

(11) Número de Publicação: **PT 1150996 E**

(51) Classificação Internacional:

C07K 5/06 (2007.10) **C07D 205/04** (2007.10)
C07D 207/10 (2007.10) **A61K 38/55** (2007.10)

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

(22) Data de pedido: 2000.01.13	(73) Titular(es): ASTRAZENECA AB 15185 SÖDERTÄLJE	SE
(30) Prioridade(s): 1999.01.13 SE 9900071 1999.11.22 SE 9904228	(72) Inventor(es): TORD INGARDT JAN-ERIK NYSTRÖM	SE SE
(43) Data de publicação do pedido: 2001.11.07	(74) Mandatário: PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA	PT
(45) Data e BPI da concessão: 2007.11.21 010/2008		

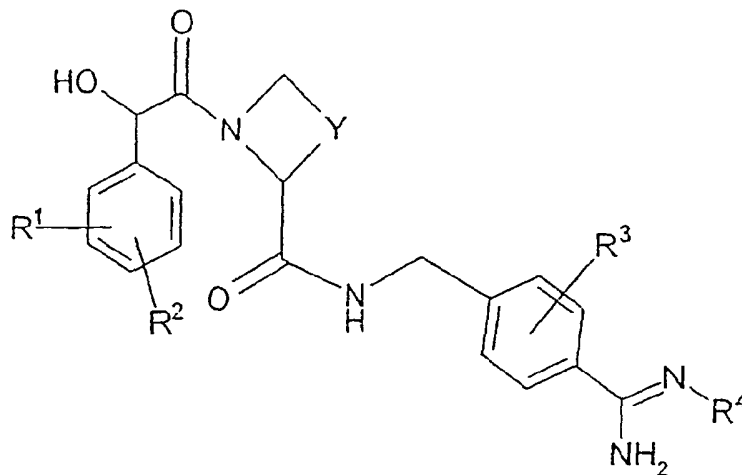
(54) Epígrafe: **NOVOS DERIVADOS DE AMIDINOBENZILAMINA E SUA UTILIZAÇÃO COMO INIBIDORES DA TROMBINA**

(57) Resumo:

RESUMO

"NOVOS DERIVADOS DE AMIDINOBENZILAMINA E SUA UTILIZAÇÃO COMO INIBIDORES DA TROMBINA"

São proporcionados compostos de fórmula (I) em que R¹, R², Y, R³ e R⁴ apresentam os significados apresentados na descrição, que são úteis como, ou como pró-fármacos de, inibidores competitivos de proteases do tipo tripsina, tal como trombina e, em particular, no tratamento de patologias onde a inibição de trombina é necessária (e. g., trombose) ou como anticoagulantes.



I

DESCRIÇÃO

"NOVOS DERIVADOS DE AMIDINOBENZILAMINA E SUA UTILIZAÇÃO COMO INIBIDORES DA TROMBINA"

Campo da Invenção

Esta invenção refere-se a novos compostos farmacologicamente úteis, em particular, compostos que são, ou são pró-fármacos de, inibidores competitivos de proteases da serina do tipo tripsina, especialmente trombina, à sua utilização como medicamentos, a composições farmacêuticas que os contêm e a vias sintéticas para a sua produção.

Antecedentes

A coagulação sanguínea é o principal processo envolvido na hemostasia (*i. e.*, a prevenção da perda de sangue a partir de um vaso danificado) e trombose (*i. e.*, a formação de um coágulo sanguíneo num vaso sanguíneo, conduzindo, por vezes, à obstrução do vaso).

A coagulação é o resultado de uma série complexa de reacções enzimáticas. Um dos passos mais importantes nesta série de reacções é a conversão da pró-enzima protrombina na enzima activa trombina.

A trombina é conhecida como tendo uma função fulcral na coagulação. Activa as plaquetas, conduzindo a uma agregação das plaquetas, converte o fibrogénio em monómeros de fibrina que polimerizam espontaneamente em polímeros de fibrina, e activa o factor XIII que, por sua vez, reticula os polímeros, para formar fibrina insolúvel. Além disso, a trombina activa o factor V e o factor VIII, conduzindo uma "resposta positiva" de geração de trombina a partir de protrombina.

Por inibição da agregação das plaquetas e da formação e reticulação da fibrina, espera-se que os inibidores eficazes da trombina exibam actividade antitrombótica. Além disso, espera-se que a actividade antitrombótica seja potenciada pela inibição eficaz do mecanismo de resposta positiva.

Sabe-se ainda que a administração de pró-fármacos de inibidores de trombina pode dar origem a melhorias em:

(a) determinadas propriedades farmacocinéticas após administração destes

(b) a prevalência de determinados efeitos secundários associados a esses inibidores.

Técnica Antecedente

O desenvolvimento inicial de inibidores de baixo peso molecular de trombina foi descrito por Claesson em Blood Coagul. Fibrinol. (1994) 5, 411.

Blombäck *et al.*, (em J. Clin. Lab. Invest. 24, supl. 107, 59, (1969)) referiram inibidores de trombina baseados na sequência de aminoácidos situada à volta do local de clivagem para a cadeia A α do fibrinogénio. Das sequências de aminoácidos discutidas, estes autores sugeriram que a sequência do tripéptido Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, daqui em diante referida como sequência P3-P2-P1) seria o inibidor mais eficaz.

Os inibidores da trombina baseados em derivados de dipeptidilo com uma α,ω -aminoalquilguanidina na posição P1 são conhecidos da Patente US N $^{\circ}$ 4346078 e Pedido de Patente Internacional WO 93/11152. De um modo semelhante, têm sido também descritos derivados dipeptidilo estruturalmente relacionados. Por exemplo, o Pedido de Patente Internacional WO 94/29336 revela compostos com, por exemplo, aminometilbenzamidinas, aminoalquilamidinas cíclicas e aminoalquilguanidinas cíclicas na posição P1 (o Pedido de Patente Internacional WO 97/23499 revela pró-fármacos de alguns destes compostos); o Pedido de Patente Europeia 0648780, revela compostos com, por exemplo, aminoalquilguanidinas cíclicas na posição P1.

Os inibidores de trombina baseados em derivados peptidilo, apresentando também aminoalquilguanidinas cíclicas (e. g., 3- ou 4-aminometil-1-amidino-piperidina) na posição P1, são conhecidos dos Pedidos de Patentes Europeias 0468231, 0559046 e 0641779.

Os inibidores de trombina baseados em derivados tripeptidilo com aldeído de arginina na posição P1 foram revelados inicialmente no Pedido de Patente Europeia 0185390.

Mais recentemente, têm sido referidos derivados peptídico baseados em aldeído de arginina, modificados na posição P3. Por exemplo, o Pedido de Patente Internacional WO 93/18060 revela hidroxiácidos, o Pedido de Patente Europeia 0526877 des-aminoácidos e o Pedido de Patente Europeia 0542525 ácidos O-metilmandélicos na posição P3.

São também conhecidos inibidores de proteases da serina (e. g., trombina) baseados em cetonas electrofílicas na posição P1. Por exemplo, o Pedido de Patente Europeia 0195212 revela ésteres de α -ceto-peptídico e amidas, o Pedido de Patente Europeia 0362002 cetonas de fluoroalquilamida, o Pedido de Patente Europeia 0364344, compostos α, β, δ -triceto e o Pedido de Patente Europeia 0530167, derivados α -alcoxicetona de arginina na posição P1.

Do Pedido de Patente Europeia 0293881, são conhecidos outros inibidores de proteases da serina do tipo tripsina, estruturalmente diferentes, baseados em derivados do ácido borónico C-terminal da arginina e seus análogos de isotiourónio.

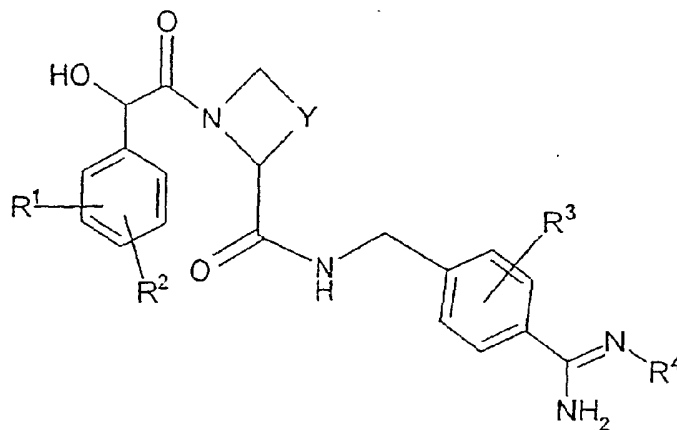
Mais recentemente, têm sido revelados inibidores da trombina baseados em derivados peptídico no Pedido de Patente Europeia 0669317 e Pedidos de Patentes Internacionais WO 95/35309, WO 95/23609, WO 96/25426, WO 97/02284, WO 97/46577, WO 96/32110, WO 96/31504, WO 96/03374, WO 98/06740 e WO 97/49404.

No entanto, permanece a necessidade de inibidores eficazes das proteases da serina do tipo tripsina, tal como trombina. Existe, também, uma necessidade de compostos que sejam biodisponíveis oralmente ou selectivos na inibição da trombina

em relação a outras proteases da serina, em particular, aquelas envolvidas na hemostasia. Espera-se que os compostos que exibem actividade inibidora competitiva em relação à trombina sejam especialmente úteis como anticoagulantes e, por isso, no tratamento terapêutico de trombose e distúrbios relacionados.

Revelação da Invenção

De acordo com a invenção, é proporcionado um composto de fórmula I,



em que

R^1 representa um substituinte $N(R^5)R^6$ ou $S(O)_mR^7$;

R^2 e R^3 representam, independentemente, um substituinte opcional seleccionado de halo, alquilo C_{1-4} ou alcoxilo C_{1-4} , cujos últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com halo;

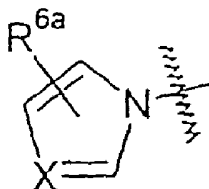
Y representa alquilenos C_{1-3} , opcionalmente substituído com alquilo C_{1-4} , metileno, =O ou hidroxilo;

R^4 representa H, OH, OR^{8a} , $C(O)OR^{8b}$ or R^{8c} ;

R^5 representa alquilo C_{1-6} opcionalmente substituído com halo ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual estão ligados, R^5 e R^6 , representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto, cujo anel inclui, opcionalmente, um átomo de oxigénio e/ou é opcionalmente substituído com um grupo =O;

R^6 representa alquilo C_{1-6} opcionalmente substituído com halo, $C(O)R^9$ ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto ao qual estão ligados, R^5 e R^6 representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto, cujo anel inclui, opcionalmente, um átomo de oxigénio e/ou é opcionalmente substituído com um grupo =O;

ou o grupo $N(R^5)R^6$ representa o fragmento estrutural Ia,



Ia

R^{6a} representa um ou mais substituintes opcionais seleccionados de halo, alquilo C_{1-4} e alcoxilo C_{1-4} , cujos dois últimos grupos são opcionalmente substituídos com halo;

X representa CH ou N;

m representa 0, 1 ou 2;

R^7 representa H, NH_2 ou alquilo C_{1-6} ;

R^{8a} e R^{8b} representam, independentemente, alquiloC₁₋₁₀, alquiloC₁₋₃fenilo ou ariloC₆₋₁₀ ou R^{8a} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$, $C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR^{12}$ ou $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$;

R^{8c} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$, $C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR^{12}$ ou $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$;

R^{10a} e R^{10b} representam, independentemente, em cada situação, H ou alquiloC₁₋₄;

R^{11} representa, em cada situação, ariloC₆₋₁₀, OR^{12} ou alquiloC₁₋₇, cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO₂H e ariloC₆₋₁₀;

R^{12} representa, em cada situação, ariloC₆₋₁₀ ou alquiloC₁₋₆, cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO₂H e ariloC₆₋₁₀;

R^9 representa alquiloC₁₋₈, Het¹, ariloC₆₋₁₀ ou alquiloC₁₋₄ substituído com ariloC₆₋₁₀; e,

Het¹ representa um anel heterocíclico de 4 a 12 membros, cujo anel contém um ou mais heteroátomos seleccionados de oxigénio, azoto e/ou enxofre e cujo anel pode ser totalmente saturado, parcialmente saturado ou aromático e/ou opcionalmente monocíclico, bicíclico e/ou fundido a benzo; em que cada grupo arilo/fenilo e grupo Het¹, identificados acima, são opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo, alquiloC₁₋₄ e/ou alcoxiloC₁₋₄, cujos últimos dois grupos são, eles próprios, opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo; cada

grupo arilo representa fenilo ou naftilo; ou um seu sal farmacologicamente aceitável,

desde que:

(a) quando m representa 1 ou 2 então, R^7 não representa H; e

(b) quando m representa 0 então, R^7 não representa NH_2 ;

cujos compostos são referidos daqui em diante como "os compostos da invenção".

Os sais farmacologicamente aceitáveis incluem sais de adição de ácido inorgânico (e. g., halogeneto de hidrogênio) e ácido orgânico (e. g., ácido acético, metanossulfônico ou trifluoroacético).

Os compostos da invenção podem exibir tautomerismo. Todas as formas tautoméricas e as suas misturas estão incluídas no âmbito da invenção. As formas tautoméricas particulares que podem ser mencionadas, incluem aquelas relacionadas com a posição da ligação dupla na funcionalidade amidina no composto de fórmula I e a posição do substituinte R^4 quando este não representa H.

Os compostos de fórmula I contêm, também pelo menos dois átomos de carbono assimétricos e podem, deste modo, exibir diastereoisomerismo e/ou isomerismo óptico. Todos os diastereoisômeros podem ser separados utilizando técnicas convencionais, e. g., cromatografia ou cristalização fracionada. Os vários estereoisômeros podem ser isolados por separação de uma mistura racêmica ou outra mistura dos

compostos, utilizando técnicas convencionais, e. g., cristalização fraccionada ou HPLC. Alternativamente, os isómeros ópticos desejados podem ser preparados por reacção dos apropriados materiais de partida opticamente activos, sob condições que não irão causar racemização ou epimerização, ou por derivatização, por exemplo, com um ácido homoquiral, seguida por separação dos derivados diastereoméricos por meios convencionais (e. g., HPLC, cromatografia sobre sílica). Todos os estereoisómeros estão incluídos no âmbito da invenção.

Como aqui utilizado, o termo "arilo" inclui fenilo, naftilo.

Os grupos alquilo que podem ser representados por R^2 , R^3 , R^5 , R^6 , R^{6a} , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R^{10a} , R^{10b} , R^{11} e R^{12} e cujo Y e grupos arilo/fenilo e Het^1 podem ser substituídos; os grupos alcoxilo que podem ser representados por R^2 , R^3 e R^{6a} e cujos grupos arilo/fenilo e Het^1 podem ser substituídos; a parte alquilo do alquilfenilo ou grupos alquilarilo que podem ser representados por R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R^{11} e R^{12} ; e Y pode representar grupos alquilenos, podem, quando existe um número suficiente de átomos de carbono, ser lineares ou ramificados, ser saturados ou insaturados, ser cíclicos, acíclicos ou parte cíclicos/acíclicos e/ou ser opcionalmente interrompidos por um átomo de O. Será evidente para o especialista na técnica que quando os grupos alquilo que podem ser representados por R^2 , R^3 , R^5 , R^6 , R^{6a} , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R^{10a} , R^{10b} , R^{11} e R^{12} e que cujo Y e grupos arilo/fenilo e Het^1 podem ser substituídos, são cíclicos e interrompidos pelo oxigénio, podem então representar heterociclos contendo oxigénio, tais como tetra-hidrofuranilo ou (quando apropriado) tetra-hidropiranilo.

Os grupos halo que podem ser representados por R^2 , R^3 e R^{6a} e cujos R^2 , R^3 , R^5 , R^6 , R^{6a} e grupos arilo/fenilo e Het^1 podem ser substituídos, incluem fluoro, cloro, bromo e iodo.

As abreviaturas são apresentadas no final desta descrição.

Quando R^5 e R^6 , em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados, representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto (e. g., pirrolidina), cujo anel inclui, opcionalmente, um átomo de oxigénio e/ou é substituído com um grupo =O, o anel é, de um modo preferido, substituído num átomo de carbono que é α para o átomo de azoto. Para não haver dúvidas, o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados é o átomo de azoto que deverá estar presente no anel.

Os compostos da invenção que podem ser mencionados incluem aqueles nos quais:

R^2 e R^3 representam, independentemente, um substituinte opcional seleccionado de halo ou alquilo C_{1-4} (opcionalmente substituído com halo);

R^5 representa alquilo C_{1-6} ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O;

R^6 representa alquilo C_{1-6} , $C(O)R^9$ ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O;

quando R^4 representa OR^{8a} ou $C(O)OR^{8b}$, R^{8a} e R^{8b} representam, independentemente, em cada situação, alquilo C_{1-10} , alquifenilo C_{1-3} ou arilo C_{6-10} , cujos últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo, alquilo C_{1-4} e/ou alcoxilo C_{1-4} ;

R^9 representa alquilo C_{1-6} ; e

todos os outros substituintes são, de outro modo, como aqui definido anteriormente.

Outros compostos da invenção que podem ser mencionados incluem aqueles nos quais R^4 não representa R^{8c} .

Os compostos preferidos da invenção incluem aqueles nos quais:

R^2 representa alquilo C_{1-4} ou alcoxilo C_{1-4} linear ou ramificado, sendo ambos opcionalmente substituídos com halo ou halo (e. g., cloro);

R^3 está ausente ou representa um alquilo C_{1-4} linear ou ramificado ou halo;

R^5 representa alquilo C_{1-6} linear, ramificado ou cíclico ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 4 a 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O;

R^6 representa alquilo C_{1-6} linear, ramificado ou cíclico, C(O)-alquilo C_{1-6} ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto

ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 4 a 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O;

R^7 representa alquiloC₁₋₆ linear, ramificado ou cíclico;

Y representa CH₂ ou (CH₂)₂.

Quando R^4 representa OR^{8a}, os compostos preferidos da invenção incluem aqueles nos quais R^{8a} representa alquiloC₁₋₆ linear ou ramificado, alquiloC₄₋₅ cíclico, cujos últimos dois grupos são opcionalmente interrompidos por oxigénio, ou fenilo ou alquilC₁₋₂fenilo (e. g., benzilo), a parte fenilo cujos últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo, alquiloC₁₋₄ e/ou alcoxiloC₁₋₄, cujos últimos dois grupos são, eles próprios, substituídos com um ou mais grupos halo, ou R^{8a} representa CH₂OC(O)R¹¹, no qual R^{11} representa fenilo, alquiloC₁₋₆ linear, ramificado ou cíclico, cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO₂H e fenilo ou OR¹², em que R^{12} representa fenilo ou alquiloC₁₋₆ linear, ramificado ou cíclico, cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO₂H e fenilo.

