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma solução de 3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)benzaldeído (exemplo 96, passo a) (0,303 g), (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,330 g) e ácido acético (0,043 mL) em metanol (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos, em seguida arrefecida num banho de água com gelo sob azoto e tratada com triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,243 g) numa porção. A mistura foi agitada em gelo-água durante 2 horas, em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, as fases foram separadas e a fase aquosa foi extraída mais duas vezes com acetato de etilo. Quaisquer resíduos gomosos insolúveis foram dissolvidos em metanol. As fases de acetato de etilo combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de magnésio e combinadas com a solução de metanol. A totalidade foi purificada por cromatografia flash sobre sílica eluída com trietilamina:metanol:diclorometano 1:7:92 para proporcionar o subproduto em epígrafe ligeiramente impuro como uma espuma amarela. Rendimento 0,324 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,35 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,40 - 7,30 (m, 2H), 7,30 - 7,23 (m, 2H), 7,17 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,59 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,30 (dd, J = 7,3, 4,7 Hz, 1H), 3,91 - 3,70 (m, 8H), 3,57 (s, 2H), 3,02 (dd, J = 12,3, 7,4 Hz, 1H), 2,91 - 2,77 (m, 4H), 2,56 - 2,43 (m, 4H), 1,90 - 1,80 (m, 2H), 1,74 - 1,62 (m, 2H), 0,99 (s, 9H), 0,19 (s, 3H), 0,00 (s, 3H). Três protões permutáveis não observados.

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)benzilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)benzilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 96, passo b) (0,320 g) e trifluoridrato de trietilamina (0,15 mL) em THF (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo (3 mL) e água (1 mL) e a solução resultante purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o

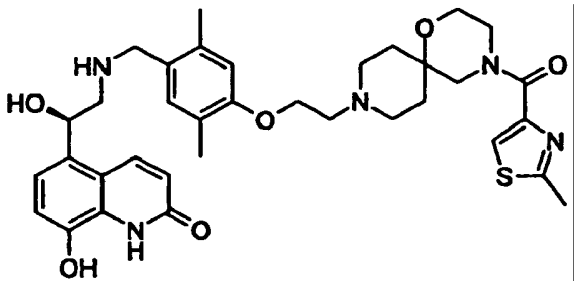
produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar uma espuma branca. A espuma foi triturada com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi removido por filtração, lavado com éter dietílico e seco in-vacuo à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um pó branco. Rendimento 0,264 g.

m/z 604 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 8,08 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,65 - 7,49 (m, 4H), 7,10 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,52 (d, J = 10,0 Hz, 1H, 5,3 5 (dd, J = 8,6, 4,2 Hz, 1H), 4,35 - 4,21 (m, 4H), 3,74 - 3,57 (m, 6H), 3,23 - 2,98 (m, 6H), 2,67 (s, 3H), 2,06 - 1,91 (m, 2H), 1,85 - 1,65 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 97

Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(2-(2,5-dimetil-4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Foi adicionado 2,5-dimetil-4-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)-

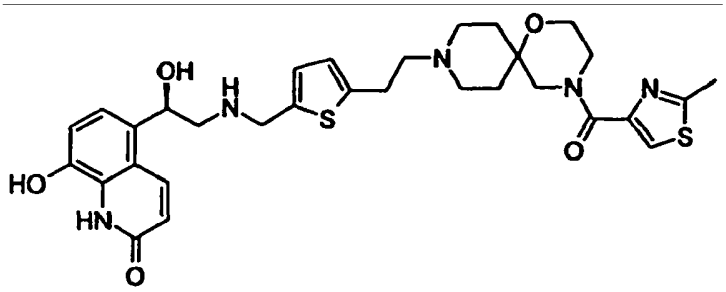
benzaldeído (exemplo 18, passo f) (0,08 g) a uma mistura de (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,088 g) e ácido acético (0,010 mL) em metanol (2 mL). A mistura foi agitada durante 30 min em seguida arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,016 g) e a mistura agitada durante 2 h. O solvente foi removido *in vacuo* e o resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 95:5:0,5 até 92:8:0,8. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi redissolvido em tetra-hidrofurano (5 mL), foi adicionado trifluoridrato de trietilamina (0,028 mL) e a mistura agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo* e o resíduo triturado com éter dietílico para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,07 g.

m/z 662 $(M+H)^+$ (APCI)

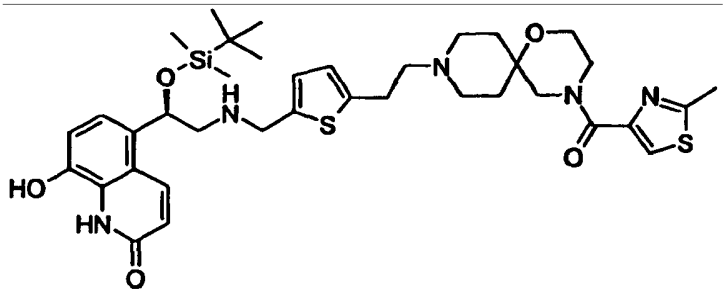
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 8 8,12 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 7,12 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,51 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 5,38 (dd, J = 8,2, 4,6 Hz, 1H), 4,35 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 4,25 - 4,13 (m, 2H), 3,76 - 3,64 (m, 6H), 3,61 - 3,53 (m, 2H), 3,46 - 3,36 (m, 2H), 3,33 - 3,20 (m, 2H), 3,19 - 3,10 (m, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,12 - 2,01 (m, 2H), 1,95 - 1,79 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 98

Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-((5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)metilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



a) Ditrifluoroacetato de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-((5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)metilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona

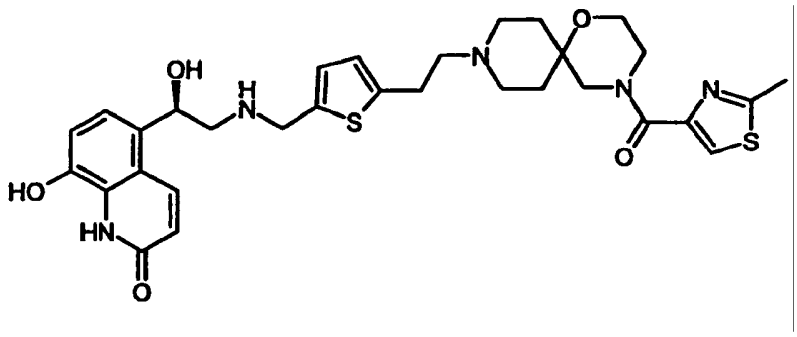


Uma solução de 5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofeno-2-carbaldeído (exemplo 21, passo c) (0,188 g) e (*R*)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (documento WO2004106333) (0,150 g) em metanol (10 mL) foi tratada com ácido acético (0,026 mL) seguida de triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,143 g). A mistura foi agitada a 20 °C

durante 18 horas. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,143 g) e agitação a 20 °C continuou durante 2 horas. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (143 mg) e agitação continuou durante 2 horas. O metanol foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e acetato de etilo. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de amónia aquosa concentrada e 8% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,122 g.

m/z 738 $(M+H)^+$ (APCI)

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-((5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)metilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (*R*)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-((5-(2-(4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etil)tiofen-2-il)metilamino)etil)-

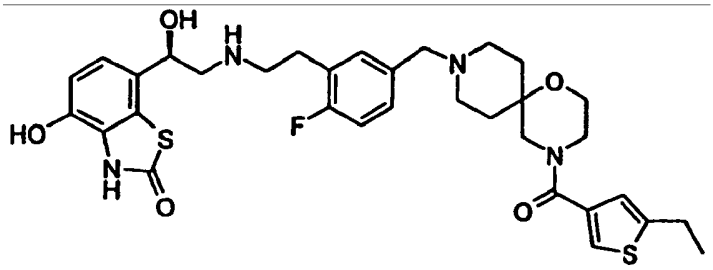
8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (exemplo 98, passo a) (0,122 g) em THF (4 mL) foi tratada com uma solução de trifluoridrato de trietilamina (0,035 mL) em metanol (1 mL) e a mistura resultante foi deixada em repouso a 20 °C durante 18 horas. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,085 g.

m/z 624 $(M+H)^+$ (APCI)

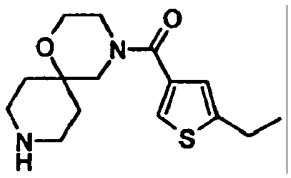
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) 8 8,10 (d, J = 31,8 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,15 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 15,7 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 22,6 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 6,53 (d, J = 30,4 Hz, 1H), 5,37 - 5,31 (m, 1H), 4,41 (dd, J = 17,7, 14,4 Hz, 2H), 3,71 (s, 4H), 3,66 (s, 2H), 3,42 - 3,33 (m, 4H), 3,27 - 3,06 (m, 6H), 2,68 (s, 3H), 2,10 - 1,98 (m, 2H), 1,88 - 1,75 (m, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 99

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(5-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Trifluoroacetato de (5-etiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

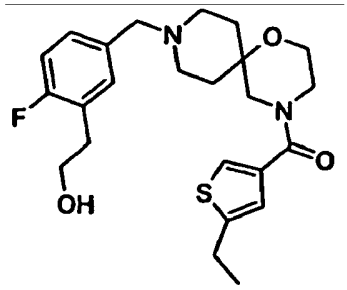


Foi adicionado HATU (1,15 g) numa porção a uma solução a 0 °C de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,682 g) e ácido 5-etiltiofeno-3-carboxílico (0,364 g) e trietilamina (1,3 mL) em DMF (10 mL). A mistura foi então agitada a 20 °C durante 1 hora. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 50%

de acetato de etilo em iso-hexano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o intermediário protegido com "BOC". Foi adicionado DCM (10 mL) seguido de ácido trifluoroacético (10 mL) e a solução resultante deixada em repouso a 20 °C durante 25 minutos. Foi adicionado tolueno (30 mL) e os solventes evaporados sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo para produzir o composto em subepígrafe. Rendimento 0,950 g.

m/z 295 $(M+H)^+$ (APCI)

b) (5-Etiltiofen-3-il)(9-(4-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

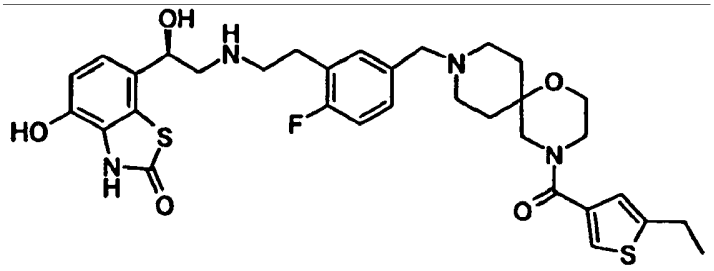


Foi adicionado 2-(5-(bromometil)-2-fluorofenil)etanol (exemplo 47, passo a) (0,171 g) a uma solução de trifluoroacetato de (5-etiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 99, passo a) (0,3 g) e trietilamina (0,410 mL) em acetonitrilo (15 mL) e a mistura agitada a 20 °C durante 2 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio. A

camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 1% de trietilamina e 2% de metanol em diclorometano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,2 g.

m/z 447 $(M+H)^+$ (APCI)

c) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(5-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (5-etiltiofen-3-il)(9-(4-fluoro-3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 99, passo b) (0,2 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,035 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,285 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os

orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,026 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,176 g) e ácido acético (0,026 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,056 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,14 g.

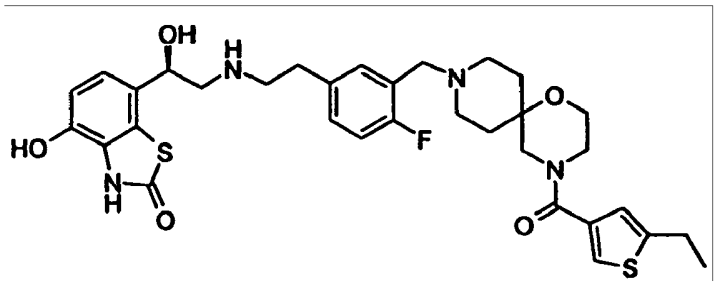
$(M+H)^+$ 655 (APCI)

RMN de ^1H (400 MH_4 D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,49 - 7,44 (m, 3H), 7,29 - 7,23 (m, 1H), 6,94 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 6,89 (s, 1 H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 4,94 - 4,89 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,67 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 3,53 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,45 (s, 2H), 3,24 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,18 - 3,02 (m, 8H), 2,81 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 2,07 - 1,98 (m, 2H), 1,79 - 1,67

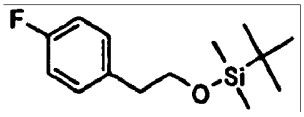
(m, 2H), 1,25 (t, J = 7,4 Hz, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 100

Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-4-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) *terc*-Butil(4-fluorofenetoxi)dimetilsilano

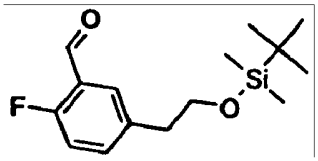


Foi adicionado cloreto de *terc*-butildimetilsililo (0,903 g) em porções a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(4-fluorofenil)etanol (0,7 g) e imidazole (0,408 g) em DMF (20 mL) a 20 °C. A mistura reaccional foi agitada durante 3 horas à temperatura ambiente e em seguida partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto

em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,99 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) 8 7,18-7,13 (m, 2H), 6,99-6,93 (m, 2H), 3,77 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,78 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 0,86 (s, 9H), -0,03 (s, 6H)

b) 5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzaldeído

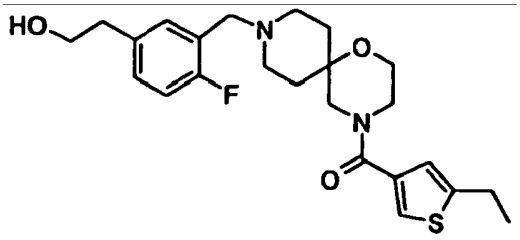


Foi adicionado *sec*-butil-lítio (1,4 M em ciclo-hexano, 2,78 mL) a tetra-hidrofurano seco (10 mL) sob azoto e a solução arrefecida até -78 °C. Foi lentamente adicionada, gota a gota, *N1*-(2-(dimetilamino)etil)-*N1,N2,N2*-trimetiletano-1,2-diamina (0,674 g). Foi então adicionada, gota a gota ao longo de 5 minutos, uma solução de *terc*-butil(4-fluorofenetoxi)dimetil-silano (exemplo 100, passo a) (0,99 g) em tetra-hidrofurano seco (3 mL). A mistura reaccional agitada durante 2 horas a -78 °C. Foi adicionada, gota a gota ao longo de 5 minutos, DMF (2,1 mL) e a mistura agitada a -78 °C durante 1 hora, seguida de temperatura ambiente durante 45 minutos. A mistura reaccional foi desactivada por adição de água. Foi adicionado acetato de etilo (200 mL) e o orgânico lavado três vezes com água, seguida de duas vezes com HCl 2 M e em seguida duas vezes com água. A

solução orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de acetato de etilo em iso-hexano como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,5 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,36 (s, 1H), 7,72-7,69 (m, 1H), 7,48-7,43 (m, 1H), 7,11-7,06 (m, 1H), 3,80 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,83 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 0,85 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

c) (5-Etiltiofen-3-il)(9-(2-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

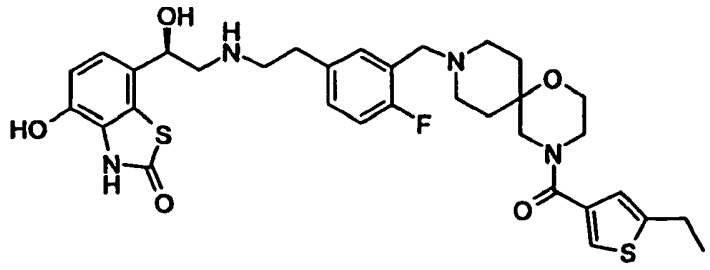


Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,225 g) a uma solução, mantida sob agitação, a 0 °C de trifluoroacetato de (5-etiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 99, passo a) (0,289 g) e 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-2-fluorobenzaldeído (exemplo 100, passo b) (0,2 g) e ácido acético (0,041 mL) em NMP (20 mL). A mistura reaccional foi então agitada a 20 °C durante 18 horas. Foi adicionado mais triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,150 g) e a agitação continuou durante 4 horas. A mistura foi partilhada

entre acetato de etilo e solução saturada de bicarbonato de sódio, a camada orgânica foi lavada duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. A goma resultante foi dissolvida em THF (20 mL) e tratada com TBAF (1 M em THF, 1,4 mL). A solução foi deixada em repouso a 20 °C durante 8 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica utilizando 2% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina como solvente. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,18 g.

m/z 447 $(M+H)^+$ (APCI)

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)4-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (5-etiltiofen-3-il)(9-(2-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 100, passo c) (0,18 g) em DCM (15 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,031 mL) seguida de

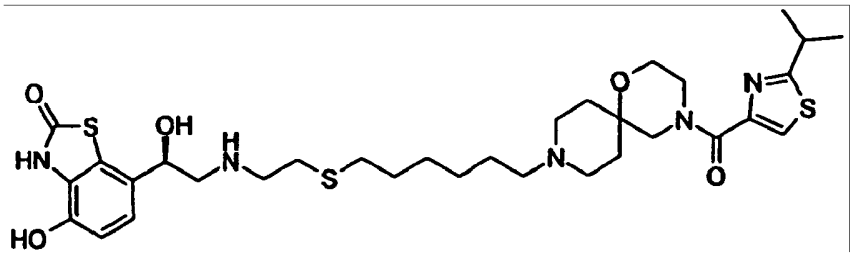
periodinano de Dess-Martin (0,256 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo, os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, secos sobre sulfato de sódio e filtrados. Foi adicionado ácido acético (0,023 mL) a esta solução e o solvente removido em seguida sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,159 g) e ácido acético (0,023 mL) em metanol (15 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,051 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada a 20 °C durante 3 horas. O solvente foi evaporado até um volume de 3 mL sob pressão reduzida e foi adicionado THF (20 mL). A mistura foi lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (1 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o composto desejado foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,14 g.

m/z 655 $(M+H)^+$ (APCI)

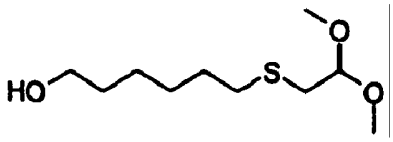
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,48 - 7,43 (m, 2H), 7,42 - 7,37 (m, 1H), 7,25 (t, *J* = 9,1 Hz, 1 H), 6,93 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,77 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4:94 - 4,88 (m, 1H), 4,27 (s, 2H), 3,67 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 3,53 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 3,45 (s, 2H), 3,23 (t, *J* = 8,2 Hz, 2H), 3,18 - 2,97 (m, 8H), 2,81 (q, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,04 - 1,98 (m, 2H), 1,79 - 1,69 (m, 2H), 1,25 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 101

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(6-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)hexiltio)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 6-(2,2-Dimetoxietiltio)hexan-1-ol



A uma solução de 6-mercapto-hexan-1-ol (2,5 L) em MeCN (30 mL) a 0 °C foi adicionado hidreto de sódio (suspensão a 60% em óleo mineral, 0,81 g). A mistura foi agitada a 0 °C durante 1 h, em seguida foi adicionado 2-bromo-1,1-dimetoxi-etano

(2,4 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 20 h, em seguida foi desactivada por adição de solução saturada de bicarbonato de sódio. A mistura foi extraída com acetato de etilo (x 3), em seguida os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio, em seguida com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 25% de acetato de etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um líquido incolor. Rendimento 1,85 g.

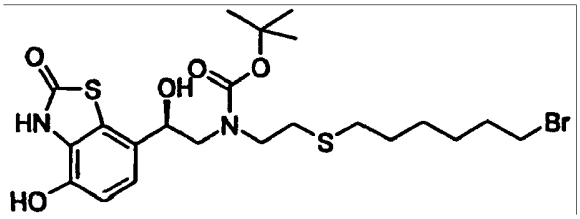
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 4,49 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,64 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,37 (s, 6H), 2,69 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 2,59 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,66-1,52 (m, 4H), 1,46-1,32 (m, 4H). Um protão permutável não observado.

b) 2-(6-Bromo-hexiltio)acetaldeído

A uma solução de 6-(2,2-dimetoxietiltio)hexan-1-ol (exemplo 101, passo a) (1,85 g) em DCM (75 mL) a 0 °C sob N_2 foi adicionado tetrabrometo de carbono (3,31 g) seguido de trifenilfosfina (2,62 g) em porções. A mistura resultante foi agitada à TA durante 1,25 h em seguida concentrada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-50% de acetato de etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um líquido amarelo. Rendimento 1,31 g.

RMN de ^{1}H (400MHz, $CDCl_3$) δ 9,47 (t, J = 3,5 Hz, 1H), 3,43-3,36 (m, 2H), 3,18 (d, J = 3,5 Hz, 2H), 2,44 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,64-1,53 (m, 2H), 1,49-1,36 (m, 4H).

c) (*R*)-2-(6-Bromo-hexiltio)etil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

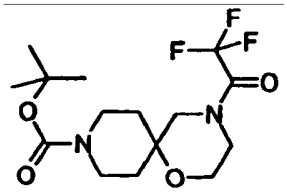


A uma solução de 2-(6-bromo-hexiltio)acetaldeído (exemplo 101, passo b) (1,2 g) em DMF (20 mL) com ácido acético (0,287 mL) e peneiros moleculares de 3 Å a 0 °C sob N_2 foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (1,45 g). A mistura resultante foi agitada a 0 °C durante 1 h, em seguida foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (1,6 g) e a mistura agitada à TA durante 2 h. Foi adicionado dicarbonato de di-*terc*-butilo (1,1 g) e a agitação continuou durante 20 h. A mistura reaccional foi desactivada por adição de solução saturada de bicarbonato de sódio (40 mL), em seguida a solução foi extraída com acetato de etilo (x 3). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-100% de acetato de

etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,56 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_4-MeOH) δ 6,89 (dd, J = 18,6, 8,3 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,87 (s, 1H), 3,59-3,39 (m, 4H), 3,33-3,29 (m, 2H), 2,64-2,41 (m, 4H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,66-1,32 (m, 15H). Três protões permutáveis não observados.

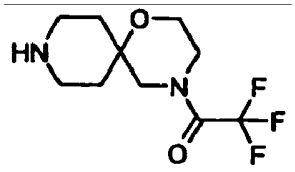
d) 4-(2,2,2-Trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionada, gota a gota ao longo de 20 min, uma solução de anidrido trifluoroacético (2,2 mL) em DCM (14 mL) a uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (4,7 g) e trietilamina (4,9 mL) em DCM (90 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada a 0 °C durante 45 min e em seguida à TA durante 2 h. Foi adicionada água (90 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada durante 10 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com DCM (50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 40-50% de AcOEt em éter de petróleo (40-60 °C) para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 2,73 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3,86 (d, J = 13,3 Hz, 1 H), 3,77 (t, J = 4,9 Hz, 2 H), 3,74-3,64 (m, 2H), 3,61 (t, J = 4,8 Hz, 1 H), 3,52 (s, 1 H), 3,23-3,15 (m, 1H), 3,07 (t, J = 11,4 Hz, 1 H), 1,85 (d, J = 13,8 Hz, 1H), 1,77 (d, J = 13,9 Hz, 1H), I ,52-1,37 (m, 12H).

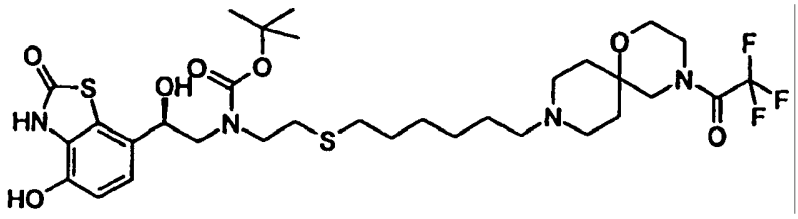
e) Trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (66 mL) a uma solução de 4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 101, passo d) (4,33 g) em DCM (66 mL) e a mistura resultante foi agitada à TA durante 20 min. Foi adicionado tolueno (50 mL) e a mistura foi evaporada *in vacuo* (x 3) para dar o composto em subepígrafe. Rendimento 5,52 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,73 (s 1, 2H), 3,77 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 3,72 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 3,65 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 3,58 (s, 1H), 3,48 (s, 1H), 3,33 (s, 2H), 3,24 (s, 2H), 2,08 (t, J = 14,6 Hz, 2H), 1,93-1,75 (m, 2H).

f) (*R*)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(2-(6-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)hexiltio)etil)carbamato de *terc*-butilo

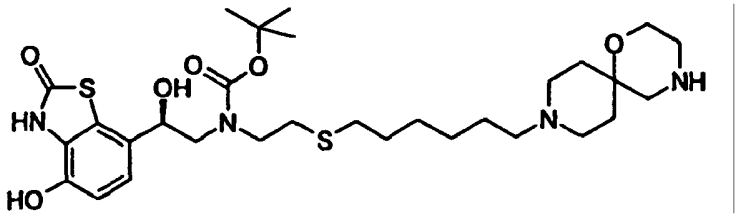


(*R*)-2-(6-Bromo-hexiltio)etil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 101, passo c) (0,55 g) foi combinado com sal de ácido trifluoroacético de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undec-4-il)-etanona (exemplo 101, passo e) (0,25 g) e trietilamina (0,26 mL) em acetonitrilo (20 mL) e aquecida a 80 °C durante 48 h. Os voláteis foram evaporados *in vacuo*. A purificação foi conseguida por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 10% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,10 g e 0,074 g (menos puro).

m/z 721 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 6,81 (s, 1 H), 6,69 (d, J = 8,21 Hz, 1 H), 3,80-3,74 (m, 2H), 3,65 (s, 2H), 3,58-3,54 (m, 1H), 3,52-3,47 (m, 1H), 3,11-2,94 (m, 4H), 2,51-2,41 (m, 6H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,80-1,59 (m, 8H), 1,50 (s, 9H), 1,46-1,25 (m, 6H). Um protão obscurecido pelo pico do solvente e três protões permutáveis não observados.

g) (*R*)-2-(6-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)hexiltio)etil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

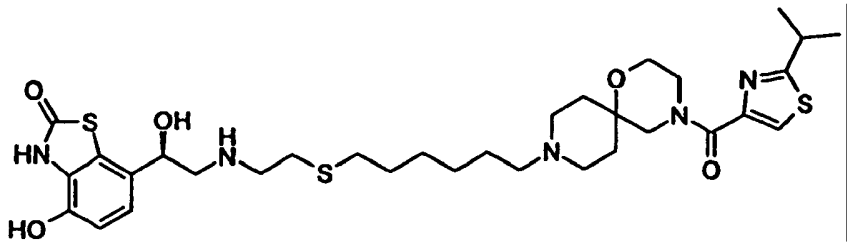


A uma solução, mantida sob agitação, de (*R*)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(2-(6-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)hexiltio)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 101, passo f) (0,18 g) em metanol (10 mL) foi adicionada uma solução de carbonato de potássio (0,06 g) em água (10 mL). A mistura foi agitada à TA durante 17 h, em seguida o metanol foi removido sob uma corrente de azoto. A solução foi diluída com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, extraída com acetato de etilo (x 3) e seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol e evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um vidro castanho. Rendimento 0,15 g.

m/z 625 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (300 MHz, D_4-MeOH) δ 6,94-6,82 (m, 1H), 6,73 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 3,66-3,59 (m, 2H), 3,51-3,40 (m, 2H), 2,80-2,69 (m, 4H), 2,66-2,62 (m, 2H), 2,55-2,40 (m, 8H), 2,04-1,94 (m, 2H), 1,62-1,56 (m, 8H), 1,55-1,21 (m, 13H). Um protão obscurecido pelo pico do solvente e quatro protões permutáveis não observados.

h) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(6-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)hexiltio)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



A uma solução (*R*)-2-(6-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)hexiltio)etil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 101, passo g) (0,093 g) em DMF (3 mL) foi adicionada trietilamina (0,062 mL) e ácido 2-isopropil-tiazole-4-carboxílico (0,025 g) seguido de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (0,079 g). A mistura resultante foi agitada à TA durante 4 h, em seguida foram adicionadas 4 gotas de amónia aquosa "880" e a mistura foi agitada durante 15 min. Foram adicionados solução aquosa saturada de cloreto de sódio e acetato de etilo à solução e as fases foram separadas, em seguida a fase orgânica foi extraída com acetato de etilo (x 2). A fase orgânica combinada foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em DCM (2 mL), em seguida foi adicionado ácido trifluoroacético (1 mL). A solução foi deixada em repouso à TA durante 40 min, em seguida foi adicionado tolueno (20 mL) e a mistura foi concentrada *in vacuo*. Foi adicionada uma quantidade adicional de tolueno e a mistura novamente concentrada antes do material ser submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em ácido fórmico

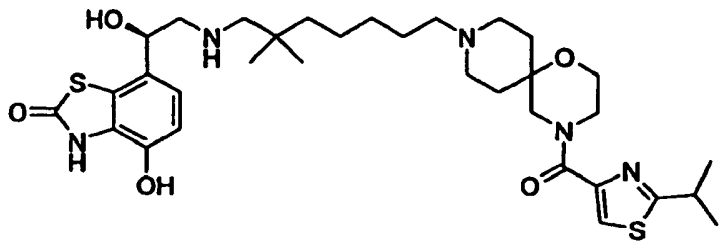
aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido incolor. Rendimento 0,016 g.

m/z 678 $(M+H)^+$

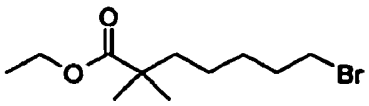
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 80 °C) δ 8,18 (s, 1H), 7,91 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,64-4,58 (m, 1H), 3,72-3,62 (m, 2H), 3,62-3,58 (m, 6H), 3,38- 3. 28 (m, 1H), 2,84-2,74 (m, 6H), 2,62-2,58 (m, 2H), 2,47-2,31 (m, 6H), 1,78-1,69 (m, 2H), 1,60-1,50 (m, 4H), 1,45-1,41 (m, 2H), 1,38 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 132-1,26 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 102

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(7-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetil-heptilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



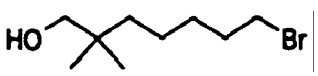
a) 7-Bromo-2,2-dimetil-heptanoato de etilo



A uma solução de diisopropilamina (5,82 mL) em THF (30 mL) foi adicionado n-butil-lítio (2,5 M em hexanos, 16,4 mL) a 0 °C e a mistura foi agitada durante 30 min a esta temperatura, antes de ter sido arrefecida até -78 °C. Foi adicionado, gota a gota, isobutirato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi agitada a -78 °C durante 1 h, antes da adição de 1,5-dibromopentano (5,61 mL). A mistura reaccional foi agitada a -78 °C durante 1 h, em seguida à TA durante 2,5 h, antes de ter sido vertida para solução saturada de cloreto de amónio. A solução foi extraída com acetato de etilo (x 2), em seguida os orgânicos combinados foram lavados com água e secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-25% de acetato de etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um líquido amarelo. Rendimento 4,45 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,08 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,41-3,33 (m, 2H), 1,91-1,77 (m, 2H), 1,61-1,44 (m, 2H), 1,52-1,24 (m, 2H), 1,21 (t, J = 7,1 Hz, 5H), 1,12 (s, 6H).

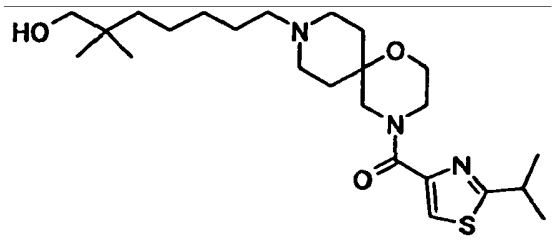
b) 7-Bromo-2,2-dimetil-heptan-1-ol



A uma solução de 7-bromo-2,2-dimetil-heptanoato de etilo (exemplo 102, passo a) (1,5 g) em éter dietílico seco (50 mL) a 0 °C sob N_2 foi adicionado hidreto de diisobutil-alumínio (1 M em tolueno, 12,5 mL) gota a gota. A mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 1 h, em seguida desactivada por adição de tartarato de potássio e sódio saturado (150 mL). A mistura foi agitada durante 1 h, em seguida extraída com acetato de etilo (x 3). Os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-25% de acetato de etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um líquido incolor. Rendimento 1,16 g.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3,41 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,32 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 1,93-1,82 (m, 2H), 1,47-137 (m, 2H), 1,35-1,20 (m, 4H), 0-91-0,81 (m, 6H). Um protão permutável não observado.

c) (9-(7-Hidroxi-6,6-dimetil-heptil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



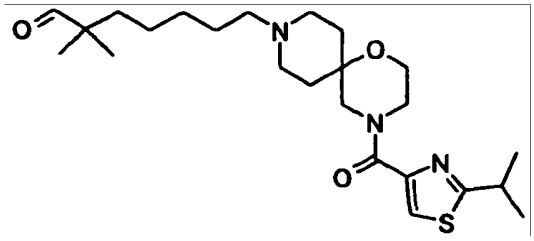
Trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,5 g) foi dissolvido em metanol e aplicado a um cartucho de

SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol e eluído com solução de amónia 2 M em metanol. O eluente foi evaporado *in vacuo* para proporcionar o material como uma base livre (0,29 g). A este material foi adicionado 7-bromo-2,2-dimetil-heptan-1-ol (exemplo 102, passo b) (0,26 g) em acetonitrilo (10 mL), em seguida trietilamina (0,27 mL) e a mistura resultante foi aquecida a 60 °C durante 17 h. Os voláteis foram evaporados *in vacuo* e o produto em bruto foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0%, em seguida 5%, em seguida 10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma incolor. Rendimento 0,29 g.

m/z 452 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 (s, 1H), 4,01-3,95 (m, 2H), 3,80-3,62 (m, 2H), 3,49 (s, 1H), 3,34-3,28 (m, 2H), 3,16-3,09 (m, 1H), 2,98-2,75 (m, 3H), 2,42-2,20 (m, 2H), 2,09 (m l, 2H), 1,95-1,82 (m, 2H), 1,47-1,40 (m, 8H), 1,34-1,21 (m, 8H), 0,85 (s, 6H). Um protão permutável não observado.

d) 7-(4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetil-heptanal



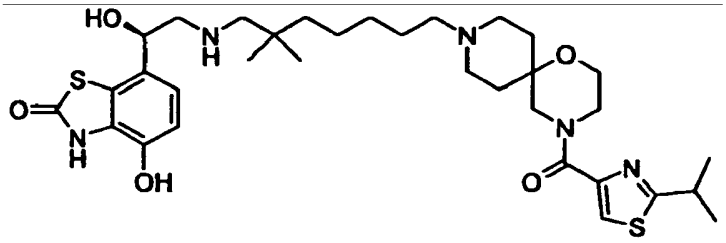
Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,048 mL) a uma solução de (9-(7-hidroxi-6,6-dimetil-heptil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 102, passo c) (0,28 g) em DCM (15 mL) a 0 °C sob árgon e a mistura agitada durante 5 min, antes da adição de periodinano de Dess-Martin (0,39 g). A mistura reaccional foi agitada à TA durante 1 h, em seguida foi desactivada por adição de solução saturada de bissulfito de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL), em seguida foi adicionado acetato de etilo e a mistura agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a solução aquosa foi extraída com acetato de etilo (x 2). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,053 mL) à fase orgânica, a qual foi então seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um óleo amarelo. Rendimento 0,33 g.

m/z 450 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,43 (s, 1 H), 7,86 (s, 1 H), 4,02-3,86 (m, 3 H), 3,82-3,67 (m, 4H), 3,36-3,26 (m, 2 H), 3,24-2,97 (m, 2H), 2,85-2,66 (m, 4H), 2,03 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 1,79-

1,60 (s, 2H), 1,48-1,35 (m, 8H), 1,34-1,19 (m, 4H), 1,06 (s, 6H).

e) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(7-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetil-heptilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



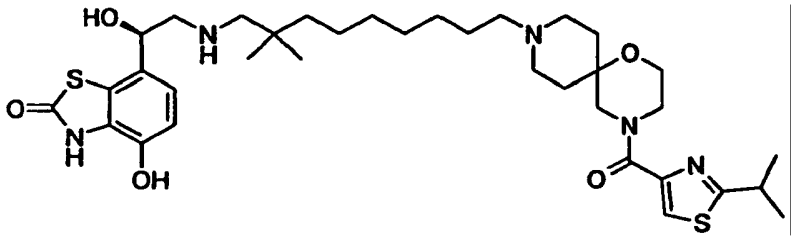
Foi adicionado ácido acético (0,053 mL) a uma mistura de 7-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-9-il)-2,2-dimetil-heptanal (exemplo 102, passo d) (0,33 g) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,25 g) com peneiros moleculares de 3 Å em metanol anidro (10 mL). A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida arrefecida até 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,13 g) e a mistura resultante foi agitada à TA durante 16,5 h. A solução foi filtrada em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água e purificado por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,1 g.

m/z 660 $(M+H)^+$

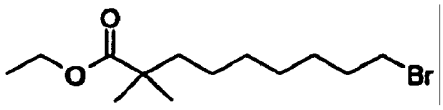
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,50 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,93 (dd, J = 9,5, 4,1 Hz, 1H), 3,92-3,56 (m, 6H), 3,37-3,26 (m, 1H), 3,10-2,66 (m, 10H), 2,11-1,96 (m, 2H), 1,84-1,57 (m, 4H), 1,38 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 1,29 (s, 6H), 0,96 (s, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 103

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 9-Bromo-2,2-dimetilnonanoato de etilo

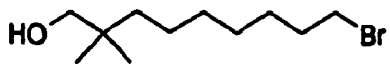


A uma solução de diisopropilamina (5,82 mL) em THF (30 mL) foi adicionado n-butil-lítio (2,5 M em hexanos, 16,4 mL) a 0 °C e a mistura foi agitada durante 30 min a esta temperatura antes de ter sido arrefecida até -78 °C. Foi adicionado gota a gota isobutirato de etilo (5 mL) e a mistura resultante foi agitada a -78 °C durante 1 h, antes da adição de 1,7-dibromo-heptano (6,4 mL). A mistura reaccional foi agitada a -78 °C durante 1 h

em seguida à TA durante 2 h, antes de ter sido vertida para solução saturada de cloreto de amónio. A solução foi extraída com acetato de etilo (x 2), em seguida os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de acetato de etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um líquido incolor. Rendimento 1,27 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,11 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,43-3,37 (m, 2H), 1,91-1,80 (m, 2H), 1,56-1,36 (m, 4H), 1,39-1,21 (m, 9H), 1,15 (s, 6H).

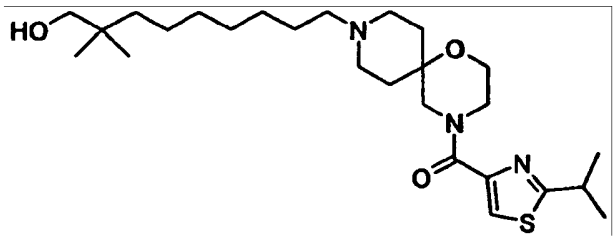
b) 9-Bromo-2,2-dimetilnonan-1-ol



A uma solução de 9-bromo-2,2-dimetilnonanoato de etilo (exemplo 103, passo a) (1,27 g) em éter dietílico seco (40 mL) a 0 °C sob N_2 foi adicionado, gota a gota, hidreto de diisobutil-alumínio (1 M em tolueno, 9,5 mL). A mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 1,25 h, em seguida desactivada por adição de solução saturada de tartarato de potássio e sódio (150 mL). A mistura foi agitada durante 15 min, em seguida extraída com acetato de etilo (x 3), em seguida os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-25% de acetato de etilo em ciclo-hexano para dar o composto em subepígrafe como um líquido incolor. Rendimento 0,56 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) β 3,41 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,31 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 1,91-1,79 (m, 2H), 1,47-1,39 (m, 2H), 1,34-1,21 (m, 8H), 0,86 (s, 6H). Um protão permutável não observado.

c) (9-(9-Hidroxi-8,8-dimetilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

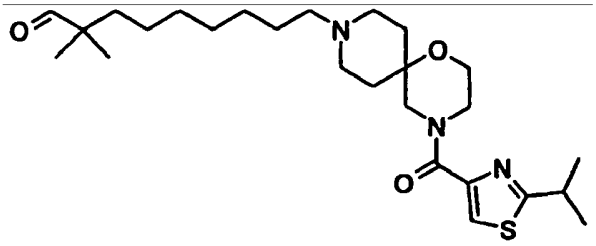


Trifluoroacetato de 2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,5 g) foi dissolvido em metanol e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol e eluído com solução de amónia 2 M em metanol. O eluente foi evaporado *in vacuo* para proporcionar o material como uma base livre (0,26 g). A este material Foi adicionado 9-bromo-2,2-dimetilnonan-1-ol (exemplo 103, passo b) (0,25 g) em acetonitrilo (10 mL) e trietilamina (0,23 mL) e a mistura resultante foi aquecida a 60 °C durante 15 h. Os voláteis foram evaporados *in vacuo* e o produto em bruto purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe impuro como uma goma incolor que foi repurificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido esbranquiçado. Rendimento 0,37 g.

m/z 480 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 (s, 1H), 4,08-3,91 (m, 1H), 3,80-3,75 (m, 3H), 3,45-3,32 (m, 2H), 3,35-3,30 (m, 2H), 3,06-2,84 (m, 3H), 2,48-2,31 (m, 2H), 2,17-2,03 (m, 2H), 1,96-1,83 (m, 2H), 1,66-1,51 (m, 4H), 1,43 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 1,39-1,31 (m, 4H), 1,30-1,16 (m, 6H), 0,86 (s, 6H). Um protão permutável não observado.

d) 9-(4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetilnonanal



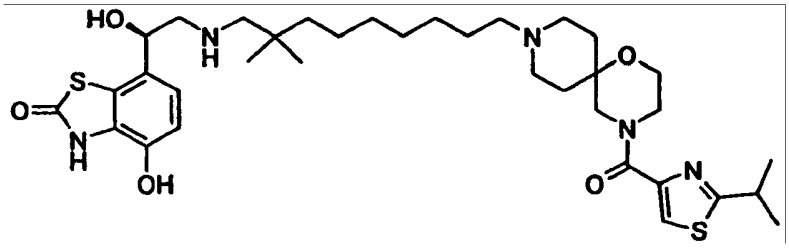
Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,059 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxi-8,8-dimetilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 103, passo c) (0,37 g) em DCM (20 mL) a 0 °C sob árgon e a mistura agitada durante 5 min, antes da adição de periodinano de Dess-Martin (0,49 g). A mistura reaccional foi agitada à TA durante 1,25 h, em seguida foi desactivada por adição de solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL), em seguida foi adicionado acetato de etilo e a mistura agitada durante 5 min. As fases foram separadas e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (x 2). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio. Foi

adicionado ácido acético (0,066 mL) à fase orgânica, a qual foi em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe em bruto como um óleo amarelo. Rendimento 0,40 g.

m/z 478 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,46-9,41 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 4,05-3,89 (m, 3H), 3,82-3,67 (m, 5H), 3,36-3,26 (m, 3H), 2,87-2,79 (m, 4H), 2,09-2,02 (m, 2H), 1,77-1,65 (m, 2H), 1,47-1,36 (m, 10H), 1,32-1,13 (m, 6H), 1,03 (s, 6H).

e) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido acético (0,066 mL) a uma mistura de 9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2,2-dimetilnonanal (exemplo 103, passo d) (0,4 g) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,3 g) com peneiros moleculares de 3 Å em metanol anidro (10 mL). A mistura foi agitada durante 5 min, em seguida arrefecida até 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,16 g) e a mistura resultante foi agitada à

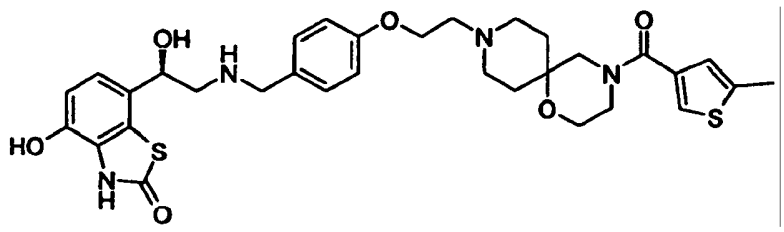
TA durante 16,5 h. A solução foi filtrada, em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de acetonitrilo e água e purificado por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,10 g.

m/z 688 $(M+H)^+$

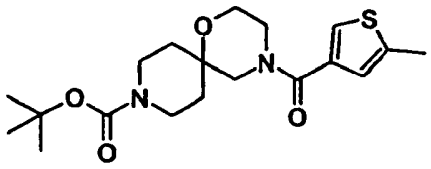
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,51 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 6,92 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,70 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,93-4,88 (m, 1H), 3,92-3,53 (m, 6H), 3,32-3,25 (m, 1H), 3,11-2,52 (m, 10H), 1,98 (s, 2H), 1,82-1,48 (m l, 3H), 1,37 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 1,38-1,31 1 (m, 5 M, 1,30-1,22 (m, 6H), 0,91 (s, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 104

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



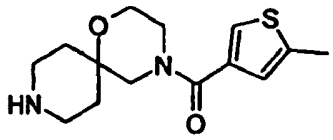
a) 4-(5-Metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametilurónio (0,91 g) a uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,5 g), ácido 5-metil-tiofeno-3-carboxílico (0,243 g) e trietilamina (0,95 mL) em DMF (10 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 16 h. A mistura reaccional foi vertida para solução aquosa saturada de cloreto de sódio (40 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (150 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (150 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,34 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,23 (s, 1H), 6,81 (s, 1H), 3,72 (s, 6H). 3,46 (s, 3H), 3,15 (s, 3H), 2,49 (d, J = 1,1 Hz, 3H), 1,82 (d l, J = 13,5 Hz, 2H), 1,45 (s, 9H).