Quando R^4 representa C(O)OR^{8b}, os compostos preferidos da invenção incluem aqueles nos quais R^{8b} representa alquilC₁₋₂fenilo linear ou ramificado, ou fenilo, cujos últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo, alquiloC₁₋₄ e/ou alcoxiloC₁₋₄, cujos últimos dois grupos são, eles próprios, opcionalmente substituídos com um ou mais dois grupos.

Os compostos preferidos da invenção incluem aqueles nos quais R^1 está ligado ao anel fenilo na posição 3 relativamente ao grupo $-\text{CH}(\text{OH})-$, ao qual está também ligado o anel fenilo. O substituinte opcional R^2 está, de um modo preferido, ligado ao anel fenilo na posição 5 relativamente ao grupo $-\text{CH}(\text{OH})-$, ao qual está também ligado o anel fenilo.

Quando o grupo $\text{N}(\text{R}^5)\text{R}^6$ representa um fragmento funcional Ia, o fragmento é, de um modo preferido, não substituído.

Os compostos mais preferidos da invenção incluem aqueles nos quais:

R^1 representa $\text{N}(\text{R}^5)\text{R}^6$;

R^3 está ausente ou, se presente, representa metilo ou cloro, de um modo preferido, na posição 2 relativamente ao grupo $-\text{CH}_2-$ ao qual está também, ligado o anel fenilo;

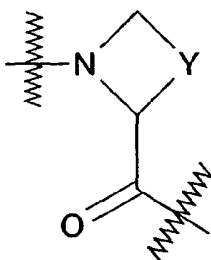
R^{8a} representa alquilo C_{1-4} linear ou ramificado (opcionalmente interrompido por oxigénio) ou alquilo C_{4-5} cíclico interrompido por oxigénio;

R^5 representa alquilo C_{1-4} ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 5 ou 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo $=\text{O}$;

R^6 representa alquilo C_{1-4} (e. g., metilo), $\text{C}(\text{O})$ -alquilo C_{1-6} (e. g., $\text{C}(\text{O})$ -alquilo C_{1-4}) ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representa um anel

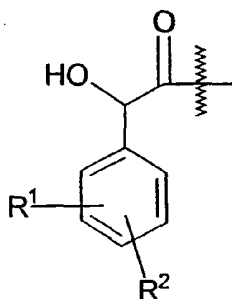
de 5 ou 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O.

São preferidos os compostos de fórmula I, nos quais o fragmento



está na configuração S.

São preferidos os compostos de fórmula I nos quais o fragmento



está na configuração R.

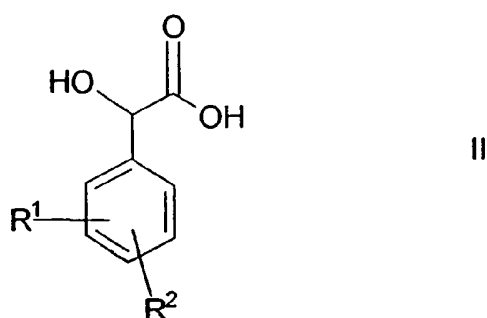
As linhas onduladas, nas ligações nos dois fragmentos acima, significam as posições das ligações dos fragmentos.

Os compostos preferidos de fórmula I incluem os compostos dos Exemplos aqui descritos posteriormente.

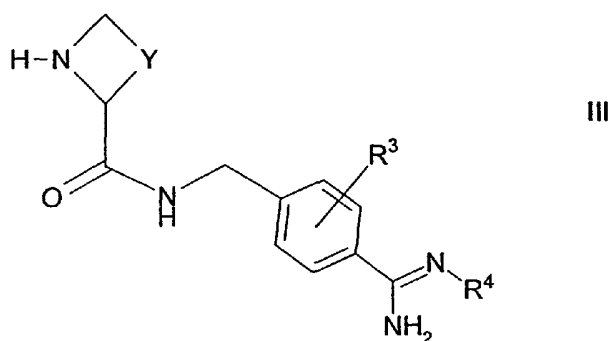
Preparação

De acordo com a invenção é, também, proporcionado um processo para a preparação dos compostos de fórmula I que compreende:

(i) a ligação de um composto de fórmula II,



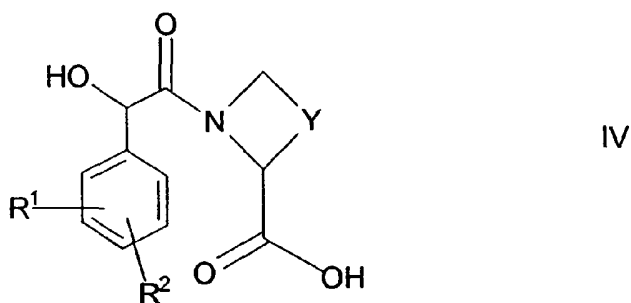
em que R^1 e R^2 são como aqui definido anteriormente, com um composto de fórmula III,



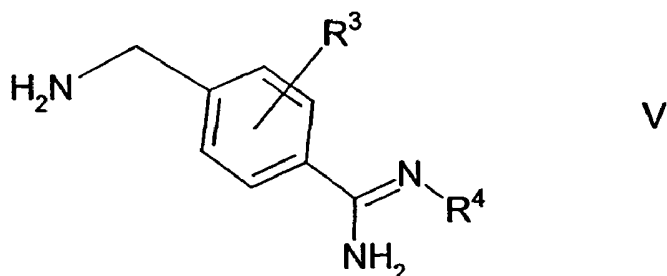
em que Y , R^3 e R^4 são como aqui definido anteriormente, por exemplo, na presença de um agente de ligação (e. g., EDC, DCC, HBTU, HATU, TBTU, PyBOP ou cloreto de oxalilo em DMF), uma base apropriada (e.g., piridina, 2,4,6,-trimetilpiridina, 2,4,6-colidina, DMAP, TEA ou

DIPEA) e um solvente orgânico adequado (e. g., diclorometano, acetonitrilo ou DMF);

(ii) a ligação de um composto de fórmula IV,

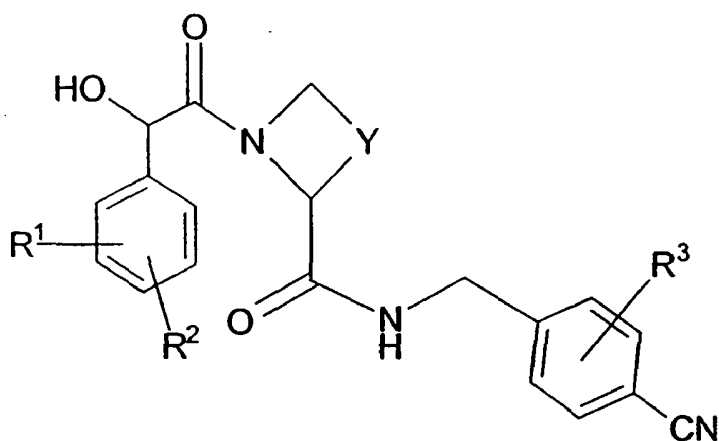


em que R¹, R² e Y são como aqui definido anteriormente, com um composto de fórmula V,



em que R³ e R⁴ são como aqui definido anteriormente, por exemplo, na presença de um agente de ligação (e. g., cloreto de oxalilo em DMF, EDC, DCC, HBTU, HATU, PyBOP ou TBTU), uma base apropriada (e. g., piridina, 2,4,6,-trimetilpiridina, , DMAP, TEA, 2,4,6-colidina ou DIPEA) e um solvente orgânico adequado (e. g., diclorometano, acetonitrilo ou DMF);

(iii) para compostos de fórmula I, nos quais R^4 representa OH ou OR^{8a} , a reacção de um composto de fórmula VI,

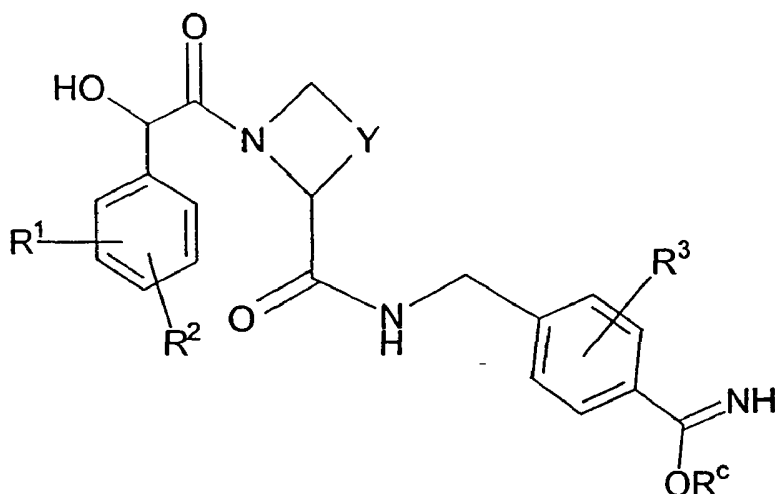


VI

em que R^1 , R^2 , Y e R^3 são como aqui definido anteriormente, com um composto de fórmula VII,



em que R^a representa H ou R^{8a} e R^{8a} é como aqui definido anteriormente, por exemplo, a temperaturas entre 40 e 60 °C, na presença de uma base adequada (e. g., TEA) e um solvente orgânico adequado (e. g., THF, CH_3CN , DMF ou DMSO), opcionalmente, por pré-tratamento do composto de fórmula VI com HCl gasoso, na presença de um alquilo inferior (e. g., alquilo C_{1-6}) álcool (e. g., etanol) a, por exemplo, 0 °C, para formar um composto de fórmula VIII,



VIII

em que R^c representa alquilo inferior (e. g., C_{1-6}), tal como etilo e R^1 , R^2 , Y e R^3 são como aqui definido anteriormente, cujo composto pode ser isolado se desejado;

(iv) para compostos de fórmula I, nos quais R^4 representa OH ou OR^{8a} , a reacção de um composto correspondendo a um composto de fórmula I, no qual em vez de R^4 está presente um grupo de protecção $C(O)OR^{b1}$, no qual R^{b1} representa um grupo, tais como 2-trimetilsililetilo, alquilo C_{1-6} ou alquilfenilo (e. g., benzilo), com um composto de fórmula VII como aqui definido anteriormente, por exemplo, sob condições reaccionais semelhantes às aqui descritas anteriormente para a preparação de compostos de fórmula I (passo (iii)) (será evidente para o especialista na técnica que, em tal reacção, o derivado da amidina desprotegida (i. e., $C(O)OR^{b1}$ e OR^a protegidos) pode, em alguns casos, ser isolado se desejado e o grupo $C(O)OR^{b1}$ removido posteriormente, utilizando técnicas convencionais);

(v) para compostos de fórmula I, nos quais R⁴ representa C(O)OR^{8b}, a reacção de um composto de fórmula I, no qual R⁴ representa H, com um composto de fórmula IX,



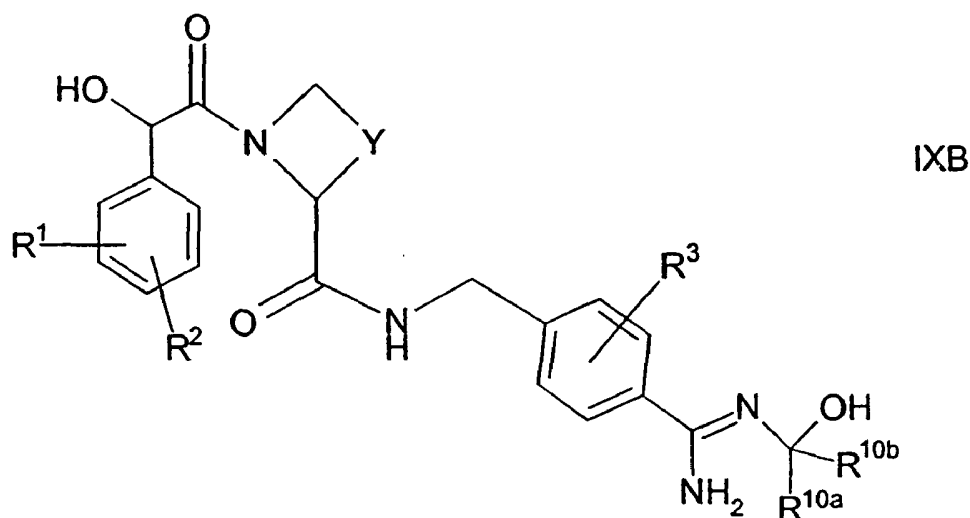
em que L¹ representa um grupo de saída adequado, tais como halo ou p-nitrofenoxilo e R^{8b} é como aqui definido anteriormente, por exemplo, a 0 °C na presença de uma base adequada (e. g., NaOH) e um solvente orgânico adequado (e. g., THF) e/ou água;

(vi) para compostos de fórmula I, nos quais R⁴ representa OR^{8a}, a reacção de um composto correspondente de fórmula I, no qual R⁴ representa OH, com um um composto de fórmula IXA

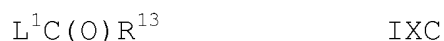


em que R^{8a} e L¹ são como aqui definido anteriormente, por exemplo, entre 0 °C e a temperatura de refluxo, opcionalmente, na presença de um solvente apropriado (e. g., DCM, THF, MeCN ou DMF) e uma base adequada (e. g., Et₃N ou piridina);

(vii) para compostos de fórmula I, nos quais R⁴ representa R^{8c}, em que R^{8c} representa C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R¹¹ ou C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R¹², a reacção de um composto correspondente de fórmula IXB,

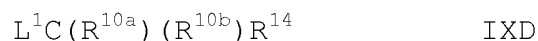


em que R^1 , R^2 , Y , R^3 , R^{10a} e R^{10b} são como aqui definido anteriormente, com um composto de fórmula IXC,



em que R^{13} representa R^{11} ou $N(H)R^{12}$ e L^1 , R^{11} e R^{12} são como aqui definido anteriormente, por exemplo, sob as condições aqui descritas anteriormente (passo do processo (vi));

(viii) para compostos de fórmula I, nos quais R^4 representa R^{8c} , a reacção de um composto correspondente de fórmula I, no qual R^4 representa H, com um composto de fórmula IXD,

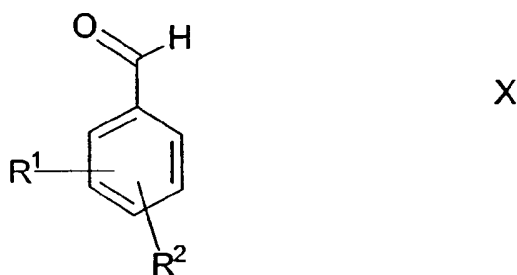


em que R^{14} representa $OC(O)R^{11}$, $NHC(O)OR^{12}$ ou $OC(O)N(H)R^{12}$ e L^1 , R^{10a} , R^{10b} , R^{11} e R^{12} são como aqui definido anteriormente, por exemplo, sob as condições aqui descritas anteriormente (passo do processo (vi));

(ix) para compostos de fórmula I, nos quais R^1 inclui um grupo $S(O)$ ou $S(O)_2$, oxidação de um composto correspondente de fórmula I, em que R^1 inclui um grupo S , na presença de uma quantidade apropriada de um agente de oxidação (e. g., *m*CPBA ou peroximonossulfato de potássio) e um solvente orgânico apropriado (e. g., CH_2Cl_2 , metanol, água ou as suas misturas (e. g., metanol/água)).

Os compostos de fórmula II estão disponíveis utilizando técnicas conhecidas e/ou convencionais.

Por exemplo, os compostos de fórmula II podem ser preparados por reacção de um aldeído de fórmula X,



em que R^1 e R^2 são como aqui definido anteriormente, com:

(a) um composto de fórmula XI,



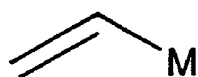
em que R'' representa H ou $(CH_3)_3Si$, por exemplo, à temperatura ambiente ou elevada (e. g., abaixo de 100 °C) na presença de um solvente orgânico adequado (e. g., clorofórmio ou cloreto de metileno) e, se necessário, na presença de um base adequada (e. g., TEA) e/ou um sistema

catalisador adequado (e. g., cloreto de benzilamónio ou iodeto de zinco), seguido por hidrólise sob condições que são bem conhecidas para os especialistas na técnica (e. g., como aqui descrito anteriormente;

(b) NaCN ou KCN, por exemplo, na presença de NaHSO₃ e água, seguido por hidrólise;

(c) clorofórmio, por exemplo, a temperatura elevada (e. g., acima da temperatura ambiente mas abaixo de 100 °C) na presença de um solvente orgânico adequado (e. g., clorofórmio) e, se necessário, na presença de um sistema catalisador adequado (e. g., cloreto de benzilamónio), seguido por hidrólise;

(d) um composto de fórmula XII,



XII

em que M representa Mg ou Li, seguido por clivagem oxidativa (e. g., ozonólise ou catalisada por ósmio ou ruténio) sob condições que são bem conhecidas para os especialistas na técnica; ou

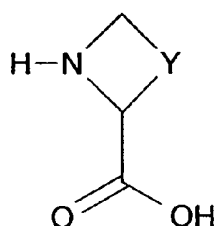
(e) tris(metiltio)metano sob condições que são bem conhecidas para os especialistas na técnica, seguido por hidrólise na presença de, e. g., HgO e HBF₄.

As formas enantioméricas dos compostos de fórmula II (i. e., aqueles compostos com diferentes configurações dos

substituintes em relação ao átomo de C α - ao grupo CO₂H) podem ser separadas através de um passo de derivatização enantioespecífica. Isto pode ser conseguido, por exemplo, através de um processo enzimático. Tais processos enzimáticos incluem, por exemplo, transesterificação de um grupo α -OH entre a temperatura ambiente e de refluxo (e. g., entre 45 e 55 °C), na presença de uma enzima adequada (e. g., Lipase PS Amano), um éster apropriado (e. g., acetato de vinilo) e um solvente adequado (e. g., éter terc-butílmético). O isómero derivatizado pode, depois, ser separado do isómero que não reagiu, através de técnicas de separação convencionais (e. g., cromatografia).

Os grupos adicionados aos compostos de fórmula II em tal passo de derivatização podem ser removidos antes de outras reacções ou em qualquer outra fase posterior na síntese de compostos de fórmula I. Os grupos adicionais podem ser removidos utilizando técnicas convencionais (e. g., para ésteres do grupo α -OH, hidrólise sob condições conhecidas pelos especialistas na técnica (e. g., entre a temperatura ambiente e a temperatura de refluxo, na presença de uma base adequada (e. g., NaOH) e um solvente apropriado (e. g., MeOH, água ou suas misturas))).

Os compostos de fórmula III podem ser preparados por reacção de um composto de fórmula XIII

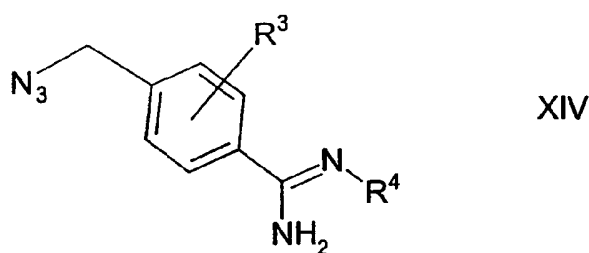


XIII

em que Y é como aqui definido anteriormente, com um composto de fórmula V, como aqui definido anteriormente, por exemplo, sob condições, tais como as aqui descritas anteriormente para a síntese de compostos de fórmula I (ver, por exemplo, passos (i) e (ii) do processo).