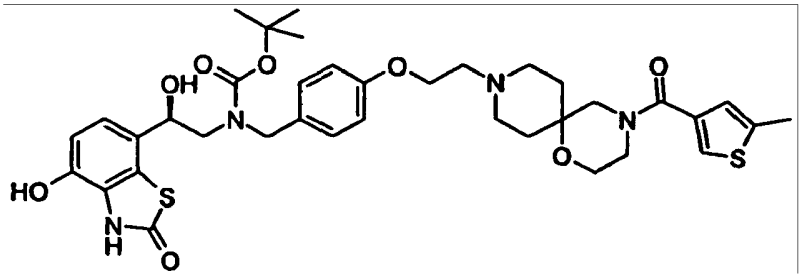
b) (5-Metiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (2,5 mL) a uma solução de 4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 104, passo a) (0,34 g) em DCM (10 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 45 minutos e deixada em repouso de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. Foi adicionado tolueno (3 x 25 mL) e a mistura evaporada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em metanol (20 mL) e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com metanol. O cartucho foi lavado com metanol (40 mL) e eluído com solução de amónia 2 M em metanol (20 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,25 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,50 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 3,67-3,57 (m. 2H), 3,49 (s, 2H), 3,38 (s, 4H), 2,68 (s, 2H), 2,45 (d, J = 1,1 Hz, 3H), 1,57 (s, 2H), 1,37 (s, 2H). Um protão permutável não observado.

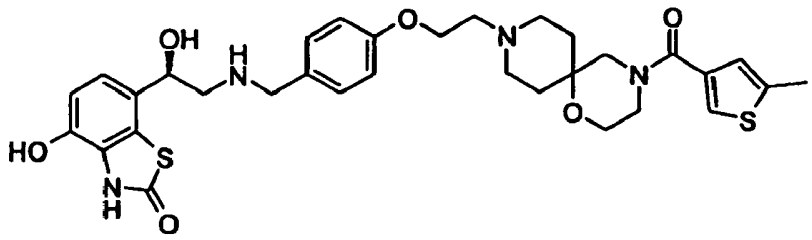
c) (*R*)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo



Foi adicionada trietilamina (0,25 mL) a uma solução de (5-metiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-metanona (exemplo 104, passo b) (0,195 g) em acetonitrilo (2,5 mL). Esta solução foi adicionada a uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)-metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (0,5 g) em acetonitrilo (2,5 mL). A mistura resultante foi aquecida a 80 °C durante 48 horas. A mistura reaccional foi evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano para dar o composto em subepígrafe como um sólido creme. Rendimento 0,33 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, D_4-MeOH) δ 7,42 (s, 1H), 7,07 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 6,85 (d, J = 13,0 Hz, 4H), 6,70 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,28 (s, 1H), 4,12 (s, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,66-3,48 (m, 5H), 3,38-3,29 (m, 5H), 2,90 (s, 2H), 2,80-2,55 (m, 4H), 2,48 (s, 3H), 1,94-1,89 (m, 1 H), 1,44 (s, 4H), 1,37 (s, 6H). Três protões permutáveis não observados.

d) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



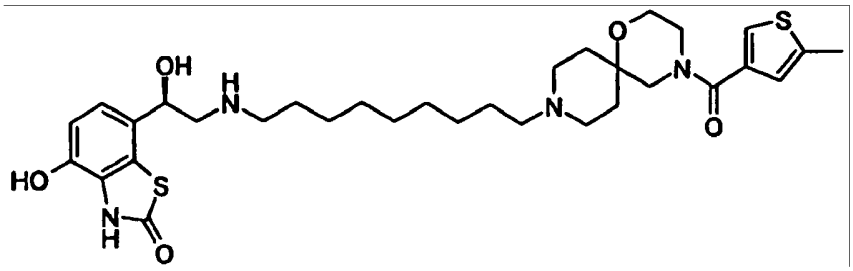
Foi adicionado ácido trifluoroacético (1,2 mL) a uma solução de (*R*)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)-carbamato de *terc*-butilo (exemplo 104, passo c) (0,33 g) em DCM (5 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 10 minutos. Foi adicionado tolueno (20 mL) e a mistura foi evaporada *in vacuo*. O resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com tolueno (3 x 20 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,12 g.

m/z 639 $(M+H)^+$

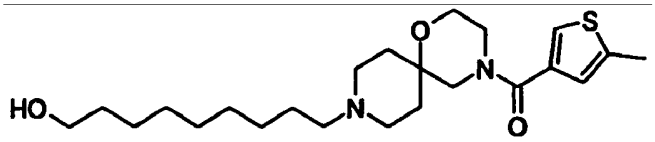
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,13 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,22 (d, J = 8,34 Hz, 2H), 6,88-6,78 (m, 4H), 6,66 (d, J = 8,27 Hz, 1H), 4,65 (m, 1H), 4,09-4,00 (m, 2H), 3,85-3,77 (m, 3H), 3,67-3,60 (m, 4H), 3,56-3,47 (m, 2H), 2,81-2,63 (m, 5H), 2,49-2,36 (m, 5H), 1,77-1,67 (m, 2H), 1,59-1,37 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 105

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



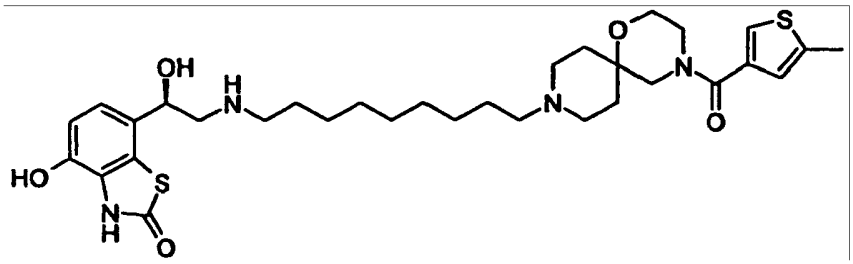
a) (9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-3-il)metanona



Foi adicionada uma solução de 9-bromo-1-nonanol (0,335 g) em acetonitrilo (3 mL) a uma solução de (5-metiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 104, passo b) (0,28 g) e trietilamina (0,278 mL) em acetonitrilo (7 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C de um dia para o outro. A mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* e o resíduo foi retomado em DCM (30 mL), lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 15 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) 8 7,54 (s, 1H). 6,91 (s, 1H), 4,32 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,66 (s, 2H), 3,52 (s, 2H), 3,41-3,33 (m, 3H), 2,95 (s, 4H), 2,45 (d, J = 1,1 Hz, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,64 (s, 4H), 1,40 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,26 (s, 11H). Um protão permutável não observado.

b) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(5-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,055 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-3-il)metanona (exemplo 105, passo a) (0,3 g) em DCM (15 mL) a 0 °C sob árgon. A mistura resultante foi agitada durante 5 min e em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,45 g). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h, em seguida desactivada por adição de solução saturada de tiossulfato de sódio (14 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (14 mL), em seguida foi adicionado acetato de etilo (30 mL) e a mistura agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 40 mL). Foi adicionado ácido acético (0,159 mL) às camadas orgânicas combinadas, as quais foram secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O óleo amarelo foi dissolvido em metanol seco (15 mL). Foi

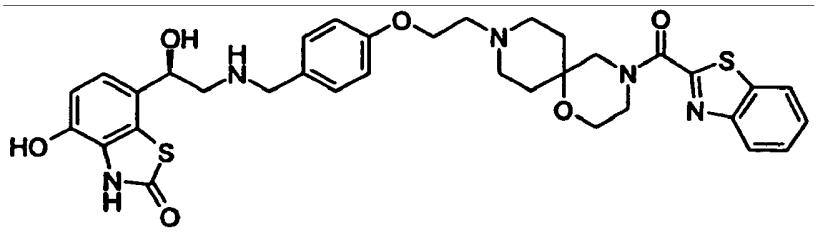
adicionado cloridrato (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxi-benzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,28 g), seguido de ácido acético (0,061 mL) e peneiros moleculares de 3 Å. Depois de agitar durante 5 min à temperatura ambiente, a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,15 g) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 18 h. A mistura reaccional foi filtrada e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,07 g.

m/z 631 $(M+H)^+$

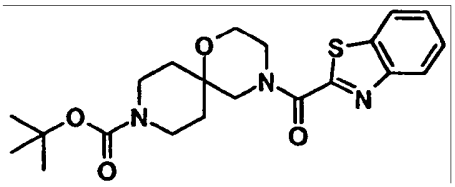
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,24 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 6,85-6,80 (m, 2H), 6,67 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,67 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 3,63-3,21 (m, 6H), 2,75 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 2,63 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,40 (d, J = 1,1 Hz, 3H), 2,38-2,16 (m, 6H), 1,70-1,61 (m, 2H), 1,47-1,29 (m, 6H), 1,19 (s, 10H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 106

Formato de (*R*)-7-(2-(4-(2-(4-(benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 4-(Benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

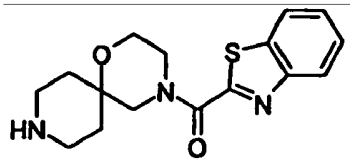


Foi adicionado hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametilurónio (1,45 g) a uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,8 g), ácido 1,3-benzotiazol-2-carboxílico (0,588 g) e trietilamina (1,51 mL) em DMF (15 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 16 h. O volume de DMF foi reduzido *in vacuo* e a mistura reaccional foi partilhada entre água (30 mL) e acetato de etilo (30 mL). A camada orgânica foi lavada com água (30 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL), seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano para

dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,83 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,23-8,09 (m, 2H), 7,63-7,52 (m, 2H), 4,34 (s, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,78 (s, 2H), 3,71 (s, 1H), 3,64-3,51 (m, 3H), 3,08 (s, 2H), 1,76 (d, J = 13,7 Hz, 2H), 1,55-1,34 (m, 11H).

b) Benzo[d]tiazol-2-il(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

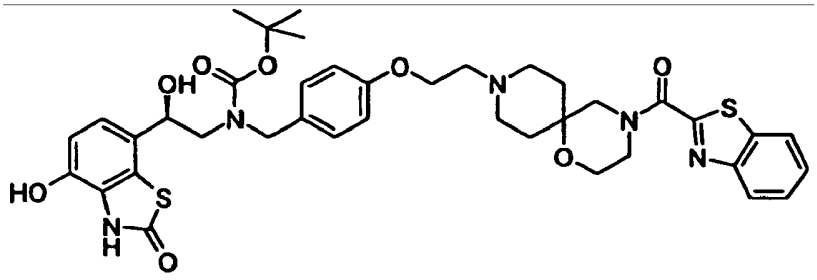


Foi adicionado ácido trifluoroacético (5 mL) a uma solução de 4-(benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 106, passo a) (0,83 g) em DCM (15 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 25 minutos. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em DCM:metanol (1:1) (5 mL) e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com DCM:metanol (1:1). O cartucho foi lavado com metanol (60 mL) e eluído com solução de amónia 2 M em metanol (40 mL). O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,57 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,18-8,13 (m, 1H), 8,10-8,07 (m, 1H), 7,60-7,50 (m, 2H), 4,25 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 4,17 (s, 1H), 4,04 (s, 1H), 3,70 (s, 2H), 3,65 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 3,56

(s, 1H), 2,73-2,46 (m, 4H), 1,62-1,54 (m, 2H), 1,50-1,36 (m, 2H).

c) (*R*)-4-(2-(4-(Benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

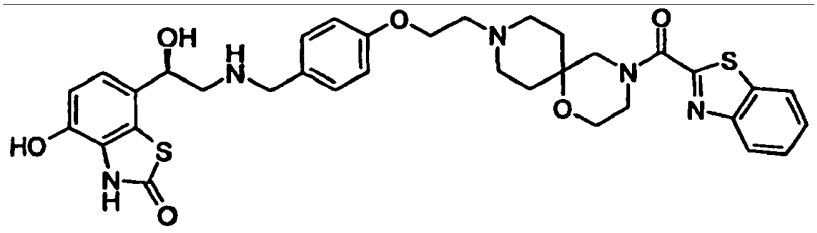


Foi adicionada trietilamina (0,25 mL) a uma solução de benzo[d]tiazol-2-il(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-metanona (exemplo 106, passo b) (0,22 g) em acetonitrilo (2,5 mL). Esta solução foi adicionada a uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)-metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (0,5 g) em acetonitrilo (2,5 mL). A mistura resultante foi aquecida a 80 °C durante 48 horas. A mistura reaccional foi evaporada *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano para dar o composto em subepígrafe como uma espuma creme. Rendimento 0,34 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 11,49 (s, 1H), 9,93 (s, 1H), 8,21 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,64-7,56 (m, 2H), 7,07 (s, 2H), 6,93-6,79 (m, 2H), 6,78-6,67 (m, 2H),

5,68 (s, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,35-4,22 (m, 3H), 4,07 (s, 4H), 3,76 (s, 2H), 3,70 (s, 1H), 3,62 (s, 1H), 3,17 (s, 6H), 2,67 (s, 2H), 1,77 (s, 1H), 1,62 (s, 1H), 1,35 (s, 3H), 1,27 (s, 6H). Um protão permutável não observado.

d) Formato de (*R*)-7-(2-(4-(2-(4-(benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil-amino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



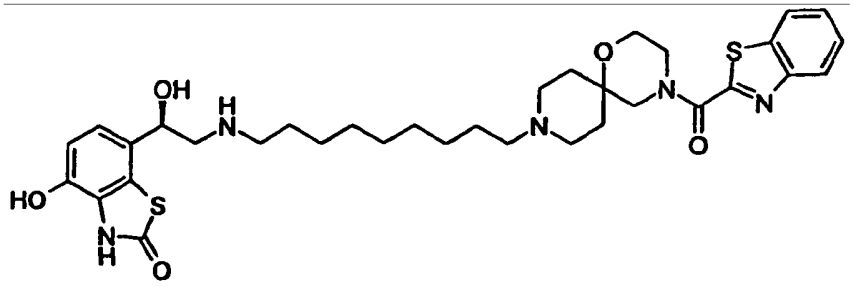
Foi adicionado ácido trifluoroacético (1,25 mL) a uma solução de (*R*)-4-(2-(4-(benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 106, passo c) (033 g) em DCM (4 mL) e a mistura resultante foi agitada durante 10 minutos. Foi adicionado tolueno (20 mL) e a mistura foi evaporada *in vacuo*. O resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com tolueno (3 x 20 mL). A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,096 g.

m/z 676 $(M+H)^+$

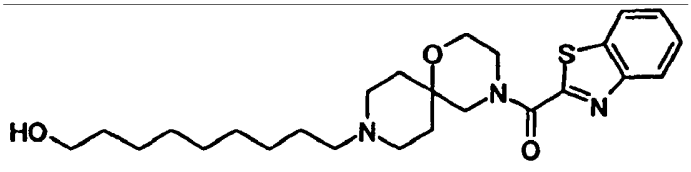
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,44 (s, 1H); 8,09-8,00 (m, 2H); 7,58-7,48 (m, 2H); 7,37 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 7,00 (t, J = 9,4 Hz, 2H); 6,91 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,71 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,93-4,88 (m, 1H); 4,43-3,38 (m, 1H); 437-4,34 (s, 1H); 4,27-4,20 (m, 2H); 4,14 (s, 2H); 3,87-3,82 (m, 2H); 3,81-3,76 (m, 1H); 3,71 (s, 1H); 3,20-3,11 (m, 2H); 3,12-3,01 (m, 4H); 2,96-2,82 (m, 2H); 2,10-2,01 (m, 2H); 1,88-1,76 (m, 2H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 107

Formato de (*R*)-7-(2-(9-(4-(benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) Benzo[d]tiazol-2-il(9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

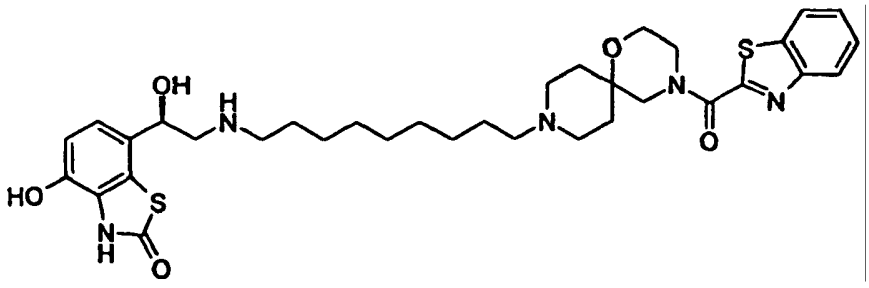


Foi adicionada uma solução de 9-bromo-1-nonanol (0,335 g) em acetonitrilo (3 mL) a uma solução de benzo[d]tiazol-2-il(1-

oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 106, passo b) (0,34 g) e trietilamina (0,278 mL) em acetonitrilo (7 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C de um dia para o outro. A mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* e o resíduo foi retomado em DCM (30 mL), lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 15 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,34 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,22 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,65-7,56 (m, 2H), 4,37 (s, 1H), 4,31 (t, J = 5,1 Hz. 1H), 4,27 (s, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,72 (s, 1H), 3,63 (s, 1H), 3,41-3,33 (m, 2H), 2,99 (s, 4H), 2,10 (s, 2H), 1,86 (s, 2H), 1,64 (s, 2H), 1,40 (s, 3H), 1,27 (s, 11H).

b) Formato de (*R*)-7-(2-(9-(4-(benzo[d]tiazole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2-(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,056 mL) a uma solução de benzo[d]tiazol-2-il(9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 107, passo a)

(0,33 g) em DCM (15 mL) a 0 °C sob árgon. A mistura resultante foi agitada durante 5 min e em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,46 g). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (14 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (14 mL) e AcOEt (30 mL) e a mistura foi agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 40 mL). Foi adicionado ácido acético (0,159 mL) às camadas orgânicas combinadas, as quais foram secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O óleo amarelo foi dissolvido em MeOH seco (15 mL). Foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,28 g), seguido de ácido acético (0,062 mL) e peneiros moleculares de 3 Å. Depois de agitar durante 5 min à temperatura ambiente, a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C. Foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,5 g) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 18 h. A mistura reaccional foi filtrada e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini® Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,14 g.

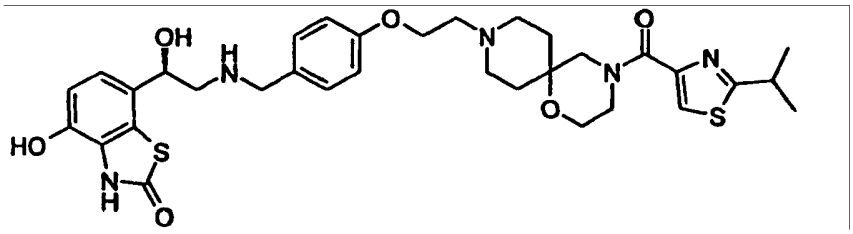
m/z 668 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,23 (s, 1H), 8,17-8,14 (m, 1H), 8,09 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,60-7,49 (m, 2H), 6,84 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,29 Hz, 1H), 4,74-4,64 (m, 1H), 4,29-4,24 (m, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,72-3,62 (m, 3H), 3,56 (s, 1H), 2,79 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 2,69-2,62 (m, 2H), 2,42-2,13 (m,

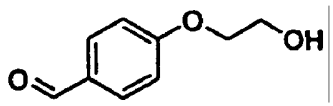
6H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,63-1,30 (m, 6H), 1,19 (d, J = 9,6 Hz, 10H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 108

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 4-(2-Hidroxietoxi)benzaldeído

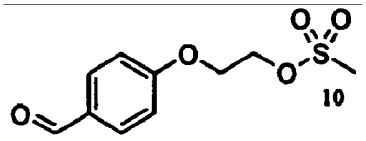


Foram sucessivamente adicionados 2-bromoetanol (5,8 mL) e carbonato de potássio (11,3 g) a uma solução de 4-hidroxibenzaldeído (5,0 g) em MeCN (100 mL). A mistura resultante foi agitada e aquecida a refluxo durante 3 dias sob árgon. A mistura reaccional foi arrefecida até à TA e partilhada entre AcOEt (100 mL) e solução aquosa de NaOH 1 M (100 mL). A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL). As camadas aquosas foram combinadas e extraídas com AcOEt (50 mL). As camadas orgânicas foram combinadas, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas

in vacuo para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 6,4 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,90 (s, 1H), 7,87-7,81 (m, 2H), 7,06-6,98 (m, 2H), 4,18 (dd, J = 5,0, 4,0 Hz, 2H), 4,04-3,97 (m, 2H), 2,18-1,96 (m, 1H).

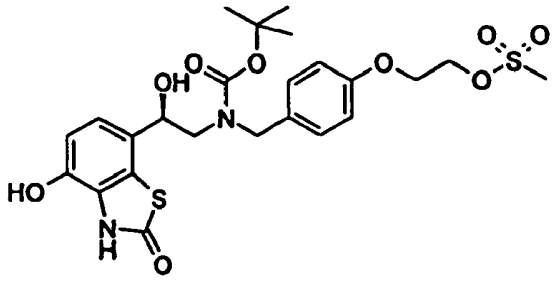
b) Metanossulfonato de 2-(4-formilfenoxi)etilo



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 5 min, cloreto de metanossulfonilo (3,3 mL) a uma solução de 4-(2-hidroxietoxi)benzaldeído (exemplo 108, passo a) (6,4 g) e trietilamina (6,4 mL) em DCM (30 mL) a 0 °C sob árgon. A mistura resultante foi agitada a 0 °C durante 10 min e em seguida à TA durante 1 h. A mistura reaccional foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 30 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 40-50% de AcOEt em éter de petróleo (40-60 °C) para dar o composto em subepígrafe como um óleo viscoso amarelo. Rendimento 8,87 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,92-9,87 (m, 1H), 7,89-7,81 (m, 2H), 7,05-6,98 (m, 2H), (m, 2H), 4,36-4,32 (m, 2H), 3,10 (s, 3H).

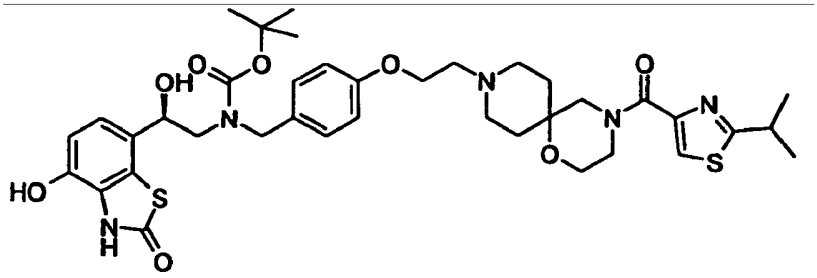
c) Metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[*d*]tiazol-7-il)etil)amino)metil)fenoxi)etilo



Uma mistura de metanossulfonato de 2-(4-formilfenoxi)etilo (exemplo 108, passo b) (1,7 g), cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (2,0 g) e ácido acético (0,44 mL) em DMF seca (40 mL) foi agitada à TA durante 15 min na presença de peneiros moleculares de 4 Å. A mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (2,2 g) em 4 porções em intervalos de 2 min. A mistura resultante foi agitada à TA durante 1 h. Foi adicionado dicarbonato de di-*terc*-butilo (1,8 g) à mistura reaccional, a qual foi agitada durante 2 h. Foram adicionados solução saturada de bicarbonato de sódio (100 mL) e AcOEt (100 mL) e a mistura foi agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com AcOEt (x 4). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-80% de AcOEt em éter de petróleo (40-60 °C) para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 2,25 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,05 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,80 (d, J = 8,0 Hz, 3H), 6,70 (d, J = 8,0 Hz,1H), 4,81 (s l, 1H), 4,54 (t, J = 4,3 Hz, 2H), 4,34-4,26 (m, 1H), 4,24-4,08 (m, 3H), 3,57-3,42 (m, 1H), 3,33-3,23 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 1,49 (s, 9H). Três protões permutáveis não observados.

d) (*R*)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo



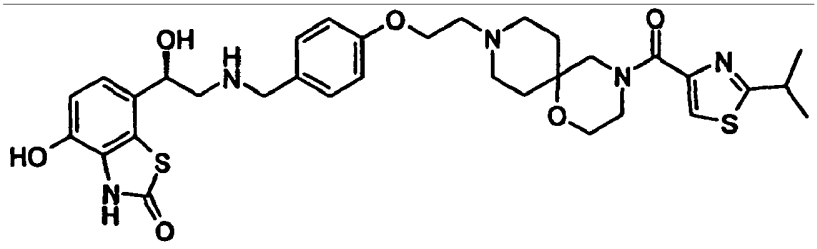
Uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (0,295 g) em MeCN (1,1 mL) foi adicionada gota a gota a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,150 g) e trietilamina (0,11 mL) em MeCN (1,1 mL) à TA sob árgon. A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 34 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM, lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (x 2), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O sólido amarelo foi purificado por

cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-5% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido verde. Rendimento 0,135 g.

m/z 768 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,86 (s, 1H), 6,83 (s l, 2H), 6,71-6,46 (m, 4H), 4,78 (s l, 1H), 4,46-2,51 (m, 19H), 1,90 (s l, 4H), 1,53 (s, 9H), 1,39 (s, 3H), 1,29 (s, 3H). Três protões permutáveis não observados.

e) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,7 mL) a uma solução de (*R*)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)-etil(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)-carbamato de *terc*-butilo (exemplo 108, passo d) (0,122 g) em DCM (1,5 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 10 min. Foi adicionado tolueno (15 mL) e a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo*. O resíduo foi submetido duas vezes a evaporação azeotrópica com MeCN. O resíduo amarelo viscoso foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de

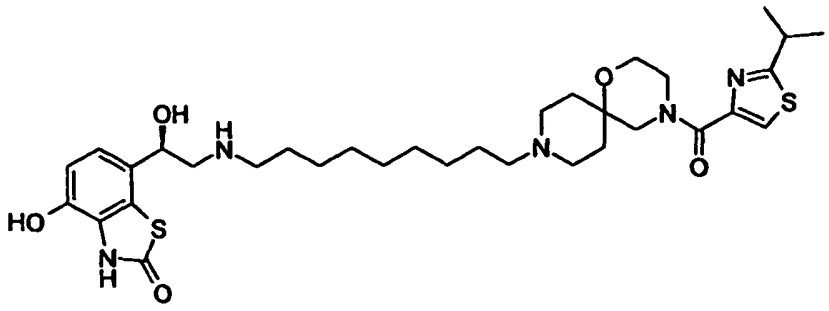
acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,052 g.

m/z 668 $(M+H)^+$

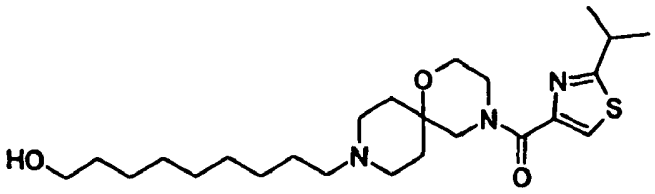
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,47 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,36 (d, J = 8,19 Hz, 2H), 6,98 (s, 2H), 6,91 (d, J = 8,36 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 8,30 Hz, 1H), 4,90 (dd, J = 9,4, 4,1 Hz, 1H), 4,18 (s, 2H), 4,11 (s, 2H), 3,75 (s, 5H), 3,63 (s, 1H), 3,40 (m, 1H), 3,19-2,80 (m, 8H), 1,95 (s, 2H), 1,75 (s, 1H), 1,65 (s, 1H), 1,38 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 109

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



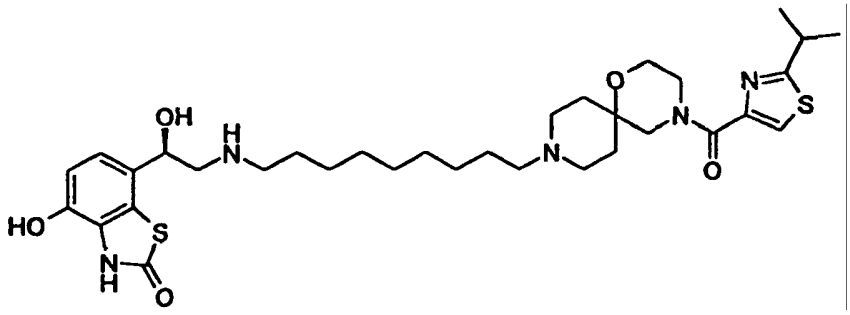
a) (9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Foi adicionada uma solução de 9-bromo-1-nonanol (0,316 g) em MeCN (3 mL) a uma solução de trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 22, passo b) (0,40 g) e trietilamina (0395 mL) em MeCN (7 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 16 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM, lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (x 2), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O sólido laranja foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido esbranquiçado. Rendimento 0,325 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 (s, 1H), 3,97 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,63 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,36 (s, 3H), 2,92 (s, 4H), 2,25 (s, 2H), 2,14-2,03 (m, 2 H), 1,84 (s, 2H), 1,63 (s, 2H), 1,60-1,50 (m, 2H), 1,42 (d, J = 6,8 Hz, 6 H), 1,42-1,21 (m, 10 H).

b) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,027 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9 diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 109, passo a) (0,16 g) em DCM (6,3 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi agitada durante 5 min e em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,225 g). A mistura foi agitada à TA durante 45 min. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (6 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (6 mL) e AcOEt (36 mL) e a mistura foi agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 40 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (40 mL), tratadas com ácido acético (0,067 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O óleo viscoso laranja foi dissolvido em MeOH seco (6,6 mL) e foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,138 g), seguido de ácido acético (0,03 mL) e peneiros moleculares de 3 Å. Depois de agitar durante 5 min à TA, a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,075 g). A mistura foi agitada à TA durante 1 h, em

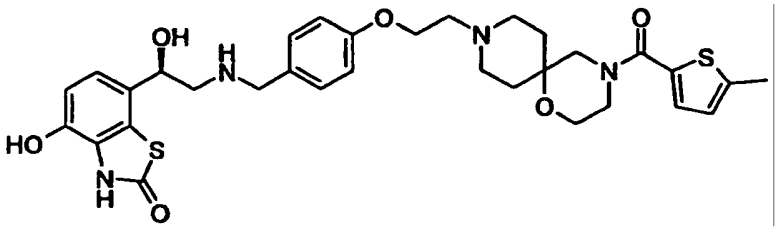
seguida foi adicionada outra porção de triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,075 g) e a mistura foi agitada à TA durante mais 16 h. A mistura reaccional foi filtrada e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,060 g.

m/z 660 $(M+H)^+$

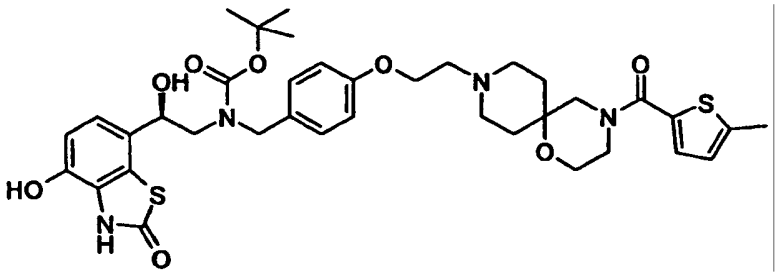
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,52 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 6,94 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,52 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,98-4,89 (m, 1H), 3,90-3,58 (m, 6H), 3,37-3,25 (m, 1H), 3,15-3,02 (m, 3H), 3,01-2,93 (m, 3H), 2,91-2,65 (m, 4H), 2,10-1,96 (m, 2H), 1,83-1,54 (m, 6H), 1,41-1,28 (m, 16H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 110

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (*R*)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo

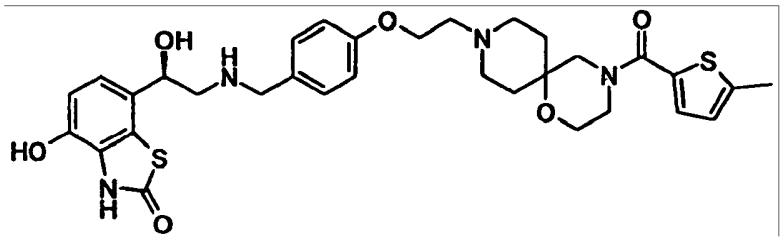


Uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (0,426 g) em MeCN (2 mL) foi adicionado gota a gota a uma solução de trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 9, passo b) (0,154 g) e trietilamina (0,15 mL) em MeCN (5 mL) à TA sob árgon. A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 16 h, e em seguida a 80 °C durante mais 3 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM, lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e água (x 2), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O sólido castanho foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 0,246 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,11 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,89 (s, 2H), 6,70-6,59 (m, 4H), 6,51 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,20-4,10 (m, 4H), 3,74 (s, 4H), 3,59-3,44 (m, 4H), 2,93-

2,77 (m, 4H), 2,61 (s, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,93-1,84 (m, 2H), 1,74-1,60 (m, 2H), 1,52 (s, 9H). Três protões permutáveis não observados.

b) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,75 mL) a uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)metil)fenoxi)etilo (exemplo 110, passo a) (0,243 g) em DCM (3 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 10 min. Foi adicionado tolueno (30 mL) e a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* (x 3). O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,65 g.

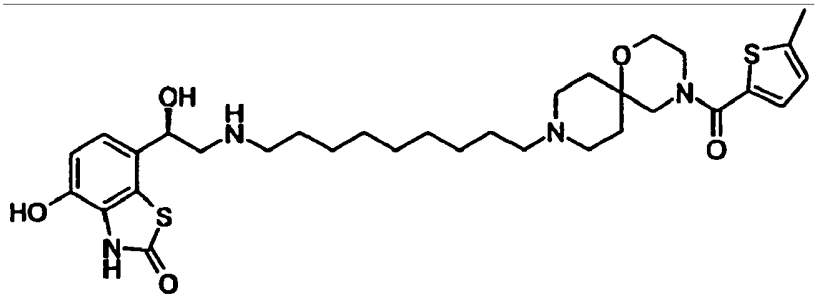
m/z 639 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,44 (s, 1 H), 7,40-7,35 (m, 2 H), 7,19 (d, J = 3,7 Hz, 1 H), 7,02-6,97 (m, 2 H), 6,92 (d,

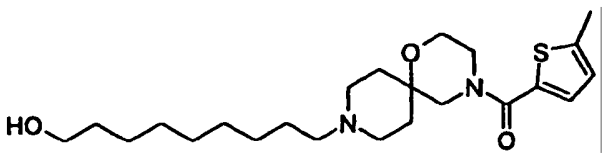
J = 8,36 Hz, 1 H), 6,78-6.,76 (m, 1 H), 6,71 (d, J = 8,30 Hz, 1 H), 4,93-4,88 (m, 1 H), 4,21 (t, J = 5,17 Hz, 2 H), 4,13 (s, 2 H), 3,76-3,70 (m, 4 H), 3,61 (s, 2 H), 3,11-3,07 (m, 2 H), 3,07-3,01 (m, 2 H), 3,03-2,91 (m, 2 H), 2,88-2,76 (m, 2 H), 2,47 (d, J = 1,0 Hz, 3 H), 2,02-1,93 (m, 2 H), 1,74-1,61 (m, 2 H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 111

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona

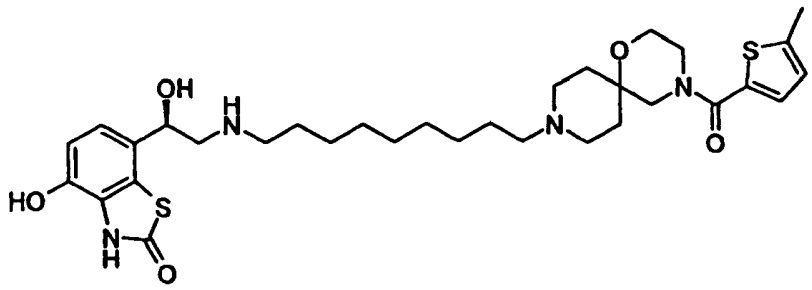


Foi adicionada uma solução de 9-bromo-1-nonanol (0,314 g) em MeCN (3 mL) a uma solução de trifluoroacetato de (5-metiltiofen-2-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)-metanona (exemplo 9, passo b) (0,263 g) e trietilamina

(0,261 mL) em MeCN (7 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 16 h. Depois de arrefecer até à TA, o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM, lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (x 2), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O sólido branco foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0352 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,10 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,71 (dd, J = 3,6, 1,2 Hz, 1H), 3,73 (s, 4H), 3,66-3,60 (m, 4H), 3,22 (s, 2H), 2,84 (s, 3H), 2,50 (d, J = 1,0 Hz, 3H), 2,15 (s, 1H), 2,11-1,97 (m, 2H), 1,83 (s, 2H), 1,61-1,50 (m, 3H), 1,32 (s, 11H). Um protão permutável não observado.

b) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,064 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(5-metiltiofen-2-il)metanona (exemplo 111, passo a) (0,350 g) em DCM (15 mL) a 0 °C. A mistura resultante foi agitada durante 5 min e em seguida foi adicionado periodinano de

Dess-Martin (0,527 g). A mistura foi agitada à TA durante 1 h. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (14 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (14 mL) e AcOEt (30 mL) e a mistura foi agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 40 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (40 mL), tratadas com ácido acético (0,159 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O óleo amarelo foi dissolvido em MeOH seco (15,6 mL) e foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,327 g), seguido de ácido acético (0,071 mL) e peneiros moleculares de 3 Å. Depois de agitar durante 5 min à TA, a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,176 g) e a mistura foi agitada à TA durante 1 h. Foi adicionada outra porção de triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,075 g) e a mistura foi agitada à TA durante 17 h. A mistura reaccional foi filtrada e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,127 g.

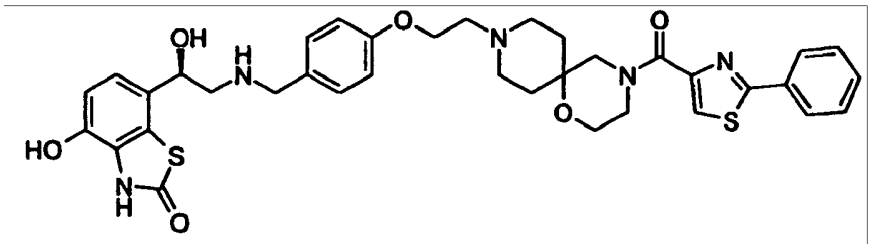
m/z 631 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,49 (s, 1H), 7,20 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,79-6,76 (m, 1H), 6,73 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,97-4,91 (m, 1H), 3,76-3,72 (m, 4H), 3,62 (s, 2H), 3,20-3,04 (m, 4H), 3,03-2,93 (m, 3H), 2,95-2,84 (m, 3H), 2,47 (d, J = 1,0 Hz, 3H), 2,11-2,01 (m, 2H), 1,80-1,62

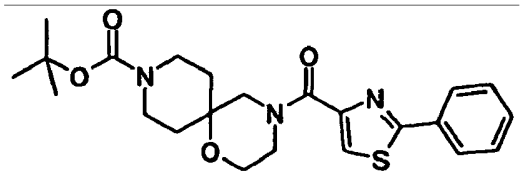
(m, 6H), 1,40-1,31 (m, 10H). Cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 112

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 4-(2-Feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo

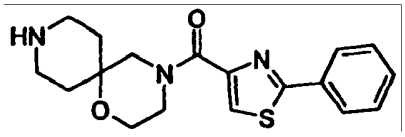


Uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,60 g) em DMF (11 mL) foi tratada com trietilamina (1,1 mL), seguida de ácido 2-fenil-1,3-tiazole-4-carboxílico (0,421 g) e em seguida hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametilurónio (1,09 g). A mistura resultante foi agitada à TA durante 7 h. A DMF foi

removida *in vacuo*. O resíduo foi retomado em AcOEt (50 mL) e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 30 mL), água (30 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O óleo castanho foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido castanho. Rendimento 0,857 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,00 (s, 1H), 7,92 (s, 2H), 7,47 (d, J = 4,1 Hz, 3H), 4,13-3,96 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,73 (s, 2H), 3,29-3,13 (m, 2H), 1,94-1,83 (m, 2H), 1,62-1,51 (m, 3H), 1,45 (s, 9H).

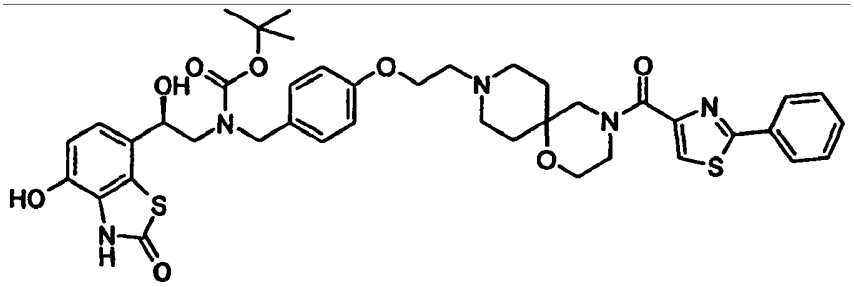
b) (2-Feniltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (3,8 mL) a uma solução de 4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 112, passo a) (0,85 mg) em DCM (15,2 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 1 h. Foi adicionado tolueno (30 mL) e a mistura foi evaporada *in vacuo*. O resíduo amarelo foi dissolvido em MeOH e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com MeOH. O cartucho foi lavado com MeOH e eluído com amónia 2 M em MeOH. O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo castanho. Rendimento 0,629 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,98 (s, 1H), 7,95-7,90 (m, 2H), 7,49-7,44 (m, 3H), 4,07 (s l, 1H), 3,99 (s l, 1H), 3,88-3,79 (m, 3H), 3,70 (s l, 1H), 3,02-2,81 (m, 3H), 2,80-2,69 (m, 1H), 1,83 (d, J = 13,7 Hz, 2H), 1,70-1,44 (m, 2H). Um protão permutável não observado.

c) (*R*)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo

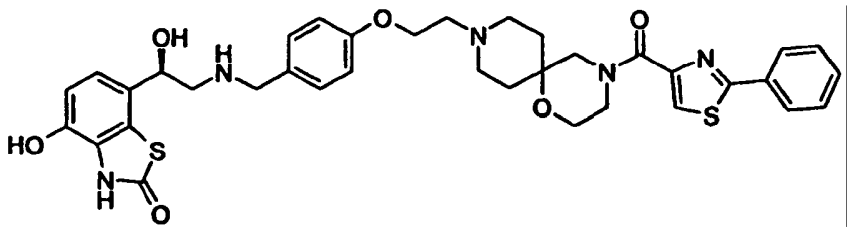


Foi adicionada, gota a gota, uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)-metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (0,619 g) em MeCN (3 mL) a uma solução de (2-feniltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 112, passo b) (0,274 g) e trietilamina (0,22 mL) em MeCN (7,3 mL) à TA sob árgon. A mistura resultante foi agitada a 80 °C sob árgon durante 16 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM, lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e água, seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-70%

de AcOEt em éter de petróleo (40-60 °C) para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 0,42 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,04-7,95 (m, 1H), 7,94-7,79 (m, 2H), 7,50-7,41 (m, 2H), 7,40-7,28 (m, 1H), 7,02-6,81 (m, 2H), 6,70-6:37 (m, 3H), 4,84-4,70 (m, 1H), 4,25-3,92 (m, 6H), 3,87-3,75 (m, 3H), 3,74-3,58 (m, 2H), 3,57-3,36 (m, 2H), 2,99-2,77 (m, 3H), 2,76-2,43 (m, 3H), 2,01-1,86 (m, 2H), 1,84-1,58 (m, 2H), 1,52 (s, 9H). Três protões permutáveis não observados.

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (1,2 mL) a uma solução de (*R*)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-dihidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)-carbamato de *terc*-butilo (exemplo 112, passo c) (0,415 g) em DCM (4,7 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 15 min. Foi adicionado tolueno (40 mL) e a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* (x 2). O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram

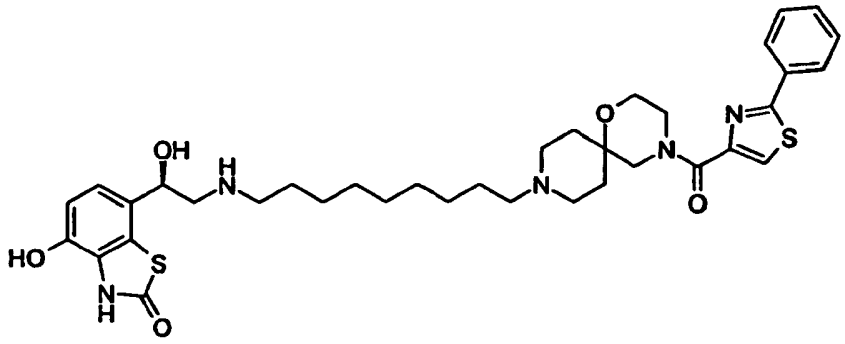
combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,176 g.

m/z 702 $(M+H)^+$

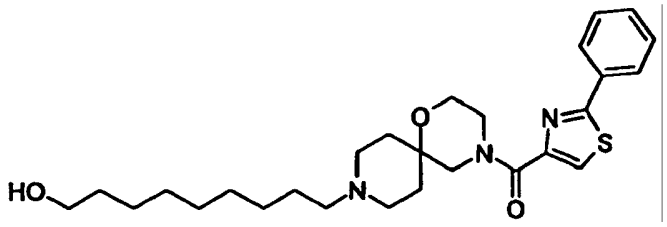
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,07 (s, 1H), 7,94 (s l, 2H), 7,51-7,39 (m, 5H), 7,06 (s l, 2H), 6,93 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,92-4,88 (m, 1H), 4,38 (s l, 2H), 4,24-4,14 (m, 2H), 4,03-3,49 (m, 10H), 338-3,28 (m, 2H), 3,08-3,00 (m, 2H), 233-2,22 (m, 2H), 1,87 (s l, 2H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 113

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



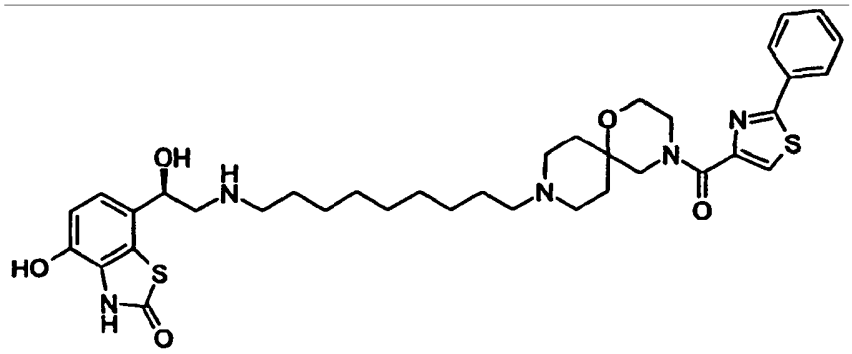
a) (9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-feniltiazol-4-il)metanona



Foi adicionada uma solução de 9-bromo-1-nonanol (0,346 g) em MeCN (3 mL) a uma solução de (2-feniltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 112, passo b) (0,355 g) e trietilamina (0,288 mL) em MeCN (7 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 17 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM, lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (x 2), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O óleo amarelo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-7% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,378 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,02 (s, 1H), 8,00-7,87 (m, 2H), 7,57 (s, 1H), 7,49-7,42 (m, 2H), 4,16-4,08 (m, 2H), 3,81 (s, 4H), 3,72 (s l, 1H), 3,63 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,33-2,64 (m, 6H), 2,25-2,04 (m, 3H), 1,79 (s, 3H), 1,61-1,50 (m, 3H), 1,39-1,25 (m, 9H).

b) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-feniltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,059 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(2-feniltiazol-4-il)metanona (exemplo 113, passo a) (0,373 g) em DCM (14 mL) a -0 °C. A mistura resultante foi agitada durante 5 min e em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,489 g). A mistura foi agitada à TA durante 1 h. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (14 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (14 mL) e AcOEt (30 mL) e a mistura foi agitada durante 5 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 30 mL). As camadas orgânicas combinadas foram tratadas com ácido acético (0,148 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O óleo amarelo foi dissolvido em MeOH seco (15 mL) e foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,303 g), seguido de ácido acético (0,066 mL) e peneiros moleculares de 3 Å. Depois de agitar durante 5 min à TA, a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,163 g) e a mistura foi agitada à TA durante 18 h. A

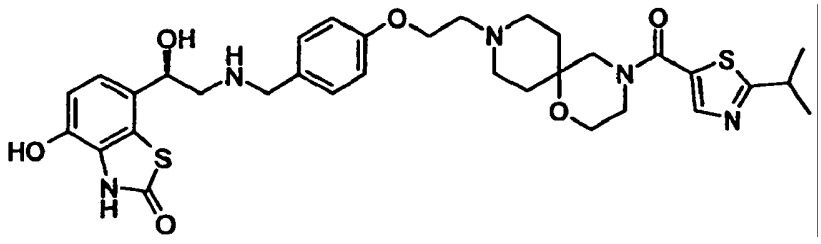
mistura reaccional foi filtrada e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,118 g.

m/z 694 $(M+H)^+$

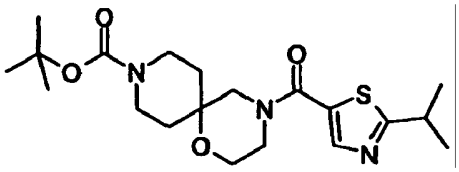
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,31 (s, 1H), 7,97 (s l, 1H), 7,99-7,91 (m, 2H), 7,51-7,44 (m, 3H), 6,95 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,97-4,89 (m, 1H), 3,99-3,86 (m, 2H), 3,85-3,63 (m, 4H), 3,14-3,01 (m, 2H), 3,00-2,91 (m, 3H), 2,90-2,56 (m, 4H), 2,12-1,97 (m, 2H), 1,85-1,47 (m, 6H), 1,43-1,22 (m, 10H). Um protão obscurecido pelo solvente e cinco protões permutáveis não observados.

Exemplo 114

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



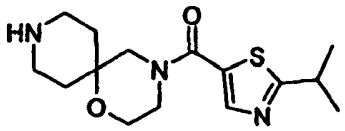
a) 4-(2-Isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Uma solução de cloridrato de 1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (WuXi PharmaTech) (0,694 g) em DMF (13 mL) foi tratada com trietilamina (1,3 mL), seguida de ácido 2-isopropiltiazole-5-carboxílico (exemplo 55, passo b) (0,406 g) e em seguida hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio (1,26 g). A mistura resultante foi agitada à TA durante 16 h. A DMF foi removida *in vacuo*. O resíduo foi retomado em AcOEt (40 mL) e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 40 mL), água (40 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (40 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O óleo viscoso laranja foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-7% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um óleo viscoso laranja. Rendimento 0,765 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,80 (s, 1H), 3,75 (d, J = 3,2 Hz, 6H), 3,55 (d, J = 4,3 Hz, 2H), 3,36-3,28 (m, 1H), 3,15 (s, 2H), 1,89-1,78 (m, 2H), 1,58 (s, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,42 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

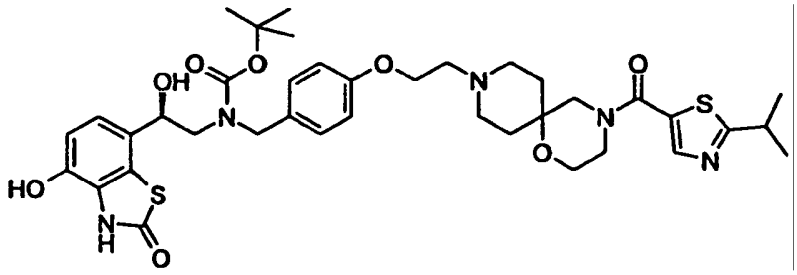
b) (2-Isopropiltiazol-5-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (3,9 mL) a uma solução de 4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo (exemplo 113, passo a) (0,765 g) em DCM (14,8 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 1 h. Foi adicionado tolueno (30 mL) e a mistura foi evaporada *in vacuo*. O resíduo amarelo foi dissolvido em MeOH e aplicado a um cartucho de SCX pré-humedecido com MeOH. O cartucho foi lavado com MeOH e eluído com amónia 2 M em MeOH. O eluente foi evaporado *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,552 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81 (s, 1H), 3,79-3,71 (m, 4H), 3,64-3,44 (m, 2H), 3,36-3,26 (m, 1H), 2,96-2,87 (m, 2H), 2,85-2,73 (m, 2H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,59 (s, 2H), 1,42 (d, J = 6,9 Hz, 6H). Um protão permutável não observado.

c) (*R*)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo

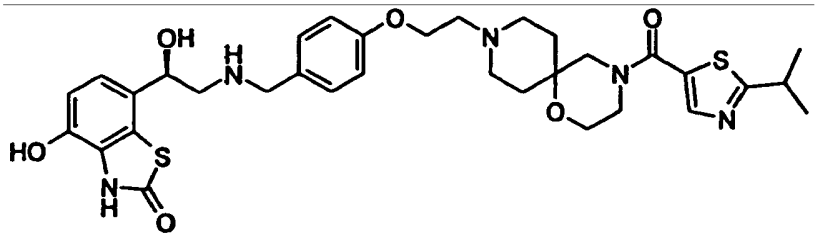


Foi adicionada, gota a gota, uma solução de metanossulfonato de (*R*)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)-metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (0,575 g) em MeCN (3 mL) a uma solução de (2-isopropiltiazol-5-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 114, passo b) (0,229 g) e trietilamina (0,2-1 mL) em MeCN (7,3 mL) à TA sob árgon. A mistura resultante foi agitada a 80 °C sob árgon durante 16 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM (25 mL), lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL) e água (20 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-8% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 0,395 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,69 (s, 1 H), 7,01-6,83 (s, 2 H), 6,70-6,62 (m, 3 H), 6,57-6,47 (m, 1 H), 4,79 (s, I H), 4,25-4,06 (m, 3 H), 3,77-3,63 (m, 4 H), 3,57-3,39 (m, 4H), 3,34-3,26 (m, 2H), 2,90 (s, 4 H), 2,61 (s, 2 H), 1,95-1,85 (m, 2 H), 1,63

(s, 2H), 1,51 (s, 9 H), 1,45-1,37 (m, 6 H). Três protões permutáveis não observados.

d) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (1,2 mL) a uma solução de (R)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo-[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 114, passo c) (0,39 g) em DCM (4,7 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 15 min. Foi adicionado tolueno (30 mL) e a mistura reaccional foi evaporada *in vacuo* (x 3). O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente 5-40% de acetonitrilo em ácido trifluoroacético aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,201 g.

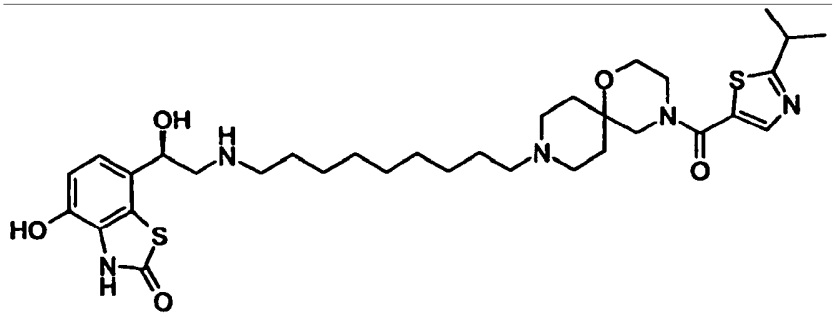
m/z 668 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 7,91 (s, 1H), 7,42 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,06 (d, J = 8,6 Hz, 2H). 6,93 (d, J = 8,3 Hz,

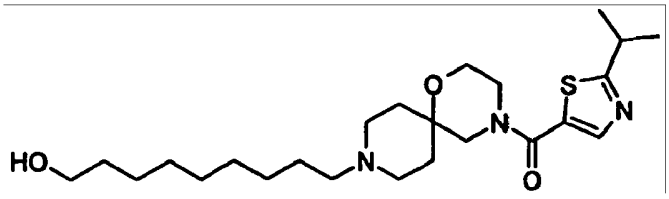
1H), 6,71 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,91-4,88 (m, 1H), 4,38 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 4,24-4,15 (m, 2H), 3,82-3,71 (m, 5H), 3,66-3,57 (m, 4H), 3,56-3,48 (m, 2H), 3,38-3,25 (m, 1H), 3,08-3,00 (m, 2H), 2,29-2,17 (m, 2H), 2,12-1,93 (s l, 1H), 1,88-1,73 (m, 2H), 1,38 (d, J = 6,7 Hz , 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 115

Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(9-Hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-5-il)metanona

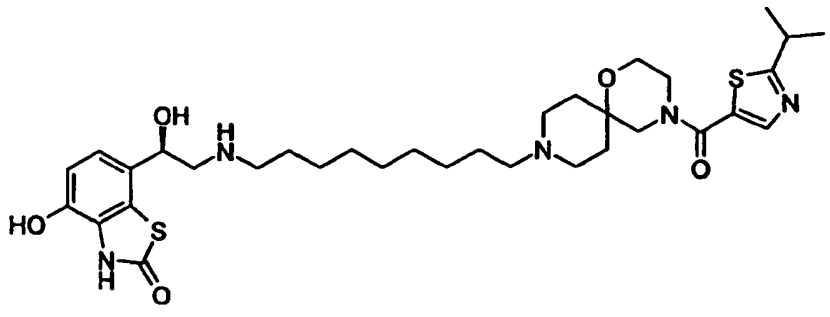


Foi adicionada uma solução de 9-bromo-1-nonanol (0,446 g) em MeCN (3,9 mL) a uma solução de (2-isopropiltiazol-5-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (exemplo 114,

passo b) (0,395 g) e trietilamina (0,36 mL) em MeCN (8,6 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 16 h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi retomado em DCM (25 mL), lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL) e água (20 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH em DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,329 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81 (s, 1H), 3,74 (s, 4H), 3,63 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,36-3,26 (m, 1H), 3,10-2,49 (m, 5H), 2,03-1,91 (m, 3H), 1,68 (s, 2H), 1,61-1,50 (m, 3H), 1,43 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 1,36-1,29 (m, 11H). Um protão permutável não observado.

b) Formato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazo-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,055 mL) a uma solução de (9-(9-hidroxinonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-5-il)metanona (exemplo 115, passo a) (0,325 g) em DCM (13 mL) a 0 °C sob

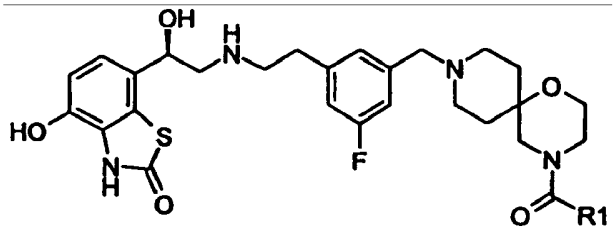
árgon. A mistura resultante foi agitada durante 5 min e em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,458 g). A mistura foi agitada à TA durante 1,5 h. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (14 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (14 mL) e AcOEt (28 mL) e a mistura foi agitada durante 10 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 20 mL). A camada orgânica combinada foi tratada com ácido acético (0,16 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O óleo amarelo foi dissolvido em MeOH seco (15 mL) e foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,284 g), seguido de ácido acético (0,062 mL) e peneiros moleculares de 3 Å. Depois de agitar durante 5 min à TA, a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,153 g) e a mistura foi agitada à TA durante 16 h. A mistura reaccional foi filtrada e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por HPLC (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,090 mg.

m/z 660 $(M+H)^+$

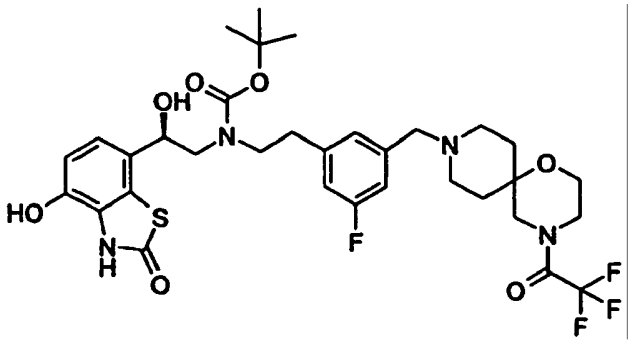
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH) δ 8,50 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 6,95 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,96-4,90 (m, 1H), 3,79-3,68 (m, 4H), 3,64-3,55 (m, 2H), 3,38-3,26 (m, 1H), 3,11-3,05 (m, 2H), 3,04-2,92 (m, 4H), 2,86-2,69 (m, 4H), 2,07-2,04 (m, 2H), 1,76-1,55 (m, 6H), 1,39-1,36 (m, 7H), 1,36-1,31 (m, 9H). Cinco protões permutáveis não observados.

pEC_{50} e Actividade Intrínseca. A Actividade Intrínseca é exprimida como uma fracção em relação à actividade máxima determinada para o formoterol em cada experiência.

Exemplos 116-182



a) (*R*)-3-Fluoro-5-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

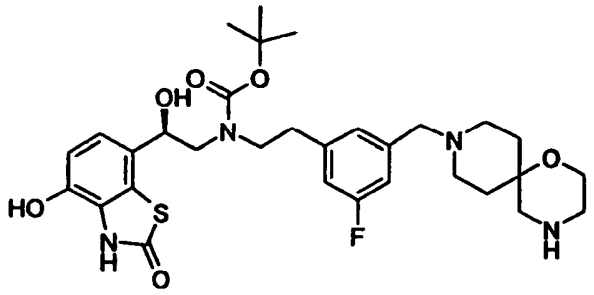


Uma solução de 2,2,2-trifluoro-1-(9-(3-fluoro-5-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 41, passo c) (0,8 g) em diclorometano (50 mL) a 20 °C foi tratada com ácido trifluoroacético (0,152 mL) seguido de periodinano de Dess-Martin (1,091 g) e a mistura resultante foi agitada a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi tratada com tiossulfato de sódio aquoso

saturado (20 mL), bicarbonato de sódio aquoso saturado (20 mL) e acetato de etilo (30 mL) e vigorosamente agitada durante 5 minutos. A mistura foi extraída com acetato de etilo (x2), os orgânicos combinados foram lavados com bicarbonato de sódio aquoso, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (3 mL) e adicionado a uma solução de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona, HCl (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,780 g) em metanol (20 mL) com ácido acético (0,113 mL). Esta mistura foi tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,186 g) e agitada durante 2 horas a 20 °C. Foi adicionada trietilamina (0,69 mL) seguida de dicarbonato de di-*terc*-butilo (0,689 mL) e a agitação continuou durante 2 horas a 20 °C. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 10% de metanol em diclorometano com 1% de amónia aquosa concentrada. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,7 g.

m/z 713,3 $(M+H)^+$

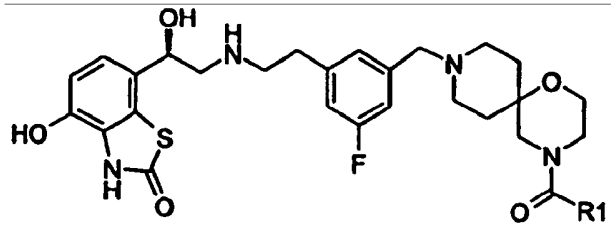
b) *(R)*-3-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenetil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo



Uma solução de (R)-3-fluoro-5-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplos 116-182, passo a) (0,7 g) em solução aquosa de amónia a 35% (15 mL) foi deixada em repouso a 20 °C durante 40 minutos. A mistura reaccional foi evaporada até metade do seu volume inicial sob pressão reduzida. Foi adicionada água (10 mL) e esta solução foi feita passar através de um cartucho de sílica C18 de 10 g que tinha sido pré-humedecido com água. A coluna foi purgada com água (20 mL). A coluna foi então purgada com metanol (50 mL) para retirar o produto. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo (x2) para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,580 g.

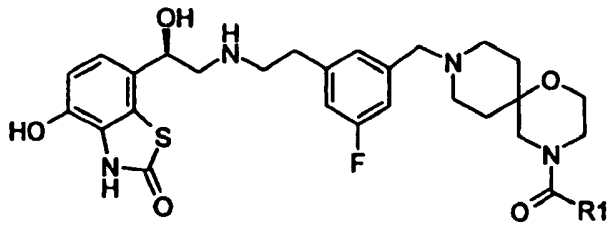
m/z 617 $(M+H)^+$

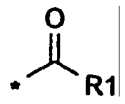
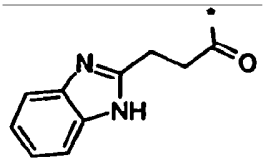
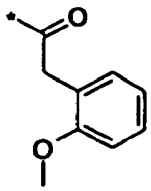
c) Síntese Paralela – Preparação dos Exemplos 116-182



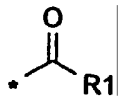
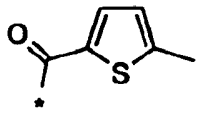
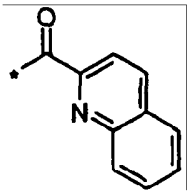
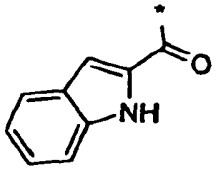
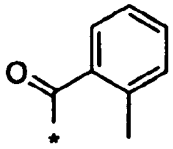
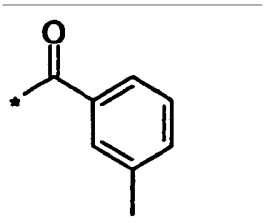
Uma solução de (R)-3-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)-5-fluorofenetil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplos 116-182, passo b) (496 mg) e trietilamina (244 mg) em NMP (2,4 mL) foi distribuída como alíquotas de 30 uL de volume total. A cada alíquota foi adicionado uma solução do ácido apropriado (0,01 mmol) em NMP (80 uL) seguida de uma solução de HATU (4,9 mg) em NMP (30 uL). A mistura reaccional foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 18 horas. Foi adicionado acetonitrilo (800 uL) e a solução foi feita passar através de resina "Tosic-65" (350 mg). A resina foi lavada com acetonitrilo (800 uL) e as lavagens combinadas recolhidas e feitas novamente passar através da resina "Tosic-65". A resina foi então lavada com acetonitrilo (3 mL). Foi feita passar uma solução de amónia em metanol (2,5 mL de uma solução 3,5 M) através da resina e as lavagens resultantes evaporadas sob uma corrente de azoto gasoso. O resíduo foi dissolvido em ácido fórmico (250 uL) e a mistura deixada em repouso à temperatura ambiente durante 18 horas. Foi adicionado acetonitrilo (600 uL) e a solução feita passar através de resina "Tosic-65" (350 mg). A resina foi lavada com acetonitrilo (800 uL) e as lavagens combinadas recolhidas e feitas novamente passar através da resina "Tosic-65". A resina foi então lavada com acetonitrilo (3 mL). Foi feita passar uma solução de amónia em metanol (2,5

mL de uma solução 3,5 M) através da resina e as lavagens resultantes evaporadas sob uma corrente de azoto gasoso. Foi adicionado DMSO (200 uL) ao resíduo e a solução resultante feita passar através de uma coluna preparativa C18 "Sunfire" (19 x 50 mm) utilizando uma gradiente de eluição de concentração de acetonitrilo contra TFA aquoso a 0,1% para purificação. As fracções contendo o produto foram evaporadas para produzir os compostos em epígrafe.

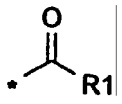
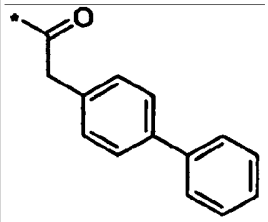
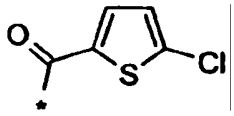
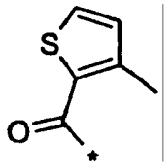
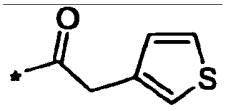
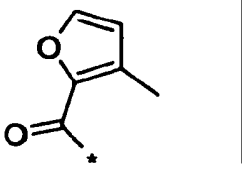


Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
116	(R)-7-(2-(3-((4-(3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		689,4	0,97
117	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(2-metoxifenil)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		665,3	1,14

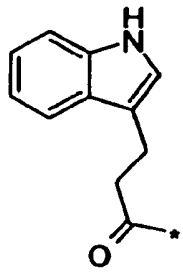
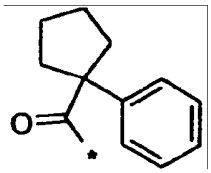
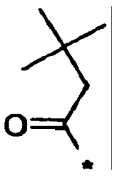
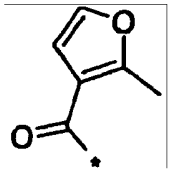
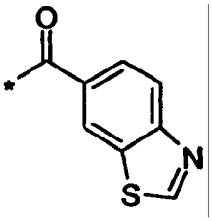
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
118	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-metiltiofeno-2-carbonil)-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		641,3	1,1
119	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(quinolina-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		672,3	1,11
120	(R)-7-(2-(3-((4-(1H-indole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,3	1,19
121	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metilbenzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		635,3	1,07
122	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(3-metilbenzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		635,3	1,1

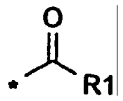
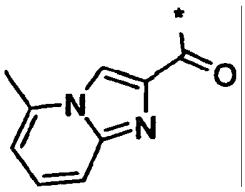
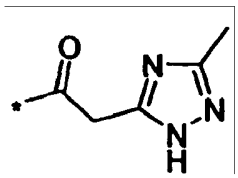
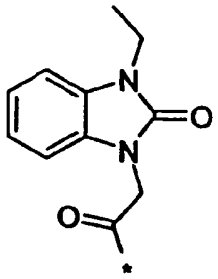
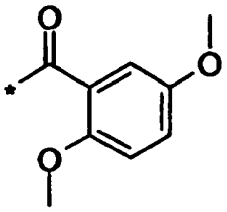
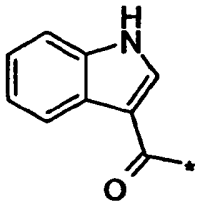
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
123	(R)-7-(2-(3-((4-(2-(bifenil-4-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		711,4	1,25
124	(R)-7-(2-(3-((4-(5-clorotiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		661,2	1,16
125	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(3-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		641,3	1
126	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(tiofen-3-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		641,3	0,98
127	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(3-metilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		625,3	1,1

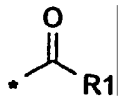
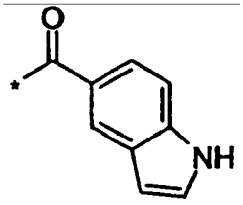
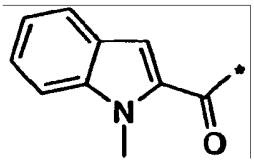
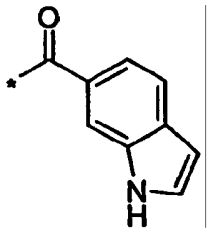
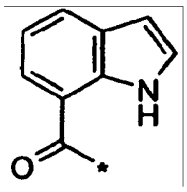
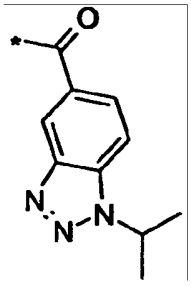
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
128	(R)-7-(2-(3-((4-(3-(1H-indol-3-il)propanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		688,4	1,03
129	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(1-fenilciclopentanocarbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		689,5	1,1
130	(R)-7-(2-(3-((4-(3,3-dimetilbutanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil) 5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		615,4	1,1
131	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metilfurano-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		625,3	1,1
132	(R)-7-(2-(3-((4-(benzo[d]tiazole-6-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		678,3	1,02

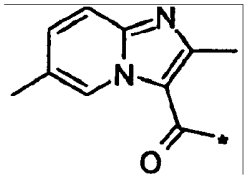
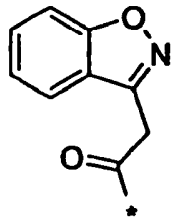
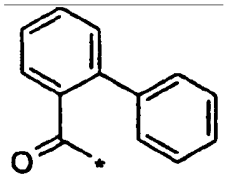
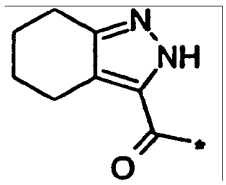
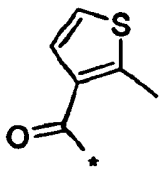
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
133	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-metilimidazo[1,2-a]piridina-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		675,3	0,98
134	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(3-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		640,4	0,9
135	(R)-7-(2-(3-((4-(2-(3-etil-2-oxo-2,3-di-hidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		719,4	1,16
136	(R)-7-(2-(3-((4-(2,5-dimetoxibenzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		681,3	1,11
137	(R)-7-(2-(3-((4-(1H-indole-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,3	1,09

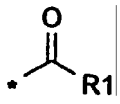
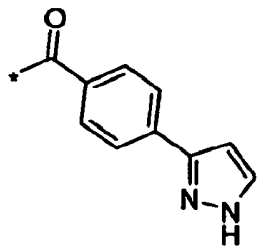
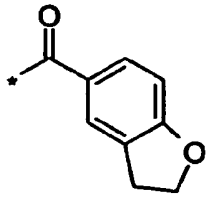
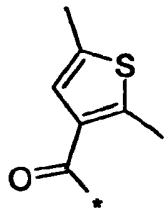
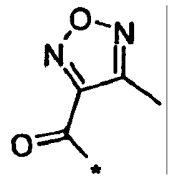
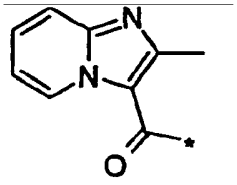
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
138	(R)-7-(2-(3-((4-(1H-indole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,3	1,05
139	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(1-metil-1H-indole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		674,3	1,09
140	(R)-7-(2-(3-((4-(1H-indole-6-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,3	1,11
141	(R)-7-(2-(3-((4-(1H-indole-7-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,3	1,13
142	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(1-isopropil-1H-benzo[d][1,2,3]triazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		704,4	1,04

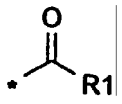
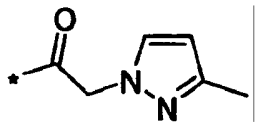
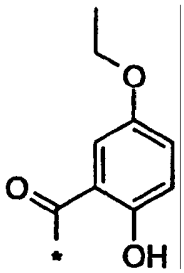
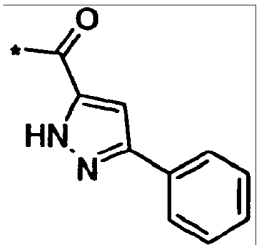
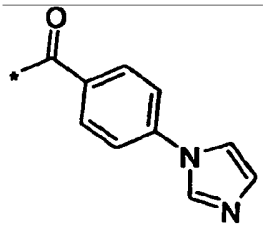
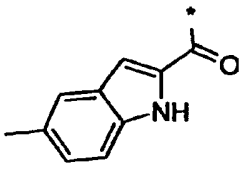
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
143	(R)-7-(2-(3-((4-(2,6-dimetilimidazo[1,2-a]piridina-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		689,4	0,82
144	(R)-7-(2-(3-((4-(2-(benzo[d]isoxazol-3-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		6763	1,01
145	(R)-7-(2-(3-((4-(bifenilcarbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		697,4	1,3
146	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4,5,6,7-tetra-hidro-2H-indazole-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		665,3	1,13
147	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		641,3	1,11

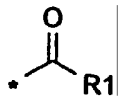
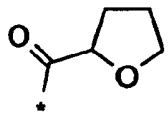
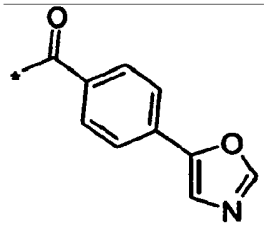
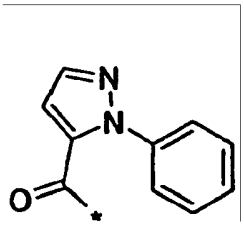
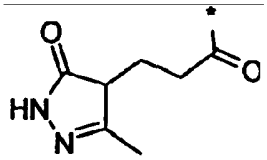
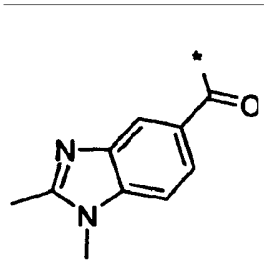
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
148	(R)-7-(2-(3-((4-(4-(1H-pirazol-3-il)benzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		687,4	1,07
149	(R)-7-(2-(3-((4-(2,3-di-hidrobenzofurano-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		663,3	1,07
150	(R)-7-(2-(3-((4-2,5-dimetiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		655,3	1,15
151	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4-metil-1,2,5-oxadiazole-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		627,3	1,05
152	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metilimidazo[1,2-a]piridina-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		675,4	0,88

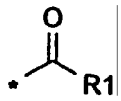
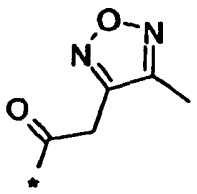
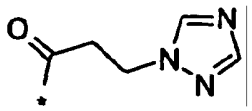
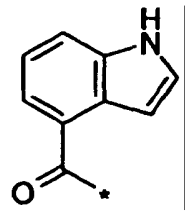
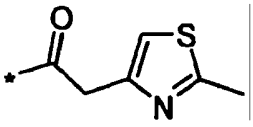
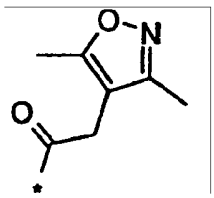
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
153	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	0,97
154	(R)-7-(2-(3-((4-(5-etoxi-2-hidroxibenzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		681,4	1,03
155	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(3-fenil-1H-pirazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		687,3	1,11
156	(R)-7-(2-(3-((4-(4-(1H-imidazol-1-il)benzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		687,4	0,81
157	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-metil-1H-indole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		674,4	1,14

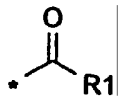
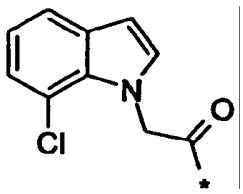
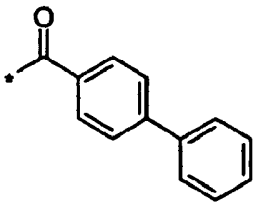
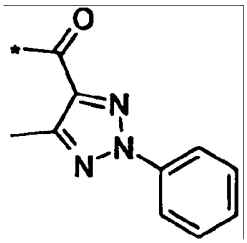
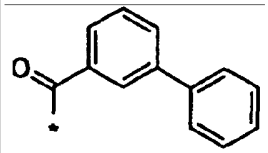
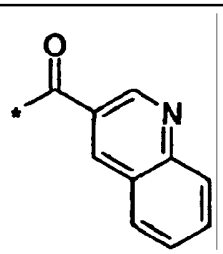
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
158	7-((R)-2-(3-fluoro-5-((4-((S)-tetra-hidrofurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		615,3	0,84
159	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(4-(oxazol-5-il)benzoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		688,3	0,97
160	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(1-fenil-1H-pirazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		687,3	1,16
161	7-((1R)-2-(3-fluoro-5-((4-(3-(3-metil-5-oxo-4,5-di-hidro-1H-pirazol-4-il)propanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		669,4	0,97
162	(R)-7-(2-(3-((4-(1,2-dimetil-1H-benzo[d]imidazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		689,4	0,92

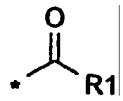
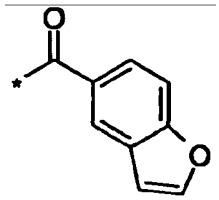
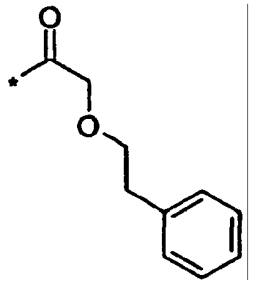
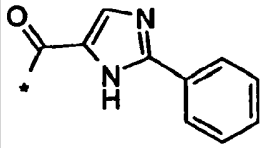
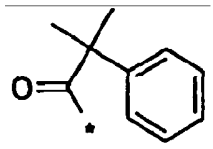
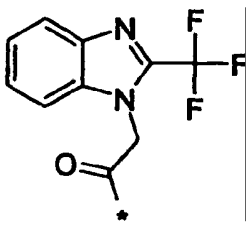
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
163	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(4-metil-1,2,5-oxadiazol-3-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		641,3	1,02
164	(R)-7-(2-(3-((4-(3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		640,3	0,88
165	(R)-7-(2-(3-((4-(1H-indole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,4	1,03
166	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(2-metiltiazol-4-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		656,3	0,93
167	(R)-7-(2-(3-((4-(2-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		654,3	0,93

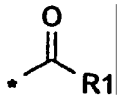
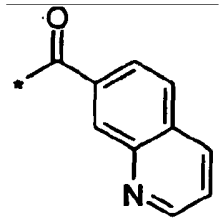
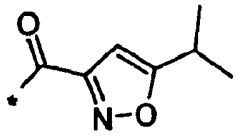
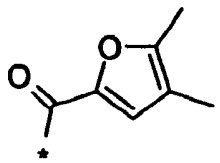
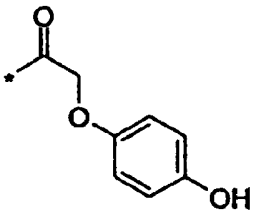
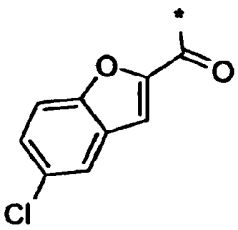
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
168	(R)-7-(2-(3-((4-(2-(7-cloro-1H-indol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetililamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		708,3	1,12
169	(R)-7-(2-(3-((4-(bifenilcarbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		697,4	1,18
170	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-metil-2-fenil-2H-1,2,3-triazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		702,3	1,13
171	(R)-7-(2-(3-((4-(bifenilcarbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxetil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		697,4	1,34
172	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(quinolina-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		672,3	1,05

(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
173	(R)-7-(2-(3-((4-(benzofurano-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		661,3	1,12
174	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-fenetoxiacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		679,4	1,22
175	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-fenil-1H-imidazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		687,4	1
176	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-metil-2-fenilpropanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		663,4	1,23
177	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(2-(trifluorometil)-1H-benzo[d]imidazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		743,3	1,14

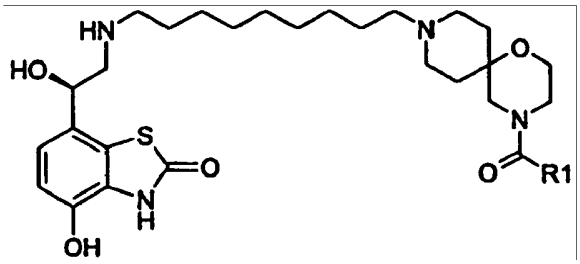
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção* (min)
178	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(quinolina-7-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		672,3	0,93
179	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(5-isopropilisoxazole-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazoespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		654,4	1,13
180	(R)-7-(2-(3-((4-(4,5-dimetilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	1,07
181	(R)-7-(2-(3-fluoro-5-((4-(2-(4-hidroxifenoxi)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		667,3	0,92
182	(R)-7-(2-(3-((4-(5-clorobenzofurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-5-fluorofenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		695,3	1,12

Condições de HPLC analítica: coluna C18 2,5 µm 4,6x30 mm SunFire™ (Waters Corporation), MeCN/TFA aq. a 0,1%, gradiente 5-95% de MeCN).

Tempo (min)	% aquosa	% MeCN	Caudal (mL/min)
0,3	95	5	2,5
2,7	5	95	2,5
2,8	5	95	2,5
2,9	95	5	2,5

Exemplos 183-222



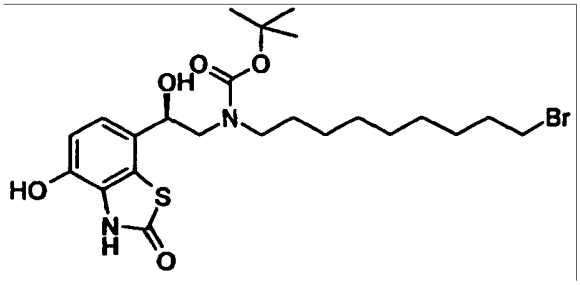
a) 9-Bromononanal

Foram adicionados *N*-etildiisopropilamina (23mL) e DMSO (9,7mL) a uma solução de 9-bromo-1-nonanol (10,0 g) em DCM seco (230mL) à TA sob árgon. A mistura foi arrefecida até -15 °C e foi adicionado complexo de trióxido de enxofre-piridina (21,4 g) em 4 porções em intervalos de 5 min. A mistura foi agitada durante 15 min após a conclusão da adição, em seguida foi adicionada água (200 mL) e as camadas foram separadas. A camada

orgânica foi lavada com solução aquosa de bissulfato de sódio 1 M (4 x 250 mL), carbonato de potássio aquoso saturado (250 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 200 mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo laranja. Rendimento 9,02 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9,77 (t, J = 1,8 Hz, 1H), 3,40 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,42 (td, J = 7,3, 1,8 Hz, 2H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,66-1,57 (m, 2H), 1,58-1,26 (m, 8 H).

b) *(R)*-9-Bromononil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-ozo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo



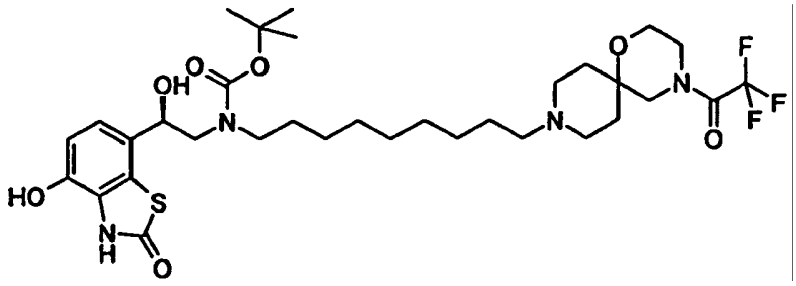
Uma solução de 9-bromononanal (exemplo 183-222, passo a) (3,48 g), cloridrato de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo I parte d) (4,54 g) e ácido acético (0,99 mL) em DMF seca (91 mL) foi agitada à TA durante 30 min. A mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (5,00 g) em 4 porções em intervalos de 2 min. A mistura resultante foi agitada a 0 °C durante 5 min e em seguida à TA durante 1 h. Foi adicionado dicarbonato de di-*terc*-butilo (4,12 g) à mistura reaccional, a qual foi agitada durante 1,5 h em seguida arrefecida até 0 °C e

desactivada com bicarbonato de sódio aquoso saturado (220mL). Foi adicionado acetato de etilo (200 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada durante 15 min. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 150mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-70% de AcOEt/éter de petróleo (40/60 °C) para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 1,68 g.

m/z 532 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,02-6,90 (m, 1H); 6,78 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,92-4,87 (m, 1H), 3,63-3,27 (m, 5H), 3,20-3,04 (m, 1H), 1,89-1,79 (m, 2H), 1,71-1,17 (m, 21H) + 3 protões permutáveis não observados.

c) *(R)*-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(9-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonil)carbamato de *terc*-butilo

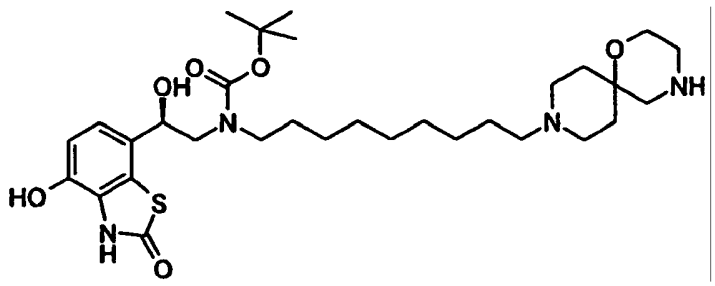


Uma solução de (R)-9-bromononil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de

terc-butilo (exemplo 183-222, passo b) (1,68 g) em MeCN (8 mL) foi adicionada gota a gota a uma solução de trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (1,18 g) e trietilamina (0,81 mL) em MeCN (8mL). A mistura resultante foi agitada a 80 °C durante 18h. A reacção foi deixada arrefecer até à TA e o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo castanho foi retomado em DCM e a camada orgânica foi lavada com água (x2) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A espuma castanha foi purificada por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH/DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 500 mg.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,95 (s, 1H), 6,80 (dd, J = 8,3, 4,0 Hz, 1H), 4,93 (s, 1H), 3,79-3,26 (m, 10H), 3,03-2,64 (m, 6H), 2,10-1,98 (m, 4H), 1,78-1,70 (m, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,36-0,96 (m, 12H) mais 3 permutáveis não observados.

d) *(R)*-9-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

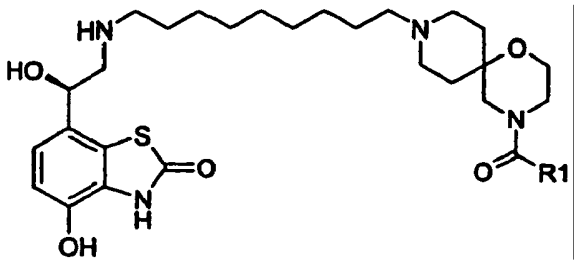


Uma solução de carbonato de potássio (165 mg) em água (24 mL) foi adicionada a uma solução de (R)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(9-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 183-222, passo c) (495 mg) em MeOH (24 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 4 h. O metanol foi removido por evaporação sob uma corrente de azoto mantendo a mistura reaccional a 30 °C. Foram adicionadas água (20 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (80mL) e a mistura foi extraída com AcOEt (5 x 60 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo sólido castanho foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-20% de (NH_3 2 M em MeOH)/DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 323 mg.

m/z 607 $(M+H)^+$

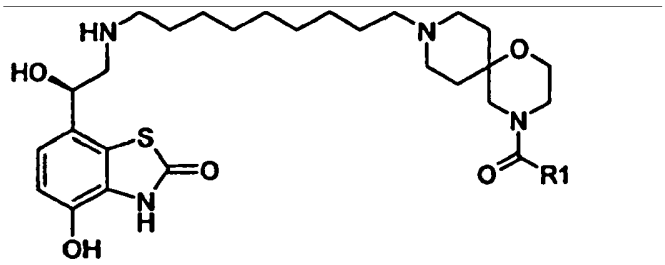
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO): δ 6,80-6,68 (m, 1H), 6,65 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,58 (s l, 1H), 4,69-4,56 (m, 1H), 3,44 (t, J = 3,9 Hz, 2H), 3,20-3,11 (m, 2H), 3,05-2,94 (m, 2H), 2,57 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,50-2,46 (m, 2H), 2,40-2,31 (m, 2H), 225-2,13 (m, 4H), 1,77-1,68 (m, 2H), 1,45-1,02 (m, 25H) + 3 protões permutáveis não observados.