Os compostos de fórmula IV estão disponíveis rapidamente utilizando técnicas conhecidas. Por exemplo, os compostos de fórmula IV podem ser preparados por reacção de um composto de fórmula II, como aqui definido anteriormente, com um composto de fórmula XIII, como aqui definido anteriormente, por exemplo, sob condições, tais como as aqui descritas anteriormente para a síntese dos compostos de fórmula I (ver, por exemplo, passos (i) e (ii) do processo).

Os compostos de fórmula V são conhecidos na literatura e/ou podem ser preparados utilizando técnicas conhecidas. Por exemplo, os compostos de fórmula V podem ser preparados por redução de um composto de fórmula XIV,



em que R³ e R⁴ são como aqui definido anteriormente, sob condições que são bem conhecidas pelos especialistas na técnica

Os compostos de fórmula VI podem ser preparados de acordo com as técnicas de ligação peptídica, por exemplo, de modo análogo aos métodos aqui descritos anteriormente para compostos de fórmula I (ver, por exemplo, passos (i) e (ii) do processo). Se desejado, os compostos de fórmula VIII podem, também, ser preparados deste modo.

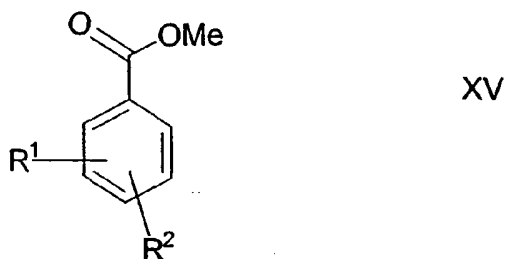
Os compostos de fórmula IXB podem ser preparados por reacção de um composto correspondente de fórmula I, no qual R⁴ representa H, com um excesso de um composto de fórmula IVA,



em que R^{10a} e R^{10b} são como aqui definido anteriormente, por exemplo, sob condições conhecidas pelos especialistas na técnica

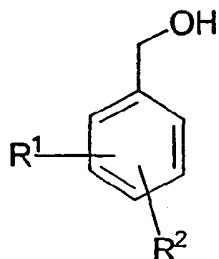
Os compostos de fórmula X estão disponíveis comercialmente, são bem conhecidos na literatura ou estão disponíveis utilizando técnicas conhecidas e/ou convencionais.

Por exemplo, os compostos de fórmula X podem ser preparados por redução de um composto de fórmula XV,



em que R^1 e R^2 são como aqui definido anteriormente, na presença de um agente de redução adequado (e. g., DIBAL-H).

Alternativamente, os compostos de fórmula X podem ser preparados por oxidação de um composto of fórmula XVI,



XVI

em que R^1 e R^2 são como aqui definido anteriormente, na presença de um agente de oxidação adequado (e. g., clorocromato de piridínio ou uma combinação de DMSO e cloreto de oxalilo).

Os compostos de fórmulas II, IV, VI, VIII, X, XV e XVI, nos quais R^1 inclui um grupo S(O) ou um S(O)₂, podem ser preparados por oxidação de um composto correspondente de fórmula II, IV, VI, VIII, X, XV ou XVI (como apropriado) em que R^1 inclui um grupo S, por exemplo, como aqui descrito anteriormente.

Os compostos de fórmulas VII, IX, IXA, IXC, IXD, XI, XII, XIII, XIV, XIVA, XV e XVI e os seus derivados estão disponíveis comercialmente são conhecidos na literatura ou podem ser obtidos, também, por analogia com os processos aqui descritos, ou através de processos sintéticos convencionais, de acordo com técnicas convencionais, a partir de materiais de partida facilmente disponíveis, utilizando reagentes e condições reacionais apropriadas (e. g., como aqui descrito anteriormente).

Os substituintes no(s) anel(is) heteríclico(s) e carbocíclico(s), aromático(s) e/ou não aromático(s), nos compostos de fórmulas I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, IXA, IXB, IXC, IXD, X, XIII, XIV, XV e XVI podem ser introduzidos e/ou interconvertidos utilizando técnicas bem conhecidas pelos especialistas na técnica. Por exemplo, o nitro pode ser reduzido a amino, o amino pode ser alquilado ou acilado para proporcionar alquil- e/ou acilamino, o amino pode ser convertido em pirrolo (por condensação com um 2,5-dimetoxitetra-hidrofurano na presença de um catalisador, tal como pentóxido de fósforo), o amino pode ser convertido (via diazotização) em halo ou (e. g., via reacção com um composto 1,4- ou 1,5-di-haloalquilo ou um β - ou γ -haloéster) num anel contendo azoto (opcionalmente substituído com um grupo =O), o iodo pode ser convertido em heterociclos contendo azoto (por exemplo, imidazolilo e piperidinilo, por tratamento com imidazole ou piperidina sob condições de Buchwald), o hidroxilo de azoto pode ser alquilado para proporcionar alcoxilo, o alcoxilo pode hidrolizado em hidroxilo, os alcenos podem ser hidrogenados em alcanos, o halo pode ser hidrogenado em H, etc. Deste modo, os compostos de fórmula XV, nos quais R^1 representa $-N(CH_3)_2$ e R^2 representa cloro ou metilo, podem ser obtidos a partir de ésteres metílicos do ácido benzóico, dissubstituídos com iodo-cloro ou iodometilo, disponíveis comercialmente, utilizando aaminação catalisada por Pd, por exemplo, como descrito por Wolfe *et al.*, em *Tetrahedron Lett.* 38, 6367 (1997), seguido quer por aaminação redutora (por exemplo, utilizando HCHO e um agente de redução, tal como $Na(CN)BH_3$ ou uma combinação de óxido de Pt(IV) e hidrogénio) ou alquilação (por exemplo, utilizando MeI e uma base apropriada) da anilina resultante. Os compostos de fórmula XV, nos quais R^1 representa $-S(O)_mCH_3$ (no qual m é como aqui definido anteriormente) e R^2 representa cloro ou metilo, podem ser obtidos

a partir da anilina resultante descrita acima (ou a partir do ácido benzóico correspondente) via diazotização, seguida por tratamento do sal de diazónio com etilxantato de potássio e, depois, hidrólise do intermediário, para proporcionar o tiofenol correspondente, por exemplo, como descrito por Tarbell *et al.*, em "Organic Synthesis", Coll. Vol. III, p 809-11 (1955). O tiofenol resultante pode depois ser alquilado (por exemplo, utilizando um iodeto de alquilo apropriado na presença de uma base adequada em EtOH) e, depois, (se necessário) oxidado para formar a sulfona ou sulfóxido (por exemplo, utilizando *m*CPBA em CH₂Cl₂ ou peroximonossulfato de potássio em metanol/água).

Os compostos de fórmula I podem ser isolados a partir das suas misturas reaccionais utilizando técnicas convencionais.

Será evidente para os especialistas na técnica que nos processos descritos acima, pode ser necessário proteger os grupos funcionais dos compostos intermediários utilizando grupos de protecção.

Os grupos funcionais que são desejáveis proteger incluem hidroxilo, amino, aldeído, ácido 2-hidroxicarboxílico e ácido carboxílico. Os grupos de protecção adequados para o hidroxilo incluem grupos trialquilsililo ou diarilalquilsililo (e. g., *t*-butildimetilsililo, *t*-butildifenilsililo ou trimetilsililo) e tetra-hidropiranilo. Os grupos de protecção adequados para o ácido carboxílico incluem alquiloC₁₋₆ ou ésteres de benzilo. Os grupos de protecção adequados para amino e amidino incluem *t*-butiloxicarbonilo, benziloxicarbonilo ou 2-trimetilsililetoxicarbonilo (Teoc). Os azotos de amidino podem também ser protegidos por grupos hidroxilo ou alcoxilo e podem ser mono- ou diprottegidos. Os aldeídos podem ser protegidos como

acetais por reacção com, e. g., etilenoglicol. Os ácidos 2-hidroxicarboxílicos podem ser protegidos por condensação com, e. g., acetona.

A protecção e desprotecção dos grupos funcionais pode ocorrer antes ou após a ligação, ou antes ou após qualquer outra reacção nos esquemas mencionados anteriormente.

Os grupos de protecção podem ser removidos de acordo com técnicas que são bem conhecidas pelos especialistas na técnica e como aqui descrito anteriormente.

Será evidente para os especialistas na técnica que, de modo a obter compostos de fórmula I, de um modo alternativo e, em algumas ocasiões, de um modo mais conveniente, os passos individuais do processo aqui mencionados anteriormente podem ser efectuados numa ordem diferente e/ou as reacções individuais podem ser efectuadas numa fase diferente na via global (*i. e.*, os substituintes podem ser adicionados a e/ou as transformações químicas efectuadas sobre intermediários diferentes dos aqui mencionados anteriormente, em conjunto com uma reacção particular). Isto pode negar, ou tornar necessária, a necessidade de grupos de protecção.

Por exemplo, isto é particularmente verdadeiro em relação à síntese de compostos de fórmula I nos quais R^4 não representa H. Neste caso, os grupos OH, OR^{8a} , $C(O)OR^{8b}$ e/ou R^{8c} podem ser introduzidos numa fase inicial na síntese global, utilizando os passos do processo aqui descritos anteriormente (ver, por exemplo, passos (iii) a (viii) do processo). Além disso, o grupo OH do ácido mandélico dos compostos de fórmulas II e IV pode necessitar de ser protegido antes dos passos de ligação descritos acima.

Consequentemente, a ordem e tipo de química envolvida irá ditar a necessidade e tipo de grupos de protecção, bem como a sequência para efectuar a síntese.

A utilização de grupos de protecção está totalmente descrita em "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por J W F McOmie, Plenum Press (1973) e "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª edição, T W Greene & P G M Wutz, Wiley-Interscience (1991).

Os derivados protegidos dos compostos de fórmula I podem ser quimicamente convertidos em compostos de fórmula I, utilizando técnicas de desprotecção convencionais (e. g., hidrogenação). Será evidente para o especialista na técnica que determinados compostos de fórmula I podem também ser referidos como sendo "derivados protegidos" de outros compostos de fórmula I.

Utilização médica e farmacêutica

Como tal, os compostos da invenção podem apresentar actividade farmacológica. Os compostos da invenção que apresentam tal actividade incluem, mas não estão limitados a, aqueles nos quais R^4 é H.

No entanto, outros compostos de fórmula I (incluindo aqueles nos quais R^4 não é H) podem apresentar tal actividade, mas podem ser administrados parentericamente ou oralmente e, deste modo, metabolizados no corpo de modo a formar compostos que sejam farmacologicamente activos (incluindo, mas não

limitado a compostos correspondentes, nos quais R⁴ é H). Tais compostos (que incluem, também, compostos que podem apresentar alguma actividade farmacológica, mas essa actividade é apreciavelmente inferior à dos compostos "activos" nos quais foram metabolizados) podem, também, ser descritos como "pró-fármacos" dos compostos activos.

Assim, os compostos da invenção são úteis porque apresentam actividade farmacológica e/ou são metabolizados no corpo após administração oral ou parentérica para formar compostos que apresentem actividade farmacológica. Os compostos da invenção são, por isso, indicados como produtos farmacêuticos.

De acordo com outro aspecto da invenção são, assim, proporcionados os compostos da invenção para utilização como produtos farmacêuticos.

Em particular, os compostos da invenção são inibidores potentes da trombina como tal e/ou (e. g., no caso dos pró-fármacos) são metabolizados após administração para formar inibidores potentes da trombina, por exemplo, como demonstrado nos testes descritos abaixo.

Por "pró-fármaco de um inibidor da trombina", são incluídos compostos que formam um inibidor da trombina numa quantidade experimentalmente detectável e dentro de um tempo pré-determinado (e. g., cerca de 1 hora), após administração oral ou parentérica

Deste modo, espera-se que os compostos da invenção sejam úteis em patologias onde é necessária a inibição da trombina.

Os compostos da invenção são, deste modo, indicados para o tratamento e/ou profilaxia da trombose e hipercoagulação no sangue e tecidos de animais incluindo o homem.

Sabe-se que a hipercoagulação pode conduzir a doenças tromboembolíticas. As patologias associadas com a hipercoagulação e doenças tromboembolíticas que podem ser mencionadas incluem, resistência à proteína C activada inerente ou adquirida, tais como a mutação do factor V (factor V Leiden) e deficiências inerentes ou adquiridas em antitrombina III, proteína C, proteína S ou cofactor II da heparina. Outras patologias conhecidas como estando associadas com a hipercoagulação e doença tromboembolítica, incluem anticorpos antifosfolípidos de circulação (Lupus anticoagulante), homocisteinemia, trombocitopenia induzida por heparina e defeitos na fibrinólise. Os compostos da invenção são, assim, indicados no tratamento profilático e/ou terapia destas patologias.

Os compostos da invenção são, também, indicados no tratamento de patologias onde existe um excesso indesejável de trombina, sem sinais de capacidade de hipercoagulação, por exemplo, em doenças neurodegenerativas, tal com doença de Alzheimer.

Os estados de doença particulares que podem ser mencionados, incluem o tratamento terapêutico e/ou profilático de trombose venosa e embolismo pulmonar, trombose arterial (e. g., em enfarte miocárdial, angina instável, apoplexia baseada em trombose e trombose arterial periférica) e embolismo sistémico normalmente da aurícula durante fibrilhação arterial ou do ventrículo esquerdo após enfarte miocárdial transmural.

Além disso, espera-se que os compostos da invenção tenham utilidade na profilaxia de reoclusão (*i. e.*, trombose) após trombólise, angioplastia transluminal percutânea (PTA) e operações de *bypass* coronário; a prevenção de retrombose após microcirurgia e cirurgia vascular no geral.

Outras indicações incluem o tratamento terapêutico e/ou profilático de coagulação intravascular disseminada provocada por bactéria, trauma múltiplo, intoxicação ou qualquer outro mecanismo; tratamento anticoagulante quando o sangue está em contacto com superfícies estranhas ao corpo, tais como enxertos vasculares, *stents* vasculares, catéteres vasculares, válvulas protéticas mecânicas e biológicas ou qualquer outro dispositivo médico; e tratamento anticoagulante quando o sangue está em contacto com dispositivos médicos no exterior do corpo, tal como durante uma cirurgia cardiovascular utilizando uma máquina coração-pulmão ou em hemodiálise.

Além dos seus efeitos no processo de coagulação, a trombina é conhecida como activadora de um grande número de células (tais como neutrófilos, fibroblastos, células endoteliais e células do músculo liso). Por isso, os compostos da invenção podem ser úteis para o tratamento terapêutico e/ou profilático do síndrome da insuficiência respiratória do adulto e idiopático, fibrose pulmonar após tratamento com radiação ou quimioterapia, choque séptico, septicemia, respostas inflamatórias, que incluem, mas não estão limitadas a, edema, aterosclerose aguda ou crónica, tal como doença arterial coronária, doença cerebral, doença arterial periférica, danos de reperfusão e restenose após angioplastia transluminal percutânea (PTA).

Os compostos da invenção que inibem a tripsina e/ou trombina podem, também, ser úteis no tratamento de pancreatite.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, é proporcionado um método de tratamento de uma patologia onde é necessária a inibição da trombina, cujo método compreende a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da invenção ou um seu sal farmacologicamente aceitável, a uma pessoa que sofre de, ou é susceptível a uma tal patologia.

Os compostos da invenção irão, normalmente, ser administrados oralmente, intravenosamente, subcutaneamente, bocalmente, rectalmente, dermicamente, nasalmente, traquealmente, bronquialmente, através de qualquer outra via parentérica ou via inalação, na forma de preparações farmacêuticas compreendendo o composto activo quer como uma base livre ou um sal de adição de ácido orgânico ou inorgânico não tóxico farmacologicamente aceitável, numa forma de dosagem farmacologicamente aceitável. Dependendo do distúrbio e do doente a ser tratado e da via de administração, as composições podem ser administradas em doses variadas.

Os compostos da invenção podem também ser combinados e/ou co-administrados com qualquer agente antitrombótico com um mecanismo diferente de acção, tais como os agentes antiplaquetários, ácido acetilsalicílico, ticlopidina, clopidogrel, inibidores da sintetase e/ou receptor do tromboxano, antagonistas do receptor do fibrinogénio, miméticos da prostaciclina e inibidores da fosfodiesterase e antagonistas do receptor de ADP (P₂T).

Os compostos da invenção podem, também, ser combinados e/ou co-administrados com trombolíticos, tais como activador do plasminogénio tecidual (natural, recombinante ou modificado), estreptocinase, urocinase, prourocinase, complexo activador da estreptocinase-plasminogénio anisoilado (APSAC), activadores do plasminogénio da glândula salivar animal, no tratamento de doenças trombóticas, em particular, enfarte miocardial.

De acordo com outro aspecto da invenção é, assim, proporcionada uma formulação farmacêutica incluindo um composto da invenção, em mistura com um adjuvante, diluente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

As doses diárias adequadas dos compostos da invenção no tratamento terapêutico de humanos são de cerca de 0,001-100 mg/kg de peso corporal em administração peroral e 0,001-50 mg/kg de peso corporal em administração parentérica

Os compostos da invenção apresentam a vantagem de serem, ou poderem ser metabolizados em compostos que podem ser mais eficazes, serem menos tóxicos, terem uma acção prolongada, terem um largo espectro de actividade, serem mais potentes, produzirem menos efeitos secundários, serem mais facilmente absorvidos que ou terem outras propriedades farmacológicas, físicas ou químicas em relação a compostos conhecidos na técnica antecedente.

Testes Biológicos

Teste A

Determinação do Tempo de Coagulação de Trombina (TT)

A solução de inibição (25 µL) foi incubada com o plasma (25 µL) durante três minutos. Foi depois adicionada trombina humana (T 6769; Sigma Chem. Co ou Hematologic Technologies) em solução tampão, pH 7,4 (25 µL, 4,0 NIH unidades/mL) e foi determinado o tempo de coagulação num dispositivo automático (KC 10; Amelung).

O tempo de coagulação da trombina (TT) é expresso em valores absolutos (segundos), bem como a taxa de TT sem inibidor (TT₀) em relação a TT com inibidor (TT₁). As últimas taxas (gama 1-0) foram representadas graficamente em função da concentração de inibidor (transformado em log) e ajustadas em curvas de dose-resposta sigmoidais, de acordo com a equação

$$Y = a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

onde: a = gama máxima, i. e., 1; s = declive da curva de dose-resposta; e IC₅₀ = a concentração de inibidor que duplica o tempo de coagulação. Os cálculos foram processados num PC, utilizando o programa de software GraFit Versão 3, equação definida igual a: Início em 0, final definido = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, Londres, RU).

Teste B

Determinação da Inibição da Trombina com um Ensaio Robótico Cromogénico

A potência do inibidor da trombina foi determinada através de um método de substrato cromogénico, num processador de microplaca robótico Plato 3300 (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Suíça), utilizando placas de microtitulação de metade do volume de 96 poços (Costar, Cambridge, MA, EUA; Cat N° 3690). As soluções stock da substância de teste em DMSO (72 µL), 0,1-1 mmol/L foram diluídas em série 1:3 (24 + 48 µL) com DMSO, para obter dez concentrações diferentes que foram analisadas como amostras no ensaio. Foram diluídos 2 µL da amostra de teste com 124 µL de tampão de ensaio, foram adicionados 12 µL de solução de substrato cromogénico (S-2366, Chromogenix, Mölndal, Suécia) em tampão de ensaio e, finalmente 12 µL de solução de α -trombina (α -trombina Humana, Sigma Chemical Co. ou Hematologic Technologies) em tampão de ensaio e as amostras misturadas. As concentrações finais do ensaio foram: substância de teste: 0,00068-13,3 µmol/L, S-2366 0,30 mmol/L, α -trombina 0,020 NIHU/mL. O incremento na absorvância linear durante 40 minutos de incubação a 37 °C foi utilizado para o cálculo da percentagem de inibição para as amostras de teste, quando comparado com os brancos sem inibidor. O valor de IC₅₀-robótico, correspondendo à concentração de inibidor que provoca 50% de inibição da actividade da trombina, foi calculado a partir de uma curva concentração log vs. % de inibição.

Teste C

Determinação da Constante de Inibição K_i para a Trombina Humana

As determinações de K_i foram efectuadas utilizando um método de substrato de cromogénico, efectuadas a 37 °C num analisador centrífugo Cobas Bio (Roche, Basel, Suíça). A actividade enzimática residual após incubação da α -trombina humana com várias concentrações dos compostos de teste foi determinada a três concentrações diferentes de substrato e foi determinada como a variação na absorvância óptica a 405 nm.

As soluções do composto de teste (100 μ L; normalmente em tampão ou solução salina contendo BSA 10 g/L) foram misturadas com 200 μ L de α -trombina humana (Sigma Chemical Co) em tampão de ensaio (0,05 mol/L Tris-HCl pH 7,4, força iónica 0,15 ajustada com NaCl) contendo BSA (10 g/L) e analisadas como amostras no Cobas Bio. Uma amostra de 60 μ L, em conjunto com 20 μ L de água foi adicionada a 320 μ L do substrato S-2238 (Chromogenix AB, Mölndal, Suécia) em tampão de ensaio e foi monitorizada a variação na absorvância ($\Delta A/\text{min}$). As concentrações finais de S-2238 foram de 16, 24 e 50 $\mu\text{mol/L}$ e de trombina 0,125 NIH U/mL.

A taxa da reacção em estado estacionário foi utilizada para construir gráficos de Dixon, i. e., diagramas de concentração de inibidor vs. $1/(\Delta A/\text{min})$. Para inibidores competitivos reversíveis, os pontos dos dados para as diferentes concentrações formam, tipicamente, linhas lineares que interceptam em $x = -K_i$.

Teste D

Determinação do Tempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT)

O APTT foi determinado em plasma citrado humano normal reunido com o reagente PTT Automated 5 produzido por Stago. Os inibidores foram adicionados ao plasma (10 µL de solução de inibidor para 90 µL de plasma) e incubados com reagente APTT durante 3 minutos, seguido pela adição de 100 µL de solução de cloreto de cálcio (0,025 M) e o APTT foi determinado pela utilização do analisador de coagulação KC10 (Amelung), de acordo com as instruções do fabricante do reagente.

O tempo de coagulação é expresso como valores absolutos (segundos) bem como a proporção de APTT sem inibidor (APTT₀) para APTT com inibidor (APTT). As últimas proporções (gama 1-0) foram representadas graficamente contra a concentração de inibidor (transformado em log) e ajustadas para curvas de dose-resposta sigmoidais de acordo com a equação

$$Y = a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

onde: a = gama máxima, i. e., 1; s = declive da curva dose-resposta; e IC₅₀ = a concentração do inibidor que duplica o tempo de coagulação. Os cálculos foram processados num PC, utilizando o programa do software GraFit Versão 3, equação definida igual a: Início em 0, final definido = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, Londres, RU)

O IC₅₀ de APTT é definido com a concentração de inibidor no plasma humano que duplica o Tempo de Tromboplastina Parcial Activada.

Teste E

Determinação do Tempo de Trombina ex vivo

A inibição da trombina após administração oral ou parentérica dos compostos de fórmula I, dissolvidos em etanol:Solutol™:água (5:5:90), foi examinada em ratos conscientes que, um ou dois dias antes da experiência foram equipados com um catéter para recolha de amostras de sangue da artéria carótida. No dia da experiência foram retiradas amostras de sangue, a tempos pré-determinados, após a administração do composto, em tubos de plásticos contendo 1 parte de solução de citrato de sódio (0,13 mol por L) e 9 partes de sangue. Os tubos foram centrifugados para obter plasma pobre em plaquetas. O plasma foi utilizado para determinação do tempo de trombina ou tempo de coagulação de ecarina (ECT), como descrito abaixo.

Foram diluídos 100 µL de plasma de rato citrado com 100 µL de uma solução salina a 0,9% e a coagulação de plasma foi iniciada pela adição de trombina humana (T 6769, Sigma Chem Co, USA ou Hematologic Technologies) em 100 µL de uma solução tampão pH 7,4 ou ecarina (Pentapharm). O tempo de coagulação foi determinado num dispositivo automático (KC 10, Amelung, Alemanha).

Quando foi administrado um composto “pró-fármaco” de fórmula I, foram estimadas as concentrações do inibidor de

trombina activo de fórmula I apropriadas (e. g., o composto amidina livre) no plasma de rato pela utilização de curvas padrão, relacionando o tempo de trombina ou tempo de coagulação de ecarina no plasma de rato citrado reunido, com concentrações conhecidas do inibidor de trombina "activo" correspondentes dissolvidas em solução salina.

Com base nas concentrações de plasma estimadas do inibidor de trombina activo (que assume que o prolongamento do tempo de trombina ou ECT é provocado pelo composto mencionado anteriormente) no rato, foi calculada a área sob a curva, após administração oral e/ou parentérica do composto pró-fármaco correspondente de fórmula I (AUCpd), utilizando a regra trapezoidal e extrapolação dos dados até ao infinito.

A biodisponibilidade do inibidor de trombina activo após administração oral ou parentérica do pró-fármaco foi calculada como abaixo:

$$[\text{AUCpd/dose}] / (\text{AUCactivo, parentérico/dose}) \times 100$$

onde AUCactivo, parentérico representa o AUC obtido após administração parentérica do inibidor de trombina activo correspondente a ratos conscientes, como descrito abaixo.

Teste F

Determinação do Tempo de Trombina em Urina ex vivo

A quantidade do inibidor de trombina "activo" que foi excretada na urina após administração oral ou parentérica dos

compostos “pró-fármacos” da invenção, dissolvidos em etanol:Solutol™:água (5:5:90), foi estimada por determinação do tempo de trombina na urina *ex vivo* (assumindo que o prolongamento do tempo de trombina foi provocado pelo composto mencionado anteriormente).

Os ratos conscientes foram colocados em gaiolas metabólicas, permitindo a recolha separada de urina e fezes, durante 24 horas após a administração oral dos compostos da invenção. Foi determinado o tempo de trombina na urina recolhida como descrito abaixo.

O plasma humano citrado normal reunido (100 µL) foi incubado com a urina de rato concentrada ou suas diluições em solução salina, durante um minuto. A coagulação do plasma foi depois iniciada pela administração de trombina humana (T 6769, Sigma Chem Company) em solução tampão (pH 7,4; 100 µL). O tempo de coagulação foi determinado num dispositivo automático (KC 10; Amelung).

As concentrações do inibidor de trombina activo na urina de rato foram estimadas pela utilização de curvas padrão relacionando o tempo de trombina no plasma humano citrado normal reunido com concentrações conhecidas do inibidor de trombina activo mencionado anteriormente, dissolvido em urina de rato concentrada (ou as suas diluições em solução salina). Ao multiplicar a produção total de urina de rato, durante o período de 24 horas, pela concentração média estimada do inibidor activo, mencionado anteriormente, na urina, pode ser calculada a quantidade do inibidor activo excretada na urina (QUANTIDADEpd).

A biodisponibilidade do inibidor de trombina activo após administração oral ou parentérica do pró-fármaco foi calculada como se segue:

$$\frac{[\text{QUANTIDADE}_{\text{pd/dose}}]}{[\text{QUANTIDADE}_{\text{activo, parentérica/dose}}]} \times 100$$

onde QUANTIDADE_{activo, parentérica} representa a quantidade excretada na urina após administração parentérica do inibidor de trombina activo correspondente, a ratos conscientes, como descrito acima.

Teste G

Activação Metabólica de Compostos Pró-fármacos *in vitro*

Os compostos pró-fármaco de fórmula I foram incubados a 37 °C com microssomas de fígado ou fracções de sobrenadante a 10000 g (referentes à velocidade da centrifuga) (*i. e.*, fracção s9) preparadas a partir de homogenato de fígado humano ou de rato ou. A concentração de proteína total nas incubações foi de 1 ou 3 mg/mL dissolvidas em tampão TRIS a 0,05 mol/L (pH 7,4) e com os cofactores NADH (2,5 mmol/L) e NADPH (0,8 mmol/L) presentes. O volume total do incubado foi de 1,2 mL. As concentrações de pró-fármaco iniciais foram de 5 ou 10 µmol/L. As amostras foram recolhidas do incubado a intervalos regulares mais de 60 minutos após o início das incubações.

As amostras (25 µL) do incubado foram misturadas com um volume igual de plasma humano ou de rato e uma quantidade apropriada de trombina e o tempo de coagulação (*i. e.*, tempo de trombina) foi determinado num coagulómetro (KC 10; Amelung). A

quantidade do inibidor de trombina "activo" formada foi estimada pela utilização de curvas padrão, relacionando o tempo de trombina em plasma humano ou de rato citrado reunido, com concentrações conhecidas do "inibidor de trombina activo" correspondente.

A quantidade do inibidor de trombina "activo" foi, alternativamente ou, em adição, ao método mencionado anteriormente, estimada pela utilização de LC-MS.

Exemplos

A invenção é ilustrada através dos seguintes exemplos. Os aminoácidos Pro e Aze são definidos como os isómeros *S*, se não for mencionado o contrário. Os exemplos foram obtidos como diastereoisómeros, se não for mencionado o contrário.

Exemplo 1

Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) Ph(3-N(Me)₂)-CHO

Uma mistura de Ph(3-N(Me)₂)-CH₂OH (1,9 g; 12,6 mmol) e MnO₂ (8,8 g; 100 mmol) em CH₂Cl₂ foi agitada à temperatura ambiente durante 2,5 dias. A mistura foi filtrada através de Celite® e o filtrado foi evaporado. O produto em bruto foi submetido a cromatografia flash em sílica gel, utilizando éter isopropílico:trimetilpentano (7:3) como eluente. Rendimento de 0,93 g (50%).

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 9,89 (s, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,17-7,25 (m, 2H), 7,05 (m, 1H), 2,98 (s, 6H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-N}(\text{Me})_2)\text{-}(R,S)\text{CH}(\text{OSiMe}_3)\text{CN}$

Foi adicionado TMS-CN (0,75 mL; 6,0 mmol), gota a gota, a uma mistura de $\text{Ph}(3\text{-N}(\text{Me})_2)\text{-CHO}$ (0,9 g; 6,0 mmol; do passo (i) acima) e Et_3N (0,08 mL; 6,0 mmol) em CH_2Cl_2 (15 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 24 horas. Foi adicionado Et_3N adicional (0,08 mL; 6,1 mmol) e TMS-CN (0,75 mL; 6,0 mmol) e a agitação foi continuada durante mais 24 horas. A mistura reaccional foi evaporada proporcionando 1,35 g (90%) do composto do subtítulo.

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 7,27 (t, 1H), 6,78-6,84 (m, 2H), 6,74 (dd, 1H), 5,47 (s, 1H), 3,00 (s, 6H).

(iii) $\text{Ph}(3\text{-N}(\text{Me})_2)\text{-}(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{-C}(\text{O})\text{OH}$

Uma mistura de $\text{Ph}(3\text{-N}(\text{Me})_2)\text{-}(R,S)\text{CH}(\text{OSiMe}_3)\text{CN}$ (1,35 g; 5,43 mmol; do passo (ii) acima) e HCl (20 mL; conc.), foi agitada a temperatura ambiente durante 10 minutos e, depois, entre 90 °C e 100 °C (num banho de óleo) durante 3 horas. A mistura reaccional foi evaporada e foi adicionada H_2O . A camada aquosa acídica foi lavada com Et_2O e colocada numa resina de permuta catiónica (IR-120, 10-15 g; o permutador catiónico foi pré-preparado por suspensão em NaOH (2 M)) e, depois a massa espessa foi vertida numa coluna. O permutador catiónico foi subsequentemente lavado com HCl (2 M; 2 x 50 mL), H_2O (2 x 50 mL) e, depois, com H_2O até o pH ficar neutro e o produto foi eluído

com NH₄OH/aq (1 M). A camada aquosa resultante foi evaporada e liofilizada, proporcionando 0,78 g (74%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M-1) 194 m/z

RMN de ¹H (500 MHz; CD₃OD): δ 7,15 (t, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,84 (d, 1H), 6,69 (dd, 1H), 4,85 (s, 1H), 2,92 (s, 6H).

(iv) Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)OH x HCl

Os enantiómeros de Ph(3-N(Me)₂)-(R,S)CH(OH)-C(O)OH (passo (iii) acima) foram separados por HPLC preparativa utilizando Chiralcel™ OD com uma fase estacionária e *n*-heptano:2-propanol:ácido fórmico (80:20:1) como fase móvel. O enantiómero que eluiu em último foi evaporado e liofilizado, depois, de novo dissolvido em água e foram adicionados 3 eq. de HCl 1 M. A solução foi liofilizada para proporcionar o sal de cloridrato que proporcionou um $[\alpha]_D^{20}$ de -63,7° (c=1,0, MeOH). O excesso enantiomérico foi de 97% como determinado por HPLC quiral analítico.

(v) Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Foi adicionado DIPEA (1,03 mL; 6,15 mmol) a 0 °C a uma mistura de Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)OH x HCl (0,36 g; 1,54 mmol; o produto separado/isolado do passo (iv) acima), Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,743 g; 1,69 mmol; ver pedido de patente internacional WO 97/02284) e TBTU (0,543 g; 1,69 mmol) em DMF (10 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente

durante 4 dias, vertida em H₂O (400 mL) e o pH foi ajustado para 10 por adição de NaHCO₃/aq. A camada aquosa foi extraída com EtOAc e, depois, a camada orgânica foi lavada com NaHCO₃/aq, H₂O e NaCl/aq, seca (Na₂SO₄) e evaporada. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash em sílica gel utilizando CH₂Cl₂:MeOH (95:5) como eluente. O produto foi, depois, purificado por HPLC preparativa proporcionando 203 mg (24%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M+1) 544; (M-1) 542 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,20 (t, 1H), 7,75 (d, 2H), 7,43 (d, 2H), 7,18-7,38 (m, 6H), 6,61-6,72 (m, 3H), 5,20 (s, 2H), 4,88 (s, 1H), 4,84 (dd, 1H), 4,36-4,52 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 2,93 (s, 6H), 2,54 (m, 1H), 2,30 (m, 1H).

(vi) Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Uma mistura de Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (112 mg; 0,206 mmol; do passo (v) acima), HOAc (0,41 mL) e Pd/C a 10% em EtOH (7 mL) foi hidrogenada à pressão atmosférica e temperatura ambiente durante 3 horas. A mistura reaccional foi filtrada através de Celite® e o filtrado foi evaporado e liofilizado (x 2), proporcionando 90 mg (93%) de cristais brancos.

LC-MS: (M+1) 410; (M-1) 408 m/z

RMN de ¹H (500 MHz; CD₃OD): δ 7,74 (d, 2H), 7,54 (d, 2H), 7,21 (t, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,73-6,77 (m, 2H), 5,11 (s, 1H),

4,77 (dd, 1H), 4,52 (dd, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,92 (m, 1H), 2,92 (s, 6H), 2,46 (m, 1H), 2,27 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz; CDCl_3): (carbonos de carbonilo e/ou amidina) δ 173,3, 171,9, 167,0.

Exemplo 2

Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-CO-Aze-Pab(OMe)

(i) 4-(Amino, metoxiiminometil)benzilazida

Uma mistura de cloridrato de *O*-metil-hidroxilamina (10,5 g; 125 mmol), trietilamina (56 mL) e metanol (200 mL) foi adicionada a cloridrato de 4-etilimidatobenzilazida (22,5 g; 110 mmol; preparada de acordo com o método descrito no documento WO 94/29336) em éter dietílico. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 3 a 4 dias. A maior parte do metanol foi removida *in vacuo* e substituída com acetato de etilo. A camada orgânica foi lavada com H_2O , HOAc/aq (1,5%; pH 4), NaHCO_3 /aq e seca (Na_2SO_4). A solução resultante foi diluída com acetato de etilo para 500 mL e foram concentrados 25 mL da solução diluída para estimar o rendimento. O rendimento total foi cerca de 20 g.

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,66 (d, 2H), 7,36 (d, 2H), 4,37 (s, 2H), 3,83 (s, 3H).

(ii) H-Pab(OMe)

Foi adicionado óxio de platina (200 mg) a uma solução de 4-(amino, metoxiiminometil)benzilazida (10 g; 0,049 mol; do passo (i) acima) em 200 mL de etanol. A mistura foi hidrogenada à pressão atmosférica durante 8 horas, filtrada através de Celite™ e concentrada. O produto em bruto foi utilizado directamente no passo seguinte.

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,60 (d, 2H), 7,37 (d, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,80 (s, 2H).

(iii) Boc-Aze-Pab(OMe)

Foi adicionado DIPEA (17,5 mL; 105 mmol) a uma solução gelada de Boc-Aze-OH (9,7 g; 48 mmol; ver pedido de patente internacional WO 97/02284) e H-Pab(OMe) (9,4 g; 52 mmol; do passo (ii) acima) e TBTU (18,5 g; 58 mmol) em DMF (100 mL) e a mistura foi agitada de um dia para o outro à t.a. A mistura resultante foi vertida em água (50 mL), o pH foi ajustado para cerca de 9 e a mistura foi extraída três vezes com EtOAc. A camada orgânica combinada foi lavada com NaHCO_3 (aq.), água e solução salina saturada, seca (Na_2SO_4) e concentrada. O produto em bruto foi purificado por cromatografia flash (gel de Si; EtOAc). O rendimento foi de 11,9 g (69%).