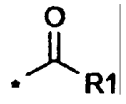
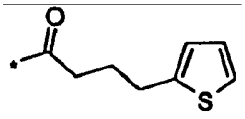
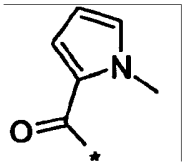
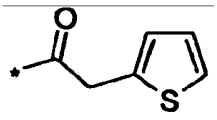
e) Química Paralela - preparação dos exemplos 183-222



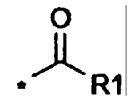
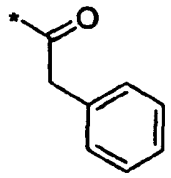
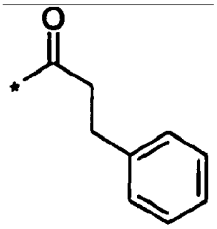
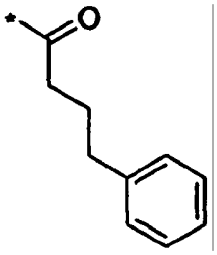
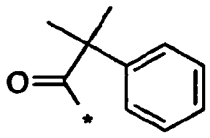
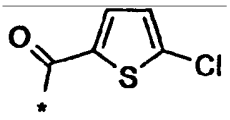
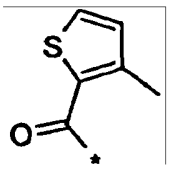
Uma solução de *(R)*-9-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d] tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (292 mg) e trietilamina (exemplos 183-222, passo d) (0,20 mL) em NMP (1,14 mL) foi distribuída como alíquotas de 30 uL de volume total. A cada alíquota foi adicionada uma solução do ácido apropriado (0,01 mmol) em NMP (80 uL) seguida de uma solução de HATU (4,0 mg) em NMP (30 uL). A mistura reaccional foi deixada em repouso à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foi adicionado acetonitrilo (800 uL) e a solução feita passar através de resina "Tosic-65" (350 mg). A resina foi lavada com acetonitrilo (800 uL) e as lavagens combinadas recolhidas e feitas novamente passar através do resina "Tosic-65". A resina foi então lavada com acetonitrilo (3 mL). Foi feito passar amónia (3,5 M em metanol, 2,4 mL) através da resina e as lavagens resultantes evaporadas sob uma corrente de azoto gasoso. O resíduo foi dissolvido em ácido fórmico (250 uL) e a mistura deixada em repouso à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foi adicionado acetonitrilo (600 uL) e a solução feita passar através de resina "Tosic-65" (350 mg). A resina foi lavada com acetonitrilo (800 uL) e as lavagens combinadas recolhidas e feitas novamente passar através do resina "Tosic-65". A resina foi então lavada com acetonitrilo (3 mL). Foi feito passar amónia (3,5 M em metanol, 2,4 mL) através da

resina e as lavagens resultantes evaporadas sob uma corrente de azoto gasoso. Foi adicionado DMSO (360 uL) ao resíduo e a solução resultante feita passar através de uma coluna preparativa C18 (19 x 50 mm) "Sunfire" utilizando um gradiente de eluição de concentração de acetonitrilo contra TFA aquoso a 0,1% para purificação. As fracções contendo o produto foram evaporadas para produzir os compostos em epígrafe.

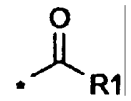
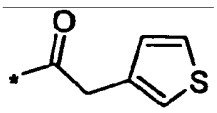
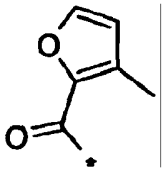
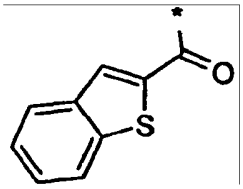
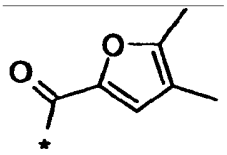
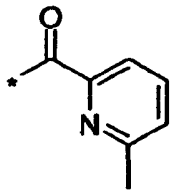
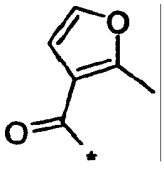


Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
183	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(4-(tiofen-2-il)butanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		659,4	1,24
184	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(1-metil-1H-pirrole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		614,4	1,11
185	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(tiofen-2-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		631,3	1,11

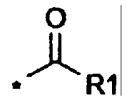
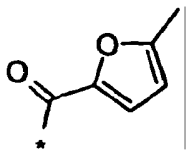
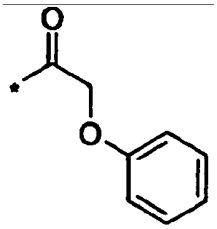
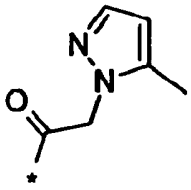
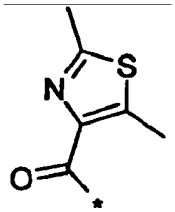
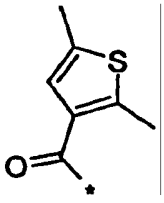
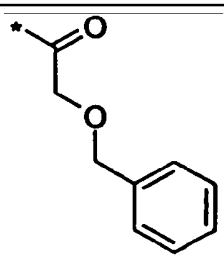
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
186	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-fenilacetil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		625,4	1,16
187	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(3-fenilpropanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,4	1,2
188	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(4-fenilbutanoil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		653,4	1,25
189	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-metil-2-fenilpropanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		653,4	1,25
190	(R)-7-(2-(9-(4-(5-clorotiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		651,3	1,21
191	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(3-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		631,4	1,05

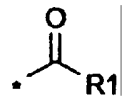
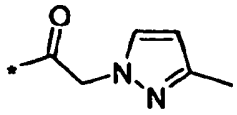
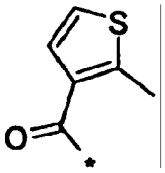
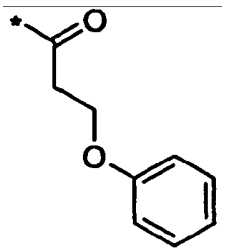
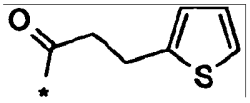
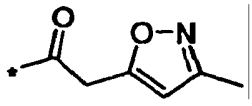
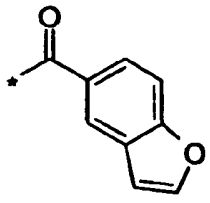
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
192	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(tiofen-3-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		631,3	1,14
193	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(3-metilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		615,4	1,12
194	(R)-7-(2-(9-(4-(benzo[b]tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		667,4	1,16
195	(R)-7-(2-(9-(4-(4,5-dimetilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		629,4	1,17
196	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(6-metilpicolinoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		626,4	1,04
197	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-metilfurano-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		615,4	1,1

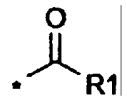
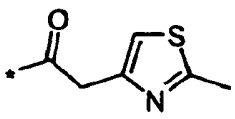
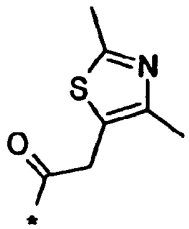
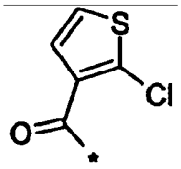
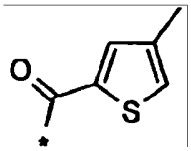
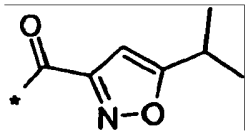
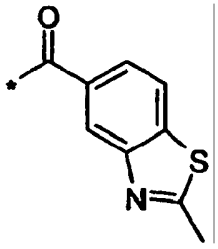
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
198	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(5-metilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		615,4	1,11
199	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-fenoxiacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		641,4	1,15
200	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(5-metil-1H-pirazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		629,4	0,96
201	(R)-7-(2-(9-(4-(2,5-dimetiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		646,4	1,08
202	(R)-7-(2-(9-(4-(2,5-dimetiltiofeno)-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		645,4	1,13
203	(R)-7-(2-(9-(4-(2-(benziloxi)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		655,4	1,18

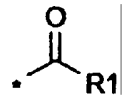
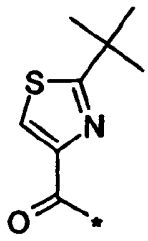
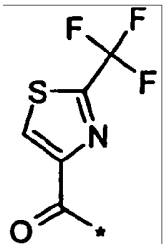
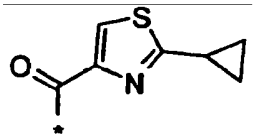
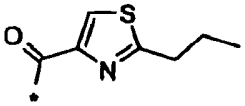
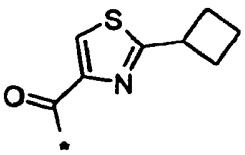
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
204	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		629,4	1,04
205	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		631,4	1,12
206	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(3-fenoxipropanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		655,4	1,22
207	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(3-(tiofen-2-il)propanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		645,4	1,19
208	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(3-metilisoxazol-5-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		630,4	1,05
209	(R)-7-(2-(9-(4-(benzofurano-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		651,4	1,14

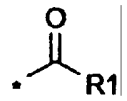
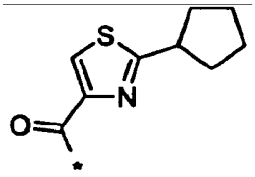
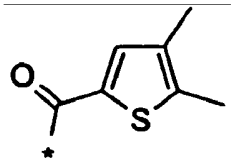
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
210	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(2-metiltiazol-4-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		646,4	1,05
211	(R)-7-(2-(9-(4-(2-(2,4-dimetiltiazol-5-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,4	0,97
212	(R)-7-(2-(9-(4-(2-clorotiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		651,3	1,14
213	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(4-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		631,4	1,15
214	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(5-isopropilisoxazole-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		644,4	1,3
215	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-metilbenzo[d]tiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		682,4	1,13

(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
216	(R)-7-(2-(9-(4-(2-terc-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		674,4	1,26
217	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-(trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		686,3	1,18
218	(R)-7-(2-(9-(4-(2-ciclopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		658,4	1,16
219	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-propiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		660,4	1,16
220	(R)-7-(2-(9-(4-(2-ciclobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		672,4	1,17

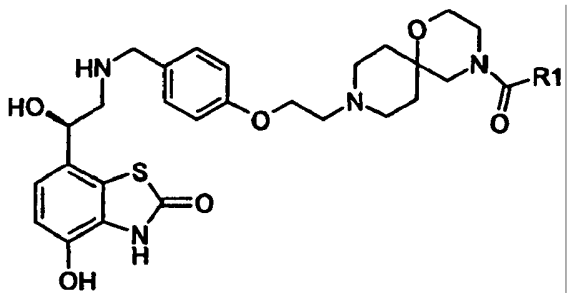
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
221	(R)-7-(2-(9-(4-(2-ciclopentiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		686,4	1,23
222	(R)-7-(2-(9-(4-(4,5-dimetiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)nonilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		645,4	1,29

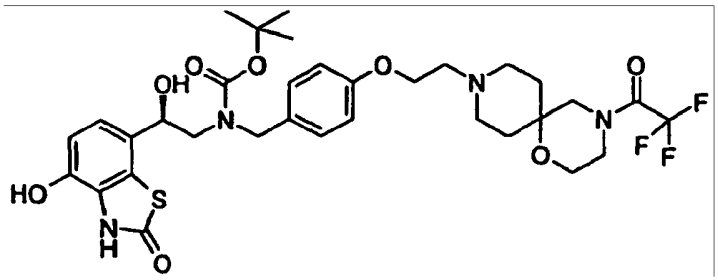
* Condições de HPLC analítica: coluna C18 2,5 µm 4,6 x 30 mm SunFire™ (Waters Corporation), MeCN/TFA aq. a 0,1%, gradiente 5-95% de MeCN).

Tempo (min)	% aquosa	% MeCN	Caudal (mL/min)
0,3	95	5	2,5
2,7	5	95	2,5
2,8	5	95	2,5
2,9	95	5	2,5

Exemplos 223-263



a) *(R)*-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo

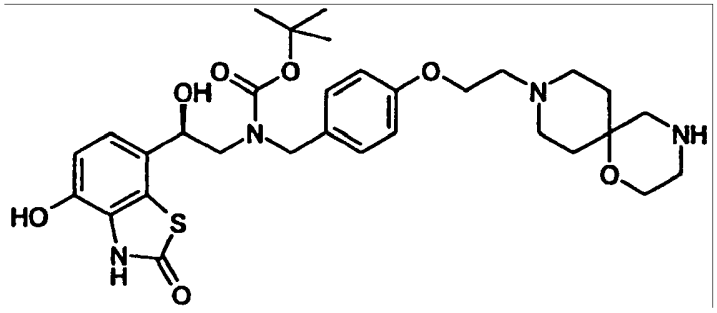


Uma solução de metanossulfonato de (R)-2-(4-((*terc*-butoxicarbonil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)amino)metil)fenoxi)etilo (exemplo 108, passo c) (2,20 g) em MeCN (8,5 mL) foi adicionada gota a gota a uma solução de trifluoroacetato de 2,2,2-trifluoro-1-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (exemplo 12, passo d) (1,18 g) e trietilamina (0,81 mL) em MeCN (8,5 mL) à TA sob árgon. A mistura resultante foi agitada a 60 °C sob árgon durante 25h. Depois de arrefecer até à TA o solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo castanho foi retomado em DCM (35 mL), lavado com água (2 x 35 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado *in vacuo*. O sólido amarelo foi

purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de MeOH/DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido amarelo. Rendimento 729 mg.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,88-6,50 (m, 6H), 4,86-4,64 (s l, 1H), 4,34-4,15 (s l, 3H), 4,11-3,87 (m, 2H), 3,70-3,01 (m, 11H), 2,95-2,73 (s l, 2H), 2,04-1,81 (m, 2H), 1,56-1,37 (m, 11H) mais 3 permutáveis não observados.

b) *(R)*-4-(2-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

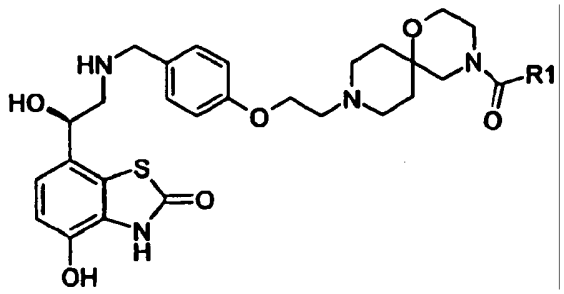


Foi adicionada uma solução de carbonato de potássio (240 mg) em água (35 mL) a uma solução de (R)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(4-(2-(4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil)carbamato de *terc*-butilo (exemplos 223-263, passo a) (725 mg) em MeOH (35 mL). A mistura resultante foi agitada à TA durante 5 h. O metanol foi removido por evaporação sob uma corrente de azoto mantendo a mistura reaccional a 25 °C. Foram adicionadas água (20 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL) e a mistura foi extraída com acetato de etilo (7 x 30 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas

sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-20% de (NH_3 2 M em MeOH)/DCM para dar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 385 mg.

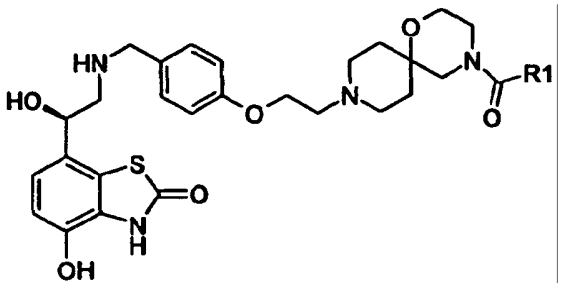
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO): δ 7,06-6,97 (m, 2H), 6,83 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,78-6,62 (m, 2H), 5,64 (s; 1H), 4,68 (s l, 1H), 4,24 (s, 2H), 3,98 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,50 (t, 2H), 3,24-3,02 (m, 2H), 2,68-2,60 (m, 4H), 2,57 (s, 2H), 2,52-2,47 (m, 2H), 2,32 (td, J = 11,9, 3,0 Hz, 2H), 1,76 (d, J = 13,0 Hz, 2H), 1,43 (td, J = 10,8, 3,7 Hz, 2H), 1,31 (s, 3H), 1,22 (s, 6H) mais 3 permutáveis não observados.

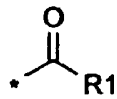
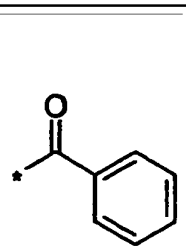
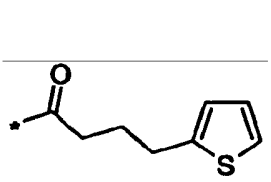
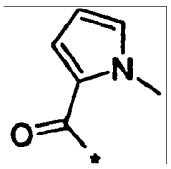
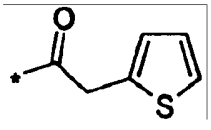
c) Química Paralela - Preparação dos Exemplos 223-263



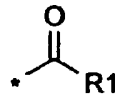
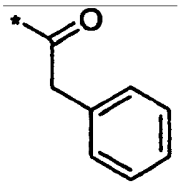
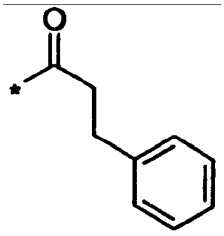
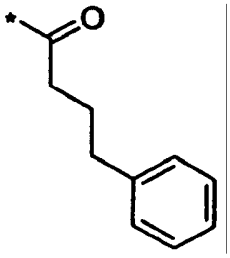
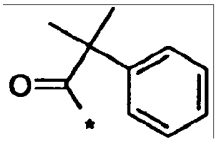
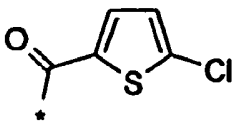
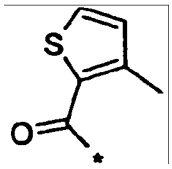
Uma solução de *(R)*-4-(2-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (exemplo 223-263, passo b)(297 mg) e trietilamina (0,20 mL) em NMP (1,24 mL) foi distribuída como alíquotas de 30 uL de volume total. A cada alíquota foi adicionada uma solução do ácido apropriado (0,01 mmol) em NMP (80 uL) seguida de uma solução de HATU (4,0 mg) em NMP (30 uL). A mistura reaccional foi deixada em repouso à TA de um dia para o outro. Foi adicionado

acetonitrilo (800 uL) e a solução feita passar através de resina “Tosic-65” (350 mg). A resina foi lavada com acetonitrilo (800 uL) e as lavagens combinadas recolhidas e feitas novamente passar através de resina “Tosic-65”. A resina foi então lavada com acetonitrilo (3 mL). Foi feito passar amónia (3,5 M em metanol, 2,4 mL) através da resina e as lavagens resultantes evaporadas sob uma corrente de azoto gasoso. O resíduo foi dissolvido em ácido fórmico (250 uL) e a mistura deixada em repouso à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foi adicionado acetonitrilo (600 uL) e a solução feita passar através de resina “Tosic-65” (350 mg). A resina foi lavada com acetonitrilo (800 uL) e as lavagens combinadas recolhidas e feitas novamente passar através de resina “Tosic-65”. A resina foi então lavada com acetonitrilo (3 mL). Foi feito passar amónia (3,5 M em metanol, 2,4 mL) através da resina e as lavagens resultantes evaporadas sob uma corrente de azoto gasoso. Foi adicionado DMSO (360 uL) ao resíduo e a solução resultante feita passar através de uma coluna preparativa C18 (19 x 50 mm) “Sunfire” utilizando um gradiente de eluição de concentração de acetonitrilo contra TFA aquoso a 0,1% para purificação. As fracções contendo o produto foram evaporadas para produzir os compostos em epígrafe.

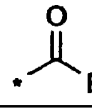
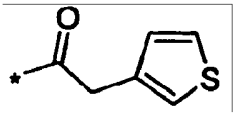
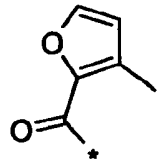
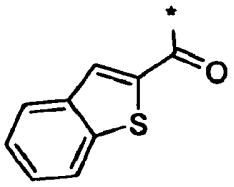
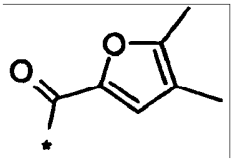
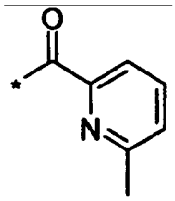


Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
223	(R)-7-(2-(4-(2-(4-benzoil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		619,3	1,06
224	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(4-(tiofen-2-il)butanoil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		667,3	1,15
225	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(1-metil-1H-pirrole-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		622,3	1
226	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(tiofen-2-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	1,01

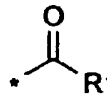
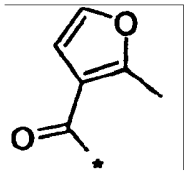
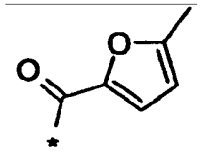
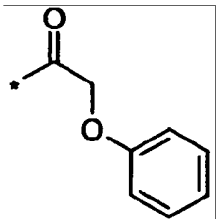
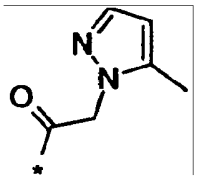
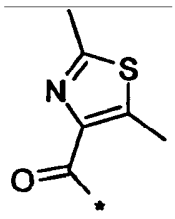
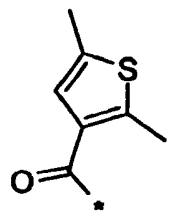
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
227	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-fenilacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		633,3	1,04
228	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(3-fenilpropanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		647,4	1,11
229	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(4-fenilbutanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		661,4	1,17
230	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metil-2-fenilpropanoil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		661,4	1,18
231	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(5-clorotiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[dltiazol-2(3H)-ona		659,2	1,1
232	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(3-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	1,03

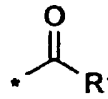
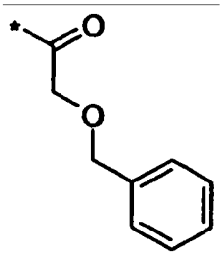
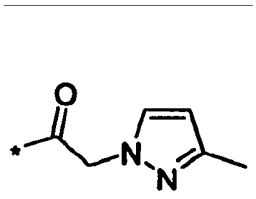
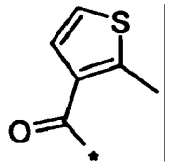
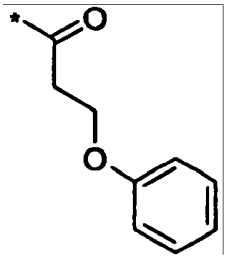
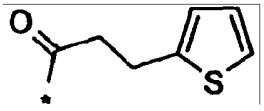
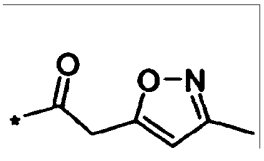
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
233	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(tiofen-3-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	1
234	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(3-metilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		623,3	0,97
235	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(benzo[b]tiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		675,3	1,09
236	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(4,5-dimetilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		637,3	0,99
237	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(6-metilpicolinoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		634,3	0,88

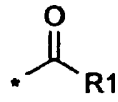
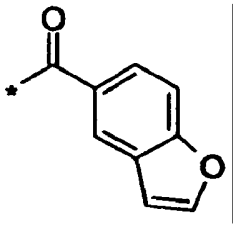
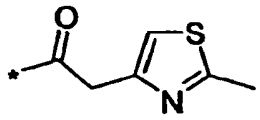
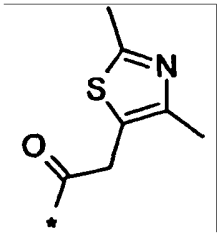
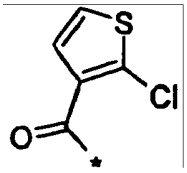
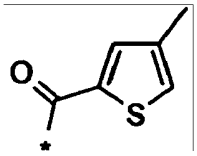
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
238	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metilfurano-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		623,3	0,91
239	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(5-metilfurano-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaes-piro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		623,3	1,02
240	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-fenoxiacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		649,3	1,13
241	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(5-metil-1H-pirazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		637,4	0,96
242	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2,5-dimetiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		654,3	0,92
243	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2,5-dimetiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		653,3	1,11

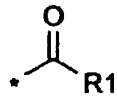
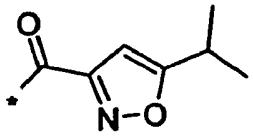
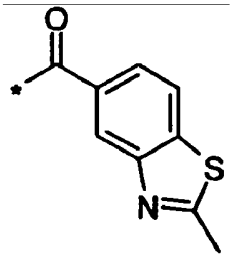
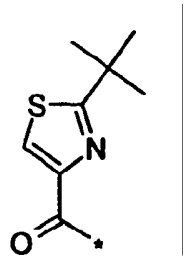
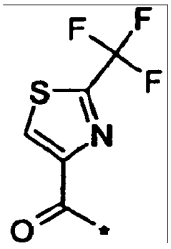
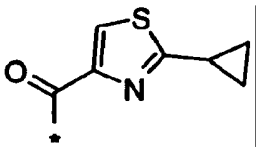
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
244	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-(benziloxi)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		663,4	1,12
245	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		637,4	0,94
246	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	1,03
247	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(3-fenoxipropanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		663,3	1,11
248	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(3-(tiofen-2-il)propanoil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		653,3	1,04
249	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(3-metilisoxazol-5-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		638,3	0,9

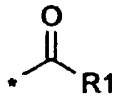
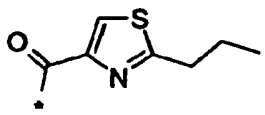
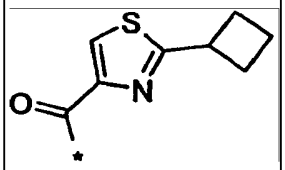
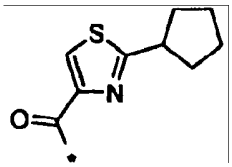
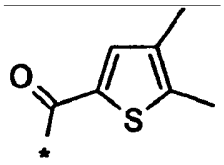
(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
250	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(benzofurano-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		659,3	1,08
251	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(2-metiltiazol-4-il)acetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		654,3	0,88
252	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-(2,4-dimetiltiazol-5-il)acetil}-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		668,3	0,83
253	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-clorotiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		659,2	0,96
254	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(4-metiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		639,3	1,08

(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
255	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(5-isopropilisoxazole-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		652,4	1,02
256	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-metilbenzo[d]tiazole-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		690,3	1,13
257	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-terc-butiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		682,4	1,23
258	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-(trifluorometil)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		694,3	1,1
259	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-ciclopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		666,3	1,05

(continuação)

Exemplo Nº	NOME		PM+1 Observado	Tempo de retenção * (min)
260	(R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(2-(4-(2-propiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)etil) benzo[d]tiazol-2(3H)-ona		668,3	1,08
261	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-ciclobutiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		680,3	1,12
262	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(2-ciclopentiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		694,4	1,19
263	(R)-7-(2-(4-(2-(4-(4,5-dimetiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)benzilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona		653,3	1,18

*Condições de HPLC analítica: coluna C18 2,5 µm 4,6 x 30 mm SunFire™ (Waters Corporation), MeCN/TFA aq. a 0,1%, gradiente 5-95% a MeCN,

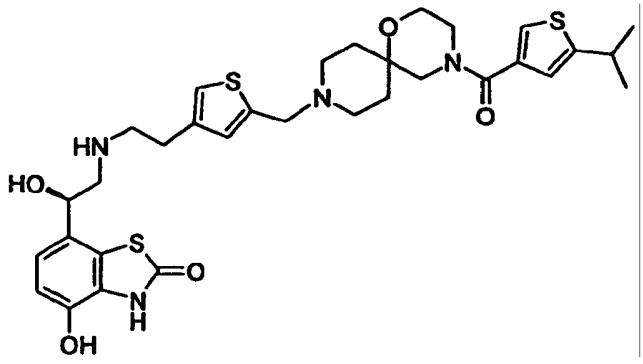
(continuação)

Tempo (min)	% aquosa	% MeCN	Caudal (mL/min)
0,3	95	5	2,5
2,7	5	95	2,5
2,8	5	95	2,5
2,9	95	5	2,5

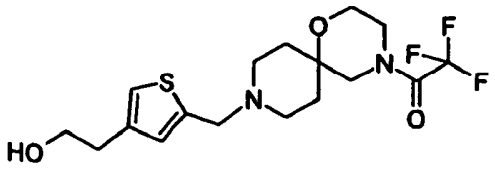
1 H permutável não observado.

Exemplo 264

Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



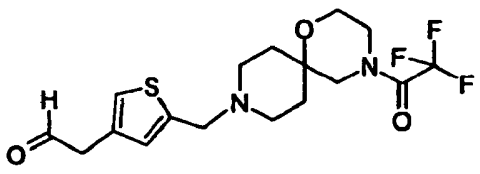
a) 2,2,2-Trifluoro-1-(9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona



Foi adicionado TBAF (1 M em THF, 2,96 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 1-(9-((4-(2-(*terc*-butildimetil-sililoxi)etil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)-2,2,2-trifluoroetanona (Exemplo 43, passo a) (1,500 g, 2,96 mmol) em THF (5 mL). Após 1 h, a solução foi evaporada até uma goma. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com acetato de etilo:trietilamina, 10:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,25 g.

m/z 393 $(M+H)^+$ (APCI+)

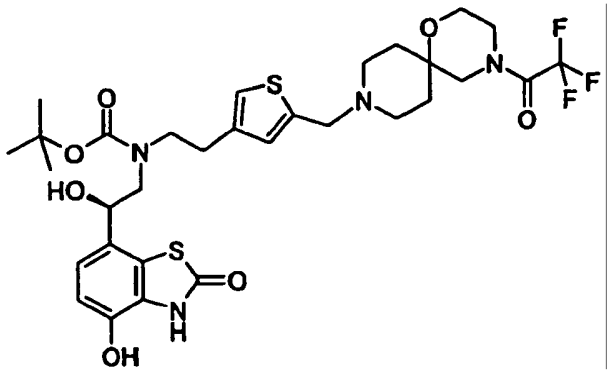
b) 2-(5-((4-(2,2,2-Trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 43 passo (e) utilizando 2,2,2-trifluoro-1-(9-((4-(2-hidroxietil)tiofen-2-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)etanona (0,15 g) (Exemplo 264, passo a). Rendimento 0,15 g

m/z 391 $(M+H)^+$ (APCI+)

c) (R)-2-Hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(2-(5-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etil)carbamato de *terc*-butilo

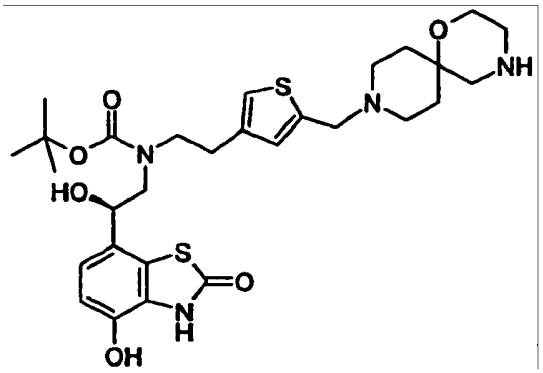


Foi adicionado (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona, HCl (1,020 g) (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) a uma solução, mantida sob agitação, de 2-(5-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)acetaldeído (Exemplo 264, passo b) (0,9 g) e ácido acético (0,198 mL) em MeOH (20 mL). Após 2 min foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,290 g). Após 2 h foi adicionada trietilamina (1,1 mL) e em seguida Anidrido de BOC (0,845 g). Após 1 h foi adicionado mais anidrido de BOC (0,4 g) e trietilamina (0,5 mL). Após 2h, a solução foi concentrada até ~5 mL, em seguida partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada de acetato de etilo foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A purificação por cromatografia sobre sílica gel eluindo com metanol:diclorometano:amónia 880,

10:90:1 deu o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,32 g

m/z 701 $(M+H)^+$ (APCI+)

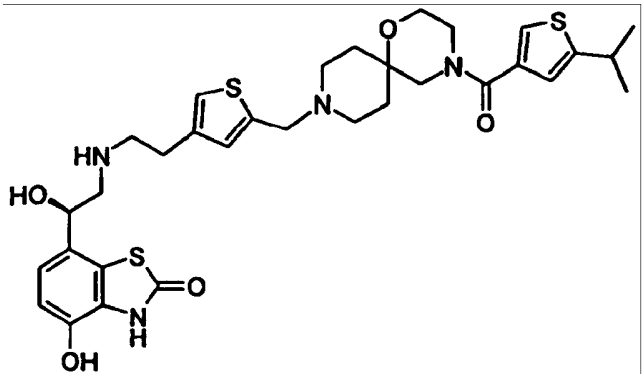
d) (R)-2-(5-(1-Oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)tiofen-3-il)etil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo



Foi adicionada amónia aquosa a 35% (5 mL) a (R)-2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil(2-(5-((4-(2,2,2-trifluoroacetil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (Exemplo 264, passo c) (0,2 g). Após 40 min a 20 °C a solução foi concentrada até ~1 mL e a suspensão espessa adicionada a um cartucho C18 (10 g) lavando com água (20 mL), em seguida eluindo o produto com metanol. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. O sólido resultante foi dissolvido em acetonitrilo e evaporado *in vacuo*. Rendimento 0,11 g.

m/z 605 $(M+H)^+$ (APCI+)

e) Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(5-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-3-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado HATU (0,075 g) a uma solução, mantida sob agitação, de (R)-2-(5-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-ilmetil)tiofen-3-il)etil(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etil)carbamato de *terc*-butilo (Exemplo 264, passo d) (0,1 g), ácido 5-isopropiltiofeno-3-carboxílico (0,028 g) e trietilamina (0,092 mL) em DMF (2 mL). Após 1 h, a mistura reaccional foi partilhada entre água e acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada com água (x 2) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. A goma resultante foi dissolvida em ácido fórmico (2 mL). Após 16 h, a solução foi evaporada *in vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo e a mistura evaporada *in vacuo* (x 2). Foi adicionado tolueno e a mistura evaporada *in vacuo*. A mistura foi dissolvida em metanol, filtrada e purificada por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente:

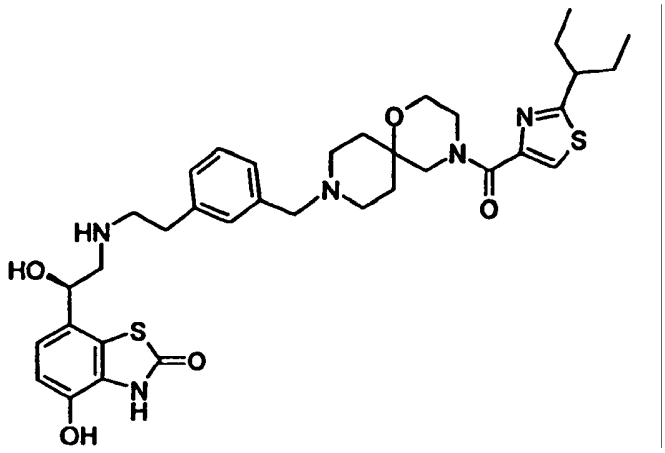
10-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto puro foram combinadas e evaporadas in *vacuo*. Foi adicionado acetonitrilo (200 mL) e a solução foi evaporada *in vacuo* até uma goma. Este processo foi repetido duas vezes. Foi adicionado éter dietílico e o composto em epígrafe recolhido como um sólido. Rendimento 0,05 g.

m/z 657 $(M+H)^+$ (multimodo+)

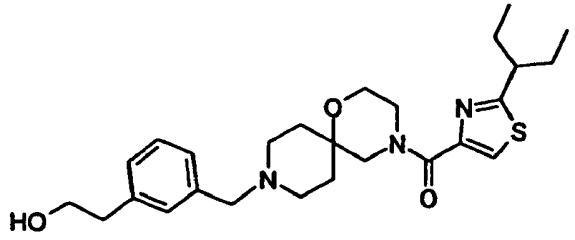
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,29 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 6,96 - 6,88 (m, 2H), 6,76 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 4,94 - 4,86 (m, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,71 - 3,62 (m, 2H), 3,57 - 3,48 (m, 2H), 3,48 - 3,40 (m, 2H), 3,31 - 2,9 (m, 11H), 2,11 -1,95 (m, 2H), 1,80 - 1,63 (m, 2H), 1,28 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H) mais 5 protões permutáveis ausentes.

Exemplo 265

Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



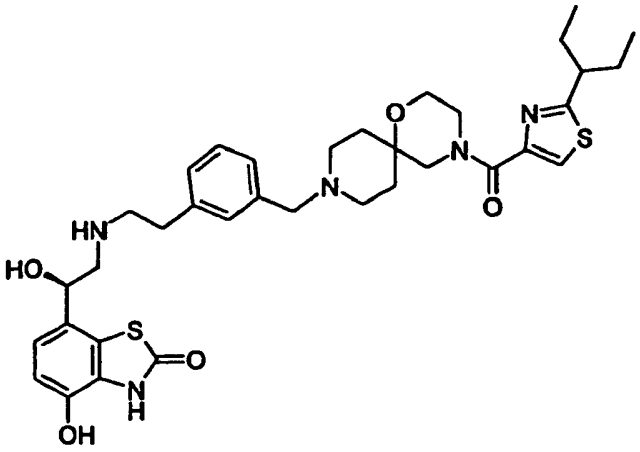
a) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(pentan-3-il)tiazol-4-il)metanona



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (b) utilizando ácido 2-(pentan-3-il)tiazole-4-carboxílico (0,12 g) (Exemplo 71, passo d). Rendimento 0,18 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 7,92 (s, 1H), 7,18 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,11 - 7,04 (m, 3H), 4,24 (dd, J = 5,3, 3,5 Hz, 1H), 3,72 - 3,57 (m, 8H), 3,41 (s, 2H), 2,71 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,41 - 2,24 (m, 4H), 1,82 - 1,66 (m, 4H), 1,59 - 1,47 (m, 2H), 0,86 (t, J = 7,3 Hz, 6H) + 3H obscurecidos pelo pico da água.

b) Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



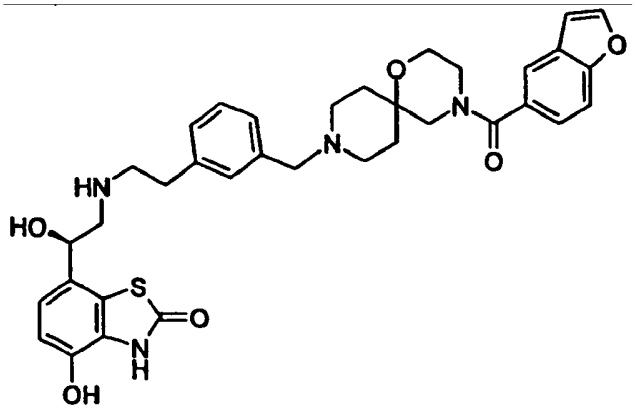
O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (c) utilizando (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(pentan-3-il)tiazol-4-il)metanona (0,18 g) (Exemplo 265, passo a). O aldeído em bruto foi dissolvido em DCM em vez de metanol. Rendimento 0,09 g.

m/z 680 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

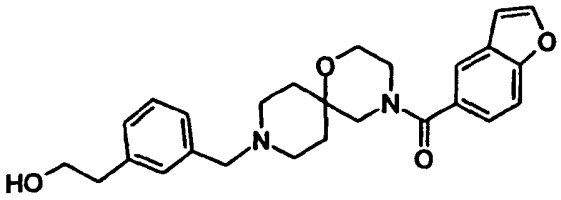
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,36 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,44 - 7,32 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,94 - 4,86 (m, 1H), 4,34 - 4,24 (m, 2H), 3,75 - 2,88 (m, 17H), 2,13 - 1,96 (m, 2H), 1,79 - 1,59 (m, 6H), 0,83 (t, J = 7,3 Hz, 6H) + 5 permutáveis não observados.

Exemplo 266

(R)-7-(2-(3-((4-(benzofurano-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona di(ácido trifluoroacético)



a) Benzofuran-5-il(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona

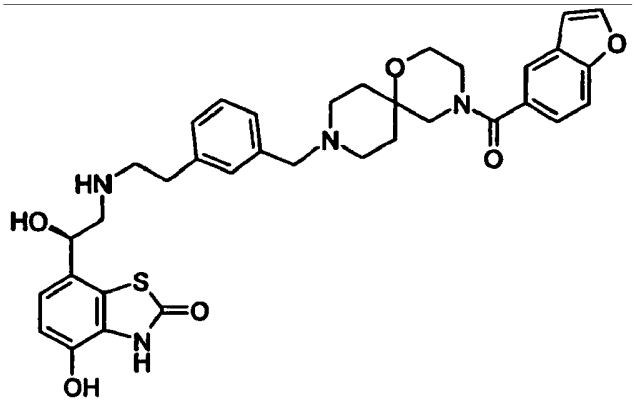


O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (b) utilizando ácido benzofurano-5-carboxílico (0,1 g). Rendimento 0,16 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) 8 7,99 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,60 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,6, 1,7 Hz, 1H), 7,16 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,10 - 7,02 (m, 3H), 6,97 (t, *J* = 1,2 Hz, 1H), 4,24 (t, *J* = 5,3 Hz, 1H), 3,68 - 3,58 (m,

4H), 3,52 - 3,34 (m, 6H), 2,70 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,38 - 2,27 (m, 4H), 1,81 - 1,68 (m, 2H), 1,55 - 1,42 (m, 2H)

b) (R)-7-(2-(3-((4-(benzofurano-5-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona di(ácido trifluoroacético)



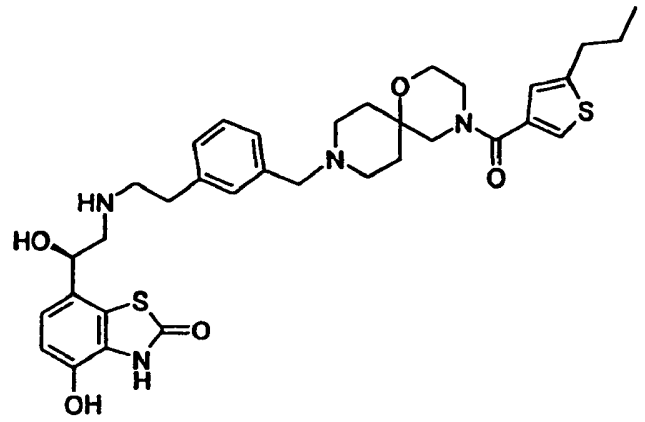
O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (c) utilizando benzofuran-5-il(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (0,15 g) (Exemplo 266, passo a). O aldeído em bruto foi dissolvido em DCM em vez de metanol. Rendimento 0,07 g.

m/z 643 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

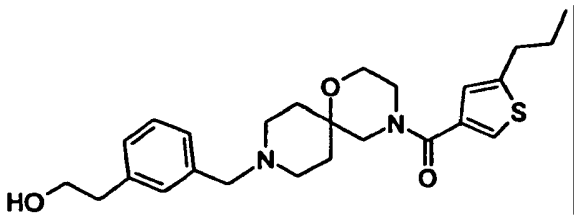
RMN de ^1H (300 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,38 (s, 1H), 8,02 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,63 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,47 - 7,31 (m, 5H), 6,99 - 6,90 (m, 2H), 6,77 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,95 - 4,86 (m, 1H), 4,33 - 4,25 (m, 2H), 3,72 - 2,94 (m, 16H), 2,14 - 1,98 (m, 2H), 1,77 - 1,53 (m, 2H) + 5 permutáveis não observados.

Exemplo 267

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-propiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-propiltiofen-3-il)metanona

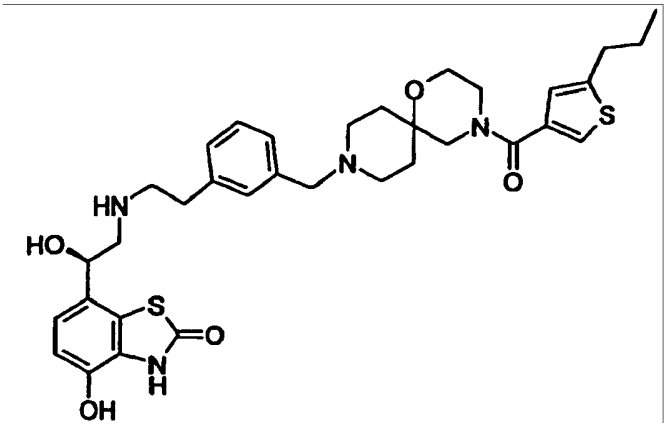


O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (b) utilizando ácido 5-propiltiofeno-3-carboxílico (0,1 g). Rendimento 0,15 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) 8 7,44 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 7,18 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,11 - 7,04 (m, 3H), 6,87 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 4,24 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,67 - 3,59 (m, 4H), 3,51 - 3,47 (m, 2H), 3,40 (s, 4H), 2,77 (dd, *J* = 14,7,0,9 Hz,

2H), 2,71 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,40 - 2,25 (m, 4H), 1,74 - 1,59 (m, 4H), 1,55 - 1,45 (m, 2H), 0,94 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

b) Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-propiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



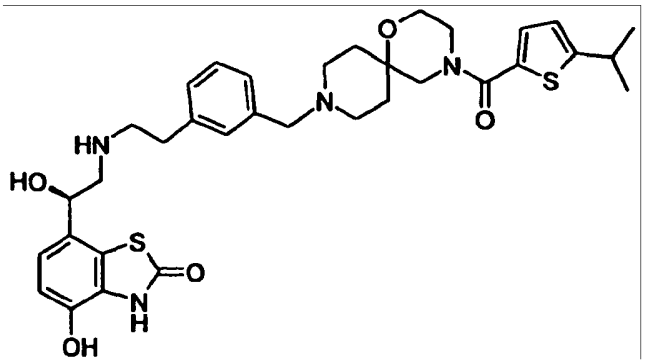
O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (c) utilizando (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-propiltiofen-3-il)metanona (0,15 g)(Exemplo 267, passo a). O aldeído em bruto foi dissolvido em DCM em vez de metanol. Rendimento 0,9 g.

m/z 651 $(M+H)^+$(Multimodo+)

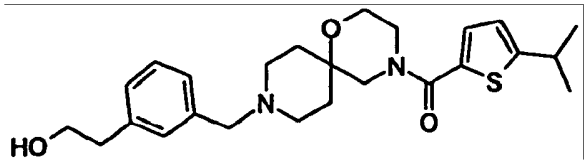
RMN de ^{1}H (300 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,38 (s, 1H), 7,51 - 7,32 (m, 5H), 6,96 - 6,87 (m, 2H), 6,77 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,94 - 4,87 (m, 1H), 4,35 - 4,25 (m, 2H), 3,63 - 2,93 (m, 16H), 2,76 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,14 - 1,98 (m, 2H), 1,72 - 1,56 (m, 4H), 0,93 (t, J = 7,3 Hz, 3H) + 5 permutáveis não observados.

Exemplo 268

Ditrifluoroacetato de (*R*)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-2-il)metanona

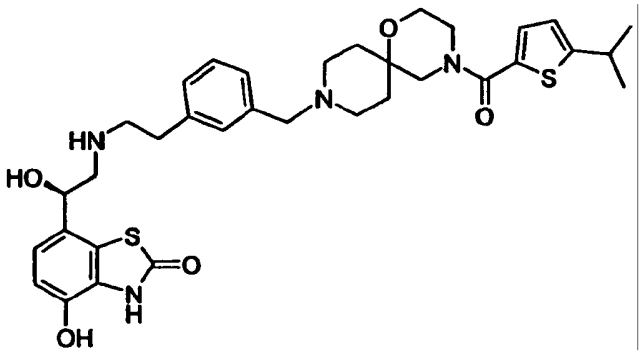


O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (b) utilizando ácido 5-isopropiltiofeno-2-carboxílico (0,1 g). Rendimento 0,18 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) 8 7,23 - 7,15 (m, 2H), 7,13 - 7,04 (m, 3H), 6,84 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 4,24 (t, *J* = 4,7 Hz, 1H), 3,69 - 3,58 (m, 6H), 3,50 (s, 2H), 3,41 (s, 2H), 3,17 (septeto, *J* = 6,8 Hz, 1H), 2,71 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,39 - 2,30

(m, 4H), 1,75 - 1,67 (m, 2H), 1,56 - 1,47 (m, 2H), 1,29 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H).

b) Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-2-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (c) utilizando (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-2-il)metanona (0,18 g) (Exemplo 268, passo a). O aldeído em bruto foi dissolvido em DCM em vez de metanol. Rendimento 0,09 g

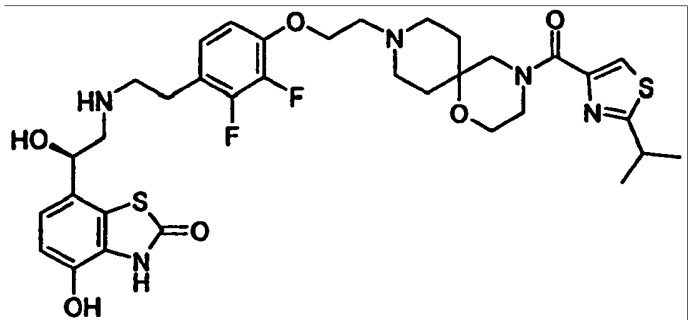
m/z 651 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,37 (s, 1H), 7,45 - 7,33 (m, 4H), 7,24 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,96 - 4,86 (m, 1H), 4,36 - 4,26 (m, 2H), 3,75 - 3,63 (m, 4H), 3,56 - 3,48 (m, 2H), 3,36 - 2,94 (m, 11H), 2,13 - 1,96 (m, 2H), 1,81 -

1,62 (m, 2H), 1,28 (d, J = 6,9 Hz, 6H) + 5 permutáveis não observados.

Exemplo 269

Ditrifluoroacetato de (R)-7-(2-(2,3-difluoro-4-(2-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)etoxi)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 82 passo (c) utilizando (9-(2-(2,3-difluoro-4-(2-hidroxietil)fenoxi)etil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (0,22 g)(Exemplo 77, passo e). O aldeído em bruto foi dissolvido em DCM em vez de metanol. Rendimento 0,13 g.

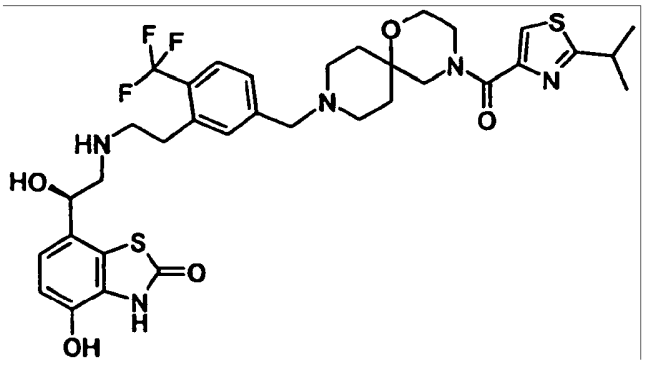
m/z 718 $(M+H)^+$(Multimodo+)

RMN de ^{1}H (300 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,36 (s, 1H), 7,98 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,15 - 7,00 (m, 2H), 6,93 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,93 - 4,86 (m, 1H), 4,46 - 4,38 (m,

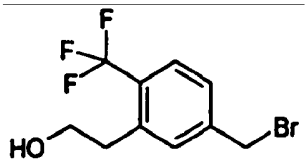
2H), 3,74 - 2,94 (m, 19H), 2,15 - 1,97 (m, 2H), 1,87 - 1,69 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,7 Hz, 6H) + 5 permutáveis não observados.

Exemplo 270

Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-(trifluorometil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



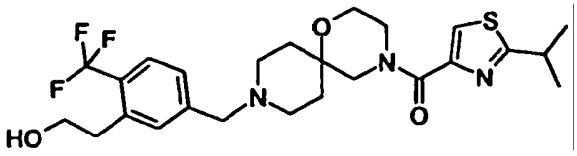
a) 2-(5-(Bromometil)-2-(trifluorometil)fenil)etanol



Foi adicionado peróxido de benzoílo (0,085 g) a uma suspensão de ácido 2-(5-metil-2-(trifluorometil)fenil)acético (1,12 g) e N-bromossuccinimida (1,101 g) em clorobenzeno (18 mL), a mistura resultante foi aquecida a 100 °C sob azoto durante 80 minutos e, em seguida deixada arrefecer. A mistura resultante foi diluída com acetato de etilo, lavada três vezes

com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca ($MgSO_4$), filtrada e concentrada *in vacuo* para dar um óleo amarelo. O óleo foi dissolvido em tetra-hidrofurano (11 mL) e tratado com uma solução 2 molar de complexo de borano-sulfureto de metilo em THF (5,1 mL), em porções ao longo de 2 minutos. A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro, em seguida arrefecida em gelo-água e desactivada pela adição de metanol. A mistura efervescente foi retirada do banho de arrefecimento, agitada à temperatura ambiente durante 70 minutos, em seguida concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluída com 15% de acetato de etilo em iso-hexano para proporcionar o produto em bruto como um óleo amarelo. Rendimento 0,919 g.

b) (9-(3-(2-Hidroxietil)-4-(trifluorometil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

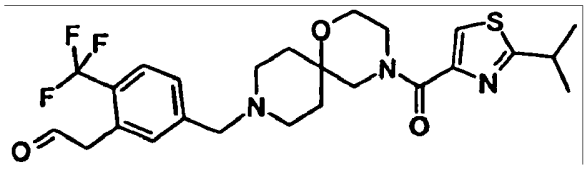


O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 6 passo (b) utilizando uma solução de 2-(5-(bromometil)-2-(trifluorometil)fenil)etanol (0,38 g) (Exemplo 270 passo a) em acetonitrilo, a qual foi adicionada gota a gota ao longo de 30 minutos a trifluoroacetato de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (Exemplo 22 passo b). A purificação foi por

cromatografia sobre sílica gel eluindo com 5% de trietilamina em acetato de etilo. Rendimento 0,32 g.

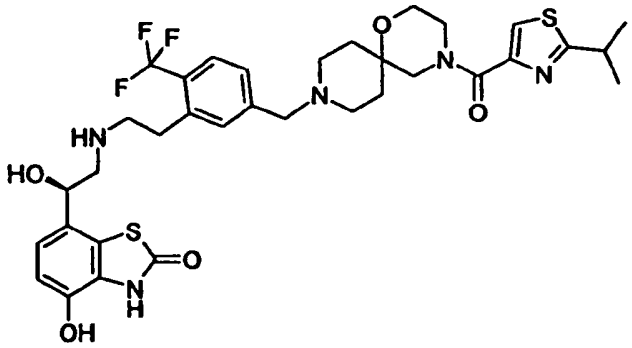
RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 7,56 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,29 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,44 (*t*, *J* = 5,3 Hz, 1H), 3,71 - 3,56 (m, 6H), 3,50 (s, 2H), 3,31 (septeto, *J* = 6,9 Hz, 1H), 2,90 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,57 - 2,25 (m, 4H), 1,81- 1,66 (m, 4H), 1,62 - 1,49 (m, 2H), 1,36 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H).

c) 2-(5-((4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-(trifluorometil)fenil)acetaldeído



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 16 passo c) utilizando (9-(3-(2-hidroxietil)-4-(trifluorometil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (0,32 g) (Exemplo 270, passo b). A mistura foi agitada durante 90 min após a adição do periodinano de Dess-Martin. Rendimento 0,38 g.

d) Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-(trifluorometil)fenetilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 18 passo g), utilizando uma solução de 2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-(trifluorometil)fenil)-acetaldeído (0,3 g) (Exemplo 270, passo c) em metanol (3 mL). Após a adição de cianoboro-hidreto de sódio a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 3,75 horas. A solução foi concentrada até um volume de ~3 mL, diluída com THF e lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio e bicarbonato de sódio aquoso saturado. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio anidro e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi co-evaporado duas vezes de acetonitrilo, em seguida dissolvido em acetonitrilo:água (1:1), filtrado e purificado por HPLC preparativa (Sunfire, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram

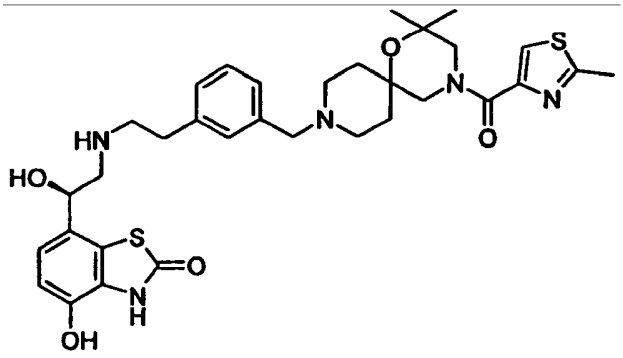
combinadas e concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi removido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o produto como um sólido branco. Rendimento 0,115 g.

m/z 720 $(M+H)^+$(APCI+)

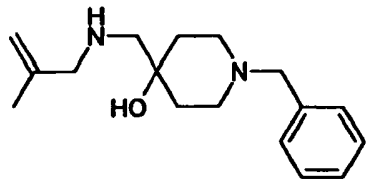
RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) β 7,93 (s, 1H), 7,77 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,61 – 7,53 (m, 2H), 6,94 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,91 (dd, *J* = 8,6, 4,7 Hz, 1H), 4,27 – 4,08 (m, 2H), 3,76 – 3,59 (m, 6H), 3,48 – 2,85 (m, 11H), 2,03 – 1,88 (m, 2H), 1,78 – 1,63 (m, 2H), 1,35 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 271

Ditrifluoroacetato de (R)-7-(2-(3-((2,2-dimetil-4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



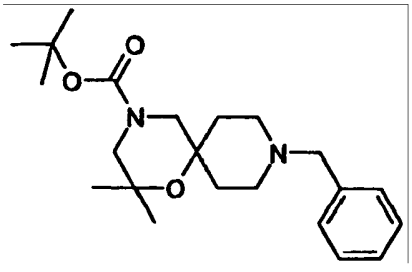
a) 1-Benzil-4-((2-metilalilamino)metil)piperidin-4-ol



Uma mistura de 6-benzil-1-oxa-6-azaespiro[2.5]octano (2 g) e 2-metilprop-2-en-1-amina HCl (2 g) e Base de Hunig (3,44 mL) em etanol (30 mL) foi aquecida a 70 °C durante 18 horas. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi partilhado entre DCM e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada aquosa foi reextraída com DCM fresco e os orgânicos combinados secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporados sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 2,70 g.

m/z 275 $(M+H)^+$ (APCI+)

b) 9-Benzil-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carboxilato de *terc*-butilo

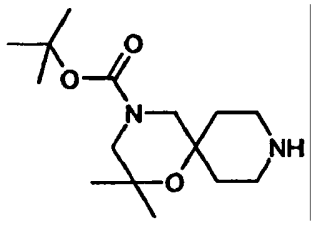


Foi adicionado ácido sulfúrico concentrado (12 mL) a 1-benzil-4-((2-metilalilamino)metil)piperidin-4-ol (Exemplo 271,

passo a) (2,2 g) e a mistura foi deixada em repouso durante 2 horas à temperatura ambiente. A mistura reaccional foi tratada com gelo/água (100 mL) seguida de bicarbonato de sódio sólido, em porções, até a mistura ser básica. Foi adicionado acetonitrilo (50 mL) seguido de anidrido de BOC (1,925 g) e a mistura reaccional agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A mistura reaccional foi extraída com acetato de etilo (x 2) e os orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, eluindo com 1% de metanol em diclorometano trocando para 1% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,8 g.

m/z 375 $(M+H)^+$ (APCI+)

c) 2,2-Dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carboxilato de *terc*-butilo

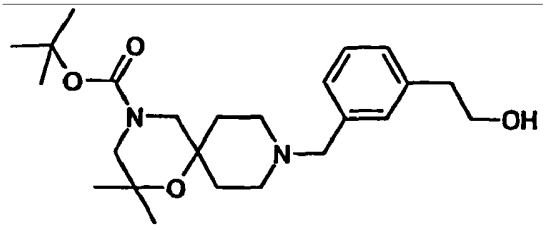


Uma mistura de 9-benzil-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaspieo[5.5]undecano-4-carboxilato de *terc*-butilo (Exemplo 271, passo b) (0,8 g) dissolvido em etanol (50 mL) e paládio a 10% sobre carvão (0,5 g) foi tratada com formato de amónio (0,8 g) e a mistura reaccional aquecida a refluxo durante

30 minutos. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e filtrada através de terra de diatomáceas. O solvente foi evaporado e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo (x 2) para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,55 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 3,25 (s, 2H), 3,19 (s, 2H), 2,84 - 2,76 (m, 2H), 2,59 - 2,50 (m, 2H), 1,51 - 1,42 (m, 4H), 1,41 (s, 9H), 1,13 (s, 6H). 1 permutável não observado.

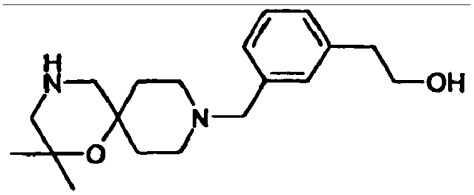
***d*) 9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carboxilato de *terc*-butilo**



Foi adicionado 2-(3-(bromometil)fenil)etanol (0,416 g) em porções ao longo de 1 hora a uma solução de 2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carboxilato de *terc*-butilo (Exemplo 271, passo c) (0,55 g) e trietilamina (0,809 mL) em acetonitrilo (20 mL). A mistura foi agitada durante 2 horas a 20 °C. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio e DCM, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, eluindo com 2% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,78 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 7,21 - 7,04 (m, 4H), 4,24 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 3,66 - 3,59 (m, 2H), 3,43 (s, 2H), 3,25 (s, 2H), 3,19 (s, 2H), 3,00 (s, 2H), 2,71 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,32 - 2,24 (m, 2H), 1,64 - 1,50 (m, 4H), 1,40 (s, 9H), 1,13 (s, 6H).

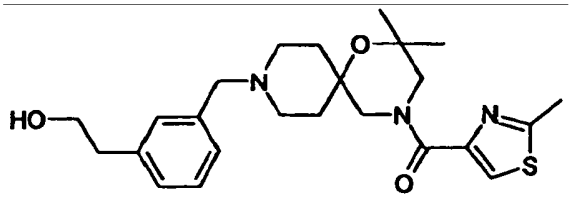
e) 2-(3-((2,2-Dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)etanol



Foi adicionado ácido trifluoroacético (5 mL) a uma solução de 9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-4-carboxilato de *terc*-butilo (Exemplo 271, passo d) (0,78 g) em DCM (20 mL) e a mistura reaccional deixada em repouso durante 30 minutos a 20 °C. Foi adicionado tolueno (40 mL) e os solventes evaporados sob pressão reduzida, o resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo (x 2). O resíduo foi dissolvido em água (30 mL) e lavado com acetato de etilo, a camada aquosa foi basificada por adição de carbonato de sódio sólido e agitada durante 30 minutos a 20 °C. A mistura aquosa foi então extraída com DCM (x 6), as camadas de DCM combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,4 g.

m/z 319 $(M+H)^{+}$ (APCI+)

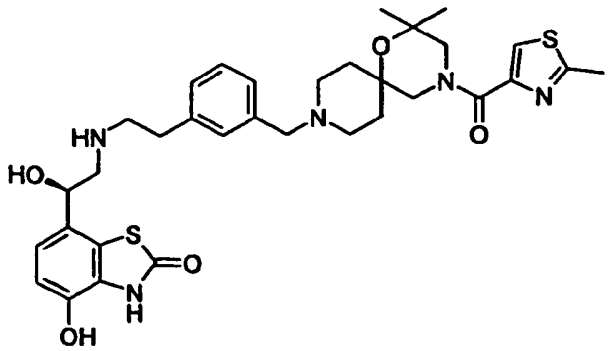
f) (9-(3-(2-Hidroxietil)benzil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 22 passo (a) utilizando 2-(3-((2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)etanol (0,2 g) (Exemplo 271, passo e) e ácido 2-metiltiazole-4-carboxílico (0,09 g). A mistura reaccional foi agitada durante 18 h e o solvente de eluição para a cromatografia foi 2% de metanol em diclorometano com 1% de trietilamina. Rendimento 0,16 g

m/z 444,1 $(M+H)^+$ (APCI+)

g) Ditrifluoroacetato de (R)-7-(2-(3-((2,2-dimetil-4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona



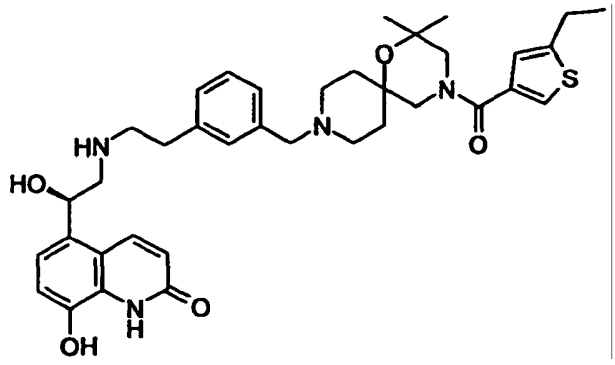
O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 22 passo (d) utilizando (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (0,15 g) (Exemplo 271, passo f). A mistura foi agitada durante 3 h após a adição do cianoboro-hidreto de sódio e foi adicionado 2-metiltetra-hidrofurano em vez de THF. Rendimento 0,12 g.

m/z 652 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

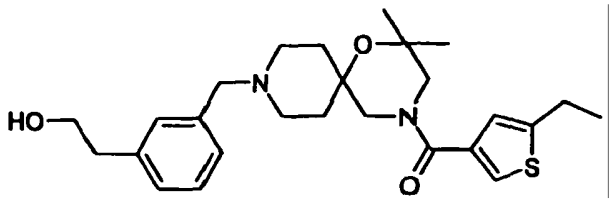
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,27 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,43 - 7,32 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,94 - 4,89 (m, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,68 (s, 2H), 3,62 (s, 2H), 3,28 - 3,10 (m, 8H), 3,06 - 2,97 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 1,95 - 1,73 (m, 4H), 1,19 (s, 6H). 5 permutáveis não observados.

Exemplo 272

Ditrifluoroacetato de (R)-5-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



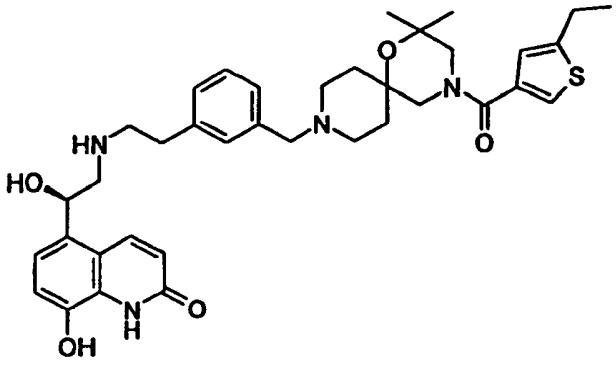
a) (5-Etiltiofen-3-il)(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 271 passo (f) utilizando 2-(3-(2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)etanol (0,2 g) (Exemplo 271, passo e) e ácido 5-etiltiofeno-3-carboxílico. Rendimento 0,22 g.

m/z 457,1 $(M+H)^+$ (APCI+)

b) Ditrifluoroacetato de (R)-5-(2-(3-((4-(5-etiltiofeno-3-carbonil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 23 utilizando (5-etiltiofen-3-

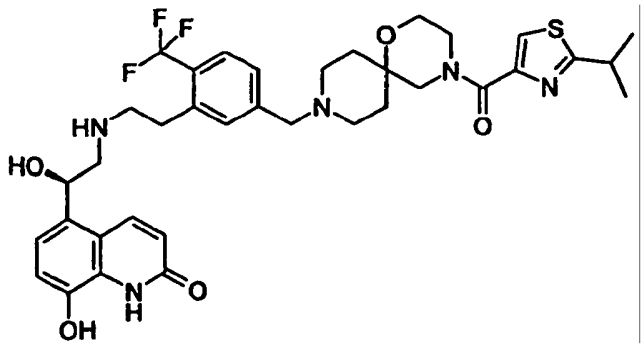
il)(9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-2,2-dimetil-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (0,22 g) (Exemplo 272, passo a). A mistura foi agitada durante 3 h após a adição de triacetoxiboro-hidreto de sódio no passo a). Rendimento 0,085 g.

m/z 659 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) β 8,16 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,44 - 7,29 (m, 4H), 7,13 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H), 6,55 (d, *J* = 10,0 Hz, 1), 5,37 - 5,32 (m, 1H), 4,24 (s, 2H), 3,52 - 3,40 (m, 4H), 3,28 (t, *J* = 8,3 Hz, 2H), 3,20 - 2,99 (m, 8H), 2,81 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,93 - 1,65 (m, 4H), 1,25 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,18 (s, 6H). 6 permutáveis não observados.

Exemplo 273

Ditrifluoroacetato de (R)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-(trifluorometil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma solução de (R)-5-(2-amino-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (0,15 g)

(documento WO2004106333) em metanol (2 mL) foi tratada com ácido acético (0,021 mL) e agitada durante 10 minutos. Foi então adicionada uma solução de 2-(5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-2-(trifluorometil)fenil)acetaldeído (Exemplo 270, passo c) (0,190 g) em metanol (3 mL), e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 10 minutos, antes de ser arrefecida em gelo-água e tratada com cianoboro-hidreto de sódio (0,038 g). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2,75 horas. A solução foi

concentrada até um volume de ~3 mL, diluída com THF (20 mL) e

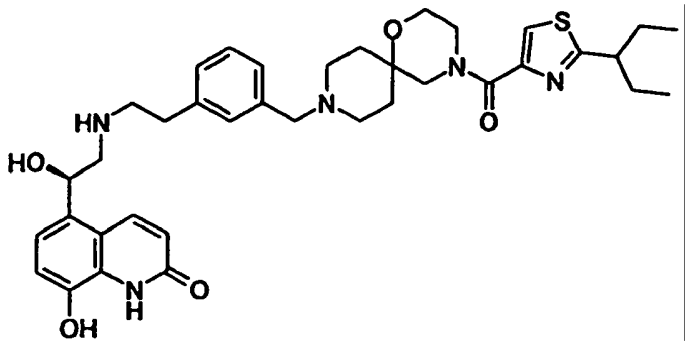
lavada com uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e bicarbonato de sódio aquoso saturado (1 mL). A fase orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio anidro e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi co-evaporado duas vezes de acetonitrilo, parcialmente dissolvido em THF (10 mL), tratado com trifluoridrato de trietilamina (0,12 mL) e agitado à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi concentrada *in vacuo* e o resíduo dissolvido em acetonitrilo:água (3:2, 10 mL), filtrado e purificado por HPLC preparativa (Sunfire, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,133 g.

m/z 714 $(M+H)^+$(APCI+)

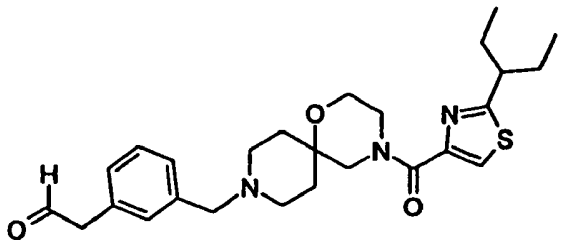
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 8,17 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,77 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,62 - 7,53 (m, 2H), 7,14 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,55 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 5,34 (dd, *J* = 9,1, 4,0 Hz, 1H), 4,29 - 4,10 (m, 2H), 3,76 - 3,59 (m, 6H), 3,49 - 2,87 (m, 11H), 2,05 - 1,87 (m, 2H), 1,80 - 1,62 (m, 2H), 1,34 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 274

Ditrifluoroacetato de (R)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



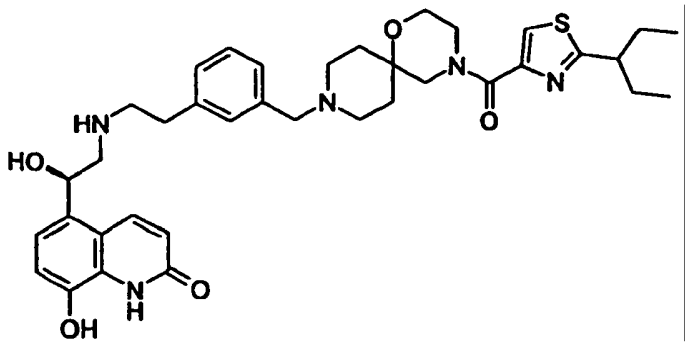
a) 2-(3-((4-(2-(Pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 16 passo c) utilizando (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-(pentan-3-il)tiazol-4-il)metanona (0,16 g) (Exemplo 265, passo a). Rendimento 0,24 g.

m/z 470 $(M+H)^+$ (APCI+)

b) Ditrifluoroacetato de (R)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 273 utilizando

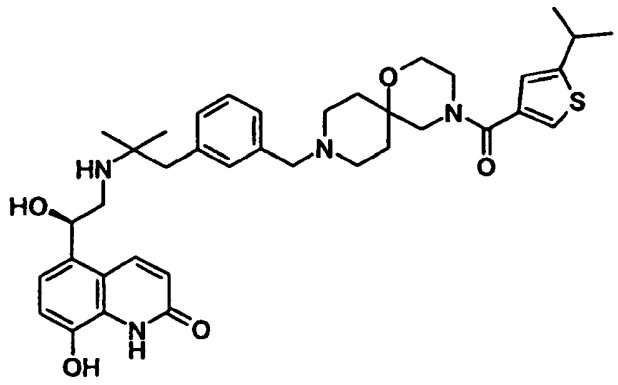
2-(3-((4-(2-(pentan-3-il)tiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)acetaldeído (Exemplo 274, passo a). Rendimento 0,097 g.

m/z 674 $(M+H)^+$ (APCI+)

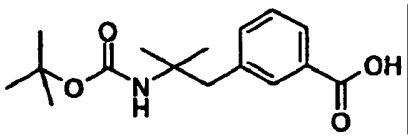
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 8,15 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H). 7,95 (s, 1H), 7,47 - 7,28 (m, 4H), 7,13 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,55 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 5,39 - 5,28 (m, 1H), 4,33 - 4,11 (m, 2H), 3,79 - 3,56 (m, 6H), 3,50 - 2,84 (m, 11H), 2,11 - 1,90 (m, 2H), 1,83 - 1,58 (m, 6H). 0,84 (t, *J* = 7,3 Hz, 6H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 275

Ditrifluoroacetato de (R)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



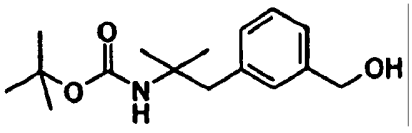
a) Ácido 3-(2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-2-metilpropil)benzóico



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 53, passo b) utilizando 3-(2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-2-metilpropil)benzoato de metilo. A mistura reaccional foi agitada a 20 °C durante 18 horas, em seguida a 40 °C durante 10 horas. A mistura foi partilhada entre água e éter dietílico e a não foi necessária trituração final.

m/z 292 $(M-H)^+$ (APCI+)

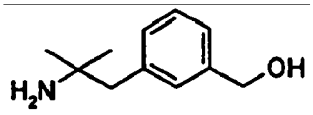
b) 1-(3-(Hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilcarbamato de *terc*-butilo



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 16, passo a) utilizando ácido 3-(2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-2-metilpropil)benzóico (2,68 g). A mistura reaccional foi arrefecida num banho de gelo durante a adição, em seguida agitada a 20 °C durante 2 horas. Rendimento 2,5 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO) 8 7,23 - 7,13 (m, 2H), 7,06 (s, 1H), 6,98 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 5,09 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 2,89 (s, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,14 (s, 6H).

c) (3-(2-Amino-2-metilpropil)fenil)metanol

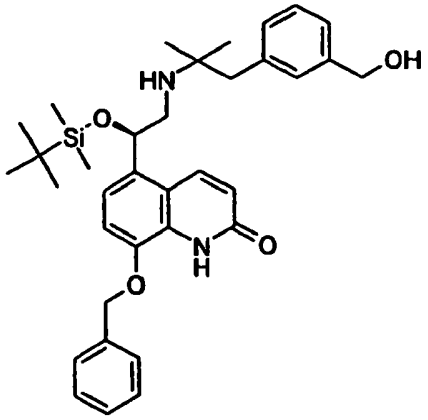


Foi adicionado ácido trifluoroacético (5 mL) a uma solução de 1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilcarbamato de *terc*-butilo (Exemplo 275, passo b) (0,7 g) em DCM (20 mL) e a solução resultante deixada em repouso a 20 °C durante 30 minutos. Foi adicionado tolueno (40 mL) e os solventes evaporados sob pressão reduzida. O resíduo foi partilhado entre DCM e hidróxido de sódio aquoso 1 M e a camada aquosa foi extraída com DCM (x 2). Os orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,440 g.

m/z 180 $(M+H)^{+}$ (APCI+)

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO) δ 7,23 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,19 - 7,12 (m, 2H), 7,04 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,47 (s, 2H), 2,58 (s, 2H), 0,99 (s, 6H). 3 permutáveis não observados.

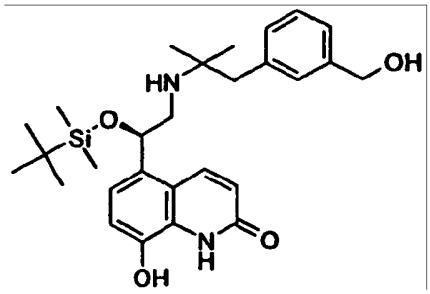
d) (R)-8-(Benziloxi)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



Uma mistura de (R)-8-(benziloxi)-5-(2-bromo-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)quinolin-2(1H)-ona (0,518 g) e (3-(2-amino-2-metilpropil)fenil)metanol (0,19 g) (exemplo 275, passo c) e iodeto de sódio (0,159 g) e Base de Hunig (0,555 mL) em acetonitrilo (3 mL) foi aquecida a refluxo sob azoto durante 2 dias. Foram adicionados mais (3-(2-amino-2-metilpropil)fenil)metanol (0,19 g,) e Base de Hunig (0,185 mL) e o aquecimento a refluxo continuou durante 1 dia. A mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e partilhada entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 3% de metanol e 1% de trietilamina em diclorometano. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,44 g.

m/z 587 $(M+H)^+$ (APCI+)

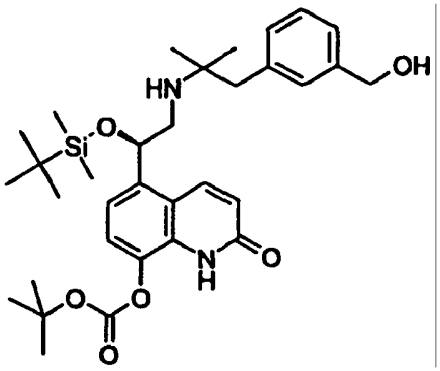
e) (R)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma mistura de (R)-8-(benziloxi)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona (Exemplo 275, passo d) (0,44 g) e paládio sobre carvão (10%) (80 mg) em etanol (30 mL) foi vigorosamente agitada sob 5 bar de pressão de hidrogénio durante 3 horas. O catalisador foi filtrado e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,37 g.

m/z 497 $(M+H)^+$ (APCI+)

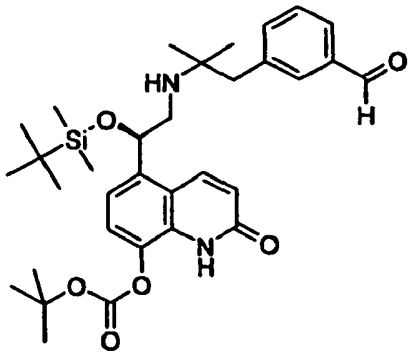
f) (R)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-8-il-carbonato de *terc*-butilo



Uma solução de (R)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (Exemplo 275, passo e) (0,37 g) e anidrido de BOC (0,163 g) e trietilamina (0,208 mL) em etanol (20 mL) foi deixada em repouso à temperatura ambiente durante 18 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,44 g.

m/z 597 $(M+H)^+$ (APCI+)

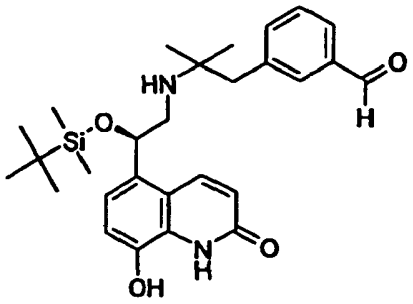
g) (R)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-formilfenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-8-il-carbonato de *terc*-butilo



Foi adicionado dióxido de manganês (0,6 g) a uma solução de (R)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-(hidroximetil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-8-il-carbonato de *terc*-butilo (Exemplo 275, passo f) (0,44 g) em diclorometano (30 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada a 20 °C durante 3 horas. A mistura reaccional foi filtrada através de terra de diatomáceas e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,42 g.

m/z 595 $(M+H)^+$ (APCI+)

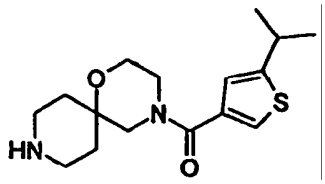
h) (R)-3-(2-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etilamino)-2-metilpropil)benzaldeído



Uma solução de (R)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-formilfenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-8-il-carbonato de *terc*-butilo (Exemplo 275, passo g) (0,42 g) em metanol (15 mL) foi tratada com amónia (35% aquosa) (2 mL). A mistura reaccional foi deixada em repouso durante 3 horas a 20 °C. O solvente foi removido sob uma corrente de azoto e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo e os orgânicos combinados secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,34 g.

m/z 495 $(M+H)^+$ (APCI+)

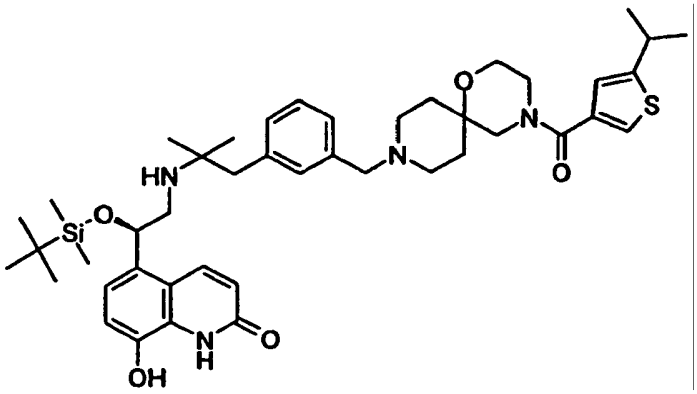
i) (5-Isopropiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 22, passos a) e b) utilizando ácido 5-isopropiltiofeno-3-carboxílico. No passo b) o resíduo não foi purificado por cromatografia. O produto em bruto foi submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo (x 2). O resíduo foi partilhado entre DCM e hidróxido de sódio aquoso 1 M, a camada aquosa foi extraída com DCM (x 3) e os orgânicos combinados secos sobre sulfato de sódio, filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,4 g.

m/z 309 $(M+H)^+$ (APCI+)

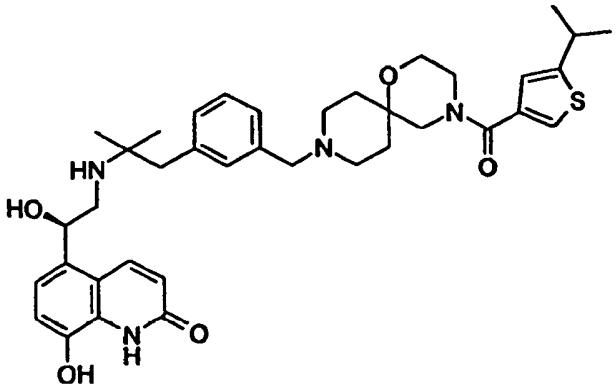
j) (R)-5-(1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro(5,5)undecan-9-il)metilfenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



O composto em subepígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 14, passo b) utilizando (R)-3-(2-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etilamino)-2-metilpropil)benzaldeído (0,32 g)(Exemplo 275, passo h) e (5-isopropiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (0,21 g) (Exemplo 275, passo i)). O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, 8% de metanol em diclorometano com 1% de amónia aquosa 880. As fracções puras foram evaporadas até à secura para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,3 g.

m/z 787 $(M+H)^+$ (APCI+)

k) Ditrifluoroacetato de (R)-8-hidroxi-5-(1-hidroxi-2-(1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-metilpropan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



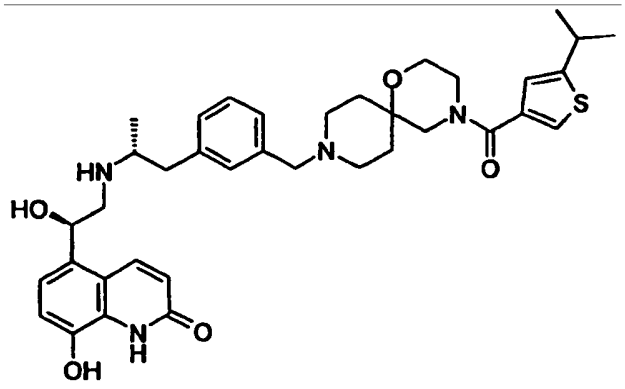
O composto em epígrafe foi preparado utilizando um método semelhante ao descrito no Exemplo 23, passo b) utilizando (R)-5-(1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)-2-metilpropan-2-ilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (0,31 g)(Exemplo 275, passo j). Rendimento 0,18 g.

m/z 673 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

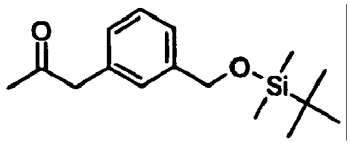
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 9,98 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,44 - 7,40 (m, 2H), 7,36 - 7,30 (m, 2H), 7,20 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,01 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,58 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 5,37 - 5,31 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,68 - 3,63 (m, 2H), 3,55 - 3,51 (m, 2H), 3,21 - 2,98 (m, 11H), 2,01 (s, 2H), 1,69 (s, 2H), 1,31 - 1,24 (m, 12H) mais 5 permutáveis não observados.

Exemplo 276

Ditrifluoroacetato de 8-hidroxi-5-((R)-1-hidroxi-2-((R)-1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)propan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



a) 1-(3-((*terc*-Butildimetilsililoxi)metil)fenil)propan-1-ona

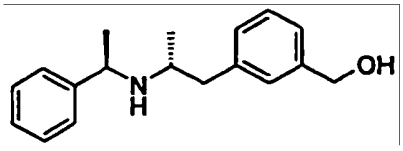


Uma mistura de (3-bromobenziloxi)(*terc*-butil)dimetilsilano (16,72 g), acetato de isopropenilo (9,2 mL), metóxido tri-n-butilestanho (24 mL), acetato de paládio(II) (0,625 g) e tri(o-tolil)fosfina (1,70 g) em tolueno anidro (65 mL) foi aquecida a refluxo a 100 °C durante 5 horas e em seguida deixada arrefecer de um dia para o outro. A mistura foi diluída com acetato de etilo (130 mL) e fluoreto de potássio aquoso 4 molar (80 mL) e vigorosamente agitada durante 20 minutos. Foi adicionado terra de diatomáceas e a suspensão foi então filtrada

através de terra de diatomáceas, lavando bem o resíduo com acetato de etilo. O filtrado e lavagens combinados foram secos sobre sulfato de magnésio anidro e concentrados *in vacuo* e purificados por cromatografia flash sobre sílica eluindo com iso-hexano, 10% de diclorometano em iso-hexano e 20% de éter dietílico em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 13,71 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,30 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,23 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,09 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 4,73 (s, 2H), 3,68 (s, 2H), 2,14 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,10 (s, 6H).

b) Cloridrato de (3-((R)-2-((R)-1-feniletilamino)propil)fenil)metanol



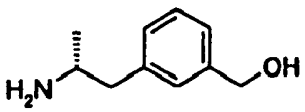
Uma solução de 1-(3-((*terc*-butildimetilsililoxi)metil)-fenil)propan-2-ona (Exemplo 276, passo a) (6,85 g) em diclorometano (240 mL) foi tratada com ácido acético (1,27 mL), (R)-(+)-1-feniletilamina (2,83 mL) e triacetoxiboro-hidreto de sódio (7,09 g), e a suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi desactivada pela adição em porções de bicarbonato de sódio aquoso saturado (120 mL) ao longo de 5 minutos. A mistura bifásica foi vigorosamente agitada durante 1,75 horas, em seguida separada. A fase aquosa foi extraída com mais diclorometano, e as fases orgânicas combinadas foram secas

($MgSO_4$), filtradas e concentradas para proporcionar um óleo. O óleo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 10% de etanol em iso-hexano para dar o álcool sililado como um óleo amarelo (7,21 g). O óleo foi dissolvido em solução de HCl/metanol (1 M, 20 mL), mantido à temperatura ambiente durante 25 minutos, em seguida concentrado *in vacuo*. A goma resultante foi triturada com metanol/éter dietílico para dar uma suspensão espessa cristalina que foi agitada durante 30 minutos. O sólido foi removido por filtração, lavado bem com éter dietílico e recristalizado três vezes de metanol/éter dietílico para proporcionar o composto em subepígrafe como cristais brancos. Rendimento 1,9 g.

m/z 270 $(M+H)^+$ (APCI+)

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 9,84 (s l, 1H), 9,21 (s l, 1H), 7,69 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 7,53 - 7,40 (m, 3H), 7,23 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 6,88 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 5,16 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,69 - 4,55 (m, 1H), 4,43 (d, *J* = 5,4 Hz, 2H), 3,42 - 3,30 (m, 1H), 3,04 - 2,91 (m, 1H), 2,61 - 2,47 (m, 1H), 1,63 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,10 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H).

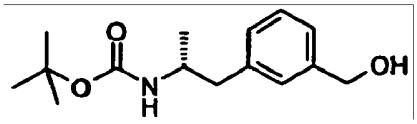
c) (R)-(3-(2-Aminopropil)fenil)metanol



Uma mistura de cloridrato de (3-((R)-2-((R)-1-feniletilamino)propil)fenil)metanol (Exemplo 276, passo b)

(1,92 g), hidróxido de paládio a 20% sobre carvão (0,757 g) e formato de amónio (2,28 g) em etanol (30 mL) foi agitada a 75 °C durante 1,5 horas, em seguida deixada arrefecer. A suspensão foi filtrada através de terra de diatomáceas, lavando bem o resíduo com etanol. O filtrado e lavagens combinados foram concentrados *in vacuo* para proporcionar uma goma amarela pálida como uma mistura do produto desejado e do análogo desidroxilo. Rendimento 1,54 g. Utilizado directamente

d) (R)-1-(3-(Hidroximetil)fenil)propan-2-ilcarbamato de *terc*-butilo

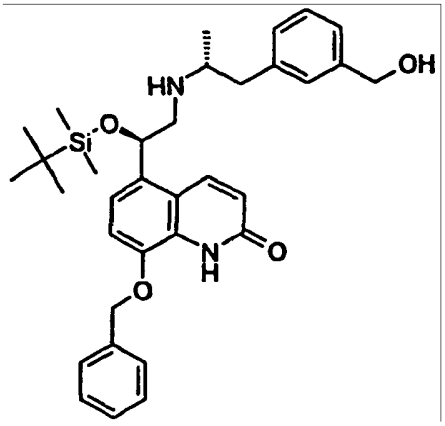


Uma solução de dicarbonato de di-*terc*-butilo (2,034 g) em THF (5 mL) foi adicionada, gota a gota ao longo de 20 minutos, a uma solução do (R)-(3-(2-aminopropil)fenil)metanol impuro (Exemplo 276, passo c) (1,54 g) em THF (10 mL) e água (10 mL). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente ao longo de um fim-de-semana, em seguida foi adicionada trietilamina (3,90 mL). Foi adicionado, gota a gota ao longo de 30 minutos, mais dicarbonato de di-*terc*-butilo (2,013 g) em THF (5 mL). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro, em seguida concentrada *in vacuo* para remover o THF. A fase aquosa oleosa resultante foi extraída duas vezes com acetato de etilo e os extractos combinados secos ($MgSO_4$), filtrados e concentrados sobre sílica flash *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com

35% de acetato de etilo em iso-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,9 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,29 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,25 - 7,17 (m, 2H), 7,11 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,68 (s, 2H), 4,37 (s l, 1H), 3,91 (s l, 1H), 2,85 (dd, *J* = 12,7, 5,0 Hz, 1H), 2,66 (dd, *J* = 13,3, 7,4 Hz, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,09 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H). Um protão permutável não observado.

e) 8-(Benziloxi)-5-((R)-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-((R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona

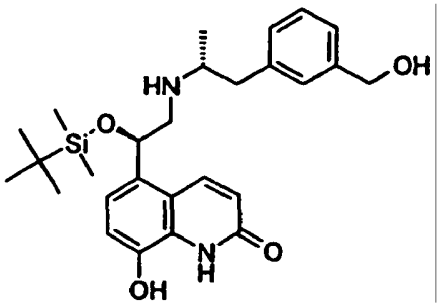


Uma solução de (R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-ilcarbamato de *terc*-butilo (Exemplo 276, passo d) (0,78 g) em diclorometano (20 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (5 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 40 minutos. Foi adicionado tolueno e a solução foi concentrada *in vacuo*. O resíduo foi partilhado entre NaOH aquoso 1 M e DCM e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída mais duas vezes com DCM, em seguida os extractos orgânicos combinados foram secos ($MgSO_4$) e concentrados *in vacuo* para proporcionar

(R)-(3-(2-aminopropil)fenil)metanol como um óleo incolor que cristalizou lentamente em repouso até um sólido branco (0,442 g). Uma mistura de (R)-(3-(2-aminopropil)fenil)metanol (0,223 g), (R)-8-(benziloxi)-5-(2-bromo-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-quinolin-2(1H)-ona (0,72 g), iodeto de sódio (0,219 g) e base de Hunig (0,77 mL) em acetonitrilo (3 mL) foi aquecida a refluxo sob azoto de um dia para o outro. Foram adicionados mais (R)-(3-(2-aminopropil)fenil)metanol (0,219 g), base de Hunig (0,51 mL) e acetonitrilo (2 mL) e a mistura foi aquecida a refluxo uma segunda vez de um dia para o outro. A mistura reaccional arrefecida foi diluída com acetato de etilo, lavada duas vezes com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca ($MgSO_4$) e concentrada sobre sílica flash *in vacuo*. O pó resultante foi purificado por cromatografia flash sobre sílica eluindo com 5% de trietilamina em acetato de etilo para proporcionar o composto em subepígrafe como um espuma amarela pálida. Rendimento 0,525 g.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,37 (s l, 1H), 8,46 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,69 - 7,56 (m, 5H), 7,39 - 7,22 (m, 4H), 7,17 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,37 (d, J = 2,1 Hz, 2H), 5,26 (dd, J = 7,4, 5,6 Hz, 1H), 4,82 (s, 2H), 3,24 (dd, J = 11,4, 7,6 Hz, 1H), 3,05 (q, J = 6,5 Hz, 1H), 2,93 (dd, J = 11,4, 5,5 Hz, 1H), 2,84 (dd, J = 13,6, 7,0 Hz, 1H), 2,74 (dd, J = 13,2, 6,8 Hz, 1H), 1,25 (d, J = 6,2 Hz, 3H), 1,04 (s, 9H), 0,24 (s, 3H), 0,00 (s, 3H). Dois protões permutáveis não observados.