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 7,60 (d, 2H); 7,31 (d, 2H); 4,78 (b, 2H); 4,69 (t, 1H); 4,50 (b, 2H); 3,92 (s+m, 4H); 3,79 (m, 1H); 2,46 (b, 2H); 2,04 (s, 3H).

(iv) Aze-Pab(OMe) x 2HCl

Uma solução de Boc-Aze-Pab(OMe) (9,4 g; 26 mmol; do passo (iii) acima) em EtOAc (250 mL) foi saturada com HCl (g). Foi adicionado EtOH (abs.; 125 mL) à emulsão resultante e a mistura foi sonicada durante 10 minutos. Foi adicionado EtOAc até a solução se tornar túrbida, daqui para a frente o produto do título cristalizou rapidamente. Rendimento de 6,7 g (77%).

LC-MS: (M+1) 263 (m/z)

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,74 (d, 2H); 7,58 (d, 2H); 5,13 (t, 1H); 4,57 (m, 2H); 4,15 (m, 2H); 3,97 (s+m, 4H); 2,87 (m, 1H); 2,57 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (75 MHz; CDCl_3): (carbonos de carbonilo e/ou amidina) δ 168,9; 168,8; 161,9.

(v) Ph(3-N(Me)₂)-(R) ou -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab(OMe)

Uma mistura de Ph(3-N(Me)₂)-(R)- ou -(S)CH(OH)-C(O)OH x HCl (118 mg; 0,51 mmol; ver Exemplo 1 (iv) acima) e HATU (214 mg; 0,56 mmol) em DMF (3 mL), foi agitada a 0 °C durante 1,5 horas. O H-Aze-Pab(OMe) x 2 HCl (189 mg, 0,56 mmol; do passo (iv) acima), 2,4,6-trimetilpiridina (0,3 mL, 2,25 mmol) e DMF (3 mL) foram misturados separadamente antes de serem adicionados, gota a gota, à primeira mistura a 0 °C. A mistura reaccional foi agitada a 0 °C durante 3 horas, colocada no frigorífico durante 3 dias e evaporada. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa para proporcionar 140 mg (62%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 440; (M-1) 438 m/z

RMN de ^1H (500 MHz; CD_3OD): δ 8,60 (t, 1H), 7,61 (d, 2H), 7,37 (d, 2H), 7,22 (t, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,77 (d, 2H), 5,08 (s, 1H), 4,75 (dd, 1H), 4,46 (dd, 2H), 4,26 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,94 (s, 6H), 2,44 (m, 1H), 2,26 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz; CD_3OD): (carbonos de carbonilo e/ou de amidina) δ 173,3, 171,8, 154,9.

Exemplo 3

Ph(3-SMe)-(R)- ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OTMS)CN

A uma solução de Ph(3-SMe)-CHO (19,8 g, 130 mmol) e ZnI_2 (2,1 g, 6,50 mmol) em CH_2Cl_2 (450 mL) a 0 °C sob azoto, foi adicionado, gota a gota, cianeto de trimetilsililo (14,2 g, 143 mmol). Após agitação de um dia para o outro a 25 °C, a mistura laranja foi arrefecida rapidamente com H_2O (450 mL). A camada orgânica foi separada e lavada com solução salina saturada (300 mL), seca (Na_2SO_4), filtrada e concentrada *in vácuo*, para proporcionar 32,0 g (98% em bruto) do composto do subtítulo como um óleo laranja que foi utilizado sem purificação.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,20-7,41 (m, 4H), 5,50 (s, 1H), 2,51 (s, 3H), 0,23 (s, 9H).

(ii) Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Uma solução de Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OTMS)CN (32,0 g, 130 mmol; ver passo (i) acima) em HCl concentrado (250 mL), foi submetida a refluxo durante 2,5 h. A mistura foi tornada básica com NaOH 6 N (450 mL) e lavada com Et₂O (3 x 300 mL) para remover as impurezas orgânicas. A camada aquosa foi acidificada com HCl 6 N (150 mL) e extraída com EtOAc (4 x 500 mL). Os extracto combinados foram secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo*, para proporcionar 22,6 g (rendimento em bruto de 90%) do composto do subtítulo, como um óleo laranja que cristalizou num sólido amarelo escuro em repouso.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,20–7,40 (m, 4H), 5,12 (s, 1H), 2,50 (s, 3H).

(iii) Ph(3-SMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-SMe)-(S) ou -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (2,0 g, 10,1 mmol; ver passo (ii) acima), Lipase PS Amano (1,0 g), acetato de vinilo (5,0 mL) e MTBE (5,0 mL) foi aquecida a 45 °C durante 24 h. A reacção foi filtrada e o bolo do filtro lavado com EtOAc (100 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com uma mistura de CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (6:3:1), para proporcionar 630 mg, (32%) do composto do subtítulo (a) como um óleo amarelo e 850 mg (35%) do composto do subtítulo (b) como um sólido castanho claro.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,38 (s, 1H), 7,10-7,25 (m, 3H), 5,08 (s, 1H), 2,40 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 178,4, 142,6, 140,2, 130,0, 127,3, 126,4, 125,2, 75,5, 15,8.

Análise por HPLC: 98,9%, 96,0% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -119,8^\circ$ (c = 1,0, MeOH)

CI-MS: (M+1) 199 m/z

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,62 (s, 1H), 7,32-7,44 (m, 3H), 5,82 (s, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,30 (s, 3H).

(iv) Boc-Aze-Pab x HCOOH

Foi adicionado formato de amónio (3,0 g; 50 mmol) e Pd/C (5%; 1,0 g) a uma solução de Boc-Aze-Pab(Z) (4,7 g; 10 mmol; ver pedido de patente internacional WO 94/29336) em 50 mL de MeOH. Foi adicionado ácido fórmico (1,0 g; 22 mmol) e a mistura foi agitada durante 30 minutos. A mistura reaccional foi filtrada através de Hyflo e a solução foi concentrada. O produto em bruto foi suspenso em CH_2Cl_2 (50 mL), filtrado e lavado com mais CH_2Cl_2 .

O material sólido foi seco e utilizado no passo seguinte sem purificação posterior.

(v) Boc-Aze-Pab(Teoc)

Foi adicionado carbonato de Teoc-*p*-nitrofenilo (3,5 g; 12,3 mmol) a uma solução de Boc-Aze-Pab x HCOOH (3,7 g; 10 mmol; ver passo (iv) acima) em THF (100 mL), subsequentemente, foi adicionada uma solução de K₂CO₃ (1,8 g; 13 mmol) em água (20 mL) durante 2 minutos. A solução resultante foi agitada durante 3 dias, concentrada e a restante foi removida em EtOAc (150 mL) e NaOH (aq.; 0,5 M; 50 mL). A camada orgânica foi lavada com solução salina saturada (2 x 50 mL), seca (Na₂SO₄) e concentrada. O produto em bruto foi purificado utilizando cromatografia flash (gel de Si; cloreto de metileno:acetona; 4:1). Rendimento de 4,6 g (96%).

RMN de ¹H (500 MHz; CDCl₃): δ 7,86 (d, 2H), 7,39 (d, 2H), 4,72 (bt, 1H), 4,7-4,5 (br, 2H), 3,93 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 2,48 (br, 2H), 1,43 (s, 9H), 0,09 (s, 9H).

(vi) H-Aze-Pab(Teoc) x HCl

Uma solução de Boc-Aze-Pab(Teoc) (4,6 g; 9,6 mmol; ver passo (v) acima) em cloreto de metileno (150 mL), foi saturada com HCl seco. A solução foi mantida à t.a. num frasco fechado durante 10 minutos, e, subsequentemente, foi concentrada. Rendimento de 4,2 g (97%).

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,80 (d, 2H), 7,60 (d, 2H), 5,10 (m, 1H), 4,60 (bs, 2H), 4,15 (m, 1H), 3,97 (q, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,57 (m, 1H), 0,11 (s, 9H).

(vii) Ph(3-SMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Uma mistura de Ph(3-SMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (300 mg, 1,51 mmol; ver passo (iii) (a) acima), H-Aze-Pab (Teoc) (627 mg, 1,66 mmol; ver passo (vi) acima), TBTU (632 mg, 1,66 mmol) e DIPEA (391 mg, 3,03 mmol) em DMF (8,0 mL), foi agitada a 0 °C e, depois, a 25 °C de um dia para o outro. A reacção foi arrefecida rapidamente com H_2O (50 mL) e extraída com EtOAc (3 x 50 mL). Os extractos combinados foram secos (Na_2SO_4), filtrados e concentrados *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CH_2Cl_2 :MeOH (9:1), para proporcionar 150 mg (18%) do composto do subtítulo como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,74-7,86 (m, 2H), 7,10-7,45 (m, 6H), 5,10-5,15 (m, 2H), 4,70-4,81 (m, 1H), 3,90-4,44 (m, 6H), 2,50 (s, 3H), 2,10-2,32 (m, 2H), 1,02-1,18 (m, 2H), 0,10 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 557 m/z

(viii) Ph(3-SMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Uma mistura de Ph(3-SMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (80 mg, 0,19 mmol; ver passo (vii) acima) e TFA (2,0 mL) em CH_2Cl_2 (2 mL) foi agitada a 0 °C durante 3 horas. A solução foi concentrada *in vacuo* e o resíduo foi dissolvido em

água e liofilizado para proporcionar 90 mg (87%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 413; (M-1) 411 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD ; mistura de rotâmetros): δ 7,74 (m, 2H), 7,52 (m, 2H), 7,38-7,13 (m, 4H), 5,2-5,0 (m, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,62-3,94 (m, 4H), 2,68, 2,49 (2m, 1H), 2,28, 2,14 (2m, 1H), 2,45 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz): δ 185,0, 172,8, 171,8, 167,0.

Exemplo 4

Ph(3-SO₂Me)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-SO₂Me)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de Ph(3-SMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (890 mg, 4,49 mmol; ver Exemplo 3 (iii) (a) acima) e Oxone® (8,3 g, 13,5 mmol) em MeOH (40 mL) e H₂O (25 mL), foi agitada a 0 °C e, depois, a 25 °C de um dia para o outro. Os sólidos foram filtrados e lavados com EtOAc (200 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo*, diluído com H₂O (50 mL) e, depois, extraído com EtOAc (4 x 60 mL). Os extractos orgânicos combinados foram secos (Na₂SO₄), filtrados e, depois, concentrados *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (6:3:1), para proporcionar 150 mg (15%) do composto do subtítulo como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 8,10 (s, 1H), 7,80-7,88 (m, 2H), 7,55 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,02 (s, 1H), 3,10 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 178,4, 145,6, 142,2, 133,2, 130,3, 127,4, 126,2, 75,5, 42,4.

Análise por HPLC: 94,8%, > 99% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -86,2^\circ$ ($c = 1,0$, MeOH)

API-MS: (M-1) 229 m/z

(ii) Ph(3-SO₂Me)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Uma mistura de Ph(3-SO₂Me)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (400 mg, 1,74 mmol; ver passo (i) acima), H-Aze-Pab (Teoc) (720 mg, 1,91 mmol; ver Exemplo 3 (vi) acima), PyBOP (995 mg, 1,91 mmol) e 2,4,6-colidina (463 mg, 3,83 mmol) em DMF (10 mL), foi agitada a 0 °C e, depois, a 25 °C de um dia para o outro. A mistura foi arrefecida rapidamente com H₂O (50 mL) e extraída com EtOAc (3 x 50 mL). Os extractos combinados foram secos (Na_2SO_4), filtrados e depois concentrados *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CHCl_3 :MeOH (15:1), para proporcionar 570 mg (57%) do composto subtítulo como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,58-8,10 (m, 6H), 7,40-7,50 (m, 2H), 5,32 (s, 1H), 5,25 (s, 1H), 4,70-4,81 (m, 1H), 3,97-4,54 (m, 6H), 3,20 (s, 3H), 2,10-2,82 (m, 2H), 1,02-1,18 (m, 2H), 0,10 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 589 m/z

(iii) Ph(3-SO₂Me)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

A uma solução fria de Ph(3-SO₂Me)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (65 mg, 0,11 mmol; ver passo (ii) acima) em cloreto de metileno (0,5 mL), foi adicionada TFA (3 mL) e a solução foi agitada durante 100 min. A solução resultante foi concentrada, foi adicionada água e a solução aquosa foi liofilizada, proporcionando 60 mg (96%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 445; (M-1) 443 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 8,10-7,45 (m, 8H), 5,34, 5,25 (2m, 1H), 4,81 (m, 1H), 4,62-3,93 (m, 4H), 3,10 (s, 3H), 2,70, 2,54 (m, 1H), 2,28, 2,17 (m, 1H).

RMN de ¹³C (carbonos de carbonilo e/ou amidinas; 100 MHz): δ 172,2, 171,7, 167,0, 161,0.

Exemplo 5

Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

A uma solução de 3-cloro-5-nitrobenzaldeído (24,1 g, 0,13 mol) em CH₂Cl₂ (1,0 L), foi adicionado ZnI₂ (2,1 g, 6,5 mmol). A suspensão resultante foi arrefecida a 0 °C e foi

adicionado cianeto de trimetilsililo (13,9 g, 0,14 mol) durante 5 min. A solução foi agitada a 0 °C durante 3 h, aquecida a 25 °C e agitada durante 18 h. A reação foi diluída com H₂O e os orgânicos foram separados, secos (Na₂SO₄), filtrados e, depois, concentrados *in vacuo* para proporcionar 36,8 g (99%) do composto do subtítulo como um óleo.

RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,21–8,29 (m, 2H), 7,83 (s, 1H), 5,59 (s, 1H), 0,36 (s, 9H).

(ii) Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Uma solução de Ph(3-Cl, 5-NO₂)(R,S)CH(OTMS)CN (59,0 g, 0,209 mol; ver passo (i) acima) em HCl concentrado (600 mL), foi aquecida até refluxo durante 3 h. A solução foi arrefecida e concentrada *in vacuo* para 500 mL. A solução acídica foi extraída com Et₂O (4 x), os orgânicos foram lavados com solução salina saturada (2 x), secos (Na₂SO₄), filtrados e, depois, concentrados *in vacuo* para proporcionar 48,4 g (93%) do composto do subtítulo como um sólido que foi utilizado sem purificação posterior.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,33 (m, 1H), 8,23 (m, 1H), 7,94 (m, 1H), 5,34 (s, 1H).

(iii) Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(S) ou -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (17,1 g, 73,84 mmol; ver passo (ii) acima) e Lipase PS Amano (8,5 g) em acetato de vinilo (300 mL) e MTBE (300 mL), foi agitada a 55 °C

durante 24 h. A reacção foi filtrada através de Celite® e o bolo do filtro lavado com Et₂O. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e, depois, submetido a cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:CH₃CN:TFA (180:20:1), para proporcionar 7,1 g (42%) do composto do subtítulo (a) como um sólido e 10,7 g (52%) do composto do subtítulo (b) como um sólido.

For composto do subtítulo(a):

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,33 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 5,34 (s, 1H).

RMN de ¹³C (75 MHz; CD₃OD): d 174,6, 150,2, 145,2, 136,3, 133,8, 124,1, 121,1, 72,7.

API-MS: (M-1) 230 m/z

[α]_D²⁵ = -101,2° (c = 10, MeOH)

Análise por HPLC: 99,6%, 99% ee

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,32 (m, 1H), 8,28 (m, 1H), 7,96 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 2,21 (s, 3H).

(iv) Ph(3-Cl, 5-NH₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (3,9 g, 16,8 mmol; ver passo (iii) (a) acima) e óxido de platina (IV) (0,4 g) em EtOH (200 mL) a 40 °C, foi agitada sob uma

atmosfera de hidrogénio durante 4 h. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite® e o bolo do filtro lavado com EtOH. O filtrado foi concentrado *in vacuo* para proporcionar 3,5 g (cerca de 100%) do composto do subtítulo como uma espuma quebrável que foi utilizada sem purificação posterior.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 6,77 (m, 1H), 6,71 (m, 1H), 6,57 (m, 1H), 4,78 (s, 1H).

(v) Ph(3-Cl, 5-NHMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Método A:

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NH₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (3,5 g, 16,8 mmol; ver passo (iv) acima) e formaldeído (1,8 mL de 37% em peso em H₂O, 23,9 mmol) em EtOH (400 mL), foi agitada a 25 °C durante 18 h. A solução foi concentrada *in vacuo* para proporcionar uma espuma quebrável que foi combinada com óxido de platina (IV) (0,35 g) em EtOH (400 mL) e agitada sob atmosfera de hidrogénio durante 48 h. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite® e o bolo do filtro lavado com EtOH. Os orgânicos foram concentrados *in vacuo* e submetidos a cromatografia flash em sílica gel, eluída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_3$ (aq., sat.) (14:5:1), para proporcionar 1,0 g (28%) do sal de amónio do composto do subtítulo como uma espuma quebrável. O composto do subtítulo foi obtido por limpeza do sal de amónio correspondente através de uma almofada de Amberlite® CG-50 com $\text{CH}_3\text{CN}:\text{MeOH}$ (3:1).

Método B:

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NH₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (8,67 g, 43,0 mmol; ver passo (iv) acima) e iodeto de metilo (6,10 g, 43,0 mmol) em CH₃CN (500 mL) e MeOH (100 mL) foi aquecida a 50 °C durante 24 h.

A solução foi concentrada *in vacuo* e submetida a cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (14:5:1), para proporcionar 2,9 g (31%) do sal de amônio do composto do subtítulo, como um sólido. O composto do subtítulo foi obtido por limpeza do sal de amônio correspondente através de uma almofada de Amberlite® CG-50 com CH₃CN:MeOH (3:1).

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 6,68 (m, 1H), 6,61 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 2,75 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 176,8, 153,4, 144,1, 136,7, 116,3, 113,2, 111,0, 74,7, 31,3.

API-MS: (M+1) 216 m/z

Análise por HPLC: 97,2%, 97,9% ee

$[\alpha]_D^{25} = -81,6^\circ$ (c = 1,0, MeOH)

(vi) Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Uma solução de Ph(3-Cl, 5-NHMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (1,0 g, 4,64 mmol; ver passo (v) acima) em MeOH (100 mL), foi tratado com quatro porções de anidrido acético (40,47 g,

4,64 mmol em cada porção) durante um período de 72 h. A solução foi basificada com NaOH 2 N, agitada durante 3 h, neutralizada com HCl 2 N e, depois, concentrada *in vacuo*. A cromatografia flash (2 x) em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (6:3:1), proporcionou 0,83 g (69%) do sal de amónio do composto do subtítulo como uma espuma quebrável. O composto do subtítulo foi obtido por limpeza do sal de amónio correspondente através de uma almofada de Amberlite® CG-50 com CH₃CN:MeOH (3:1).

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,54 (s, 1H), 7,35 (s, 2H), 5,19 (s, 1H), 3,26 (s, 3H), 1,88 (s, 3H).

RMN de ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 175,3, 172,8, 146,8, 145,2, 136,2, 128,0, 127,5, 125,4, 73,2, 37,6, 22,5.