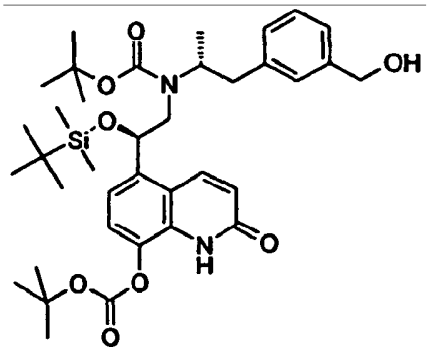
f) 5-((R)-1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-((R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-ilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona



Uma mistura de 8-(benziloxi)-5-((R)-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-((R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona (Exemplo 276, passo e) (0,52 g) e catalisador de paládio a 10% sobre carvão (0,102 g) em etanol (36 mL) foi hidrogenada à temperatura ambiente e a 5 bar de pressão de hidrogénio durante 1,5 horas, em seguida hidrogenada à temperatura ambiente e a 1 bar de pressão de hidrogénio de um dia para o outro. A mistura foi filtrada através de terra de diatomáceas, lavando bem o catalisador com etanol, e o filtrado e lavagens combinados foram concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,42 g. Material utilizado imediatamente no passo seguinte.

m/z 483 $(M+H)^+$ (APCI+)

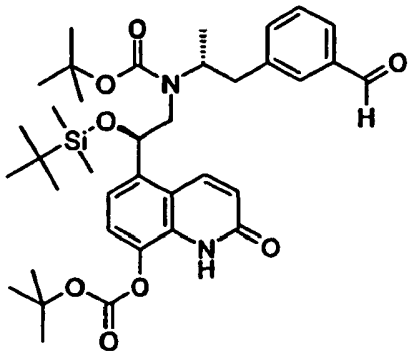
g) (R)-2-(8-(*terc*-Butoxicarboniloxi)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)-2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil((R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo



5-((R)-1-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-((R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-ilamino)etil)-8-hidroxiquinolin-2(1H)-ona (Exemplo 276, passo f) (0,42 g) foi dissolvida em etanol (25 mL), tratada com trietilamina (0,26 mL) e dicarbonato de di-*terc*-butilo (0,201 g) e agitada à temperatura ambiente durante 1,5 horas. Foram adicionados mais dicarbonato de di-*terc*-butilo (0,203 g) e trietilamina (0,13 mL) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro, antes de ter sido concentrada *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,609 g. Material utilizado imediatamente no passo seguinte.

m/z 683 $(M+H)^+$ (APCI+)

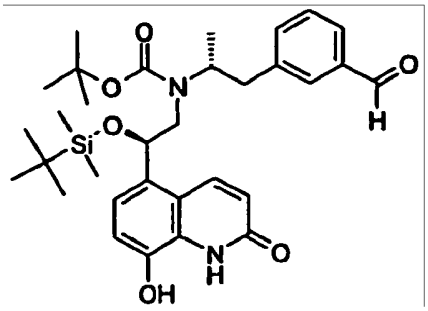
h) (R)-2-(8-(*terc*-Butoxicarboniloxi)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)-2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil((R)-1-(3-formilfenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo



(R)-2-(8-(*terc*-Butoxicarboniloxi)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)-2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil((R)-1-(3-(hidroximetil)fenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (Exemplo 276, passo g) (0,609 g) foi dissolvido em diclorometano (30 mL), tratado com óxido de manganês (IV) (0,791 g) e a suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente ao longo de um fim-de-semana. Foi adicionado mais óxido de manganês (IV) (0,801 g) e a suspensão foi agitada durante mais 4 horas. A mistura foi filtrada através de terra de diatomáceas, lavando bem o resíduo com DCM, e o filtrado e lavagens combinados foram concentrados *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,521 g. Material utilizado imediatamente no passo seguinte.

m/z 681 $(M+H)^+$ (APCI+)

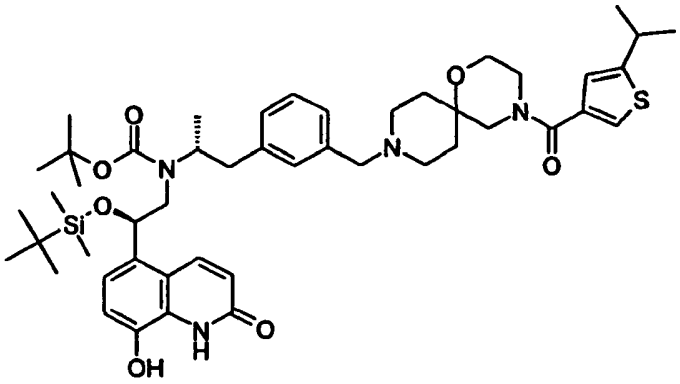
i) (R)-2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil((R)-1-(3-formilfenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo



(R)-2-(8-(*terc*-Butoxicarboniloxi)-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)-2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil((R)-1-(3-formilfenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (Exemplo 276, passo h) (0,521 g) foi suspenso em metanol (20 mL) e tratado com amónia aquosa "880" (2,5 mL) para dar uma suspensão que foi agitada à temperatura ambiente durante 3 horas. A mistura foi concentrada borbulhando com uma corrente de azoto, e o resíduo foi partilhado entre acetato de etilo, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo, e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas ($MgSO_4$) e concentradas *in vacuo* para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,476 g. Material utilizado imediatamente no passo seguinte.

m/z 581 $(M+H)^+$ (APCI+)

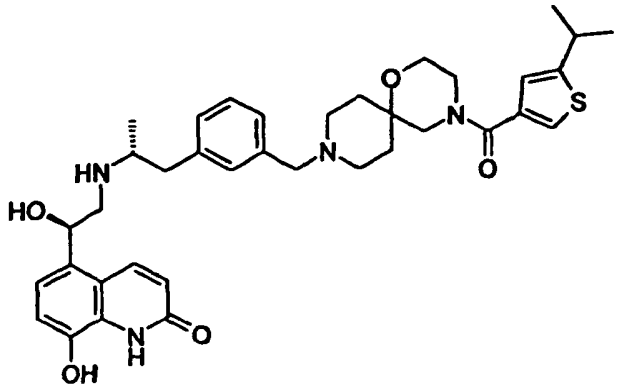
j) (R)-2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil((R)-1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo



(R)-2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil((R)-1-(3-formilfenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (Exemplo 276, passo i) (0,476 g) foi tratado com (5-isopropiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (Exemplo 275, passo i) (0,296 g), N-metil-2-pirrolidinona (20 mL), ácido acético (0,052 mL) e triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,294 g) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A solução foi vertida para uma mistura de solução saturada de bicarbonato de sódio e água e extraída três vezes com éter dietílico. Os extractos combinados foram lavados com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos ($MgSO_4$) e concentrados *in vacuo*, em seguida purificados por cromatografia flash sobre sílica eluído com NEt_3:MeOH:DCM 1:5:94 para proporcionar o composto em subepígrafe. Rendimento 0,471 g.

m/z 874 $(M+H)^+$ (APCI+)

k) Ditrifluoroacetato de 8-hidroxi-5-((R)-1-hidroxi-2-((R)-1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazapiro[5-5]undecan-9-il)metil)fenil)propan-2-ilamino)etil)quinolin-2(1H)-ona



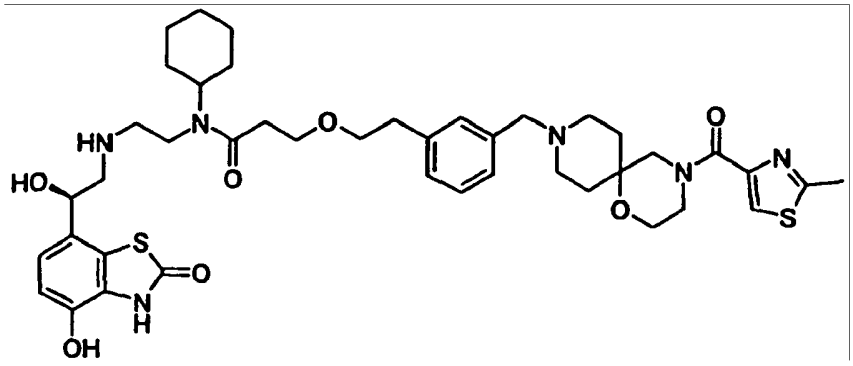
Uma solução de (R)-2-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)etil((R)-1-(3-((4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenil)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (Exemplo 276, passo j) (0,465 g) em ácido fórmico (25, mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas, em seguida diluída com tolueno e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido numa mistura de água e acetonitrilo (11 mL), filtrado e purificado por HPLC preparativa (Sunfire, Gradiente: 5-50% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram concentradas *in vacuo* e co-evaporadas três vezes de acetonitrilo para dar um resíduo incolor. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar um sólido, o qual foi recolhido por filtração, lavado com éter dietílico e seco *in vacuo* à temperatura ambiente para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,234 g.

m/z 659 $(M+H)^+$ (APCI+)

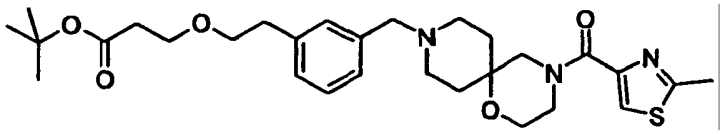
RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 8,20 – 8,13 (m, 1H), 7,48 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H), 7,46 – 7,31 (m, 4H), 7,20 – 7,13 (m, 1H), 7,00 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,56 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 5,37 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,70 – 3,62 (m, 2H), 3,62 – 3,50 (m, 3H), 3,49 – 3,36 (m, 2H), 3,30 – 2,98 (m, 8H), 2,81 – 2,71 (m, 1H), 2,12 1,93 (m, 2H), 1,81 – 1,60 (m, 2H), 1,28 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H), 1,20 – 1,13 (m, 3H). Seis protões permutáveis não observados.

Exemplo 277

Ditrifluoroacetato de (R)-N-ciclo-hexil-N-(2-(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etilamino)etil)-3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanamida

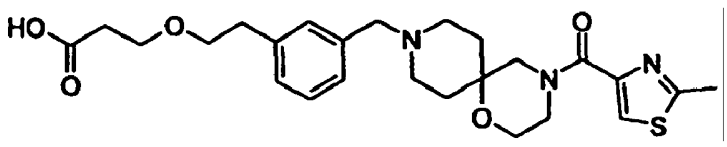


a) 3-(3-((4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de *terc*-butilo



Foi adicionado Triton-B (0,094 mL) a uma solução de (9-(3-(2-hidroxietil)benzil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-metiltiazol-4-il)metanona (Exemplo 6, passo b) (1,72 g) em tolueno (30 mL). A mistura foi concentrada in vacuo e arrefecida até 0 °C. Foi adicionado acrilato de terc-butilo (0,671 mL) ao longo de 1 minuto e a mistura foi agitada à temperatura ambiente ao longo de 20 horas. A reacção foi diluída com DCM (50 mL) e o orgânico lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado para proporcionar o composto em subepígrafe. Material utilizado directamente no passo seguinte.

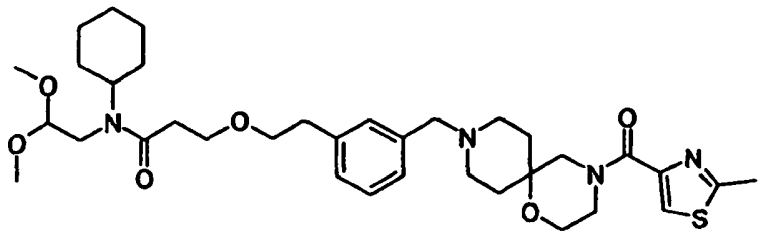
b) Ácido 3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanóico



3-(3-((4-(2-Metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de *terc*-butilo (Exemplo 277, passo a) foi dissolvido em DCM (10 mL)

e foi adicionado TFA (2 mL). A mistura resultante foi agitada durante 2 h, em seguida evaporada. O resíduo foi submetido a evaporação azeotrópica com tolueno e redissolvido em MeCN (10 mL). Este foi aplicado a um cartucho de SCX (50 g, Varian) que tinha sido pré-humedecido com MeCN. O cartucho foi lavado com MeCN (100 mL) e eluído com amónia aquosa 880 em MeCN (1:4, 100 mL). O eluente foi evaporado para proporcionar o composto em subepígrafe. Material utilizado directamente no passo seguinte.

c) N-Ciclo-hexil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazepin[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanamida

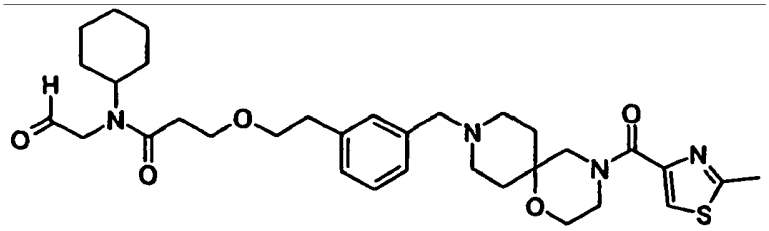


Ácido 3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanóico (Exemplo 277, passo b) foi dissolvido em DMF (10 mL) e foram adicionados N-(2,2-dimetoxietil)ciclo-hexanamina (WO2008075025) (0,93 g), trietilamina (2,88 mL) e T3P (3,95 mL). A reacção foi agitada de um dia para o outro e partilhada entre água (100 mL) e acetato de etilo (100 mL). As camadas foram separadas e a aquosa extraída com acetato de etilo (2 x 100 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução saturada de bicarbonato de sódio (100 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna flash sobre

sílica eluindo com gradiente de acetato de etilo:i-hexano:trietilamina 47,5:47,5:5 até acetato de etilo:trietilamina 95:5 para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,9 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 7,85 (s, 1H), 7,26 – 7,05 (m, 4H), 4,46 – 4,37 (m, 1H), 3,68 – 3,55 (m, 11H), 3,43 (s, 2H), 3,33 – 3,22 (m, 8H), 2,77 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,68 (s, 3H), 2,56 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,38 – 2,32 (m, 4H), 1,78 – 1,65 (m, 4H), 1,63 – 1,42 (m, 6H), 1,33 – 1,19 (m, 2H), 1,15 – 1,00 (m, 2H).

d) N-Ciclo-hexil-3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-(2-ozoetil)propanamida

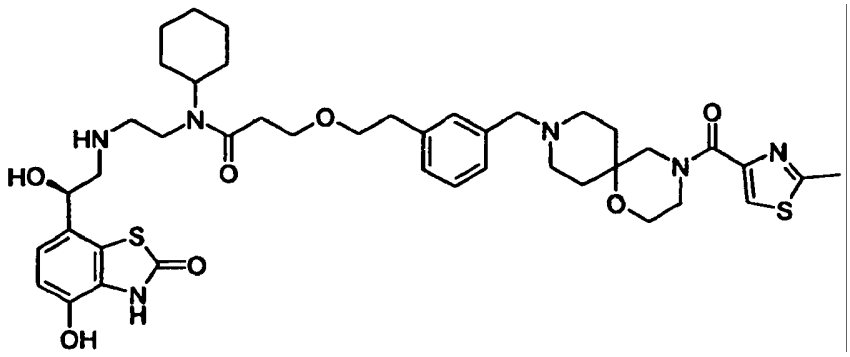


Foi adicionado ácido tósico (1384 mg) a uma solução de N-ciclo-hexil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)-fenetoxi)propanamida (Exemplo 277, passo c) (683 mg) em DCM (10 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 4 h. Foi cuidadosamente adicionada solução de bicarbonato de sódio (saturado, 10 mL) e a mistura agitada até parar o borbulhamento (10 min). A reacção foi diluída com DCM (50 mL) e a aquosa separada. O orgânico foi lavado com solução

saturada de bicarbonato de sódio (2 x 20 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (20 mL), seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado para proporcionar o composto em subepígrafe.

m/z 611 $(M+H)^+$ (APCI+)

e) Ditrifluoroacetato de (R)-N-ciclo-hexil-N-(2-(2-hidroxi-2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-di-hidrobenzo[d]tiazol-7-il)etilamino)etil)-3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanamida



Uma solução de N-ciclo-hexil-3-(3-((4-(2-metiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazapiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-(2-oxoetil)propanamida (Exemplo 277, passo d) (0,122 g) em metanol (3 mL) foi adicionada a uma mistura de (R)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona, HCl (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,079 g) e ácido acético (0,011 mL). A mistura resultante foi agitada durante 5 min em seguida arrefecida até 0 °C. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,019 g) e a mistura foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2 h. O solvente foi evaporado e o resíduo purificado por cromatografia em coluna

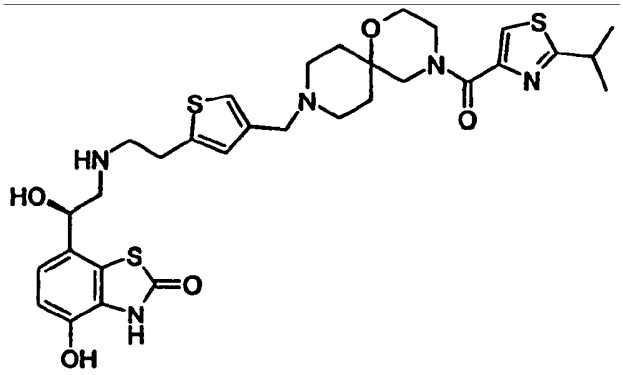
flash sobre sílica eluindo com DCM:MeOH: amónia aquosa 880 95:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e purificadas por HPLC (Sunfire, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas e trituradas com éter dietílico para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,085 g.

m/z 821 $(M+H)^+$ (Multimodo+)

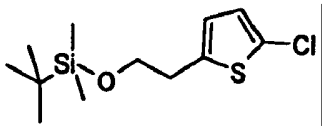
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO, 90 °C) δ 11,26 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,41 - 7,28 (m, 4H), 6,93 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,89 (dd, J = 8,7, 4,1 Hz, 1H), 4,29 (s, 2H), 3,74 - 3,43 (m, 13H), 3,29 - 2,98 (m, 8H), 2,83 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,71 - 2,56 (m, 5H), 1,98 - 1,01 (m, 14H). 5 permutáveis não observados.

Exemplo 278

Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(4-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-2-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2-(3H)-ona



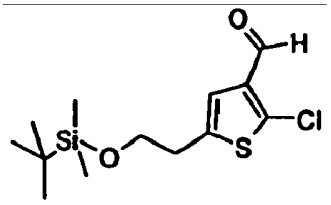
a) *terc*-Butil(2-(5-clorotiofen-2-il)etoxi)dimetilsilano



Foi adicionada *N*-clorossuccinimida (0,83 g) em porções a uma solução de terc-butildimetil(2-(tiofen-2-il)etoxi)silano (1,5 g) (exemplo 4 passo a) em clorofórmio (50 mL) e aquecida a refluxo durante 3 dias. A solução amarela foi diluída com DCM (100 mL) e lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (2x100 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100mL), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com *iso*-hexano. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 1 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) 8 6,69 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 6,57 - 6,54 (m, 1H), 3,75 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 0,87 (s, 9H), 0,01 (s, 6H)

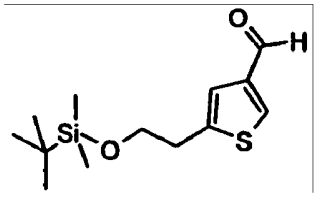
b) 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-1-clorotiofeno-3-carbaldeído



Foi adicionado, gota a gota ao longo de 5 min, *terc*-butil(2-(5-clorotiofen-2-il)etoxi)dimetilsilano (0,8 g) (exemplo 278, passo a) a uma solução, mantida sob agitação, de butil-lítio (2,5 M em hexanos 1,7 mL) e 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (0,73 mL) em THF (25 mL) a -78 °C. A mistura resultante foi agitada durante 2 h e foi adicionada DMF (0,67 mL). A mistura foi agitada durante mais 1 h e deixada aquecer até à TA. A reacção foi cuidadosamente vertida para solução de HCl (0,5 M, 200 mL) e extraída com acetato de etilo (3x100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (2x100 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas *in vacuo*. O óleo resultante foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de iso-hexano até 5% de éter em iso-hexano. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento (0,8 g)

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,98 (s, 1H), 7,06 - 7,04 (m, 1H), 3,79 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,95 - 2,85 (m, 2H), 0,90 (s, 9H), 0,05 (s, 6H)

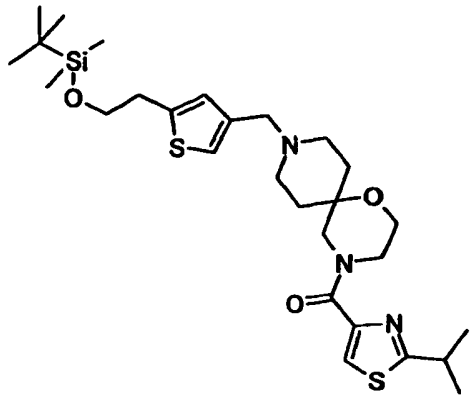
c) 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofeno-3-carbaldeído



5-(2-(*terc*-Butildimetilsililoxi)etil)-2-clorotiofeno-3-carbaldeído (0,8 g) (exemplo 278, passo b) numa mistura de etanol (50 mL) e trietilamina (0,91 mL) com catalisador de paládio a 10% sobre carvão (0,28 g) foi vigorosamente agitado sob 4 bar de pressão de hidrogénio durante 18 horas. A mistura foi filtrada através de celite e a almofada do filtro lavada com etanol (50mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados e submetidos a evaporação azeotrópica com tolueno (20 mL) para dar um óleo amarelo. O óleo foi dissolvido em DCM (100 mL), foi adicionado dióxido de manganês (2,3 g) e a suspensão resultante submetida a refluxo de um dia para o outro. A mistura foi filtrada através de celite e a almofada do filtro lavada com DCM (50 mL). O filtrado e lavagens combinados foram evaporados *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 0,6 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9,80 (s, 1H), 7,93 - 7,90 (m, 1H), 3,80 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,99 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,01 (s, 6H) + um H obscurecido pelo pico do solvente

d) (9-((5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-3-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

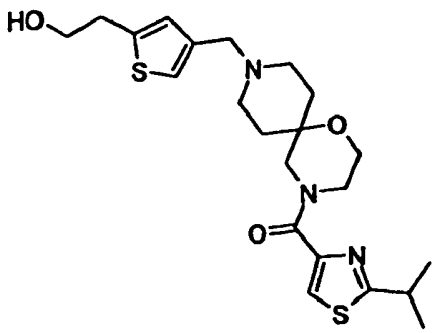


Foi adicionado 5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)-tiofeno-3-carbaldeído (0,6 g) (exemplo 278, passo c) a (2-isopropiltiazol4-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (0,94 g) (exemplo 22, passo b) numa mistura de N-metil-2-pirrolidinona (5 mL) e ácido acético (0,13 mL) e agitada durante 30 min. Foi então adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (0,71 g) e a mistura agitada de um dia para o outro. A reacção foi vertida para água (100 mL), o pH foi ajustado até 8 utilizando solução saturada de bicarbonato de sódio e a solução aquosa resultante extraída com acetato de etilo (3x100 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água (3x100 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de i-hexano:acetato de etilo:trietilamina 77,5:17,5:5 até i-hexano:acetato de etilo:trietilamina 47,5:47,5:5. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como um óleo transparente. Rendimento 0,8 g.

564 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,91 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 3,79 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 3,69 - 3,55 (m, 4H), 3,41 - 3,27 (m, 3H), 2,92 (td, *J* = 6,3, 0,8 Hz, 2H), 2,42 - 2,23 (m, 6H), 1,75 - 1,64 (m, 2H), 1,59 - 1,47 (m, 2H), 1,37 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H), 0,89 (s, 9H), 0 (s, 6H)

e) (9-((5-(2-hidroxietil)tiofen-3-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



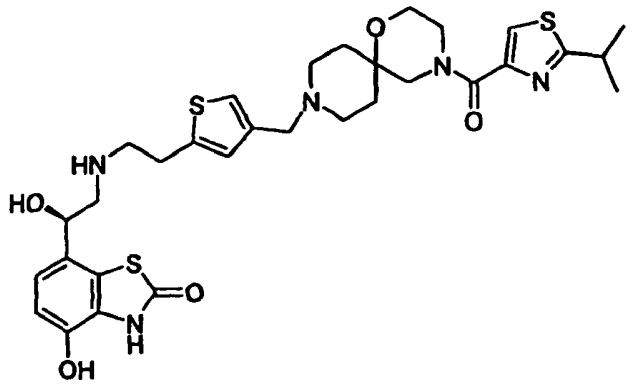
Foi adicionado fluoreto de tetrabutilamónio (1 M em tetra-hidrofurano, 2,1 mL) a uma solução de (9-((5-(2-(*terc*-butildimetilsililoxi)etil)tiofen-3-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 278, passo d) (0,80 g) em tetra-hidrofurano (10 mL). Após 2 h, a solução foi evaporada *in vacuo* e o resíduo foi partilhado entre solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL) e acetato de etilo (50 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa extraída com acetato de etilo (2x50 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secas sobre sulfato de

sódio, filtradas e evaporadas. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com acetato de etilo:trietilamina 20:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo* para dar o composto em subepígrafe como uma goma. Rendimento 0,61 g.

450 $(M+H)^+$ (APCI)

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 90 °C) δ 7,90 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 4,41 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,72 - 3,55 (m, 4H), 3,41 - 3,24 (m, 3H), 3,00 (s, 2H), 2,88 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H), 2,43 - 2,26 (m, 6H), 1,75 - 1,30 (m, 10H)

f) Ditrifluoroacetato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(2-(4-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)tiofen-2-il)etilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-((5-(2-hidroxietil)tiofen-3-il)metil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (0,35 g) (exemplo 278, passo e) em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (0,06 mL) seguida de periodinano de Dess-Martin (0,56 g) e a mistura resultante

foi agitada à TA durante 1 hora. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio (10 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e acetato de etilo (10 mL) e agitada vigorosamente durante 5 minutos. A mistura foi extraída com acetato de etilo (2x30 mL). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas, tratadas com ácido acético (0,09 mL) e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol (5 mL) e foi então adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,15 g) e a mistura agitada durante 5 min antes de ser arrefecida num banho de gelo. Foi então adicionado cianoboro-hidreto de sódio (0,07 g) e a mistura foi deixada aquecer até à TA e agitada de um dia para o outro. O solvente foi evaporado *in vacuo*. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com gradiente de DCM:metanol:amónia aquosa "880" 94,5:5:0,5 até 89:10:1. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas *in vacuo*. A purificação adicional foi por HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 10-30% de acetonitrilo em TFA aquoso a 0,2%). As fracções contendo o produto foram combinadas, evaporadas *in vacuo*, submetidas a evaporação azeotrópica com acetonitrilo e o resíduo triturado com éter para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,10 g.

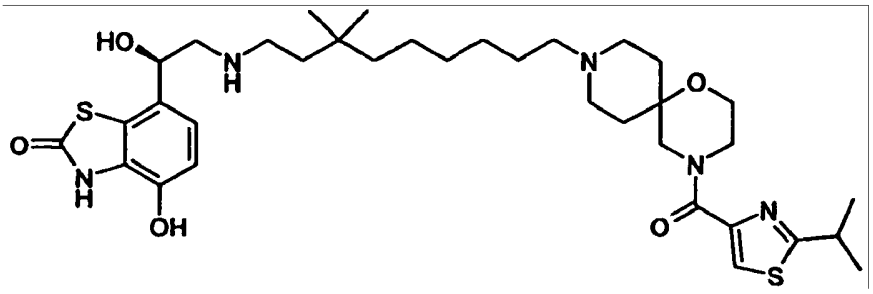
m/z 658 $(M+H)^+$ (Multimodo)

RMN de ^1H (500 MHz, D_6-DMSO) δ 11,68 (s, 1H), 10,42 - 10,01 (m, 2H), 9,06 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,79 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,52 (s, 1H), 4,94 - 4,86 (m, 1H), 4,42 - 4,23 (m, 2H),

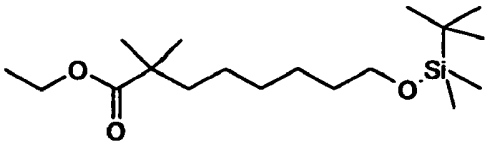
3,82 - 3,48 (m, 6H), 3,34 - 2,91 (m, 11H), 2,14 - 2,02 (m, 2H), 1,83 - 1,59 (m, 2H), 1,33 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H)

Exemplo 279

Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-3,3-dimetilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 8-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2,2-dimetiloctanoato de etilo

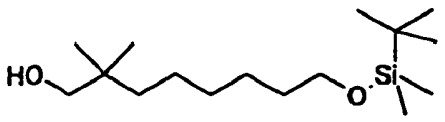


Foi adicionado n-butil-lítio (32,8 mL) a uma solução de diisopropilamina (1 M em tolueno, 11,64 mL) em THF (60 mL) a 0 °C até 5 °C ao longo de 15 minutos, e esta mistura foi agitada durante 30 minutos. A mistura reaccional foi arrefecida até -78 °C, em seguida foi adicionado gota a gota éster etílico do ácido isobutírico (10 mL) ao longo de 15 minutos. A mistura foi agitada a -78 °C durante 1 hora, em seguida foi adicionado, gota a gota, (6-bromo-hexiloxi)-*terc*-butildimetilsilano (23 mL) e a

mistura reaccional foi agitada a -78 °C durante mais 60 minutos. O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro antes de ter sido vertida sobre uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio (300 mL) e extraída com acetato de etilo (2 x 300 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (250 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas para dar o produto em bruto. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0- 40% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um líquido âmbar pálido. Rendimento 20 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,11 (q, J = 7,1 Hz, 2H); 3,59 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 1,54-1,45 (m, 4H); 1,35-1,18 (m, 9H); 1,15 (s, 6H); 0,89 (s, 9H); 0,05-0,03 (m, 6H).

b) 8-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2,2-dimetiloctan-1-ol

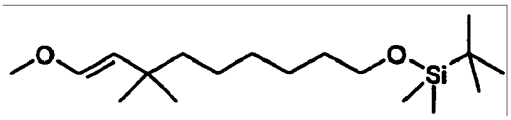


8-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2,2-dimetiloctanoato de etilo (exemplo 279, passo a) (20 g) em éter seco sob azoto (300 mL) foi arrefecido até 0 °C num banho de gelo, em seguida foi adicionado, gota a gota, hidreto de diisobutil-alumínio (1 M em tolueno, 133 mL). A mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 1 hora, em seguida desactivada com tartarato de potássio e sódio aquoso saturado (sal de Rochelle, 400 mL) e agitada de um dia para o outro. A mistura foi extraída com acetato de etilo (3 x 300 mL), em seguida as camadas orgânicas combinadas foram

lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-20% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um líquido incolor. Rendimento 10,11 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3,60 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 3,31 (s, 2H); 1,56-1,46 (m, 2H); 1,38-1,18 (m, 8H); 0,89 (s, 9H); 0,86 (s, 6H); 0,06-0,03 (m, 6H) mais um permutável não observado.

c) Mistura de (E)-*terc*-Butil(9-metoxi-7,7-dimetilnon-8-eniloxi)dimetilsilano e (Z)-*terc*-Butil(9-metoxi-7,7-dimetilnon-8-eniloxi)dimetilsilano



Foi adicionado cloreto de oxalilo (5,9 mL) a -70 °C a uma solução de dimetilsulfóxido (4,98 mL) em diclorometano seco (60 mL) e a mistura agitada durante 1 hora. Foi adicionado, gota a gota, 8-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2,2-dimetiloctan-1-ol (exemplo 279, passo b) (10,11 g), dissolvido em diclorometano (20 mL), e a mistura deixada agitar durante 1 hora. Foi então adicionada trietilamina (19,4 mL) e a agitação continuou durante 1 hora. O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura foi deixada aquecer até à temperatura ambiente, altura em que foi adicionado DCM (15 mL). Foi adicionado HCl 1 N gota a gota para dissolver os sais presentes na mistura reaccional e as camadas separadas. A camada aquosa foi extraída com DCM (2 x 250 mL), em

seguida as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com carbonato de sódio aquoso saturado (250 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e concentradas sob vácuo para dar um líquido laranja. O resíduo foi filtrado através de um tampão curto de sílica utilizando éter dietílico como o eluente para proporcionar 8-(*terc*-butil-dimetil-silaniloxi)-2,2-dimetiloctanal como um líquido amarelo que foi utilizado sem mais purificação.

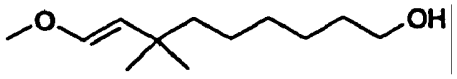
Terc-butóxido de potássio (15,3 g) e cloreto de (metoximetil)trifenilfosfónio (48 g) em THF seco (350 mL) foram arrefecidos até 0 °C e agitados durante 30 minutos. 8-(*terc*-Butil-dimetil-silaniloxi)-2,2-dimetil-octanal (10,03 g) foi dissolvido em THF seco (150 mL) e adicionado à mistura reaccional, a qual foi em seguida agitada a 0 °C durante 1 hora. A mistura foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 30 minutos, antes da adição de solução saturada de bicarbonato de sódio (300 mL) seguida de extracção com éter dietílico (3 x 300 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (300 mL), secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e evaporadas sob vácuo para dar o produto em bruto.

Foi adicionado ciclo-hexano (300 mL) e a mistura agitada durante 5 minutos. O solvente foi decantado e este processo foi repetido. A evaporação da camada de ciclo-hexano deu um líquido amarelo com algum sólido branco presente. O sólido foi removido por filtração, em seguida o filtrado foi purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-40% de acetato de etilo em ciclo-hexano. A purificação adicional foi conseguida dissolvendo o material (3,2 g) em acetona (50 mL), tratando com iodeto de sódio (3,05 g) seguido de resina de Merrifield (6,4 g)

e agitando a mistura durante o fim-de-semana. A resina foi filtrada e lavada com acetona (100 mL), DCM (50 mL) e metanol (50 mL). O filtrado foi evaporado e retomado em DCM (200 mL), lavado com água (2 x 60 mL) e a camada orgânica seca sobre sulfato de magnésio e evaporada sob pressão reduzida para dar o subproduto em epígrafe como um líquido amarelo pálido e como uma mistura de isómeros cis/trans. Rendimento 2,6 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,16 (d, J = 12,9 Hz, 0,6H); 5,69 (d, J = 7,0 Hz, 0,4H); 4,73 (d, J = 12,9 Hz, 0,6H); 4,09 (d, J = 7,0 Hz, 0,4H); 3,61-3,56 (m, 2H); 3,53-3,47 (m, 3H); 1,56-1,45 (m, 2H); 1,38-1,16 (m, 8H); 1,05 (d, J = 10,1 Hz, 3H); 0,97 (s, 3H); 0,92-0,86 (m, 9H); 0,06-0,02 (m, 6H).

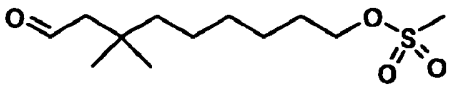
d) A mistura de (E)-9-Metoxi-7,7-dimetilnon-8-en-1-ol e (Z)-9-Metoxi-7,7-dimetilnon-8-en-1-ol



(E)-*terc*-Butil(9-metoxi-7,7-dimetilnon-8-eniloxi)dimetil-silano (exemplo 279, passo c) (2,57 g) foi dissolvido em tetra-hidrofurano (60 mL) e foi adicionado fluoreto de tetrabutilamónio (16,4 mL) e a mistura reaccional deixada agitar à temperatura ambiente durante 4 horas. A mistura reaccional foi desactivada com água (50 mL) e extraída com éter dietílico (3 x 100 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada sob vácuo para dar o composto em subepígrafe como um líquido amarelo pálido e como uma mistura de isómeros cis/trans, o qual foi utilizada sem mais purificação. Rendimento 1,2 g

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,16 (d, J = 12,9 Hz, 0,5H); 5,70 (d; J = 7,0 Hz, 0,5H); 4,74 (d, J = 12,9 Hz, 0,5H); 4,11 (d, J = 7,0 Hz, 0,5H); 3,68-3,61 (m, 2H); 3,52 (s, 1,5H); 3,49 (s, 1,5H); 1,62-1:51 (m, 2H); 1,40-1,21 (m, 8H); 1,07 (s, 3H); 0,98(s, 3H) mais um permutável não observado.

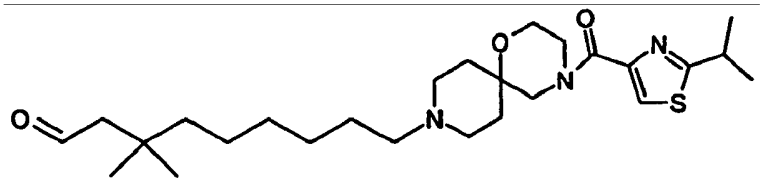
e) Metanossulfonato de 7,7-dimetil-9-oxononilo



Uma mistura de (E)-9-metoxi-7,7-dimetilnon-8-en-1-ol e (Z)-9-metoxi-7,7-dimetilnon-8-en-1-ol (exemplo 279, passo d) (1,6 g) foi dissolvida em diclorometano (15 mL) e foi adicionada trietilamina (1,33 mL), em seguida a mistura foi arrefecida até 0 °C num banho de gelo sob árgon. Foi adicionado, gota a gota ao longo de 5 minutos, cloreto de metanossulfonilo (0,68 mL) e a mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 15 minutos e em seguida à temperatura ambiente durante 1 hora. A mistura reaccional foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 30 mL), seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob vácuo para dar o produto em bruto. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel, eluindo com 0-100% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 1,2 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9,85-9,81 (m, 1H); 4,25-4,18 (m, 2H); 3,00 (s, 3H); 2,25 (m, 2H); 1,80-1,69 (m, 2H); 1,47-1,37 (m, 2H), 1,31 (s, 6H); 1,05-1,01 (m, 6H).

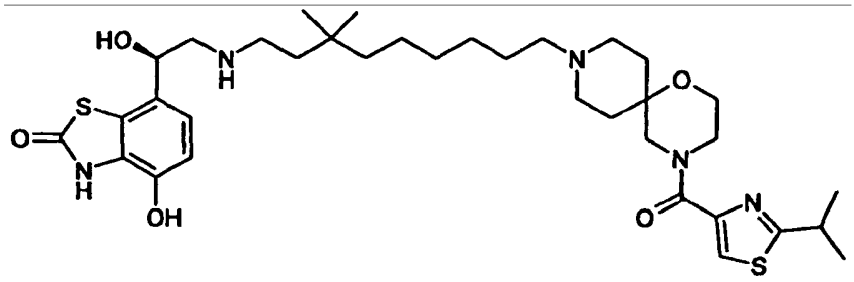
f) 9-(4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-3,3-dimetilnonanal



(2-Isopropil-tiazol-4-il)-(1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undec-4-il)-metanona (0,262 g) (preparada a partir do sal de trifluoroacetato como no Exemplo 102, passo c) foi dissolvida em acetonitrilo (4 mL) e foi adicionada trietilamina (0,22 mL). Esta solução foi então adicionada a uma solução de metanossulfonato de 7,7-dimetil-9-oxononilo (Exemplo 279, passo e) (0,291 g) em acetonitrilo (4 mL) e a mistura resultante aquecida a 80 °C de um dia para o outro. Os solventes foram removidos sob vácuo. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de Metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,361 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9,80-9,77 (m, 1H); 7,81 (s, 1H); 4,12-3,80 (m, 2H); 3,73 (s, 3H); 3,68-3,58 (m, 1H); 3,34-3,22 (m, 1H); 2,90-2,33 (m, 6H); 2,21 (d, J = 3,17 Hz, 2H); 1,99-1,65 (m, 6H); 1,63-1,47 (m, 2H); 1,37 (d, J = 6,9 Hz, 6H); 1,31-1,20 (m, 6H); 1,00 (s, 6H).

g) Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-3,3-dimetilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



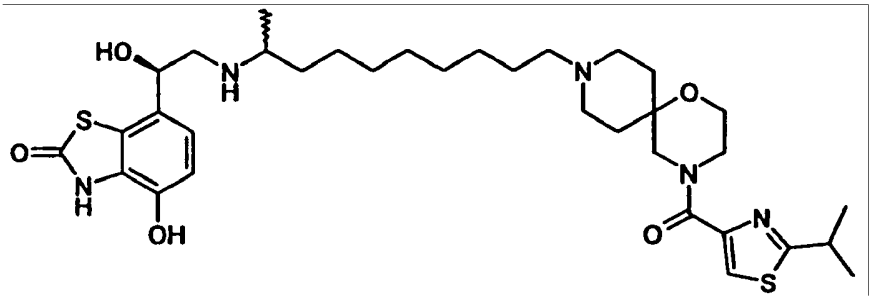
Foi adicionado ácido acético (0,035 mL) a uma solução, mantida sob agitação, de 9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-3,3-dimetilnonanal (exemplo 279, passo f) (195 mg) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (161 mg) em metanol (10 mL) e após um minuto foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (51 mg) e a mistura reaccional agitada à temperatura ambiente durante 1,5 h. A mistura foi concentrada e em seguida partilhada entre THF (12 mL) e uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio e solução saturada de bicarbonato de sódio (10:1, 12 mL). As camadas foram separadas e a fase orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. O material resultante foi purificado por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,038 g.

m/z 688 $(M+H)^+$

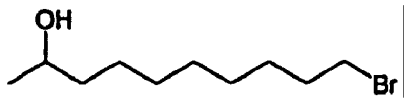
RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO, 80 °C): δ 8,12 (s, 1,6H); 7,89 (s, 1H); 6,88 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,70 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,59 (t, J = 6,2 Hz, 1H); 3,64 (d, J = 9,5 Hz, 6H); 2,75 (d, J = 6,7 Hz, 2H); 2,61-2,53 (m, 2H); 2,40-2,21 (m, 6H); 1,72-1,63 (m, 2H); 1,58-1,47 (m, 2H); 1,43-1,30 (m, 10H); 1,29-1,09 (m, 8H); 0,82 (s, 6H) mais um sinal obscurecido pelo solvente e quatro permutáveis não observados.

Exemplo 280

Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(10-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)decan-2-ilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 10-Bromodecan-2-ol



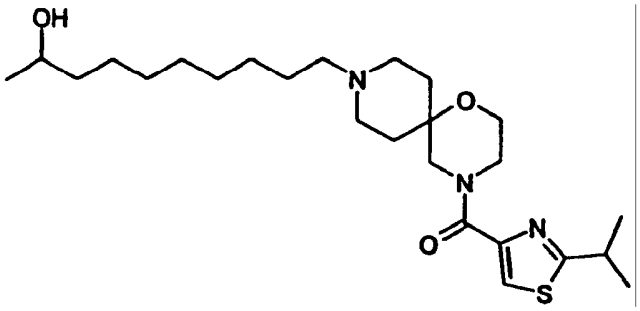
A uma solução de 9-bromo-nonanol (1,7 g) em DCM (100 mL) foi adicionada diisopropiletilamina (3,91 mL), em seguida DMSO (1,62 mL) e a mistura arrefecida até -14 °C, em seguida foi adicionado complexo de trióxido de enxofre-piridina (3,64 g) em

porções. A mistura foi agitada durante 30 minutos, em seguida deixada em repouso de um dia para o outro. Foi adicionada água e as fases foram separadas. A camada orgânica foi lavada com hidrogenossulfato de sódio 1 M (x 3), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi separada e seca utilizando um vidro poroso hidrófobo, em seguida evaporada para proporcionar o aldeído como um líquido amarelo (2,32 g).

A uma solução do aldeído (750 mg) em éter seco (20 mL) a 0 °C foi adicionado gota a gota metil-lítio (1,6M em éter, 2,1 mL). Após 45 minutos a mistura foi vertida sobre ácido sulfúrico 2 M sob agitação e as fases foram separadas. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-30% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em epígrafe como um líquido cor de palha. Rendimento 0,286 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3,83-3,75 (m, 1H); 3,41 (t, J = 6,9 Hz, 2H); 1,90-1,80 (m, 2H); 1,50-1,37 (m, 6H); 1,36-1,26 (s, 6H); 1,19 (d, J = 6,2 Hz, 3H) mais um permutável não observado.

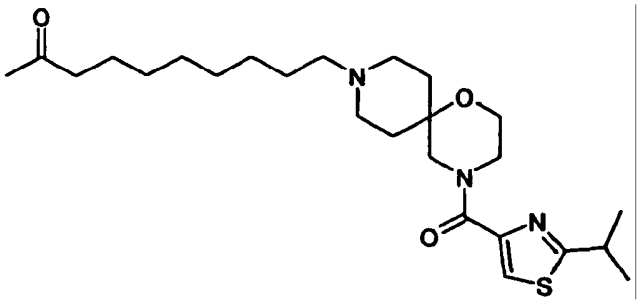
b) (9-(9-Hidroxidecil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Trifluoroacetato de (2-isopropil-tiazol-4-il)-(1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undec-4-il)-metanona (exemplo 22, passo b) (500 mg) foi aplicado a um cartucho SCX-2 humedecido com metanol, lavado com metanol, em seguida eluído utilizando amónia 2 N em metanol e evaporado para proporcionar a base livre (276 mg). Este material foi misturado com 10-bromodecan-2-ol (exemplo 280, passo a, 280 mg) e trietilamina (0,247 mL) em acetonitrilo (10 mL) e aquecido a 60 °C durante 18 h. O solvente foi removido por evaporação e o material em bruto purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-20% de metanol em DCM para proporcionar o composto em epígrafe. Rendimento 0,298 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO): δ 8,99 (s, 1H); 8,00 (s, 1H); 4,23 (d, J = 4,7 Hz, 1H); 3,78-3,44 (m, 8H); 3,11-2,77 (m, 4H); 2,08-1,92 (m, 2H); 1,76-1,48 (m, 4H); 1,30 (d, J = 6,9 Hz, 7H); 1,26-1,16 (m, 12H); 0,98 (d, J = 6,1 Hz, 3H).

c) 10-(4-(2-Isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)decan-2-ona

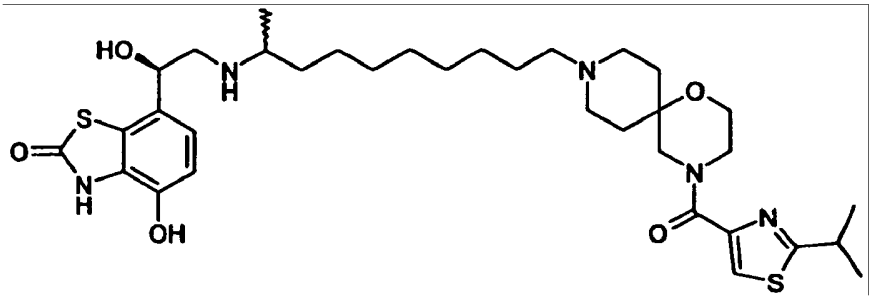


A uma solução de (9-(9-hidroxidecil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 280, passo b) (287 mg) em DCM (10 mL) a 0 °C sob azoto foi adicionado ácido trifluoroacético (0,048 mL). A mistura foi agitada durante 5 minutos, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (392 mg). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 5 horas, em seguida foi adicionada mais uma quantidade de periodinano de Dess-Martin (392 mg) a 0 °C, depois agitada à temperatura ambiente durante 1,75 h. Foram adicionados solução saturada de tiossulfato de sódio (20 mL), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e acetato de etilo e a mistura agitada, em seguida as fases foram separadas. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (x 2) e os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. Foi adicionado ácido acético (0,053 mL) em seguida os orgânicos foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados para proporcionar o composto em epígrafe como uma goma amarela. Rendimento 0,338 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,85 (s, 1H); 4,07-3,72 (m, 5H); 3,36-3,21 (m, 2H); 2,96-2,82 (m, 3H); 2,47-2,37 (m; 4H);

2,12 (s, 3H); 2,11-2,02 (m, 2H); 1,85-1,75 (m, 2H); 1,62-1,49 (m, 3H); 1,46-1,36 (m, 7H); 1,35-1,20 (m, 9H).

d) Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(10-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)decan-2-ilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



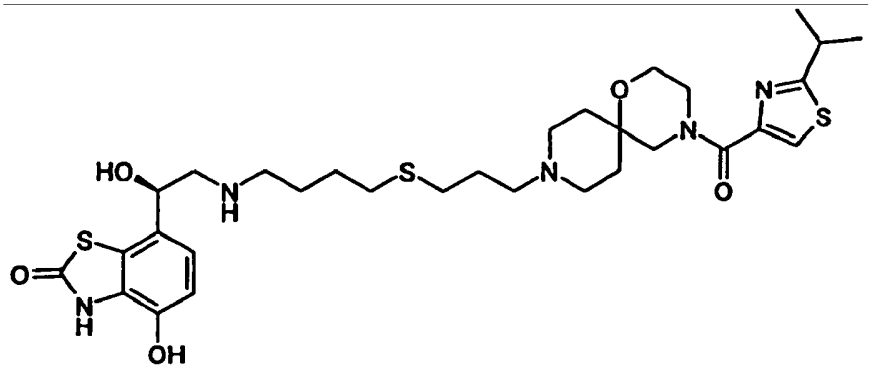
Foi adicionado ácido acético (0,053 mL) a uma mistura de 10-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)decan-2-ona (exemplo 280, passo c) (335 mg) e cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (243 mg) em metanol seco com peneiros moleculares de 3 Å à temperatura ambiente sob azoto e agitada durante 5 minutos. A mistura foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (131 mg). A mistura reaccional foi agitada, aquecendo até à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi filtrada e evaporada. A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 10-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,032 g.

m/z 674 $(M+H)^+$

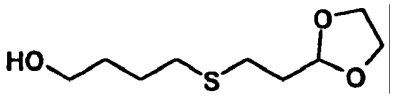
RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 80 °C): δ 8,15 (s, 2H); 7,88 (s, 1H); 6,87 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,69 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,57-4,50 (m, 1H); 3,71-3,58 (m, 8H); 3,36-3,25 (m, 2H); 2,79-2,59 (m, 3H); 2,40-2,31 (m, 2H); 2,32-2,22 (m, 4H); 1,73-1,63 (m, 2H); 1,59-1,48 (m, 2H); 1,44-1,32 (m, 8H); 1,31-1,16 (s, 10H); 0,99-0,93 (m, 2H) mais 4 permutáveis não observados.

Exemplo 281

Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(3-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propiltio)butilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 4-(2-(1,3-Dioxolan-2-il)etiltio)butan-1-ol

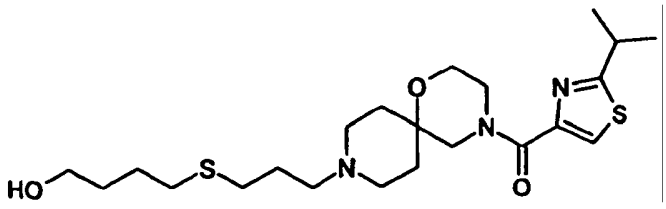


Uma solução de 4-mercaptobutanol (4,936 g) em acetonitrilo seco sob árgon foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado hidreto de sódio (60% em óleo mineral, 2,044 g) em porções. A mistura

foi agitada durante 1 hora a 0 °C, em seguida foi adicionado 2-(2-bromoetil)-1,3-dioxolano (9,26 g) e a suspensão cinzenta resultante foi aquecida até à temperatura ambiente e agitada de um dia para o outro. A reacção foi desactivada por adição de solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (150 mL) e em seguida extraída com acetato de etilo (3 x 150 mL). Os orgânicos foram combinados e lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (150 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e secos para proporcionar o produto em bruto. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-50% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo amarelo. Rendimento 7,3 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,98-0,93 (m, 1H); 4,01-3,93 (m, 2H); 3,89-3,83 (m, 2H); 3,69-3,63 (m, 2H); 2,65-2,58 (m, 2H); 2,59-2,53 (m, 2H); 1,98-1,91 (m, 2H); 1,73-1,62 (m, 4H) mais um permutável não observado.

b) (9-(3-(4-Hidroxibutiltio)propil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

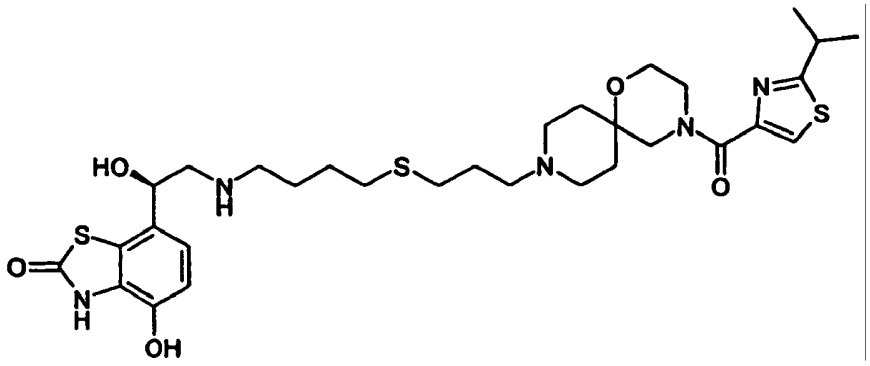


4-(2-(1,3-Dioxolan-2-il)etiltio)butan-1-ol (exemplo 281, passo a) (500 mg) foi dissolvido numa solução aquosa de ácido fórmico a 80% (6 mL) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante o fim-de-semana. A mistura foi diluída com água (10 mL) e extraída com éter (3 x 10 mL), em

seguida os orgânicos foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados para proporcionar 3-(4-hidroxi-butilsulfanil)-propionaldeído como um óleo. Este foi dissolvido em metanol seco e foram adicionados trifluoroacetato de (2-isopropil-tiazol-4-il)-(1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undec-4-il)-metanona (Exemplo 22, passo b) (606 mg) e peneiros moleculares de 3 Å. Foi adicionado ácido acético (0,2 mL) e a mistura agitada durante 5 minutos sob árgon antes de ser arrefecida até 0 °C e adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (633 mg). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura reaccional agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi filtrada, em seguida aplicada directamente a um cartucho SCX-2 e lavada com metanol, antes de eluir o produto com amónia 2 N em metanol. A purificação adicional foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo verde pálido. Rendimento 0,37 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,85 (s, 1H); 4,02-3,87 (m, 2H); 3,80-3,73 (m, 3H); 3,69-3,63 (m, 3H); 3,39-3,23 (m, 5H); 2,86-2,74 (m, 2H); 2,67-2,59 (m, 2H); 2,58-2,50 (m, 5H); 1,96-1,81 (m, 4H); 1,74-1,63 (m, 4H); 1,41 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

c) Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(4-(3-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propiltio)butilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Cloreto de oxalilo (0,068 mL) foi dissolvido em DCM seco (2 mL) e a solução arrefecida até -78 °C. Foi adicionado, gota a gota, DMSO (0,12 mL) em DCM (0,03 mL) e a mistura agitada. Após 15 minutos foi adicionada, gota a gota, uma solução de (9-(3-(4-hidroxibutiltio)propil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 281, passo b) (290 mg) em DCM (1 mL) e a agitação continuou durante 15 minutos antes da adição gota a gota de trietilamina (0,44 mL). O banho de arrefecimento foi retirado e a reacção deixada aquecer até à temperatura ambiente. Após 1 hora a mistura reaccional foi vertida sobre cloreto de amónio aquoso saturado (3 mL) e adicionado DCM (3 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa foi extraída com DCM (2 x 5 mL). Os orgânicos foram combinados, lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL), secos sobre sulfato de sódio e evaporados para proporcionar o aldeído em bruto.

O aldeído (195 mg) foi agitado com cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (170 mg) em metanol

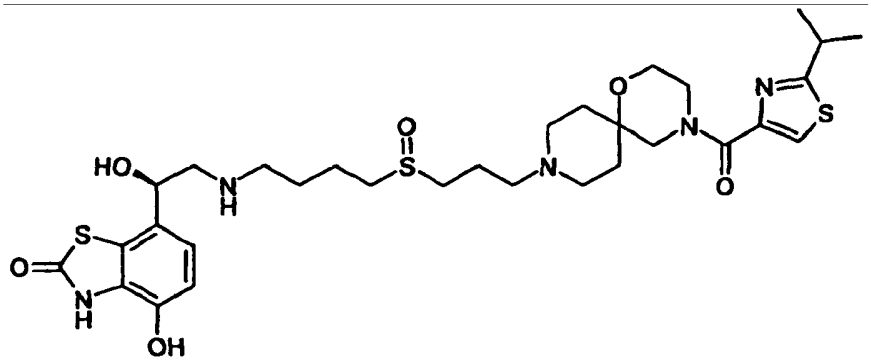
seco (8 mL) e foram adicionados peneiros moleculares de 3 Å e ácido acético (0,07 mL). Depois de agitar durante 5 minutos a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (200 mg). O banho de arrefecimento foi retirado e a mistura reaccional agitada à temperatura ambiente durante o fim-de-semana. A mistura foi filtrada e evaporada. A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para dar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,006 g.

m/z 664 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH): δ 8,48 (s, 1,8H); 7,88 (s, 1 H); 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,73 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,97-4,90 (m, 1H); 3,89-3,56 (m, 6H); 3,38-3,24 (m, 1H); 3,13-3,04 (m, 2H); 3,04-2,96 (m, 2H); 2,97-2,61 (m, 6H); 2,60-2,49 (m, 4H); 2,04-1,91 (m, 2H); 1,91-1,70 (m, 5H); 1,70-1,57 (m, 3H); 1,38 (d, J = 6,9 Hz, 6H) mais 4 permutáveis não observados.

Exemplo 282

Formato de 4-hidroxi-7-((1R)-1-hidroxi-2-(4-(3-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)propilsulfinil)butilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,06 mL) a uma solução de (9-(3-(4-hidroxibutiltio)propil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (Exemplo 281, passo b) (360 mg) em DCM seco (14 mL) sob árgon. A solução foi arrefecida até 0 °C e deixada agitar durante 5 minutos, antes da adição de periodinano de Dess-Martin (502 mg). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, em seguida desactivada por adição de tiossulfato de sódio saturado (14 mL) e solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (14 mL). Foi adicionado acetato de etilo (30 mL) e a mistura agitada durante 5 minutos, em seguida as fases foram separadas. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 30 mL). foi adicionado ácido acético (0,053 mL) aos orgânicos combinados, os quais foram em seguida secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados para proporcionar o aldeído como um óleo. Este foi dissolvido em metanol seco (15 mL) em conjunto com cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (WO2007027134, exemplo 1,

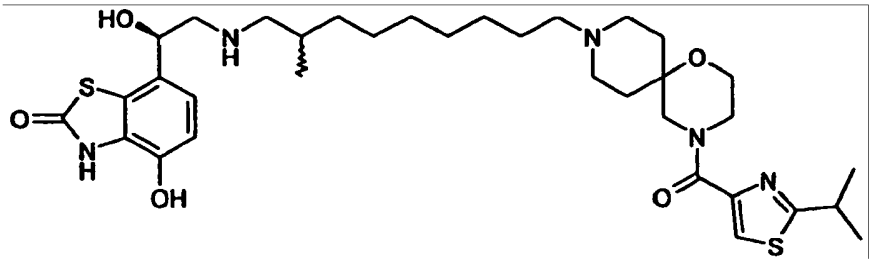
passo d) (311 mg) e foram adicionados peneiros moleculares de 3 Å e ácido acético (0,07 mL). Depois de agitar durante 5 minutos a mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (200 mg) e agitação continuou à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi filtrada e evaporada. A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,018 g.

m/z 680 $(M+H)^+$

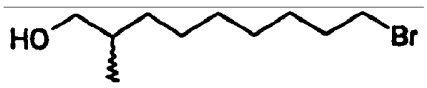
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH): δ 8,40 (s, 2H); 7,88 (s, 1H); 6,96 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,73 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,98-4,92 (m, 1H); 3,90-3,56 (m, 6H); 3,36-3,24 (m, 1H); 3,19-3,03 (m, 4H); 3,04-2,67 (m, 10H); 2,15-1,95 (m, 4H); 1,93-1,56 (m, 6H); 1,38 (d, J = 6,9 Hz, 6H) mais 4 permutáveis não observados.

Exemplo 283

Formato de 4-hidroxi-7-((1R)-1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-metilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 9-Bromo-2-metilnonan-1-ol



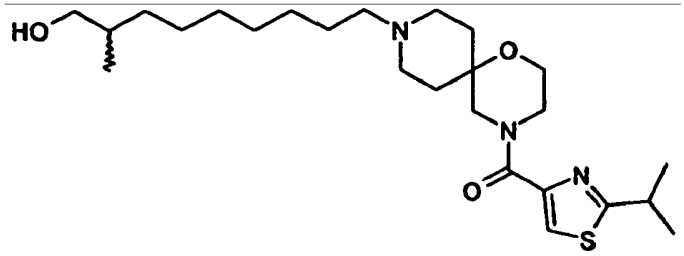
A uma solução de diisopropilamina (5,42 mL) em THF seco (30 mL) sob árgon a 0 °C foi adicionado lentamente n-butil-lítio 2,5 M (15,5 mL), mantendo a temperatura abaixo de 10 °C. A solução foi agitada a 0 °C durante 30 minutos antes de ser arrefecida até -78 °C. Foi adicionado, gota a gota, propionato de etilo (4,01 mL) e a solução agitada a -78 °C durante 1 hora. Foi adicionado 1,7-dibromo-heptano (6,63 mL) e agitação continuou a -78 °C durante 1 hora, em seguida o banho de arrefecimento foi retirado e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foi adicionado cloreto de amónio aquoso saturado (30 mL) à reacção seguida de acetato de etilo (30 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 x 30 mL). Os orgânicos foram combinados, lavados com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secos sobre sulfato de sódio e evaporados. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 1-5% de acetato de etilo em éter de petróleo (40-60 °C) para dar 9-bromo-2-metilnonanoato de etilo, o qual foi utilizado sem mais purificação.

Este material (0,84 g) foi dissolvido em éter seco (27 mL) e arrefecido até 0 °C sob árgon. Foi adicionado, gota a gota, hidreto de diisobutil-alumínio (1 M em tolueno, 6,7 m) e a reacção foi agitada a 0 °C durante 1 h 15 minutos. A reacção foi desactivada por adição de tartarato de potássio e sódio aquoso saturado e a mistura resultante foi agitada durante 15 minutos.

Foram adicionados acetato de etilo (60 mL) e água (20 mL) e as fases foram separadas. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 30 mL), em seguida os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0 a 10% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,23 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3,51 (dd, J = 10,5, 5,8 Hz, 1H); 3,46-3,38 (m, 3H); 1,90-1,80 (m, 2H); 1,66-1,55 (m, 2H); 1,47-1,22 (m, 9H); 0,92 (d, J = 6,7 Hz, 3H) mais um permutável não observado.

b) (9-(9-Hidroxi-8-metilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

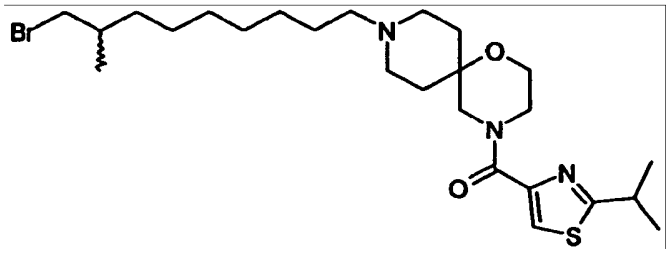


Ditrifluoroacetato de (2-isopropil-tiazol-4-il)-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undec-4-il)-metanona (Exemplo 22, passo b) (500 mg) foi aplicado a um cartucho SCX-2 humedecido com metanol, lavado com metanol, em seguida eluído utilizando amónia 2 N em metanol e evaporado para proporcionar a base livre (279 mg). Esta foi dissolvida em acetonitrilo (10 mL) em conjunto com 9-bromo-2-metilnonan-1-ol (exemplo 283, passo a) (220 mg) e foi adicionada trietilamina (0,223 mL). A mistura reaccional foi

aquecida até 60 °C de um dia para o outro, em seguida concentrada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0 a 10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho pálido. Rendimento 0,38 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,97 (s, 1H); 4,06-3,90 (m, 2H); 3,83-3,71 (s, 4H); 3,52-3,37 (m, 4H); 3,05-2,85 (m, 4H); 2,48-2,32 (m, 2H); 2,15-2,05 (m, 2H); 1,97-1,84 (m, 2H); 1,66-1,50 (m, 4H); 1,48-1,39 (m, 6H); 1,38-1,21 (m, 8H); 0,91 (d, J = 6,7 Hz, 3H) mais um permutável não observado.

c) (9-(9-Bromo-8-metilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona

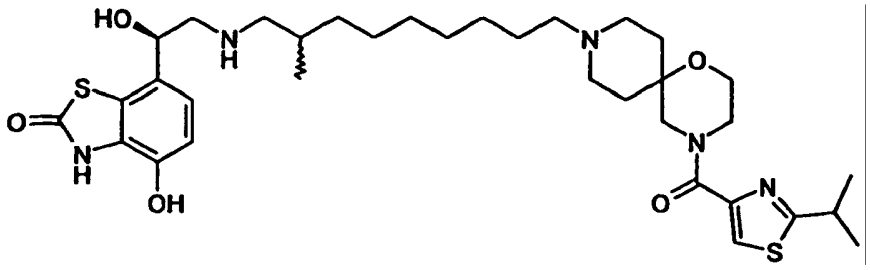


(9-(9-Hidroxi-8-metilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 283, passo b) (100 mg), tetrabrometo de carbono (143 mg) e imidazole (30 mg) foram dissolvidos em DCM (5 mL). A solução foi arrefecida até 0 °C e foi adicionada, gota a gota, uma solução de trifenilfosfina (85 mg) em DCM (1 mL). A mistura reaccional foi agitada a esta temperatura durante 1 hora, em seguida à temperatura ambiente durante 2 horas. Foi adicionada mais quantidade de tetrabrometo de carbono (150 mg), a mistura arrefecida até 0 °C e adicionada, gota a gota, trifenilfosfina

(114 mg) em DCM (1 mL). Agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, em seguida foi adicionada água e as fases separada. A fase orgânica foi evaporada e o produto purificado por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma laranja. Rendimento 0,088 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,87 (s, 1H); 4,03-3,91 (m, 2H); 3,81-3,70 (m, 4H); 3,43-3,313 (m, 4H); 3,06-2,86 (m, 4H); 2,49-2,34 (m, 2H); 2,15-2,05 (m, 2H); 1,98-1,86 (m, 2H); 1,57-1,50 (m, 2H); 1,47-1,39 (m, 6H); 1,37-1,19 (m, 10H); 1,00 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

d) Formato de 4-hidroxi-7-((1R)-1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-metilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (263 mg) foi dissolvido em metanol (10 mL) e foi adicionado metóxido de sódio (54 mg) e a mistura agitada durante 25 minutos. O sólido foi recolhido por filtração e lavado com metanol e seco ao ar para proporcionar a base livre (150 mg). Algum deste material (61 mg) foi dissolvido em DMF

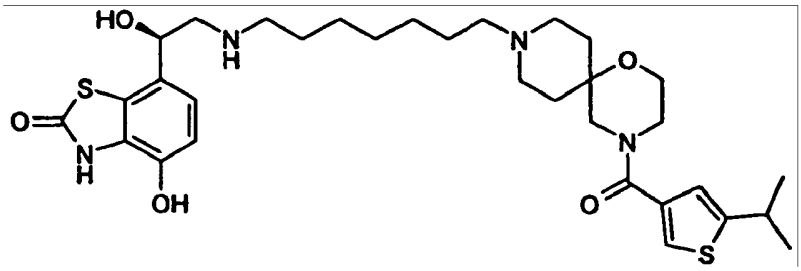
(3,5 mL) e foi misturado com (9-(9-Bromo-8-metilnonil)-1-oxa-4,9-diaza-espiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 283, passo c) (71 mg) e diisopropiletilamina (0,023 mL). A mistura reaccional foi aquecida a 50 °C de um dia para o outro, em seguida arrefecida e partilhada entre acetato de etilo (10 mL) e água (10 mL). Os orgânicos foram secos sobre sulfato de sódio, filtrados e concentrados. A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,002 g.

m/z 674 $(M+H)^+$

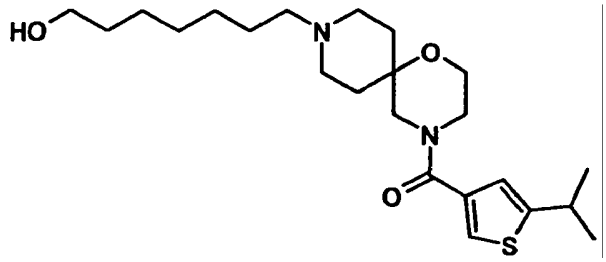
RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH): δ 8,51 (s, 1H); 7,87 (s, 1H); 6,92 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,70 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 3,85-3,55 (s, 6H); 2,92-2,80 (m, 2H); 2,76-2,34 (m, 8H); 1,97-1,82 (m, 2H); 1,77-1,44 (m, 5H); 1,37 (d, J = 6. 9 Hz, 6H); 1,36-1,17 (m, 9H); 1,17-1,04 (m, 1H); 0,92 (dd, J = 6,6, 3,2 Hz, 3H) mais dois sinais obscurecidos pelo solvente e quatro permutáveis não observados.

Exemplo 284

Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(7-(4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)heptilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) (9-(7-Hidroxi-heptil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona

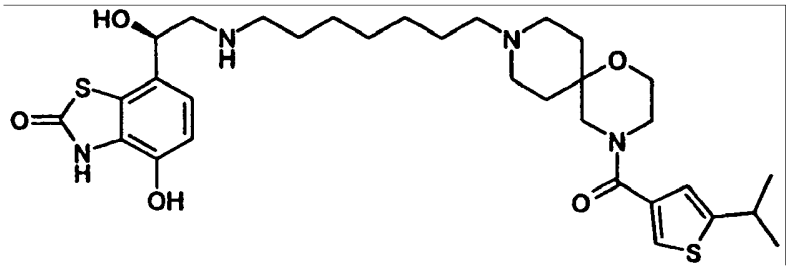


Foi adicionada uma solução de 7-bromo-1-heptanol (380 mg) em acetonitrilo (3,9 mL) a uma solução de (5-isopropiltiofen-3-il)(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)metanona (Exemplo 275, passo i) (400 mg) e trietilamina (0,361 mL) em acetonitrilo (8,6 mL). A mistura resultante foi agitada a 60 °C durante 16 horas. O solvente foi removido sob vácuo e o resíduo retomado em DCM (25 mL) e lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e água (20 mL), em seguida seco sobre sulfato de sódio, filtrado e evaporado. A purificação foi por

cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0 a 10% de metanol em DCM para proporcionar o composto em subepígrafe como um sólido castanho pálido. Rendimento 0,305 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,26 (s, 1H); 6,84 (s, 1H); 3,74-3,67 (m, 4H); 3,63 (t, J = 6,4 Hz, 2H); 3,57-3,48 (m, 2H); 3,35-3,10 (m, 2H); 2,99-2,70 (m, 3H); 2,28-1,98 (m, 4H); 1,92-1,74 (m, 2H); 1,67-1,47 (m, 4H); 1,41-1,34 (m, 5H); 1,34 (d, J = 6,9 Hz, 6H); 1,28-1,23 (m, 1H) mais um permutável não observado.

b) Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(7-(4-(5-isopropiltiofeno-3-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)heptilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Foi adicionado ácido trifluoroacético (0,054 mL) a uma solução de (9-(7-hidroxi-heptil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]-undecan-4-il)(5-isopropiltiofen-3-il)metanona (exemplo 284, passo a) (295 mg) em DCM (7,5 mL). A mistura foi agitada durante 5 minutos, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (503 mg) e a agitação continuou durante 1 hora 50 minutos. A mistura reaccional foi desactivada por adição de solução saturada de tiossulfato de sódio (4 mL) e solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (4 mL). Foi adicionado acetato

de etilo (25 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada durante 5 minutos, em seguida as fases foram separadas. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (5 mL). Os orgânicos foram combinados, lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL) em seguida foi adicionado ácido acético (0,080 mL) e a solução foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada para proporcionar o aldeído como um óleo (504 mg). Este foi dissolvido em metanol seco (5 mL), em seguida foi adicionado cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)4-hidroxibenzo[d]-tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (202 mg) e a mistura agitada durante 5 minutos. A mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado cianoboro-hidreto de sódio (66 mg) e a agitação continuou a 0 °C durante 2 horas, em seguida à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi concentrada sob vácuo e partilhada entre THF (6 mL) e uma mistura de solução aquosa saturada de cloreto de sódio e solução saturada de bicarbonato de sódio (10:1, 6 mL). As camadas foram separadas e a fase orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada e o resíduo submetido a evaporação azeotrópica com acetonitrilo. A purificação foi por HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,037 g.

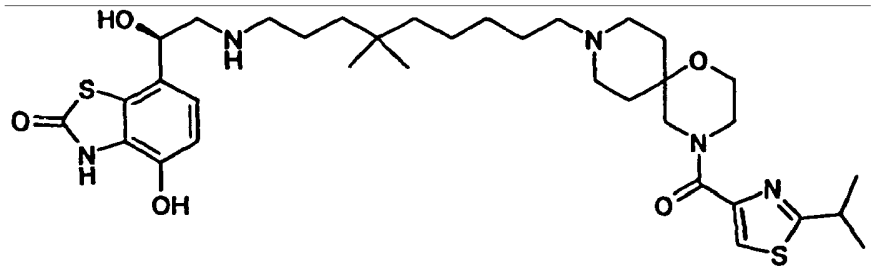
m/z 631 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_4-MeOH): δ 8,49 (s, 2H); 7,45 (s, 1H); 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,91 (s, 1H); 6,73 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,93 (dd, J = 9,1, 4,5 Hz, 1H); 3,79-3,47 (m, 6H); 3,20-3,04 (m, 3H); 3,01-2,94 (m, 3H); 2,92-2,70 (m, 4H); 2,08-1,97

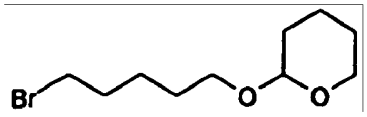
(m, 2H); 1,75-1,56 (m, 6H); 1,43-1,33 (m, 6H); 1,30 (d, J = 6,9 Hz, 6H) mais um sinal obscurecido pelo solvente e quatro permutáveis não observados.

Exemplo 285

Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-4,4-dimetilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



a) 2-(5-Bromopentiloxi)tetra-hidro-2H-pirano

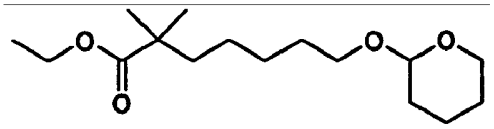


A uma solução de 5-bromopentanol (10 g) em DCM (150 mL) foi adicionado p-toluenossulfonato de piridínio (1,5 g), seguido de 3,4-di-hidro-2H-pirano (8,1 mL) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente sob azoto durante 21 horas. A solução foi diluída com éter, em seguida lavada com solução aquosa diluída de cloreto de sódio (solução aquosa saturada de cloreto de sódio:água 1:1, 140 mL) antes de os orgânicos terem sido secos sobre sulfato de sódio, filtrados e evaporados. A

purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0 a 50% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um líquido incolor. Rendimento 14,14 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,59-4,56 (m, 1H); 3,91-3,82 (m, 1H); 3,79-3,71 (m, 1H); 3,57-3,47 (m, 1H); 3,44-3,36 (m, 3H); 1,94-1,76 (m, 3H); 1,76-1,66 (m, 1H); 1,65-1,46 (m, 8H).

b) 2,2-Dimetil-7-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)heptanoato de etilo

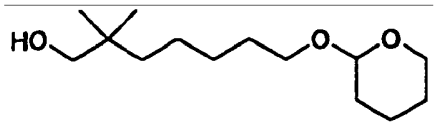


Uma solução de diisopropilamina (1,78 mL) em THF seco (10 mL) a 0 °C sob azoto foi tratada gota a gota com n-butil-lítio (2,5 M em hexanos, 5,09 mL) para gerar uma solução amarela pálida que foi agitada a 0 °C durante 30 minutos, em seguida arrefecida até -78 °C e tratada gota a gota com isobutirato de etilo (1,55 mL). A solução foi agitada a -78 °C durante 45 minutos, em seguida foi adicionada, gota a gota, uma solução de 2-(5-bromopentiloxi)tetra-hidro-2H-pirano (exemplo 285, passo a) (3,20 g) em THF seco (1 mL). A mistura reaccional foi agitada a -78 °C durante 10 minutos, em seguida foi deixada aquecer até à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C, em seguida tratada com solução aquosa saturada de cloreto de amónio (3 mL) e extraída com acetato de etilo. A fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (x 2) e a fase orgânica combinada foi lavada com água,

solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca sobre sulfato de sódio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-5% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como líquido incolor. Rendimento 2,22 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,59-4,55 (m, 1H); 4,11 (q, J = 7,1 Hz, 2H); 3,90-3,82 (m, 1H); 3,72 (dt, J = 9,6, 6,8 Hz, 1H); 3,53-3,45 (m, 1H); 3,37 (dt, J = 9,6, 6,6 Hz, 1H); 1,88-1,77 (m, 1H); 1,75-1,67 (m, 1H); 1,64-1,48 (m, 8H); 1,40-1,30 (m, 2H); 1,29-1,20 (m, 5H); 1,15 (s, 6H).

c) 2,2-Dimetil-7-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)heptan-1-ol

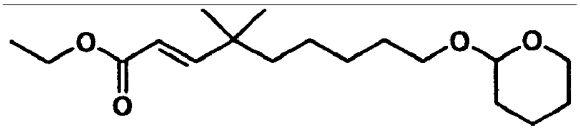


Uma solução de 2,2-dimetil-7-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)heptanoato de etilo (exemplo 285, passo b) (2,22 g) em éter seco (22 mL) a 0 °C sob azoto, foi tratada gota a gota ao longo de 5 minutos com hidreto de diisobutil-alumínio (1 M em tolueno, 17,1 mL). Após 1 hora a 0 °C a mistura reaccional foi tratada cuidadosamente com tartarato de potássio e sódio aquoso, diluída com éter e a mistura resultante foi vigorosamente agitada durante 1,5 horas. As fases foram separadas e a fase aquosa foi extraída com éter (x 2). A fase orgânica combinada foi lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0

a 50% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 1,83 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,58-4,55 (m, 1H); 3,91-3,83 (m, 1H); 3,77-3,69 (m, 1H); 3,53-3,46 (m, 1H); 3,39 (dt, J = 9,6, 6,6 Hz, 1H); 3,31 (d, J = 4,1 Hz, 2H); 1,90-1,78 (m, 1H); 1,76-1,64 (m, 1H); 1,64-1,48 (m, 4H); 1,40-1,20 (m, 8H); 0,86 (s, 6H) mais um permutável não observado.

d) (E)-4,4-Dimetil-9-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)non-2-enoato

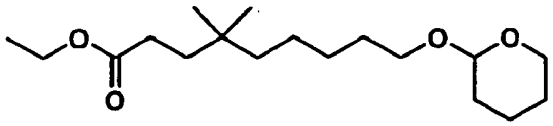


Uma solução de cloreto de oxalilo (0,78 mL) em DCM seco (20 mL) a -78 °C foi tratada gota a gota com uma solução de DMSO (1,26 mL) em DCM (0,3 mL). Após 15 minutos foi adicionada, gota a gota, uma solução de 2,2-dimetil-7-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)heptan-1-ol (exemplo 285, passo c) (1,73 g) em DCM (10 mL) e a agitação continuou durante 15 minutos, antes da adição gota a gota de trietilamina (4,93 mL). O banho de arrefecimento foi retirado e a reacção deixada aquecer até à temperatura ambiente. Após 1 hora a mistura reaccional foi tratada com solução aquosa saturada de cloreto de amónio e as camadas foram separadas. A fase aquosa foi extraída com DCM (x 2) e os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de magnésio, filtrados e evaporados para proporcionar o aldeído em bruto. Este foi retomado em DCM, lavado com água, seco sobre sulfato de magnésio, filtrado e

evaporado para proporcionar o aldeído como um óleo incolor, o qual foi directamente utilizado. Uma solução de fosfonoacetato de trietilo (1,62 mL) em acetonitrilo (8 mL) foi tratada com cloreto de lítio (0,43 g) e em seguida arrefecida até 0 °C e adicionada, gota a gota, trietilamina (1,23 mL) como uma solução em acetonitrilo (2,5 mL). A mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 15 minutos, em seguida foi adicionada uma solução de 2,2-dimetil-7-(tetra-hidro-piran-2-iloxi)-heptanal (1,65 g) em acetonitrilo (6 mL). A mistura resultante foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada durante 3 horas, antes de ter sido tratada com solução aquosa saturada de cloreto de amónio, éter e água. As camadas foram separadas e a fase aquosa foi extraída com éter (x 2) e os orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de magnésio, filtrados e evaporados para proporcionar o produto em bruto. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0 a 40% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,89 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,91 (d, J = 15,9 Hz, 1H); 5,71 (dd, J = 15,9, 1,9 Hz, 1H); 4,59-4,55 (m, 1H); 4,19 (q, J = 7,1 Hz, 2H); 3,90-3,82 (m, 1H); 3,76-3,68 (m, 1H); 3,53-3,46 (m, 1H); 3,40-3,33 (m, 1H); 1,89-1,77 (m, 1H); 1,76-1,66 (m, 1H); 1,64-1,48 (m, 6H); 1,39-1,19 (m, 9H); 1,05-1,03 (m, 6H).

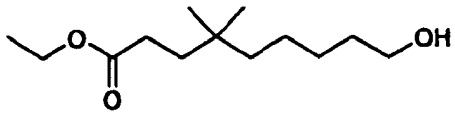
e) 4,4-Dimetil-9-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)nonanoato de etilo



Uma solução de (E)-4,4-dimetil-9-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)non-2-enoato de etilo (exemplo 285, passo d) (0,89 g) em IMS (álcool industrial desnaturado) (10 mL) foi tratada com paládio sobre carvão (ponta de espátula) sob azoto, em seguida o balão foi purgado com hidrogénio (x 3), depois agitada sob uma atmosfera de hidrogénio de um dia para o outro. Foi adicionada mais uma porção de paládio sobre carvão e a hidrogenação retomada durante mais 24 horas. O catalisador foi removido por filtração através de terra de diatomáceas e o filtrado foi evaporado para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,86 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,59-0,56 (m, 1H); 4,12 (q, J = 7,1 Hz, 2H); 3,90-3,83 (m, 1H); 3,75-3,68 (m, 1H); 3,53-3,46 (m, 1H); 3,41-3,34 (m, 1H); 2,26-2,19 (m, 2H); 1,88-1,79 (m, 2H); 1,76-1,66 (m, 2H); 1,66-1,43 (m, 6H); 1,40-1,14 (m, 9H); 0,84 (s, 6H).

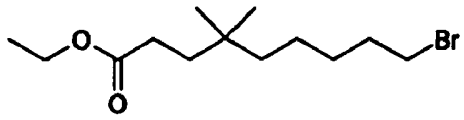
f) 9-Hidroxi-4,4-dimetilnonanoato de etilo



A uma solução de 4,4-dimetil-9-(tetra-hidro-2H-piran-2-iloxi)nonanoato de etilo (exemplo 285, passo e) (0,86 g) em metanol (10 mL) foi adicionado ácido p-toluenossulfónico mono-hidratado (52 mg) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi diluída com acetato de etilo e água e as fases foram separadas. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (x 2) e a fase orgânica combinada foi lavada com ácido cítrico a 10%, solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, em seguida seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 0-50% de acetato de etilo em ciclo-hexano para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,44 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 4,12 (q, J = 7,1 Hz; 2H); 3,67-3,61 (t, J = 6,4 Hz, 2H); 2,28-2,20 (m, 2H); 1,61-1,50 (m, 4H); 1,49-1,37 (m, 1H); 1,38-1,22 (m, 7H); 1,21-1,12 (m, 2H); 0,85 (s, 6H).

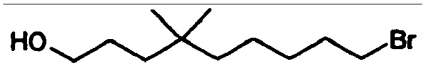
g) 9-Bromo-4,4-dimetilnonanoato de etilo



Uma solução de 9-hidroxi-4,4-dimetilnonanoato de etilo (exemplo 285, passo f) (0,44 g) em DCM (19 mL) a 0 °C foi tratada com tetrabrometo de carbono (0,76 g) seguida de trifenilfosfina (0,60 g) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foram adicionadas mais quantidades de tetrabrometo de carbono (0,76 g) e trifenilfosfina (0,60 g) e a agitação continuou durante 3 horas. O solvente foi removido por evaporação, em seguida a mistura foi triturada com ciclo-hexano e o sólido resultante removido por filtração. O sólido foi lavado com ciclo-hexano e o filtrado foi concentrado até cerca de 15 mL e deixado em repouso de um dia para o outro. O sólido que saiu da solução foi removido por filtração, lavado com ciclo-hexano e o filtrado evaporado para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo castanho pálido. Rendimento 0,56 g.

RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 4,12 (q, J = 7,1 Hz, 2H); 3,41 (t, J = 6,8 Hz, 2H); 2,28-2,20 (m, 2H); 1,93-1,80 (m, 2H); 1,59-1,49 (m, 2H); 1,46-1,34 (m, 2H); 1,32-1,21 (m, 5H); 1,22-1,13 (m, 2H); 0,85 (s, 6H).

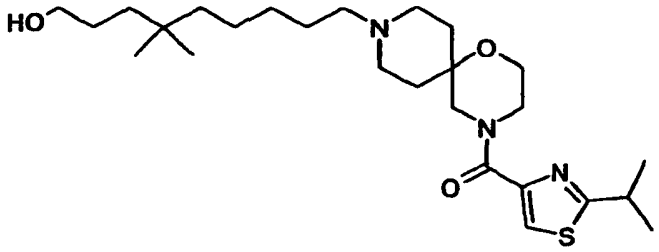
h) 9-Bromo-4,4-dimetilnonan-1-ol



Uma solução de 9-bromo-4,4-metilnonanoato de etilo (exemplo 285, passo g) (0,56 g) em éter seco (19 mL) sob azoto a 0 °C foi tratada com hidreto de diisobutil-alumínio (1 M em tolueno, 4,20 mL) e a mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 1 hora 15 minutos. A mistura reaccional foi tratada cuidadosamente com solução aquosa de tartarato de potássio e sódio e agitada durante 1 hora. As fases foram separadas e a camada aquosa foi extraída com éter (x 2), em seguida a fase orgânica combinada foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e evaporada para proporcionar o composto em subepígrafe como um óleo incolor. Rendimento 0,42 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3,62 (t, J = 6,7 Hz, 2H); 3,41 (t, J = 6,9 Hz, 2H); 1,91-1,82 (m; 2H); 1,55-1,45 (m, 2H); 1,46-1,35 (m, 2H); 1,30-1,15 (m, 6H); 0,85 (s, 6H) mais um permutável não observado.

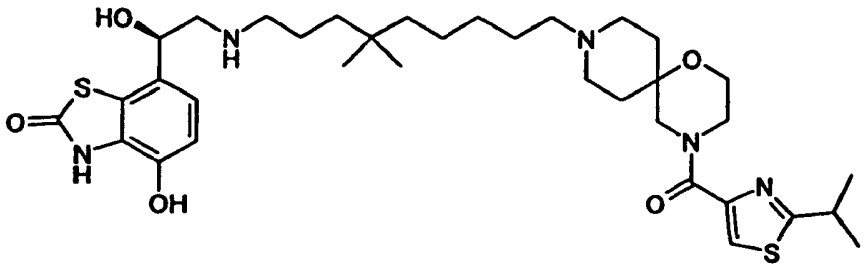
i) (9-(9-Hidroxi-6,6-dimetilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Ditrifluoroacetato de (2-isopropil-tiazol-4-il)-(1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undec-4-il)-metanona (Exemplo 22, passo b) (0,40 g) foi aplicado a um cartucho SCX-2 humedecido com metanol, lavado com metanol, em seguida eluído utilizando amónia 2 N em metanol e evaporado para proporcionar a base livre (227 mg). Este material foi tratado com 9-bromo-4,4-dimetilnonan-1-ol (exemplo 285, passo h) (0,11 g) em acetonitrilo (8,8 m) seguido de trietilamina (0,20 mL). A mistura foi aquecida a 60 °C durante 21 h, em seguida o solvente foi removido por evaporação. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 75% de acetato de etilo em ciclo-hexano com 5% de trietilamina, até 100% de acetato de etilo mais 5% de trietilamina para proporcionar o composto em subepígrafe como uma goma incolor. Rendimento 0,295 g.