API-MS: (M+1) 258 m/z

Análise por HPLC: 98,5%, 97,4% ee

[α]_D²⁵ = -97,5° (c = 1,0, MeOH)

(vii) Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (0,34 g, 1,32 mmol; ver passo (vi) acima) e H-Aze-Pab(Teoc) (0,52 g, 1,39 mmol; ver Exemplo 3 (vi) acima) em DMF (15 mL) a 0 °C, foi adicionada colidina (0,35 g, 2,90 mmol) e PyBOP (0,75 g, 1,45 mmol). A solução foi agitada a 0 °C durante 2 h, aquecida a 25 °C e agitada durante 2 h, depois, concentrada *in vacuo*. A cromatografia flash (2 x) em sílica gel, eluída com

CHCl₃:EtOH (95:5), proporcionou 0,36 g (44%) do composto do subtítulo como uma espuma quebrável.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD; mistura de rotâmeros): δ 7,78 (d, 2H, J = 9 Hz), 7,25-7,55 (m, 5H), 5,25 e 4,78 (2m, 1H), 5,22 e 5,15 (2s, 1H), 3,93-4,56 (m, 6H), 3,23 (s, 3H), 2,12-2,78 (m, 2H), 1,87 (s, 3H), 1,04-1,11 (m, 1H), 0,06 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 616 m/z

(viii) Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x
TFA

Uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (73 mg, 0,12 mmol; ver passo (vii) acima) em TFA (5,0 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 80 min, tempo após o qual a solução resultante foi evaporada até à secura. O sólido restante foi dissolvido em água e a solução foi liofilizada, proporcionando 70 mg (98%) do composto do título como uma espuma.

LC-MS: (M+1) 472 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; D₂O): d 7,74 (dd, 2H), 7,55-7,10 (m, 5H), 5,36, 5,20 (2s, 1H), 5,23, 4,88 (2m, 1H), 4,60-4,05 (m, 4H), 3,38, 3,20 (2s, 3H), 2,80, 2,60 (2m, 1H), 2,38-2,20 (m, 1,5H), 1,87 (2,5H).

RMN de ¹³C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 173,9, 173,3, 172,6, 166,5, 163,3.

Exemplo 6

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2 TFA

(i) Álcool 3-cloro-5-*N,N*-dimetilaminobenzílico

A uma solução de álcool 3-cloro-5-nitrobenzílico (12,5 g, 66,6 mmol) em EtOH (750 mL), foi adicionado óxido de platina (IV) (1,25 g). A suspensão resultante foi purgada com hidrogénio durante 3 h. Foi adicionada uma solução de formaldeído (97 mL de 37% em peso em H₂O, 1,3 mol) e a mistura foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio durante 18 h. A solução foi filtrada através de uma almofada de Celite® e concentrada *in vacuo* para proporcionar o produto em bruto. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com Hex:EtOAc (7:3), proporcionou 8,2 g (66%) do composto do subtítulo como um óleo.

RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 6,67 (s, 1H); 6,55-6,63 (m, 2H), 4,58 (d, 2H, *J* = 7 Hz), 2,96 (s, 6H), 1,74 (t, 1H, *J* = 7 Hz).

CI-MS: (M+1) 185 m/z

(ii) 3-Cloro-5-*N,N*-dimetilaminobenzaldeído

A uma solução de DMSO (7,58 g, 97,0 mmol) em CH₂Cl₂ (100 mL) a -78 °C, foi adicionado cloreto de oxalilo (6,16 g, 48,5 mmol) durante um período de 10 min. Após mais 15 min a -78 °C, foi adicionada uma solução de álcool 3-cloro-5-*N,N*-dimetilaminobenzílico (8,18 g, 44,1 mmol; ver passo (i) acima) em CH₂Cl₂ (100 mL) durante um período de 15 min. A solução

resultante foi agitada a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h antes da adição de DIPEA (28,5 g, 220,5 mmol). A solução foi aquecida a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e agitada durante 18 h, antes de ser concentrada *in vacuo* para proporcionar o produto em bruto. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com Hex:EtOAc (5:1), proporcionou 7,50 g (93%) do composto do subtítulo como um sólido amarelo.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 9,88 (s, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,05 (m, 1H), 6,87 (m, 1H), 3,04 (s, 6H).

(iii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

A uma solução de 3-cloro-5-*N,N*-dimetilaminobenzaldeído (7,5 g, 40,8 mmol; ver passo (ii) acima) em CH_2Cl_2 (300 mL), foi adicionado ZnI_2 (0,65 g, 2,04 mmol). A suspensão resultante foi arrefecida a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e foi adicionado cianeto de trimetilsililo (4,5 g, 44,9 mmol) durante 5 min. A solução foi agitada a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h antes de ser aquecida a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e agitada durante 2 h. A mistura resultante foi diluída com H_2O e os orgânicos foram separados, secos (Na_2SO_4), filtrados e depois concentrados *in vacuo* para proporcionar 11,7 g (100%) do composto do subtítulo como um óleo.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,75 (m, 1H), 6,60-6,68 (m, 2H), 5,39 (s, 1H), 2,97 (s, 6H), 0,28 (s, 9H).

(iv) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

O Ph (3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OTMS)CN (11,7 g, 41,4 mmol; ver passo (iii) acima) foi dissolvido em HCl concentrado (300 mL) e aquecido até refluxo durante 1,5 h. A solução foi arrefecida e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em H₂O, neutralizado com NaHCO₃ e concentrado *in vacuo*. A mistura dos orgânicos e sais foram transformados em massa espessa em MeOH, filtrados e depois concentrados para proporcionar o produto em bruto. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₄OH conc. (aq) (6:3:1), proporcionou 9,0 g (95%) do sal de amônio do composto do subtítulo como um sólido.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 6,77-6,82 (m, 2H), 6,58 (m, 1H), 4,80 (s, 1H), 2,94 (s, 6H).

(v) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(S) ou -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (1,0 g; ver passo (iv) acima) e Lipase PS Amano (0,5 g) em acetato de vinilo (10 mL) e MTBE (10 mL), foi agitada a 45 °C durante 48 h. A reação foi filtrada através de Celite® e o bolo do filtro lavado com MeOH. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (6:3:1), para proporcionar 0,40 g (40%) do composto do subtítulo (a) como uma espuma quebrável e 0,45 g (38%) do composto do subtítulo (b) como uma espuma quebrável. O composto do subtítulo (a) poderá ser posteriormente purificado por cristalização a partir de CH₂Cl₂ e MeOH.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 6,81 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 6,57 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 2,87 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 180,0, 152,9, 144,8, 135,6, 116,1, 112,2, 110,9, 76,9, 40,5.

API-MS: (M+1) 230 m/z

Análise por HPLC: 98,5%, 97,9% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -73,5^\circ$ (c = 0,5, DMSO)

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 6,77-6,83 (m, 2H), 6,64 (m, 1H), 5,67 (s, 1H), 2,94 (s, 6H), 2,14 (s, 3H).

(vi) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (0,11 g, 0,48 mmol; ver passo (v) (a) acima) e H-Aze-Pab(Teoc) (0,20 g, 0,53 mmol, ver Exemplo 3 (vi)) em DMF (15 mL) a 0 °C, foi adicionado DIPEA (0,12 g, 0,96 mmol) e TBTU (0,17 g, 0,53 mmol). A solução foi agitada a 0 °C durante 2 h, aquecida a 25 °C e agitada durante 18 h, depois, concentrada *in vacuo*. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com um gradiente de CH_2Cl_2 :MeOH (de 100:0 para 95:5), proporcionou 0,25 g do composto do subtítulo que foi submetido a uma segunda cromatografia flash

em sílica gel, eluída com EtOAc:MeOH (30:1), para proporcionar 0,22 g (78%) do composto do subtítulo, como uma espuma quebrável.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD , mistura de rotâmeros): δ 7,78 (d, 2H, $J = 9$ Hz), 7,42 (d, 2H, $J = 9$ Hz), 6,62-6,75 (m, 3H), 5,14 e 4,78 (2m, 1H), 5,07 (m, 1H), 4,15-4,57 (m, 4H), 3,94-4,12 (m, 2H), 2,96 (s, 6H), 2,05-2,75 (m, 2H), 1,04-1,13 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 588 m/z

(vii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2TFA

A uma solução gelada de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (84 mg, 0,14 mmol; ver passo (vi) acima), foi adicionada TFA (4 mL) e a solução resultante foi agitada a 0 °C durante 2 h. A solução foi concentrada para proporcionar um resíduo que foi dissolvido em água e, depois, liofilizado. Isto proporcionou 78 mg (81%) do composto do título como um pó branco.

LC-MS: (M-1) 442 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD ; mistura de rotâmeros): δ 7,78-7,49 (m, 4H), 6,94-6,79 (m, 4H), 5,15, 5,08 (m, 1H), 5,20, 4,79 (2m, 1H), 4,51 (parte AB de um espectro ABX; 2H), 4,41-3,95 (m, 2H), 2,98 (s, 6H), 2,69, 2,52 (2m, 1H), 2,28, 2,14 (2m, 1H).

RMN de ^{13}C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 172,5, 171,7, 166,9, 161,0, 160,7.

Exemplo 7

Ph(3-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) Ph(3-NO₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-NO₂)-(S) ou -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (25 g, 126 mmol), Lipase PS Amano (12,5 g), acetato de vinilo (150 mL) e MTBE (375 mL), foi aquecida a 45 °C durante 24 h. A reacção foi filtrada e o bolo do filtro lavado com EtOAc (500 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com uma mistura de CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (6:3:1), para proporcionar 9,0 g, (36%) do composto do subtítulo (a) como um óleo amarelo e 6,5 g (21%) do composto do subtítulo (b) como um sólido castanho claro.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ^1H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,34 (s, 1H), 8,25 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,62 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,30 (s, 1H).

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 8,34 (s, 1H), 8,25 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,62 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,82 (s, 1H), 2,20 (s, 3H).

(ii) Ph(3-NH₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de Ph(3-NO₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (8,0 g, 40,6 mmol; ver passo (i)(a) acima) e paládio em carbono a 10% (800 mg) em MeOH (200 mL), foi agitada a 25 °C sob uma atmosfera de hidrogénio, de um dia para o outro. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite® e lavada com EtOAc (250 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo* para proporcionar 7,0 g (100%) do composto do subtítulo, como uma espuma brancera

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,0-7,12 (m, 1H), 6,75-6,90 (m, 2H), 6,60-6,70 (m, 1H), 4,80 (s, 1H).

(iii) Ph(3-NHMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de Ph(3-NH₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (2,9 g, 17,3 mmol; ver passo (ii) acima) e iodeto de metilo (2,95 g, 20,8 mmol) em MeOH (50 mL), foi aquecida a 55 °C, de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada *in vacuo* e submetida a cromatografia em sílica gel e eluída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_3$ (aq., sat.) (6:3:1), para proporcionar 616 mg (20%) do composto do subtítulo, como um óleo castanho.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,00–7,12 (m, 1H), 6,70–6,80 (m, 2H), 6,50–6,55 (m, 1H), 4,80 (s, 1H), 2,80 (s, 3H).

(iv) Ph(3-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de Ph(3-NHMe)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (540 mg, 2,99 mmol; ver passo (iii) acima) e anidrido acético (612 mg, 5,98 mmol) em MeOH (15 mL), foi agitada a 25 °C sob azoto de um dia para o outro. A mistura foi concentrada *in vacuo* e submetida a cromatografia em sílica gel, eluída com CHCl_3 :MeOH: NH_4OH conc. (aq) (6:3:1), para proporcionar 380 mg (57%) do composto do subtítulo como uma espuma branca

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,51–7,60 (m, 1H), 7,38–7,49 (m, 2H), 7,15–7,25 (m, 1H), 5,04 (s, 1H), 3,22 (s, 3H), 1,85 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 178,2, 173,6, 145,8, 142,8, 131,5, 127,8, 126,5, 126,2, 75,5, 37,8, 22,5.

Análise por HPLC: 95,7%, 95,3% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -4,32^\circ$ (c = 0,5, MeOH)

CI-MS: (M+1) 224 m/z

(v) Ph(3-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Uma mistura de Ph(3-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (301 mg, 1,35 mmol; ver passo (iv) acima), H-Aze-Pab(Teoc) (560 mg, 1,48 mmol, ver Exemplo 3 (vi) acima), PyBOP (774 mg, 1,48 mmol) e 2,4,6-colidina (360 mg, 2,97 mmol) em DMF (10 mL), foi agitada a 0 °C e, depois, a 25 °C de um dia para o outro. A mistura foi arrefecida rapidamente com H₂O (50 mL) e extraída com EtOAc (3 x 50 mL). Os extractos orgânicos combinados foram secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH (9:1), para proporcionar 175 mg (23%) do composto do subtítulo, como um sólido branco.

RMN de ¹H (CD₃OD): δ 7,82-7,90 (m, 2H), 7,20-7,50 (m, 6H), 5,32 (s, 1H), 5,25 (s, 1H), 4,70-4,81 (m, 1H), 3,97-4,54 (m, 6H), 3,20 (s, 3H), 2,10-2,82 (m, 2H), 1,85 (s, 3H), 1,02-1,18 (m, 2H), 0,10 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 582 m/z

(vi) Ph(3-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

Uma mistura de Ph(3-NMeAc)-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (65 mg, 0,11 mmol; ver passo (v) acima) e TFA (2,0 mL) em CH₂Cl₂ (2 mL), foi agitada a 0 °C durante 3 horas. A solução foi concentrada *in vacuo* à temperatura ambiente e o resíduo foi purificado utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:NH₄OAc 0,1 M, gradiente: 0-50% de CH₃CN) e as fracções de interesse foram concentradas. O produto foi dissolvido em água/HOAc e secas por congelação para proporcionar 55 mg (100%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 438; (M-1) 436 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; D_2O ; mistura de rotâmeros): δ 7,74 (m, 3H), 7,61-7,20 (m, 5H), 5,36, 5,24 (2m, 1H), 4,84 (m, 1H), 4,58-3,94 (m, 4H), 3,42-3,08 (m, 3H), 2,80, 2,57 (2m, 1H), 2,36-1,98 (m, 4H), 1,84 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz): δ 174,2, 173,1, 172,7, 166,7.

Exemplo 8

Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-NO₂, 5-CF₃)CH₂OH

Foi adicionado complexo de borano-tetra-hidrofurano (170 mL de 1 M em THF, 170 mmol), gota a gota, durante 1 h, a uma solução de Ph(3-NO₂, 5-CF₃)CO₂H (10,0 g, 42,6 mmol) em THF (50 mL) arrefecida a 0 °C sob azoto. A solução foi deixada a aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 4 h. A solução foi arrefecida rapidamente pela adição lenta de H₂O, vertida em EtOAc (200 mL) e, depois, lavada sequencialmente com H₂O (150 mL) e solução salina saturada (150 mL). A fase orgânica foi seca (Na₂SO₄), filtrada e concentrada *in vacuo* para proporcionar 6,9 g (73%) do composto do subtítulo como um óleo laranja.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 8,44 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 4,92 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H), 2,10 (br s, 1H).

(ii) Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-CHO

Foi adicionado, gota a gota, cloreto de oxalilo (3,0 mL, 34 mmol) a uma solução de DMSO (4,86 mL, 68,6 mmol) em 70 mL de CH₂Cl₂ seco, arrefecido para -78 °C sob azoto. Após 15 min a -78 °C, foi adicionado, gota a gota, Ph(3-NO₂, 5-CF₃)CH₂OH (6,9 g, 31 mmol; ver passo (i) acima) em 75 mL de CH₂Cl₂ durante 30 min. Após 45 min a -78 °C, foi adicionado DIPEA (27,2 mL, 156 mmol) durante 20 minutos. A solução foi agitada a -78 °C durante mais 1 h, período durante o qual a solução foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 15 h. A solução foi lavada, sequencialmente, com HCl 1 M (2 x 150 mL), solução salina saturada (150 mL), seca (Na₂SO₄), filtrada e concentrada *in vacuo* para proporcionar 6,9 g (99%) do composto do subtítulo, como um óleo laranja.

RMN de ¹H NMR (300 MHz; CDCl₃): δ 10,19 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,6 (s, 1H), 8,51 (s, 1H).

(iii) Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN

A uma solução de Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-CHO (6,52 g, 29,7 mmol; do passo (ii) acima) em 220 mL de CH₂Cl₂, foi adicionado ZnI₂ (474 mg, 1,49 mmol).

A solução foi purificada com azoto e arrefecida a 0 °C. Foi adicionado cianeto de trimetilsililo (3,25 g, 32,7 mmol) durante 10 min, após os quais a solução foi agitada durante 2 h. A solução foi depois aquecida a a temperatura ambiente e agitada durante mais 5,5 h, tempo após o qual a reacção foi arrefecida rapidamente com H₂O (250 mL). A fase orgânica foi separada e a

fase aquosa extraída com CH₂Cl₂ (125 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄), filtradas e concentradas *in vacuo* para proporcionar 9,1 g (96%) do composto do subtítulo, como um óleo laranja.

RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,64 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 6,14 (s, 1H), 0,80 (s, 9H).

(iv) Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

O Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN (9,1 g, 29 mmol; ver passo (iii) acima) foi dissolvido em HCl concentrado (83 mL, 1000 mmol) e aquecido até refluxo durante 3 h. A solução foi diluída com H₂O (200 mL) e extraída com Et₂O (3x150 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução salina saturada (200 mL), secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo* para proporcionar um óleo castanho. O produto em bruto foi submetido a cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (14:5:1). O sólido branco resultante foi suspenso em Et₂O e foi adicionado HCl 2 M (100 mL). As camadas foram separadas e a fase aquosa foi extraída com Et₂O (3 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄), filtradas e concentradas para proporcionar 5,9 g (78%) do composto do subtítulo, como um sólido castanho.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,65 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 5,43 (s, 1H).

(v) Ph(3-NH₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

A uma solução de Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (5,9 g, 22 mmol; ver passo (iv) acima) em EtOH absoluto (350 mL), foi adicionado óxido de platina (IV) (590 mg). A solução foi purificada com hidrogénio durante 5 h, tempo após o qual a mistura foi filtrada através de Celite® e, depois, concentrada *in vacuo* para proporcionar 5,8 g (100%) do composto subtítulo como um óleo laranja.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,00 (s, 2H), 6,86 (s, 1H), 5,06 (s, 1H).

(vi) Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

A uma solução de Ph(3-NH₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (5,27 g, 22,4 mmol; ver (v) acima) dissolvido em EtOH absoluto (250 mL), foi adicionada uma solução aquosa a 37% de formaldeído (54 mL, 720 mmol). Foi adicionado óxido de platina (IV) (520 mg) e a solução purificada com hidrogénio. Após agitação sob azoto durante 22 h, a solução foi filtrada através de Celite® e concentrada *in vacuo*. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (6:3:1), proporcionou 2,7 g (46%) do composto do subtítulo, como um sólido branco.

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,10 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 4,88 (s, 1H), 2,98 (s, 6H).

(vii) Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-NMe₂)(5-CF₃)-(S) ou -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (2,7 g, 10 mmol; ver passo (vi) acima), Lipase PS Amano (1,4 g), acetato de vinilo (56 mL) e MTBE (120 mL) foi submetida a refluxo durante 1 dia. A reacção foi filtrada através de Celite® e o bolo do filtro lavado com Et₂O. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetida a cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₃ (aq., sat.) (14:5:1), para proporcionar 727 mg (27%) do sal de amónio do composto do subtítulo (a) como um sólido branco e 1,53 g (49%) do sal de amónio do composto do subtítulo (b) como um sólido branco. O sal de amónio do composto do subtítulo (a) foi corrido através de uma almofada de Amberlite® CG-50 com CH₃CN:MeOH(3:1) como eluente, para proporcionar o composto do subtítulo (a) como um sólido branco.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,03-7,09 (m, 2H), 6,79 (s, 1H), 4,95 (s, 1H), 2,88 (s, 6H).

RMN de ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 180,2, 152,9, 146,0, 133,0 (q, *J* = 32,2 Hz), 125,2 (t, *J* = 284,0 Hz), 116,3, 113,4, 109,3, 77,4, 41,4.

Análise por HPLC: 98,8%, > 99% ee

[α]_D²⁵ = -59,5° (c = 1,0, MeOH)

API-MS: (M+1) 264 m/z

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,12 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,73 (s, 1H), 3,00 (s, 6H), 2,14 (s, 3H).

(viii) Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A uma mistura de Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (290 mg, 1,10 mmol; ver passo (vii)(a) acima) e H-Aze-Pab(Teoc) (436 mg, 1,16 mmol, ver Exemplo 3(vi)), foram adicionados 10 mL de DMF seco. A solução foi arrefecida a 0 °C, após o que foram adicionados PyBOP (630 mg, 1,21 mmol) e colidina (295 mg, 2,42 mmol). A solução foi agitada sob azoto a 0 °C durante 2 h e à temperatura ambiente durante 15 h. A mistura foi concentrada e submetida a cromatografia flash em sílica gel, eluída com EtOAc:EtOH (20:1), para proporcionar 383 mg (56%) do composto do subtítulo, como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD) δ 7,76-7,83 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,38-7,44 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,12 (m, 2H), 6,86-6,87 (m, 1H), 5,15-5,17 (m, 1H), 4,75-4,81 (m, 1H), 3,98-4,56 (m, 6H), 3,00 (s, 6H), 2,48-2,58 (m, 1H), 2,24-2,33 (m, 1H), 1,03-1,13 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 622 m/z.

(ix) Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

A uma solução gelada de Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (87 mg, 0,14 mmol; ver passo (viii)

acima) em cloreto de metileno, foi adicionado TFA (4 mL) e a mistura foi agitada a 0 °C durante 100 min. A solução resultante foi concentrada até à secura, proporcionando um resíduo que foi dissolvido em água/CH₃CN e, depois, liofilizado, proporcionando 81 mg (80%) do composto do título como um pó branco.

LC-MS: (M+1) 478; (M-1) 476 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD; mistura de rotâmeros): δ 7,78-7,50 (m, 4H), 7,09-7,04 (m, 2H), 6,92 (br s, 1H), 5,21, 5,17 (2s, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,52 (parte AB de um espectro ABX; 2H), 4,41-3,95 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,70, 2,52 (2m, 1H), 2,30, 2,15 (2m, 1H).

RMN de ¹³C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 172,6, 171,7, 167,0, 161,5, 161,2.

Exemplo 9

Ph(3-Cl, 5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-
Pab x HOAc

(i) (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (18,8 g, 81,2 mmol; ver Exemplo 5(ii) acima) em acetona (300 mL,) foi adicionado mono-hidrato de ácido p-toluenossulfônico (750 mg, 3,94 mmol) e 2,2-dimetoxipropano (75 mL, 514 mmol). A solução foi submetida a refluxo durante 6 h e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em EtOAc (200 mL) e, depois lavado com H₂O (100 mL), NaHCO₃ saturado (150 mL) e solução salina saturada

(150 mL). A fase orgânica foi seca (Na_2SO_4), filtrada e concentrada para proporcionar um sólido castanho que foi submetido a cromatografia flash em sílica gel, eluída com Hex:EtOAc (7:3). O sólido resultante foi depois purificado por recristalização a partir de EtOAc/Hex (1:10), para proporcionar 14,7 g (67%) do composto do subtítulo, como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 8,29 (m, 1H), 8,24 (m, 1H), 7,86 (m, 1H), 5,45 (s, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,72 (s, 3H).

(ii) (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (14,7 g, 54,1 mmol; ver passo (i) acima) em EtOH (400 mL), foi adicionado óxido de platina (IV) (1,5 g). A suspensão foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio durante 27 h à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada através de Celite® e o bolo do filtro lavado com EtOH. O filtrado foi concentrado *in vacuo* para proporcionar um óleo amarelo que foi submetido a cromatografia flash em sílica gel e eluído com Hex:EtOAc (4:1), para proporcionar 6,5 g (50%) do composto do subtítulo, como um óleo amarelo.

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 6,76 (m, 1H), 6,56 (m, 2H), 5,18 (s, 1H), 3,74 (br s, 2H), 1,64 (s, 3H), 1,68 (s, 3H).

(iii) (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidinil-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (6,5 g, 26,9 mmol; ver passo (ii) acima) em DMF (100 mL), foi adicionado 4-bromobutirato de etilo (10,5 g, 53,8 mmol) e Et₃N (5,4 g, 53,8 mmol). A solução foi aquecida a 95 °C, sob árgon, durante 21 h. A mistura reaccional foi concentrada e, depois, dissolvida em EtOAc (200 mL), proporcionando uma solução que foi lavada com H₂O (150 mL) e solução salina saturada (150 mL). A fase orgânica foi seca (Na₂SO₄), filtrada e concentrada, para proporcionar 9,6 g de um óleo laranja. O material em bruto foi dissolvido em p-xileno (250 mL) e aquecido a refluxo. Após 3 dias, a mistura foi concentrada num óleo laranja e submetida a cromatografia flash em sílica gel, eluída com EtOAc:Hexano (1:1), para proporcionar 4,5 g (54%) do composto do subtítulo como um sólido amarelo.

RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,74 (m, 1H), 7,69 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 5,38 (s, 1H), 3,80-3,93 (m, 2H), 2,60-2:68 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,15-2,25 (m, 2H), 1,77 (s, 3H), 1,70 (s, 3H).

(iv) Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidinil-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (4,5 g, 14,5 mmol; ver passo (iii) acima) em THF (300 mL), foi adicionado NaOH 1 N (145 mL). A solução foi agitada durante 30 min., subsequentemente a solução foi parcialmente reduzida *in vacuo*. A solução foi acidificada com HCl 2 N e extraída com EtOAc (2 x 150 mL). A

fase orgânica foi lavada com solução salina saturada (200 mL), seca (Na_2SO_4), filtrada e concentrada para proporcionar 3,2 g (82%) do composto do subtítulo, como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,81 (m, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 5,15 (s, 1H), 3,89-3,96 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,57-2,65 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,12-2,22 (m, 2H).

(v) Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(S) ou
-(R)-CH(OAc)C(O)OH (b) e Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou
-(S)-CH(OH)C(O)OH (a)

Uma mistura de Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (3,2 g, 11,9 mmol; ver passo (iv) acima) e Lipase PS Amano (1,6 g) em acetato de vinilo (65 mL) e MTBE (130 mL), foi agitada a 55 °C durante 24 h. A reacção foi filtrada através de Celite® e o bolo do filtro lavado sequencialmente com THF e, depois, MeOH. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a cromatografia flash em sílica gel, eluída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_3$ (aq., sat.) (14:5:1), para proporcionar 1,3 g (33%) do sal de amónio do composto do subtítulo (b), como um sólido branco. Além disso, foram obtidas 800 mg (20%) do sal de amónio do composto do subtítulo (a). Este material foi dissolvido em H_2O (40 mL), acidificado com HCl 1 N e extraído com EtOAc (2 x 50 mL). A fase orgânica foi seca (Na_2SO_4), filtrada e concentrada para proporcionar o composto do subtítulo (a) como um sólido branco. Devido à pureza optica reduzida, o composto do subtítulo (b) foi novamente submetido às condições de resolução enzimática anteriores (0,5 g Lipase PS Amano; 35 mL de acetato de vinilo; 60 mL de MTBE; 55 °C; 24 h).

O isolamento e purificação como referido acima proporcionaram 470 mg do composto do subtítulo (a) como um sólido branco.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,80 (m, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,29 (m, 1H), 5,15 (s, 1H), 3,88-3,92 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,57-2,62 (t, $J = 8,1$ Hz, 2H), 2,11-2,21 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 179,7, 177,8, 146,1, 144,4, 137,9, 126,3, 123,5, 120,2, 75,9, 52,7, 36,0, 21,2.

API-MS: (M+1) 270 m/z

Análise por HPLC: 95,3%, 96,5% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -64,5^\circ$ ($c = 1,0$, MeOH)

(vi) Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou
(S)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

A uma mistura de Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou -(S)-CH(OH)C(O)OH (250 mg, 0,927 mmol; do passo (v)(a) acima) e HAze-Pab(Teoc) (367 mg, 0,973 mmol, ver Exemplo 3(vi)) em DMF (9 mL) a 0 °C, foi adicionado PyBop (531 mg, 1,02 mmol) e colidina (250 mg, 2,04 mmol). A solução foi agitada sob azoto a 0 °C durante 2 h e, depois, aquecida à temperatura ambiente durante 15 h. A mistura foi concentrada e submetida a cromatografia flash em sílica gel, eluída com EtOAc:EtOH (20:1), seguida por uma limpeza em coluna com EtOH, para proporcionar um sólido branco. Outra cromatografia flash em sílica gel, eluída

com $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (9:1), proporcionou 420 mg (72%) do composto do subtítulo como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 7,73-7,85 (m, 3H), 7,51-7,65 (m, 1H), 7,36-7,47 (m, 2H), 7,22-7,31 (m, 1H), 5,11-5,23 (m, 1H), 4,76-4,86 (m, 1H), 3,95-4,55 (m, 6H), 3,84-3,94 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,46-2,74 (m, 3H), 2,08-2,47 (m, 3H), 1,02-1,14 (m, 2H), 0,09 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 629 m/z

(vii) Ph(3-Cl,5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou
-(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

A uma solução de Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(RorS)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (90 mg, 0,14 mmol; ver passo (vi) acima) em coloreto de metileno (0,5 mL), foi adicionado TFA (4 mL). A mistura foi agitada à t.a. durante 100 min. A solução resultante foi concentrada *in vacuo* e o material em bruto sólido foi purificado utilizando PHPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{acetato de amónio}$ 0,1 M 20:80). As fracções de interesse foram reunidas e secas por congelação, duas vezes, de um dia para o outro. Rendimento de 51 mg (67%). Pureza de 99,8%.

LC-MS (M+1) = 484, 486 m/z

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 7,73 (m, 3H), 7,62 (m, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,28, 7,23 (2s, 1H), 5,19 (s, 1H), 4,80 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,38 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,88 (t, 2H), 2,61-2,48 (m, 3H), 2,29 (m, 1H), 2,14 (m, 2H), 1,90 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz) (carbonos de carbonilo e/ou amidina): δ 176,0, 172,3, 171,7, 167,0.

Exemplo 10

Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x
HOAc

(i) (R,S)-5-Ph(3-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Uma mistura de ácido *m*-nitromandélico (6,0 g, 30,4 mmol), 2,2-dimetoxipropano (15,1 mL), mono-hidrato de ácido *p*-toluenossulfônico (0,29 g, 1,52 mmol) e acetona (60 mL), foi agitada durante 12 horas à temperatura ambiente. A mistura foi concentrada *in vacuo* e o produto em bruto foi dissolvido em EtOAc. A fase orgânica foi lavada sequecialmente com solução aquosa de NaHCO₃ saturada e solução salina saturada, seca (MgSO₄) e, depois, concentrada *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com heptano/EtOAc (80/20 para 70/30), para proporcionar 5,7 g (79%) do composto do subtítulo. (Foi difícil dissolver o produto em bruto numa pequena quantidade de EtOAc e, deste modo, o carregamento da coluna de cromatografia foi conseguido utilizando sílica gel, na qual o produto foi adsorvido.)

FAB-EM: (M+1) 238 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,36 (br s, 1H), 8,22 (dd, 1H), 7,84 (dd, 1H), 7,60 (dd, 1H), 5,44 (s, 1H), 1,76 (s, 3H), 171 (s, 3H).

(ii) (R,S)-5-Ph(3-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (3,1 g, 13,1 mmol; ver passo (i) acima), Pd/C a 5% (1,7 g) e HOAc (0,75 mL, 13,1 mmol) em EtOH (250 mL), foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio durante 4 h. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite® e o bolo do filtro foi lavado com EtOH. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e o sólido incolor formado foi particionado entre EtOAc e solução aquosa de NaHCO₃ saturada. A fase aquosa foi extraída com EtOAc e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução salina saturada, secas (Na₂SO₄) e concentradas *in vacuo* para proporcionar 2,3 g (85%) do composto subtítulo.

LC-MS: (M+1) 208 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,16 (dd, 1H), 6,84 (dd, 1H), 6,76 (br s, 1H), 6,67 (dd, 1H), 5,30 (s, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,65 (s, 3H).

(iii) (R,S)-5-Ph(3-NH(CH₂)₃C(O)OEt)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (1,63 g, 7,87 mmol; ver passo (ii) acima), 4-bromobutirato de etilo (3,4 mL, 23,6 mmol) e Et₃N (3,3 mL, 23,6 mmol) em CH₂Cl₂, foi submetida a refluxo de um dia para o outro. Foram adicionadas quantidades adicionais de 4-bromobutirato de etilo (2,3 mL, 15,7 mmol) e Et₃N (2,2 mL, 15,7 mmol) e a mistura foi submetida a refluxo durante mais uma

noite. O solvente foi removido e o produto em bruto foi particionado entre EtOAc e água. A fase aquosa foi extraída com EtOAc e as fase orgânicas combinadas foram lavadas com solução salina saturada, secas (Na₂SO₄) e, depois, concentradas *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com heptano:EtOAc (90:10 até 80:20), para proporcionar 2,1 g (84%) do composto do subtítulo.

FAB-EM: (M+1) 322 m/z

RMN de ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃): δ 7,17 (dd, 1H), 6,77 (br d, 1H), 6,66 (br s, 1H), 6,59 (dd, 1H), 5,30 (s, 1H), 4,12 (q, 2H), 3,16 (t, 2H), 2,40 (t, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,24 (t, 2H).

(iv) (R,S)-5-Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Uma solução de (R,S)-5-Ph(3-NH(CH₂)₃C(O)OEt)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (2,2 g, 6,85 mmol; ver passo (iii) acima) em tolueno (15 mL), foi submetida a refluxo durante duas noites. O solvente foi removido e o produto em bruto foi submetido a cromatografia flash, eluída com heptano:EtOAc (80:20 até 60:40), para proporcionar 1,4 g (74%) do composto do subtítulo.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,78 (br s, 1H), 7,60 (br d, 1H), 7,38 (dd, 1H), 7,23 (br d, 1H), 5,40 (s, 1H), 3,8S (m, 2H), 2,59 (t, 2H), 2,14 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,65 (s, 3H).

(v) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (1,4 g, 5,1 mmol; ver passo (iv) acima) e NaOH 1 M (10 mL) em THF (15 mL), foi vigorosamente agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente. O THF foi removido e a fase aquosa foi lavada uma vez com CH₂Cl₂ e, subsequentemente, concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado utilizando RPLC preparativa (CH₃CN:HOAc 0,1 M (16:84)) e as fracções de interesse foram concentradas e secas por congelação para proporcionar 0,94 g (79%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M+1) 236; (M-1) 234 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,64 (br s, 1H), 7,59 (br d, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,28 (br d, 1H), 5,10 (s, 1H), 3,92 (t, 2H), 2,58 (t, 2H), 2,16 (m, 2H).

(vi) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH

Os enantiómeros de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (0,94 g, 4,0 mmol; ver passo (v) acima) foram separados por HPLC preparativa utilizando Chiralpak™ AD como fase estacionária e heptano:2-propanol:acetonitrilo:ácido fórmico (160:30:10:1) como fase móvel. O enantiómero que é eluído em primeiro lugar foi evaporado *in vacuo* para proporcionar 0,37 g (39%) do composto do subtítulo que proporcionou 98,6% de ee e $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -90,9^{\circ}$ (c = 1,0, MeOH).

(vii) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Foi adicionado PyBop (365 mg, 0,70 mmol), seguido por DIPEA (0,5 mL, 2,8 mmol) a uma solução arrefecida (-20 °C) de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (150 mg, 0,64 mmol; ver passo (vi) acima) e Haze-Pab(Teoc) (264 mg, 0,70 mmol, ver Exemplo 3(vi) acima) em DMF (8 mL). Foi permitido à solução atingir, lentamente, a temperatura ambiente e agitada de um dia para o outro. A DMF foi removida *in vacuo* e o resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CH₂Cl₂:MeOH (95:5), para proporcionar 310 mg (82%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M+1) 594; (M-1) 592 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃; mistura de rotâmeros): δ 8,09 (br dd, 1H), 7,66 (br d, 2H), 7,47 (br d, 1H), 7,34 (dd, 1H), 7,25 (br d, 2H), 7,12 (d, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,83 (dd, 1H), 4,43 (d, 2H), 4,25 (t, 2H), 4,17 (m, 1H), 3,82 (m, 3H), 3,65 (m, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,55 (dd, 2H), 2,50 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 2,13 (m, 2H), 1,10 (t, 2H), 0,05 (s, 9H).

(viii) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

Uma mistura de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (70 mg, 0,12 mmol; ver passo (vii) acima) e TFA (2,0 mL) em CH₂Cl₂ (2 mL), foi agitada a 0 °C durante 2 horas. A solução foi concentrada *in vacuo* e o resíduo foi purificado utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:NH₄OAc 0,1 M

(gradiente: 0-50% de CH₃CN)). As frações de interesse foram concentradas e o produto resultante foi dissolvido em água/HOAc e liofilizado para proporcionar 52 mg (87%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 450 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD mistura de rotâmeros): δ 7,72 (m, 3H), 7,52 (m, 3H), 7,42-7,20 (m, 2H), 5,22-5,12 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,50 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,14 (m, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 2,74-2,44 (m, 3H), 2,34-2,08 (m, 3H), 1,90 (s, 3H).

RMN de ¹³C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 176,0, 172,4, 171,8, 167,0.