RMN de ^{1}H (400 MHz, D_6-DMSO): δ 8,00 (s, 1H); 4,35-4,30 (m, 1H); 3,76-3,45 (m, 6H); 3,37-3,28 (m, 1H); 2,41,2,03 (m, 6H); 1,72-1,58 (m, 2H); 1,57-1,44 (m, 2H); 1,43-1,28 (m, 10H); 1,27-1,05 (m, 9H); 0,81 (s, 6H) mais um permutável não observado.

j) Formato de (R)-4-hidroxi-7-(1-hidroxi-2-(9-(4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-4,4-dimetilnonilamino)etil)benzo[d]tiazol-2(3H)-ona



Uma solução de (9-(9-hidroxi-6,6-dimetilnonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (exemplo 285, passo i) (0,255 g) em DCM (5,3 mL) a 0 °C sob azoto foi tratada com ácido trifluoroacético (0,04 mL) e agitada durante 5 minutos, em seguida foi adicionado periodinano de Dess-Martin (0,339 g). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, em seguida foi adicionada mais uma quantidade de periodinano de Dess-Martin (0,113 g) e a agitação continuou durante 30 minutos. A mistura reaccional foi tratada com solução saturada de tiossulfato de sódio e solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (1:1), diluída com DCM e agitada durante 10 minutos. Foi adicionado acetato de etilo e as fases foram separadas. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (x 2). Os orgânicos foram combinados, lavados com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, em seguida secos sobre sulfato de magnésio, em seguida foi adicionado ácido acético (0,046 mL) e a solução evaporado para proporcionar o aldeído (0,362 g). Este foi suspenso em metanol seco (9 mL) e tratado com cloridrato de (*R*)-7-(2-amino-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona (documento WO2007027134, exemplo 1, passo d) (0,210 g), peneiros moleculares de 3 Å e ácido

acético (0,046 mL) e a mistura agitada durante 5 minutos. A mistura reaccional foi arrefecida até 0 °C e foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (113 mg) e agitação continuou à temperatura ambiente durante 24 horas. A mistura foi filtrada, em seguida concentrada sob vácuo. A purificação foi por cromatografia sobre sílica gel eluindo com 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 12% de uma (solução de amónia aquosa em metanol a 10%) em DCM seguida de HPLC preparativa (Phenomenex Gemini®, Gradiente: 5-40% de acetonitrilo em ácido fórmico aquoso a 0,1%). As fracções contendo o produto foram combinadas e secas por congelação para proporcionar o composto em epígrafe como um sólido branco. Rendimento 0,024 g.

m/z 688 $(M+H)^+$

RMN de ^1H (400 MHz, D_6-DMSO, 80 °C): 8 8,26-8,13 (m, 1H); 7,89 (s, 1H); 6,87 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 6,69 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 4,61-4,53 (m, 1H); 3,69-3,63 (m, 6H); 3,37-3,24 (m, 1H); 2,76-2,66 (m, 2H); 2,59-2,50 (m, 2H); 2,40-2,31 (m, 2H); 2,31-2,20 (m, 4H); 1,72-1,63 (m, 2H); 1,58-1,47 (m, 2H); 1,44-1,29 (m, 10H); 1,29-1,09 (m, 8H); 0,80 (s, 6H) mais quatro permutáveis não observados.

Os compostos da invenção podem ser testados quanto à actividade farmacológica utilizando ensaios conhecidos na técnica, tal como por exemplo:

Ensaio para a produção de cAMP mediada pelo adrenérgico β2

Preparação de células

Células H292 são cultivadas em balões de 225 cm^2 numa incubadora a 37 °C, 5% de CO_2 em meio RPMI contendo 10% (v/v) de FBS (soro fetal bovino) e 2 mM de L-glutamina.

Método Experimental

As células H292 aderentes são removidas dos balões de cultura de tecido por tratamento com solução de descolamento de células Accutase™ durante 15 minutos. Os balões são incubados durante 15 minutos numa incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO_2. As células desprendidas são ressuspensas em meio RPMI (contendo 10% (v/v) de FBS e 2 mM de L-glutamina) a 0,1 x 10^6 células por mL. São adicionadas 10000 células em 100 µL a cada poço de uma placa de 96 poços de cultura de tecido tratada e as células incubadas de um dia para o outro numa incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO_2. O meio de cultura é removido e as células são lavadas duas vezes com 100 µL de tampão de ensaio e substituído por 50 µL de tampão de ensaio (solução HBSS contendo 10 mM de HEPES, pH 7,4 e 5 mM de glucose). As células são repousadas à temperatura ambiente durante 20 minutos, após o que são adicionados 25 µL de rolipram (1,2 mM preparado em tampão de ensaio contendo 2,4% (v/v) de dimetilsulfóxido). As células são incubadas com rolipram durante 10 minutos após o que são adicionados compostos de ensaio e as células são incubadas durante 60 minutos à temperatura ambiente. A concentração final de rolipram no ensaio é 300 µM e a concentração final de veículo é 1% (v/v) dimetilsulfóxido. A reacção é parada removendo os

sobrenadantes, lavando uma vez com 100 µL de tampão de ensaio e substituindo por 50 µL de tampão de lise. A monocamada de células é congelada a -80 °C durante 30 minutos (ou de um dia para o outro).

Detecção de cAMP com AlphaScreen™

A concentração de cAMP (adenosina monofosfato cíclico) no lisado de células é determinada utilizando a metodologia AlphaScreen™. A placa de células congelada é descongelada durante 20 minutos num agitador de placas, em seguida 10 µL do lisado de células é transferido para uma placa branca de 96 poços. A cada poço são adicionados 40 µL de esferas de detecção mistas AlphaScreen™ pré-incubadas com cAMP biotinilado e a placa incubada à temperatura ambiente durante 3 horas no escuro. O sinal de AlphaScreen™ é medido utilizando um espectrofotómetro EnVision (Perkin-Elmer Inc.) com os ajustes recomendados pelo fabricante, as concentrações de cAMP são determinadas por referência a uma curva de calibração determinada na mesma experiência utilizando concentrações de padrão de cAMP. São construídas curvas concentração-resposta para os agonistas e os dados são ajustados por uma equação logística de quatro parâmetros para determinar a pEC_{50} e a Actividade Intrínseca. A Actividade Intrínseca é expressa como uma fracção em relação à actividade máxima determinada para o formoterol em cada experiência

Ensaio de ligação ao receptor muscarínico 3

A afinidade (pIC_{50}) dos compostos que se ligam ao receptor M_3 é determinada por ligação competitiva de [^{3}H]N-metil-escopolamina (NMS) a membranas celulares de CHO-K1 (Ovário de Hamster Chinês) que expressam o receptor muscarínico de acetilcolina M_3 humano (M_3-ACh) num formato do ensaio de proximidade de cintilação (SPA)

Esferas SPA são pré-revestidas com membranas e em seguida incubadas a 2 mg de esferas por poço com diluições sucessivas dos compostos da invenção, [^{3}H]NMS a 0,1 nM, a quarta parte de Kd (constante de dissociação determinada experimentalmente) e tampão de ensaio (20 mM de HEPES, pH 7,4 contendo 5 mM de $MgCl_2$). O ensaio é realizado num volume final de 200 µL, na presença de 1% (v/v) de dimetilsulfóxido (DMSO). A ligação total de [^{3}H]NMS é determinada na ausência de composto competitivo e a ligação não específica de [^{3}H]NMS é determinada na presença de atropina 1 µM. As placas são incubadas durante 16 horas à temperatura ambiente e em seguida lidas no Wallac Microbeta™ utilizando um protocolo de ^{3}H normalizado. É determinado o pIC_{50}, definido como o logaritmo negativo da concentração molar de composto necessária para 50% de redução na ligação específica de [^{3}H]-NMS.

Os compostos da invenção foram testados nos ensaios acima e obtidos os seguintes resultados:

Exemplo Nº	pEC50 B2 (actividade intrínseca)	pIC50 M3
1	7,2 (0,8)	8,5
2	7,9 (0,8)	9,5
3	8,1 (1,0)	9
4	7,8 (0,9)	8,9
5	7,1 (0,9)	8,6
6	8,4 (0,9)	9,5
7	8,2 (0,8)	9,3
8	7,4 (1,0)	8,4
9	8,3 (0,9)	8,7

Exemplo Número	pEC_{50} β_2	Actividade intrínseca β_2	pIC_{50} M_3
10	6,5	0,9	8,3
11	8,8	0,8	10
12	8	1	9
13	7,4	0,8	10,1
14	8,3	0,9	8,2
15	8,6	0,9	8,9
16	7,8	0,9	8,1
17	7,3	0,5	7,3
18	7,2	1	8,6
19	8,5	0,9	8,8
20	6,7	0,8	7,5
21	6,7	0,5	9
22	8	0,9	9,9
23	7,8	0,9	9,6
24	8,3	1	7,6
25	7,8	0,8	9
26	7,9	0,8	9,2
27	8,9	1	8,6

(continuação)

Exemplo Número	**pEC_{50} β_2**	**Actividade intrínseca β_2**	**pIC_{50} M_3**
28	8	1	8,6
29	8,8	1	8,4
30	8,6	0,9	7,8
31	8,3	0,9	7,2
32	8,5	1,1	7,4
33	8,2	1	7,9
34	8,5	1	7,7
35	7,9	1	7,6
36	8,2	1	9,3
37	8,5	0,9	8,5
38	7,7	0,8	8,6
39	7	0,9	9,5
40	7,9	1,1	9,4
41	8,2	1,1	6,9
42	8,1	1	9,2
43	8,3	0,8	7,4
44	8,6	1	8,5
45	8	0,8	8,3
46	7,1	1	8,2
47	7,8	0,9	9,3
48	8,3	0,9	9,1
49	8,1	0,9	7,4
50	8,1	0,9	7,4
51	8,5	0,9	7,8
52	8,3	0,9	8,1
53	8	1	7,9
54	8,2	0,9	6,7
55	8,2	1	7,2
56	8,1	1	8,6

(continuação)

Exemplo Número	**pEC_{50} β_2**	**Actividade intrínseca β_2**	**pIC_{50} M_3**
57	8,2	1,1	9,1
58	8	0,9	8,2
59	7,8	1	8,1
60	8,3	1	8,4
61	7,2	0,9	8,3
62	6,6	0,9	6,6
63	8,3	1	<6
64	7,3	0,9	9,7
65	7	0,9	9,2
66	7,8	0,9	9,1
67	7,8	0,9	8,5
68	8,2	0,8	7,6
69	7,8	0,9	7,7
70	8,1	0,8	8,5
71	7,7	0,8	8,3
72	8,1	0,8	8
73	8,1	0,9	8,1
74	7,9	0,9	7,7
75	7,6	0,8	8,7
76	7,5	0,9	8,7
77	7,1	1	8,6
78	7,8	0,9	8
79	8,2	0,9	6,9
80	8,2	0,8	8,3
81	8,1	0,7	8,2
82	8,4	0,9	9,4
83	7,9	0,8	9,3
84	8,3	0,9	9,1
85	8,1	0,8	7,3

(continuação)

Exemplo Número	**pEC_{50} β_2**	**Actividade intrínseca β_2**	**pIC_{50} M_3**
86	8,6	0,8	9,8
87	8,5	0,9	9,3
88	7,9	1	8,7
89	8,8	1	7,5
90	6,7	0,9	7,1
91	8,9	0,7	8,7
92	6,1	0,9	6,9
93	8,6	0,8	8,6
94	5,9	0,7	7,9
95	NV*	NV*	8,8
96	NV*	NV*	9,6
97	<5,5	1,5	8,2
98	5,7	0,4	8,9
99	8,1	0,8	8,8
100	8,3	0,9	8,8
101	6,8	1	9,5
102	6,7	0,9	9
103	6,6	1	9
104	7,1	0,9	8,5
105	7,8	0,8	9,9
106	7	0,8	6,7
107	7,4	0,9	8,2
108	6,9	0,9	8,4
109	8,1	0,9	9,7
110	7,2	0,8	7,7
111	7,5	0,8	9,1
112	6,9	0,9	6,3
113	7,7	0,8	7,7
114	7,2	0,9	6,5

(continuação)

Exemplo Número	**pEC_{50} β_2**	**Actividade intrínseca β_2**	**pIC_{50} M_3**
115	8,2	0,8	8,1
118	8,2	1	7,7
124	8,4	0,9	7,9
130	7,9	1	7,1
141	8,2	0,9	7,6
149	8,1	0,9	7,6
173	8,6	0,8	8,1
178	8,3	0,8	7,5
190	7,9	0,9	8,7
198	7,9	0,8	8,5
201	7,5	0,9	8,2
202	7,7	0,9	8,1
209	7,6	0,9	8,7
210	7,8	0,8	8,1
213	7,9	0,8	9,1
217	7,4	0,9	9,2
218	7,6	0,9	9,4
219	7,3	0,8	9
220	7,6	0,8	9,2
221	7,5	0,9	8,9
259	6,7	0,9	8,3
264	7,7	1	8,1
265	7,9	1	9,1
266	8,1	0,7	9,5
267	8	0,9	8,8
268	8	1	8,8
269	7,5	1,1	8,2
270	6,6	0,7	7,1

(continuação)

Exemplo Número	**pEC_{50} β_2**	**Actividade intrínseca β_2**	**pIC_{50} M_3**
271	8,2	1	30% de inibição a 1 µM
272	8	1	6,1
273	6,4	0,5	7,1
274	7,6	1,0	8,6
275	7,3	1	8,8
276	7,4	1	8,7
277	7,5	0,9	10
278	8,4	1,0	9,4
279	6,5	0,9	8,1
280	8,3	1,2	9,1
281	7,5	0,8	8,8
282	7,3	1	7,7
283	7,1	1,1	8,9
284	7,9	0,9	8,7
285	7,8	1	8,4

NV* = inactivo até uma concentração máxima de 3,2 µM do composto de ensaio.

O procedimento experimental seguinte foi utilizado para medir a % de efeito em beta-2 a 1 µM para os compostos dos Exemplos 116-263.

Produção de cAMP mediada por adrenérgico β2

Preparação de células

Células H292 são cultivadas em balões de 225cm2 numa incubadora a 37 °C, 5% de CO_2 em meio RPMI contendo 10% (v/v) de FBS (soro fetal bovino) e 2 mM de L-glutamina.

Método Experimental

Os compostos foram preparados por uma primeira diluição inicial em DMSO para dar uma concentração-mãe de 1 mM. Esta foi seguida de uma diluição a 1 para 10 da concentração-mãe (10 µL do composto na solução-mãe + 90 µL de DMSO) para dar composto a 0,1 MM. Uma placa de adição de composto foi preparada fazendo mais uma diluição a 1 para 25 em tampão de ensaio (solução HBSS contendo 10 mM de HEPES, pH 7,4 e 5 mM de glucose) contendo 4% de dimetilsulfóxido. A concentração final do composto no ensaio é 1 µM.

As células H292 aderentes são removidas dos balões de cultura de tecido por tratamento com solução de descolamento de células Accutase™ durante 15 minutos. Os balões são incubados durante 15 minutos numa incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO_2. As células desprendidas são ressuspensas em meio RPMI (contendo 10% (v/v) de FBS e 2 mM de L-glutamina) a 0,1 x 10^6 células por mL. São adicionadas 10000 células em 100 µL a cada poço de um placa de 96 poços de cultura de tecido tratada e as células incubadas de um dia para o outro numa incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO_2. O meio de cultura é removido e as células são lavada duas vezes com 100 µL de tampão de ensaio

e substituído por 50 µL de tampão de ensaio (solução HBSS contendo 10 mM de HEPES, pH 7,4 e 5 mM de glucose). As células são repousadas à temperatura ambiente durante 20 minutos após o que são adicionados 25 µL de rolipram (1,2 mM preparado em tampão de ensaio). As células são incubadas com rolipram durante 10 minutos após o que são adicionados 25 µL de compostos de ensaio e as células são incubadas durante 60 minutos à temperatura ambiente. A concentração final de rolipram no ensaio é 300 µM e a concentração final de veículo é 1% (v/v) de dimetilsulfóxido. A reacção é parada removendo os sobrenadantes, lavando uma vez com 100 µL de tampão de ensaio e substituindo por 50 µL de tampão de lise. A monocamada de células é congelada a -80 °C durante 30 minutos (ou de um dia para o outro).

Detecção de cAMP com AlphaScreen™

A concentração de cAMP (adenosina monofosfato cíclico) no lisado de células é determinada utilizando a metodologia AlphaScreen™. A placa de células congelada é descongelada durante 20 minutos num agitador de placas, em seguida 10 µL do lisado de células são transferidos para um placa branca de 96 poços. A cada poço são adicionados 40 µL de esferas de detecção mistas AlphaScreen™ (contendo volumes iguais de esferas doadoras (pré-incubadas com cAMP biotinilado no escuro durante 30 minutos) e esferas aceitadoras e a placa incubada à temperatura ambiente durante 3 horas no escuro. O sinal de AlphaScreen™ é medido utilizando um espectrofotómetro EnVision (Perkin-Elmer Inc.) com os ajustes recomendados pelo fabricante. A concentração de cAMP produzida por poço foi calculada por referência à curva de calibração de cAMP determinada na mesma

experiência e expressa como uma percentagem da resposta máxima gerada por formoterol 1E-07M.

O procedimento experimental seguinte foi utilizado para determinar a % de inibição de M3 a 1 µM dos compostos dos Exemplos 116-263.

Ensaio de ligação ao receptor muscarínico 3

A actividade (% de inibição da ligação específica) dos compostos no receptor M_3 é determinada por ligação competitiva de [^{3}H]N-metil-escopolamina (NMS) a membranas celulares de CHO-K1 (Ovário de Hamster Chinês) que expressam o receptor muscarínico de acetilcolina M_3 humano (M_3-ACh) num ensaio de formato de proximidade de cintilação (SPA).

As esferas SPA são pré-revestidas com membranas e em seguida incubadas a 2 mg de esferas por poço com 1 µM de composto da invenção, [^{3}H]NMS a 0,1 nM, a quarta parte de Kd (constante de dissociação determinada experimentalmente) e tampão de ensaio (20 mM de HEPES, pH 7,4 contendo 5 mM de $MgCl_2$). O ensaio é realizado num volume final de 200 µL, na presença de 1% (v/v) de dimetilsulfóxido (DMSO). A ligação total de [^{3}H]NMS é determinada na ausência de composto competitivo e a ligação não específica de [^{3}H]NMS é determinada na presença de atropina 1 µM. As placas são incubadas durante 16 horas à temperatura ambiente e em seguida lidas num Wallac Microbeta™ utilizando um protocolo de ^{3}H normalizado. É determinada a actividade do composto a 1 µM, definida como a % de inibição da ligação específica de [^{3}H]-NMS.

(continuação)

Exemplo Nº	M_3 (% inibição a 1 µM)	β_2 (% efeito a 1 µM)
116	3	111
117	22	101
118	95	101
119	60	100
120	82	101
121	28	85
122	86	82
123	62	97
124	97	100
125	52	97
126	50	98
127	78	97
128	14	112
129	20	90
130	90	109
131	41	95
132	85	92
133	56	110
134	4	116
135	1	106
136	26	111
137	13	112
138	27	92
139	34	101
140	76	109
141	91	105
142	-3	100
143	2	108
144	35	101
145	7	53
146	41	96

(continuação)

Exemplo Nº	M_3 (% inibição a 1 µM)	β_2 (% efeito a 1 µM)
147	66	102
148	4	104
149	92	113
150	91	100
151	71	98
152	13	110
153	67	98
154	28	102
155	4	101
156	3	106
157	13	102
158	72	95
159	3	90
160	5	91
161	42	87
162	8	91
163	25	95
164	35	99
165	11	89
166	69	95
167	8	100
168	29	95
169	-2	92
170	42	102
171	11	86
172	19	98
173	99	93
174	41	89
175	3	94
176	16	87
177	1	78

(continuação)

Exemplo Nº	M_3 (% inibição a 1 µM)	β_2 (% efeito a 1 µM)
178	89	94
179	66	95
180	51	92
181	10	86
182	16	88
183	97	91
184	96	89
185	95	81
186	95	86
187	84	92
188	96	93
189	96	93
190	99	77
191	94	82
192	96	88
193	99	91
194	85	92
195	88	86
196	95	89
197	97	78
198	99	82
199	91	91
200	70	92
201	98	105
202	99	98
203	94	99
204	97	101
205	91	85
206	95	95
207	94	101
208	88	98

(continuação)

Exemplo Nº	M_3 (% inibição a 1 µM)	β_2 (% efeito a 1 µM)
209	99	84
210	95	92
211	68	91
212	88	93
213	99	87
214	91	82
215	94	89
216	90	88
217	100	103
218	100	95
219	99	92
220	100	109
221	99	93
222	91	87
223	56	87
224	70	89
225	60	74
226	53	76
227	48	80
228	22	67
229	67	83
230	31	70
231	91	53
232	56	83
233	51	82
234	80	78
235	29	97
236	30	73
237	46	62
238	57	73
239	90	76

(continuação)

Exemplo Nº	M_3 (% inibição a 1 µM)	β_2 (% efeito a 1 µM)
240	34	92
241	11	85
242	83	43
243	78	84
244	48	60
245	51	76
246	38	72
247	60	75
248	44	70
249	31	76
250	91	77
251	51	68
252	10	88
253	35	73
254	92	71
255	32	66
256	38	76
257	36	56
258	96	55
259	99	68
260	93	56
261	90	70
262	82	69
263	37	74

Descrição das Figuras

Figura 1: padrão de difracção de raios X do padrão de di-sal de ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico da modificação A - Exemplo 47B.

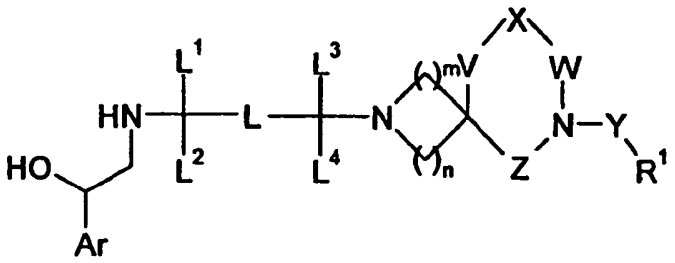
Figura 2: padrão de difracção de raios X do sal de fumarato da modificação A - Exemplo 47C.

Figura 3: padrão de difracção de raios X do sal de fumarato da modificação B - Exemplo 47D

Lisboa, 28 de Novembro de 2012

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula I



(I)

em que Ar representa um grupo de ligação ao receptor adrenérgico β;

L representa uma unidade de ligação compreendendo um cadeia hidrocarbilo linear ou ramificada de até 15 átomos de carbono;

em que até três dos átomos de carbono na cadeia estão opcionalmente substituídos com até quatro substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)_{0-2}R^{56}$, $NR^{57}R^{58}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, $C(O)OR^{63}$, $NR^{64}S(O)_2R^{65}$, $NR^{66}C(O)R^{67}$, $NR^{68}C(O)OR^{69}$, $NR^{70}C(O)NR^{71}R^{72}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

em que até cinco átomos de carbono da cadeia podem estar substituídos com grupos independentemente seleccionados de O, NR^{45}, S, S(O), $S(O)_2$, C(O)O, OC(O), $NR^{46}C(O)$, $C(O)NR^{47}$,

$NR^{48}S(O)_2$, $S(O)_2NR^{49}$, $NR^{50}C(O)NR^{51}$, $NR^{52}S(O)_2NR^{53}$, $OC(O)NR^{54}$, $NR^{55}C(O)O$, com a condição de que quaisquer desses grupos na cadeia estão separados por pelo menos 2 átomos de carbono; e

em que até seis átomos de carbono da cadeia podem fazer parte de um anel alifático, heteroalifático, aromático ou heteroaromático mono- ou bicíclico possuindo até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, compreendendo o referido anel até 10 átomos endocíclicos, e em que o anel está opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, $S(O)_{0-2}R^{56}$, $NR^{57}R^{58}$, $S(O)_2NR^{59}R^{60}$, $C(O)NR^{61}R^{62}$, $C(O)OR^{63}$, $NR^{64}S(O)_2R^{65}$, $NR^{66}C(O)R^{67}$, $NR^{68}C(O)OR^{69}$, $NR^{70}C(O)NR^{71}R^{72}$, OR^{73}, alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6}, e em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

e a cadeia pode compreender até três desses anéis, cada, independentemente seleccionado;

em que R^{56}, R^{65} e R^{69} representam, cada, independentemente alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; e

R^{45}, R^{46}, R^{47}, R^{48}, R^{49}, R^{50}, R^{51}, R^{52}, R^{53}, R^{54}, R^{55}, R^{57}, R^{58}, R^{59}, R^{60}, R^{61}, R^{62}, R^{63}, R^{64}, R^{66}, R^{67}, R^{68}, R^{70}, R^{71}, R^{72} e R^{73} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com

até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}; ou qualquer de R^{57} e R^{58}, R^{59} e R^{60}, R^{61} e R^{62} ou R^{71} e R^{72}, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático de 4 a 8 membros, em que o anel heterocíclico pode compreender até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O e S, em que o anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6}; e em que a cadeia pode compreender adicionalmente até três ligações duplas carbono-carbono; em que a cadeia pode compreender adicionalmente até três ligações triplas carbono-carbono;

L^1 e L^2 representam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6};

L^3 e L^4 representam independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6};

além disso L^1 e/ou L^3 podem estar ligados aos átomos de carbono da cadeia hidrocarbilo na unidade de ligação L para formar anéis alifáticos de até 6 átomos endocíclicos, em que cada anel pode compreender até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O e S;

R^1 representa um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel alifático de 3 a 8 membros ou um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-7} ou cicloalquilo C_{3-8} (em que cada de alquilo C_{1-7} e cicloalquilo C_{3-8} pode estar opcionalmente substituído com até seis substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}), um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros, possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel de fenilo, anel heteroalifático de 4 a 8 membros, anel alifático de 3 a 8 membros ou anel heteroarilo de 5 a 6 membros pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, ciano, nitro, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

ou R^1 representa um anel alifático fundido, heteroalifático fundido, aromático fundido ou heteroarilo fundido de até 10 átomos e possuindo até quatro heteroátomos independentemente

seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

ou R^1 representa ainda uma cadeia alquilo C_{1-6} em que um ou dois dos átomos de carbono podem estar substituídos por O, S ou N e

em que R^1 pode estar substituído com até três cadeias alquilo C_{1-3} e duas dessas cadeias podem ser ligadas para formar um cadeia cicloalquilo C_{3-8} em que o alquilo C_{1-3} e as cadeias cicloalquilo C_{3-8} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, e

em que a cadeia alquilo C_{1-6} está ainda opcionalmente substituída com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel alifático de 3 a 8 membros, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo, cada, até quatro heteroátomos

independentemente seleccionados de N, O ou S, e em que cada anel está opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-7} ou cicloalquilo C_{3-7} (em que cada de alquilo C_{1-7} e cicloalquilo C_{3-7} pode estar opcionalmente substituído com até seis substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$, NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}), um anel de fenilo, um anel heteroalifático de 4 a 8 membros, um anel alifático de 3 a 8 membros, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros possuindo, cada, até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel de fenilo, anel heteroalifático de 4 a 8 membros, anel alifático de 3 a 8 membros ou anel heteroarilo de 5 a 6 membros pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, $S(O)_{0-2}R^5$, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que alquilo C_{1-6} e cicloalquilo C_{3-6} podem estar, cada, opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

ou a cadeia alquilo C_{1-6} pode estar substituída com um anel alifático fundido, heteroalifático fundido, aromático fundido ou heteroarilo fundido de até 10 átomos e possuindo até quatro heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^5$,

NR^6R^7, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^{10}R^{11}$, $C(O)OR^{12}$ $NR^{13}S(O)_2R^{14}$, $NR^{15}C(O)R^{16}$, $NR^{17}C(O)OR^{18}$, $NR^{19}C(O)NR^{20}R^{21}$, OR^{22}, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com até três substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

R^5, R^{14} e R^{18} representam independentemente alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} e o cicloalquilo C_{3-6} podem estar opcionalmente substituídos com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$; e

R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{19}, R^{20}, R^{21} e R^{22} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}, em que o alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} pode estar opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$; ou qualquer de R^6 e R^7, R^8 e R^9, R^{10} e R^{11}, ou R^{20} e R^{21} em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ambos ligados, podem formar um anel heterocíclico alifático de 4 a 8 membros, em que o anel heterocíclico pode estar opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{1-6} e alcoxilo C_{1-6}, em que o alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{1-6} ou alcoxilo C_{1-6} pode estar opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente seleccionados de halogéneo, hidroxilo e alcoxilo C_{1-6}, NH_2, NH(alquilo C_{1-6}) e N(alquilo C_{1-6})$_2$;

X representa O, S, $S(O)_o$ ou $CR^{25}R^{26}$;

m = 0, 1, 2 ou 3;

n = 1, 2, 3 ou 4; com a condição de que m + n é maior ou igual a 2

o= 1, 2;

W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$ ou $CR^{31}R^{32}CR^{33}R^{34}CR^{35}R^{36}$;

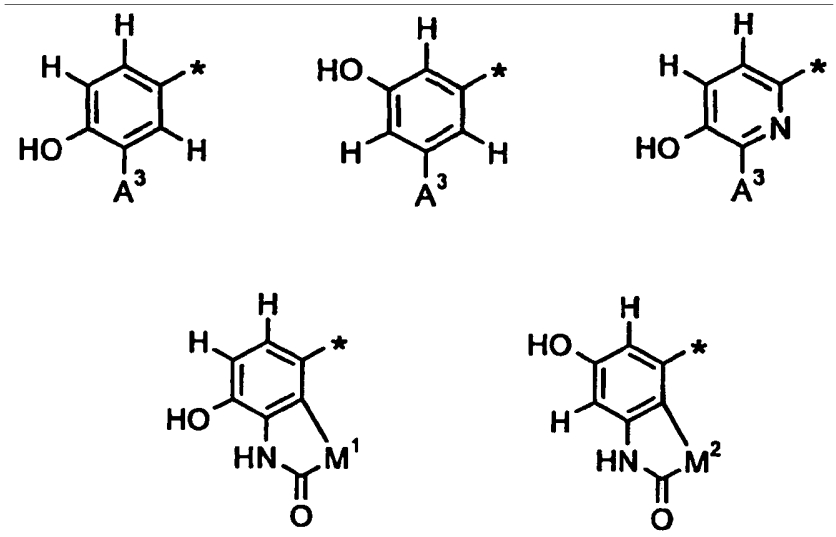
V e Z representam independentemente uma ligação, $CR^{37}R^{38}$ ou $CR^{39}R^{40}CR^{41}R^{42}$, com a condição de que quando X representa O, S, ou $S(O)_o$ então m, V e Z são de tal forma que todos os heteroátomos nos anéis estão separados por pelo menos dois átomos de carbono (*e. g.*, quando V é uma ligação então m não é 0, Z não é uma ligação);

Y representa CO, $CONR^{43}$, SO_2 ou SO_2NR^{44};

R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37}, R^{38} R^{39}, R^{40}, R^{41}, R^{42} representam, cada, independentemente hidrogénio, flúor ou alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6}; e quando não representam hidrogénio ou flúor R^{25} e R^{26}, R^{27} e R^{28}, R^{29} e R^{30}, R^{31} e R^{32}, R^{33} e R^{34}, R^{35} e R^{36}, R^{31} e R^{38}, R^{39} e R^{40} ou R^{41} e R^{42} em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ambos ligados, podem formar adicionalmente um anel alifático de 3 a 6 membros;

R^{43} e R^{44} representam, cada, independentemente hidrogénio, alquilo C_{1-6} ou cicloalquilo C_{3-6} e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

2. Composto de fórmula I ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 e em que Ar é seleccionado de qualquer um



em que M^1 é S, C(O), NH, CH_2, CH_2CH_2, CH=CH, CH_2O ou OCH_2;

M^2 é S, C(O), NH, CH_2, CH_2CH_2, CH=CH, CH_2O ou OCH_2;

A^3 também pode ser CH_2OH, NHCHO, $NHS(O)_2NA^{15}A^{16}$ ou $NHSO_2A^{17}$;

A^{15} ou A^{16} são, independentemente, hidrogénio ou alquilo C_{1-6};

A^{17} é alquilo C_{1-6};

3. Composto de fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 e em que L representa

uma unidade de ligação compreendendo uma cadeia hidrocarbilo de até 10 átomos de carbono.

4. Composto de fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 e em que W representa $CR^{27}R^{28}CR^{29}R^{30}$ ou $CR^{31}R^{32}CR^{33}R^{34}CR^{35}R^{36}$,

V e Z representam independentemente uma ligação, $CR^{37}R^{38}$ ou $CR^{39}R^{40}CR^{41}R^{42}$, com a condição de que quando X representa O, S, ou $S(O)_o$ então m, V e Z são de tal forma que todos os heteroátomos nos anéis estão separados por pelo menos dois átomos de carbono;

m = 0, 1, 2 ou 3 e o = 1 ou 2; e

R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37}, R^{38} R^{39} R^{40}, R^{41} e R^{42} representam, cada, independentemente hidrogénio, metilo ou flúor.

5. Composto de fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 e em que Y representa CO, $CONR^{43}$, SO_2 ou SO_2NR^{44}; e R^{43} e R^{44} representam, cada, independentemente hidrogénio ou metilo.

6. Composto de fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 e em que R^1 representa alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-8}, fenilo, um anel heteroarilo de 5 a 6 membros ou um aromático fundido ou anel heteroarilo de até 10 átomos possuindo até três heteroátomos independentemente seleccionados de N, O ou S, em que cada anel pode estar opcionalmente substituído com

até três substituintes como especificados para R^1 na reivindicação 1.

7. Composto de fórmula I ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 que é 7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona.

8. Composto de fórmula I ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 que é ditrifluoroacetato de (*R*)-7-(2-(2-Fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona.

9. Di-sal do ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona.

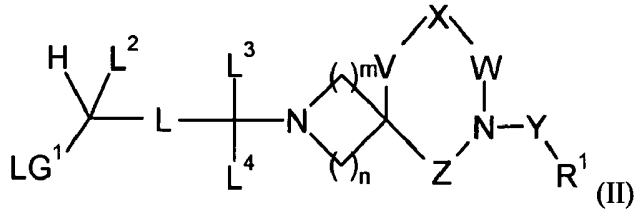
10. Composto de fórmula I ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1, que é o fumarato de (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona.

11. Composto de fórmula I ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1 que é (R)-7-(2-(2-fluoro-5-((4-(2-isopropiltiazole-4-carbonil)-1-

oxa-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetilamino)-1-hidroxietil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona.

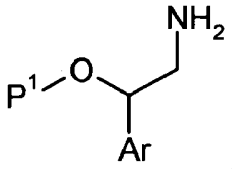
12. Processo para a preparação de um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como reivindicado na reivindicação 1, o qual compreende:

(a) quando L^1 representa hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (II), ou um seu sal,



(II)

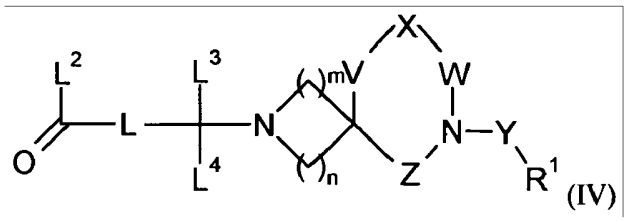
em que LG^1 representa um grupo de saída e L, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), com um composto de fórmula (III), ou um seu sal,



(III)

em que Ar é como definido na fórmula (I) e P^1 é hidrogénio ou um grupo de protecção na presença de uma base, seguida de remoção do grupo de protecção; ou

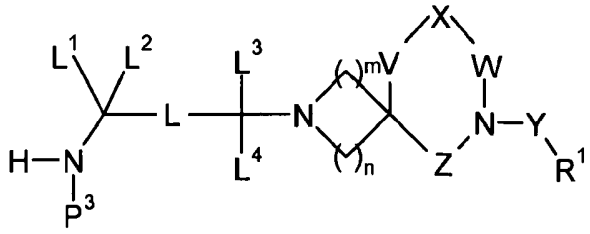
(b) quando L^1 representa hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (IV), ou um seu sal,



(IV)

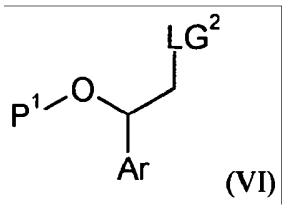
em que L, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), com um composto de fórmula (III) ou um seu sal na presença de um agente de redução; ou

(c) fazer reagir um composto de fórmula (V), ou um seu sal,



(V)

em que L, L^1, L^2, L^3, L^4, R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), P^3 representa hidrogénio ou um grupo de activação com um composto de fórmula (VI), ou um seu sal,

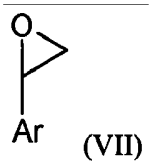


(VI)

em que Ar é como definido na fórmula (I), LG^2 representa um grupo de saída e P^1 é como definido na

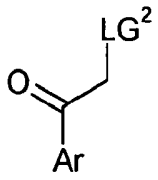
fórmula (III) na presença de uma base, seguida de remoção dos grupos de protecção; ou

com um composto de fórmula (VII), ou um seu sal adequado,



(VII)

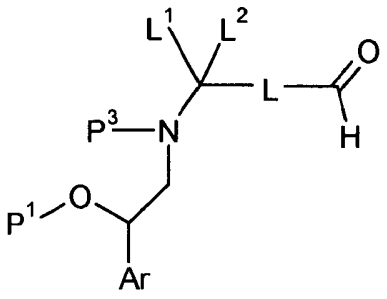
em que Ar é como definido na fórmula (I) na presença de uma base, seguida de remoção dos grupos de protecção; ou com um composto de fórmula (VIII), ou um seu sal adequado,



(VIII)

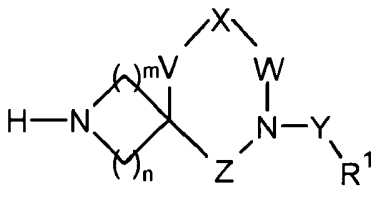
em que Ar é como definido na fórmula (I), LG^2 representa um grupo de saída, na presença de uma base, seguida de redução da cetona, seguida de remoção dos grupos de protecção; ou

(d) quando L^3 e L^4 representa, cada, hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (IX), ou um seu sal adequado,



(IX)

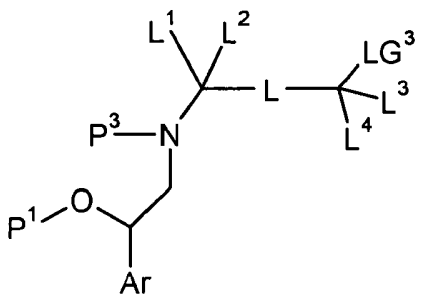
em que Ar, L, L^1 e L^2 são como definidos na fórmula (I), P^1 é como definido na fórmula (III), P^3 representa um grupo de protecção com um composto de fórmula (X), ou um seu sal,



(X)

em que R^1, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I), na presença de um agente de redução, seguida de remoção dos grupos de protecção; ou

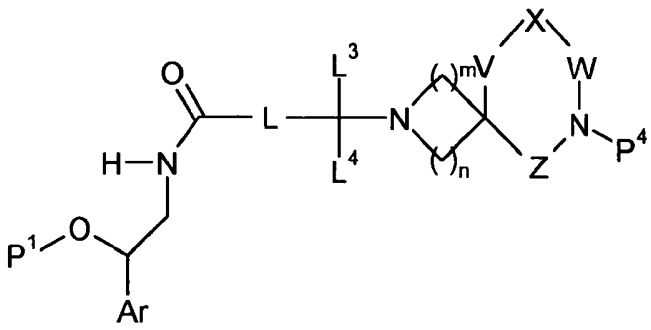
(e) quando um ou ambos de L^3 e L^4 representam hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (XI), ou um seu sal,



(XI)

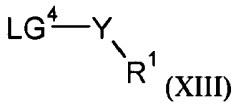
em que Ar, L, L^1 e L^2 são como definidos na fórmula (I), P^1 é como definido na fórmula (III), P^3 representa um grupo de protecção, LG^3 representa um grupo de saída, com um composto de fórmula (X) ou um seu sal, na presença de uma base, seguida de remoção dos grupos de protecção; ou

(f) quando L^1 e L^2 representam, cada, hidrogénio, fazer reagir um composto de fórmula (XII), ou um seu sal,



(XII)

em que Ar, L, L^3, L^4, m, n, V, W, X, Y e Z são como definidos na fórmula (I) e P^1 é como definido na fórmula (III) e P^4 é um grupo de protecção de azoto, com um agente de redução, seguida de remoção do grupo de protecção e reacção com um composto de fórmula (XIII), ou um seu sal,



(XIII)

em que R^1 e Y são como definidos na fórmula (I) e LG^4 representam hidroxilo ou um grupo de saída, ou um seu sal, seguida de remoção dos grupos de protecção e;

opcionalmente após (a), (b), (c), (d), (e) ou (f) realizar uma ou mais das seguintes:

converter o composto obtido noutro composto da invenção

preparar um sal farmaceuticamente aceitável do composto.

13. Composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável como definido em qualquer uma das reivindicações 1-11, em associação com um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

14. Processo para a preparação de uma composição farmacêutica como reivindicado na reivindicação 13, o qual compreende misturar um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1-11, com um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

15. Composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como definido em qualquer uma das reivindicações 1-11 para ser utilizado em terapia.

16. Utilização de um composto de fórmula (I) como definido em qualquer uma das reivindicações 1-11 no fabrico de um medicamento para ser utilizado no tratamento de uma doença ou estado respiratório.

17. Utilização de um composto de fórmula (I) como definido em qualquer uma das reivindicações 1-11 no fabrico de um medicamento para ser utilizado no tratamento de COPD.

18. Produto farmacêutico compreendendo, em associação, um primeiro ingrediente activo que é um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável como definido em qualquer uma das reivindicações 1-10, e um segundo ingrediente activo que é utilizado para o tratamento de uma doença inflamatória.

19. Produto farmacêutico como definido na reivindicação 18 e em que o segundo ingrediente activo é seleccionado de;

um inibidor de PDE4;

um modulador da função do receptor de quimiocina;

um inibidor da função da p38-cinase;

um glucocorticóide; e

um antagonista do receptor de glucocorticóides não esteróide.

Lisboa, 28 de Novembro de 2012

Figura 1

Padrão de XRPD do di-sal de ácido (1S)-(+)-10-canforsulfónico da modificação A - Exemplo 47 B

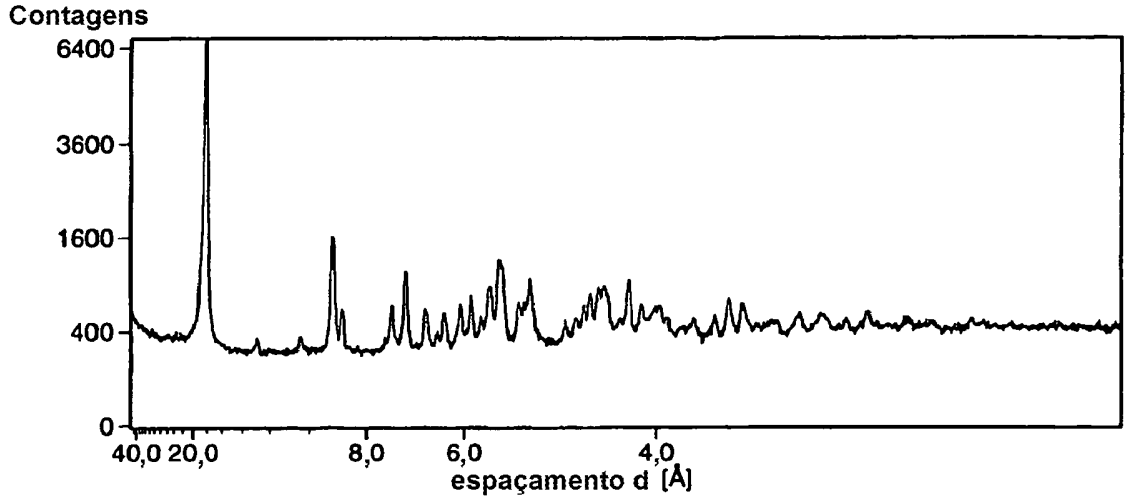


Figura 2

Padrão de XRPD do sal de fumarato da modificação A - Exemplo 47 C

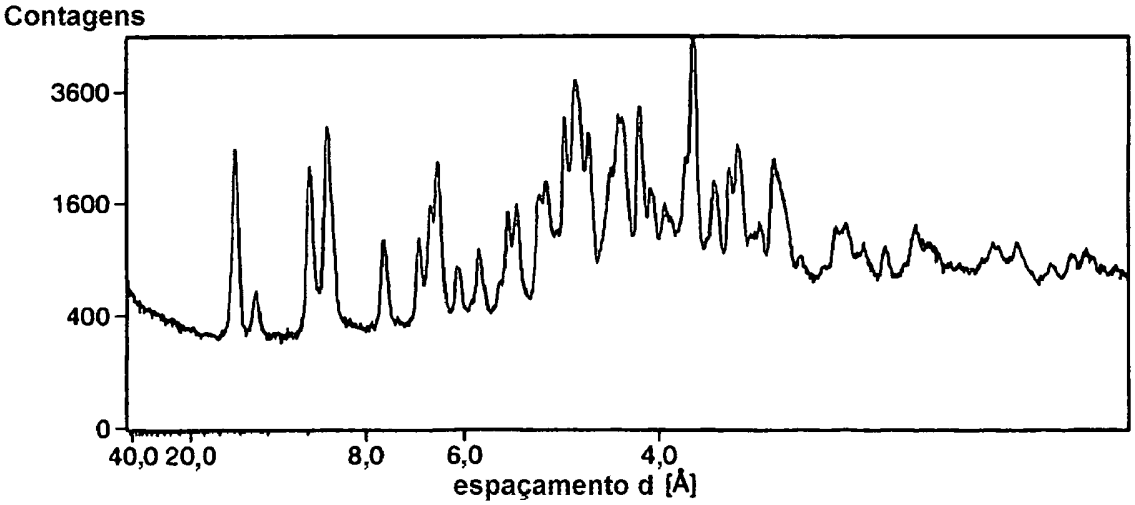


Figura 3

Padrão de XRPD do sal de fumarato da modificação B - Exemplo 47 D