Exemplo 11

Ph(3-(1-Pirrolidina))-(R)- ou -(S)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab x
2TFA

(i) (R,S)-5-Ph(3-(1-Pirrolidina))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-
dioxolano

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (450 mg, 2,17 mmol; ver Exemplo 10 (ii) acima), 1,4-dibromo-butano (0,30 mL, 3,26 mmol) e Cs₂CO₃ (2,1 g, 6,5 mmol) em acetona, foi submetida a refluxo durante 3 dias. O solvente foi removido e o produto em bruto foi particionado entre CH₂Cl₂ e água. A fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução salina

saturada, secas (Na_2SO_4) e depois concentradas *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com heptano:EtOAc (100:0 até 90:10), para proporcionar 140 mg (25%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M+1) 413; (M-1) 411 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 7,23 (dd, 1H), 6,74 (d, 1H), 6,61 (br s, 1H), 6,55 (br d, 1H), 5,35 (s, 1H), 3,29 (m, 4H), 2,00 (m, 4H), 1,72 (s, 3H), 1,66 (s, 3H).

(ii) Ph(3-(1-Pirrolidina))-(R,S)CH(OH)C(O)OH x HCl

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-(1-pirrolidina))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (640 mg, 2,45 mmol; ver passo (i) acima) e NaOH 1 M (10 mL) em THF (10 mL), foi agitada vigorosamente de um dia para o outro à temperatura ambiente. O THF foi removido e a fase aquosa foi lavada uma vez com CH_2Cl_2 e, posteriormente, concentrada *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CH_2Cl_2 :MeOH: NH_2OH (6:3:1). O produto foi liofilizado para permuta dos sais, utilizando inicialmente água/HOAc e, depois, utilizando água/HCl 2 M. Isto proporcionou 0,62 g (98%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M+1) 222; (M-1) 220 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,40 (m, 1H), 7,20-7,55 (m, 3H), 5,28 (s, 1H), 3,80 (m, 4H), 2,30 (m, 4H).

(iii) Ph(3-(1-Pirrolidina))-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)a

Foi adicionado (355 mg, 0,68 mmol) e depois colidina (0,4 mL, 3,35 mmol) a uma solução arrefecida (-20 °C) de Ph(3-(1-pirrolidina))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (160 mg, 0,62 mmol; ver passo (ii) acima) e HAze-Pab(Teoc) x 2 HCl (307 mg, 0,68 mmol, ver Exemplo 3 (vi) acima) em DMF (8 mL). Foi permitido, à reacção, atingir lentamente a temperatura ambiente e foi agitada de um dia para o outro. A DMF foi removido e o produto em bruto foi particionado entre EtOAc e água. A fase aquosa foi extraída com EtOAc e a fase orgânica foi seca (Na₂SO₄) e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CH₂Cl₂:MeOH (95:5), para proporcionar 50 mg (14%) do composto do subtítulo.

LC-MS: (M+1) 580; (M-1) 578 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃; mistura de rotâmeros): δ 7,82 (m, 2H), 7,46-7,30 (m, 2H), 7,18-7,08 (m, 1H), 6,70-6,45 (m, 3H), 5,12-5,00 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 4,45 (m, 2H), 4,23 (m, 2H), 4,1-3,85 (m, 2H), 3,22 (m, 4H), 2,69-2,34 (m, 1H), 2,25, 2,11 (2m, 1H), 1,07 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

(iv) Ph(3-(1-Pirrolidina))-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2TFA

Uma mistura de Ph(3-(1-pirrolidina))-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (100 mg, 0,17 mmol; ver passo (iii) acima) e TFA (2,0 mL) em CH₂Cl₂ (2 mL), foi agitada a 0 °C durante 2 horas. A solução foi concentrada *in vacuo* para proporcionar um resíduo que foi dissolvido em água e liofilizado para proporcionar 70 mg (58%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 580 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD ; mistura de rotâmeros): δ 7,75 (m, 2H), 7,50 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 6,75-6,50 (m, 3H), 5,14, 5,08 (2s, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,60-4,42 (m, 2H), 4,28 (m, 1H), 4,11-3,87 (m, 2H), 3,26 (m, 4H), 2,75-2,40 (m, 1H), 2,26, 2,13 (2m, 1H), 1,89 (m, 4H).

RMN de ^{13}C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 173,8, 173,3, 171,8, 167,0.

Exemplo 12

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (92 mg, 0,16 mmol; ver Exemplo 6 (vi) acima) em THF (6 mL), foi adicionada O-metil-hidroxilamina (78 mg, 0,92 mmol), para proporcionar uma mistura que foi agitada de um dia para o outro a 60 °C. O solvente foi removido *in vácuo* e o sólido resultante foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com EtOAc. As fracções de interesse foram concentradas, proporcionando o composto do subtítulo (82 mg, 85%) como sólido branco.

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 8,0 (bt, 1H), 7,57 (b, 1H), 7,50 (d, 2H), 7,33 (d, 2H), 6,64 (m, 2H), 6,51 (s, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,51 (parte AB do espectro ABX, 2H), 4,16 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,65 (m, 1H), 2,97 (s, 6H), 2,70 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 0,99 (m, 2H), 0,03 (s, 12H).

LC-MS: (M+1) 618 m/z

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

Uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (78 mg, 0,13 mmol, ver passo (i) acima) em TFA (3 mL) foi agitada a 0 °C durante 2 h. A solução foi concentrada a frio *in vacuo* e o sólido resultante foi submetido a cromatografia em HPLC preparativa (CH_3CN :acetato de amónio 0,1 M (40:60)). As fracções de interesse foram parcialmente concentradas. O resíduo foi liofilizado (CH_3CN :água) 3 vezes, proporcionando 40 mg (30%) do composto do título. Pureza de 99,4%

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 7,59 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,72 (s, 2H), 6,66 (m, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,84 (s, 4H), 4,76 (dd, 1H), 4,44 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,30 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,93 (s, 6H), 2,49 (m, 1H), 2,39 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 172,7, 171,8, 171,7, 158,7.

LC-MS: (M+1) 474 m/z

Exemplo 13

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-Et)

(i) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-Et)

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmol, ver Exemplo 6 (vi) acima) em THF (3 mL), foi adicionada O-etil-hidroxilamina x HCl (40 mg, 0,41 mmol) e a solução foi agitada a 60 °C de um dia para o outro. A solução foi concentrada e o material resultante foi purificado com HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amônio 0,1 M (60:40)). As fracções de interesse foram parcialmente concentradas e o resíduo foi extraído com EtOAc (3 x). A camada orgânica foi lavada com água e concentrada *in vácuo*, proporcionando 16 mg (37%) do composto do subtítulo.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (b, 1H), 7,58 (b, 1H), 7,49 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,50 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,25-4,15 (m, 5H), 4,06 (m, 1H), 3,65 (q, 1H), 2,97 (s, 6H), 2,69 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,34 (t, 3H), 0,99 (t, 2H), 0,05 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 633 m/z

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-Et)

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-Et) (16 mg, 0,03 mmol, ver passo (i) acima) em

cloreto de metileno (0,5 mL) foi adicionado TFA (1 mL) e a mistura foi agitada a 0 °C durante 2 h. A mistura resultante foi concentrada *in vácuo*, para proporcionar um resíduo sólido que foi dissolvido em água/CH₃CN e liofilizado, duas vezes, proporcionando 14 mg (92%) do composto do título. Pureza de 94,4%.

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 8,73 (bt, 1H), 7,66 (d, 2H), 7,53 (d, 2H), 6,73 (s, 2H), 6,67 (s, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,78 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,16 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 2,94 (s, 6H), 2,50 (m, 1H), 2,29 (m, 1H), 1,39 (t, 3H).

RMN de ¹³C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz): δ 172,7, 171,7, 160,6, 152,0.

LC-MS: (M+1) 489 m/z

Exemplo 14

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)

(i) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-n-Pr)

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmol; ver Exemplo 6 (vi) acima) em THF (5 mL), foi adicionada *O-n*-propil-hidroxilamina x HCl (46 mg, 0,41 mmol) e a solução foi agitada a 60 °C de um dia para o outro. A solução foi concentrada até à secura e a restante foi purificada utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amónia 0,1 M (60:40)). A fracção de interesse foi parcialmente

concentrada e a solução aquosa foi extraída com EtOAc (3 x). A camada orgânica foi lavada com água, seca (Na₂SO₄) e concentrada para proporcionar 16 mg (36%) do composto do subtítulo.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (bt, 1H), 7,58 (bs, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,89 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,50 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,16 (dd, 1H), 4,11 (t, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,65 (q, 1H), 2,96 (s, 6H), 2,68 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 0,98 (t, 5H), 0,05 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 647 m/z

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)

Foi adicionado TFA (2 mL) a uma solução gelada de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-n-Pr) (16 mg, 0,02 mmol; ver passo (i) acima) em cloreto de metileno (0,5 mL), e a mistura resultante foi agitada a frio durante 2 h. A solução resultante foi concentrada *in vacuo* para proporcionar um resíduo sólido que foi dissolvido em água/CH₃CN e liofilizado. O produto foi purificado, utilizando cromatografia flash (EtOAc:MeOH (9:1)). As fracções de interesse foram concentradas para proporcionar 14 mg (92%) do composto do título. Pureza de 98%.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,71 (bt, 1H), 7,65 (d, 2H), 7,50 (d, 2H), 6,73 (m, 2H), 6,67 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,50 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,06 (m, 3H), 2,94 (s, 6H), 2,49 (m, 1H); 2,29 (m, 1H), 1,80 (m, 2H), 1,03 (m, 3H).

LC-MS: (M+ 1) 503 m/z

Exemplo 15

Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-*i*-Pr)

(i) Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (O-*i*-Pr)

Foi adicionada *O*-isopropil-hidroxilamina x HCl (46 mg, 0,41 mmol) a uma solução de Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,7 mmol; ver Exemplo 6 (vi) acima) em THF (3 mL) e a mistura resultante foi agitada a 60 °C de um dia para o outro. A solução resultante foi concentrada e o produto em bruto foi purificado utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amônio 0,1 M (60:40)). As frações de interesse foram parcialmente concentradas e depois extraídas com EtOAc (3 x). Os orgânicos combinados foram lavados com água, secos (Na₂SO₄) e concentrados para proporcionar 16 mg (36%) do composto do subtítulo.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (b, 1H); 7,57 (s, 1H), 7,50 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,58-4,40 (m, 3H), 4,17 (m, 3H), 4,07 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 2,97 (s, 2H), 2,69 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,31 (d, 6H), 1,00 (m, 2H), 0,05 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 647 m/z

(ii) Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-i-Pr)

Uma solução gelada de Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-i-Pr) (16 mg, 0,02 mmol; ver passo (i) acima) em TFA (1,5 mL), foi agitada fria durante 2 h. A solução resultante foi evaporada *in vacuo* antes de ser adicionada água/CH₃CN e a solução liofilizada. O produto em bruto foi purificado utilizando cromatografia flash (EtOAc:MeOH (9:1)). As fracções de interesse foram depois concentradas para proporcionar 14 mg (92%) do composto do título. Pureza (HPLC) de 96%.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,73 (bt, 1H), 7,66 (d, 2H), 7,50 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 6,67 (t, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,4-4,3 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 2,95 (s, 6H), 2,51 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 1,39 (d, 6H).

LC-MS: (M+1) 503 m/z

Exemplo 16

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-CH₂-CH₂-O-CH₃)

(i) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-CH₂-CH₂-O-CH₃)

Uma solução de O-(2-metoxi)etil-hidroxilamina e HOAc (23,3 µL) em THF (2 mL) foi adicionada a uma solução de Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmol; ver Exemplo 6(vi) acima) em THF (1 mL) e a mistura

foi agitada a 60 °C durante 3,5 dias. A solução resultante foi concentrada até à secura e o produto em bruto purificado utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amónio 0,1 M (60:40)). As fracções de interesse foram parcialmente concentradas e extraídas com EtOAc (3 x). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água, secas (Na₂SO₄) e, depois, concentradas até à secura para proporcionar 20 mg (44%) do composto do subtítulo.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (bt, 1H), 7,71 (b, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,89 (dd, 1H), 4,81 (s, 1H), 4,49 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,29 (m, 2H), 4,14 (m, 2H), 4,07 (m, 2H), 3,74-3,60 (m, 3H), 3,42 (s, 3H), 2,96 (s, 6H), 2,68 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,79 (b, 2H), 0,97 (m, 1H), 0,02 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 663 m/z

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-CH₂-CH₂-O-CH₃)

Foi adicionada TFA (2 mL, 26 mmol) a uma solução gelada de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-CH₂-CH₂-O-CH₃) (20 mg, 0,03 mmol; do passo (i) acima) em cloreto de metileno (0,5 mL) e a mistura resultante agitada fria durante 2,5 h. A solução resultante foi evaporada até à secura e o produto em bruto foi purificado por cromatografia flash (EtOAc:MeOH (9:1)). As fracções de interesse foram concentradas para proporcionar um resíduo, ao qual foi adicionada água/CH₃CN. A solução resultante foi liofilizada de um dia para o outro para

proporcionar 13 mg (65%) do composto do título. Pureza (HPLC) de 96%.

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 8,69 (bt, 1H), 7,65 (d, 2H), 7,49 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 6,67 (t, 1H), 5,07 (s, 2H), 4,78 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,72 (m, 2H), 3,41 (s, 3H), 2,94 (s, 6H), 2,48 (m, 1H), 2,29 (m, 1H).

RMN de ^{13}C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz; CD_3OD): δ 172,7, 171,8, 171,7, 159,3, 152,0.

LC-MS: (M+1) 519 m/z

Exemplo 17

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-THP)

(i) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-THP)

Uma solução de O-(tetra-hidropiran-2-il)-hidroxilamina (51 mg, 0,44 mmol) e HOAc (25 μL) em THF (1 mL), foi adicionada a uma solução de Ph(3-Cl,5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (43 mg, 0,07 mmol; ver Exemplo 6 (vi) acima) em THF (2 mL) e a mistura resultante foi agitada a 60 °C durante 22 h e, depois, à t.a. de um dia para o outro. A solução resultante foi concentrada e o produto em bruto foi purificado via HPLC preparativa (CH_3CN :acetato de amónio 0,1 M (60:40)). As fracções de interesse foram parcialmente concentradas e a restante parte aquosa foi extraída com EtOAc (3 x). Os orgânicos combinados

foram lavados com água, secos (Na_2SO_4) e depois concentrados proporcionar 26 mg (52%) do composto do subtítulo.

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ 8,00 (bt, 1H), 7,61 (b, 1H), 7,52 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,66 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 5,30 (m, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,50 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,17 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,66 (m, 2H), 2,97 (s, 6H), 2,69 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,00-1,55 (m, 7H), 0,98 (m, 2H), 0,04 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 689 m/z

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-THP)

Foi adicionado fluoreto em Amberlyst® A-26 (140 mg) a uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-THP) (34 mg, 0,05 mmol; ver passo (i) acima) em CH_3CN (3 mL) e a mistura foi deixada a 60 °C de um dia para o outro. Após arrefecimento, a resina foi removida por filtração e, depois, lavada com muitas porções de CH_3CN e EtOH (95%). Os orgânicos combinados foram concentrados para proporcionar um produto em bruto que foi purificado via HPLC preparativa (CH_3CN :acetato de amônio 0,1 M (50:50)). As fracções de interesse foram concentradas, dissolvidas em água/ CH_3CN e, depois, secas por congelação, para proporcionar 18 mg (60%) do composto do título.

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,62 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,72 (s, 2H), 6,66 (s, 1H), 5,15 (m, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,77 (dd, 1H), 4,44 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,29 (m, 1H),

3,95 (m, 2H), 3,57 (m, 1H), 2,93 (s, 6H), 2,48 (m, 1H), 2,27 (m, 1H), 1,94 (m, 2H), 1,82 (m, 1H), 1,75 (m, 1H), 1,61 (m, 3H).

RMN de ^{13}C (carbonos de carbonilo e/ou amidina; 100 MHz; CD_3OD): δ 172,7, 171,5, 154,7, 152,0.

LC-MS: (M+1) 545 m/z

Exemplo 18

Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA

(i) Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (38 mg, 0,06 mmol, ver Exemplo 5 (vii) acima) e O-metil-hidroxilamina (62 mg, 0,74 mmol) em THF (3 mL), foi aquecida a 60 °C durante 30 h, subsequentemente foi removido o solvente e a mistura reaccional foi purificada por HPLC preparativa (CH_3CN :acetato de amónio 0,1 M 50:50). A fracção de interesse foi parcialmente concentrada e a restante parte aquosa foi extraída com EtOAc (3x). Os orgânicos combinados foram secos (Na_2SO_4) e concentrados *in vacuo*, proporcionando 22 mg (50%) do composto do subtítulo.

RMN de ^1H (600 MHz; CDCl_3): δ 7,81 (br, 1H), 7,55 (br, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,28 (d, 2H), 7,18 (br, 1H), 7,09 (br, 1H), 4,89 (s, 1H), 4,86 (dd, 1H), 4,46 (parte AB de um espectro ABX, 2H), 4,11 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,67 (br, 1H), 3,22 (br, 3H), 2,68

(br, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,87 (br, 2H), 1,71 (m, 4H), 0,95 (m, 2H), -0,02 (s, 9H).

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA

Uma solução de Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (22 mg, 0,03 mmol, ver passo (i) acima) em TFA (3 mL) foi mantida à t.a. durante 1 h, subsequentemente foi removido do solvente *in vacuo*. O sólido restante foi dissolvido em água e a solução foi liofilizada de um dia para o outro, proporcionando 20 mg (76%) do composto do título.

RMN de ^1H (400 MHz; D_2O) (complexo devido ao rotamerismo): δ 8,79 (bt, 1H), 7,67 (t, 2H), 7,51 (d, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,17 (s, 1H), 5,35 (s, 1H), 5,20 (s+m, 1H), 4,88 (dd, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,11 (m, 2H), 3,98 (2xs, 3H), 3,38 (s, 1H), 3,19 (2s, 2H), 2,80 (m, 0,5H), 2,60 (m, 0,5H), 2,28 (m, 2H), 1,88 (s, 2H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) (carbonos de carbonilo e/ou amidina): δ 174,0; 173,3; 172,6; 172,5; 163,4; 163,0.

LC-MS: (M+1) 502 m/z

Exemplo 19

Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA

(i) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)

Foi adicionada O-metil-hidroxilamina x HCl (42 mg, 0,50 mmol) a uma solução de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (50 mg, 0,08 mmol; ver Exemplo 10 (vii) acima) em THF (3 mL) e a mistura foi agitada de um dia para o outro a 60 °C. O solvente foi removido e o resíduo particionado entre água e EtOAc. A fase aquosa foi extraída com EtOAc e as fases orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄) e, depois, concentradas *in vacuo* para proporcionar cerca de 52 mg (cerca de 100%) do composto do subtítulo, como um sólido, que foi utilizando sem purificação posterior.

LC-MS: (M+1) 624; (M-1) 622 m/z

(ii) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA

Uma mistura de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (53 mg, 0,08 mmol; ver passo (i) acima) e TFA (2,0 mL) em CH₂Cl₂ (1 mL) foi agitada à t.a. durante 4 horas. O solvente foi removido e o resíduo particionado entre água e EtOAc. A fase aquosa foi extraída com EtOAc e as fases orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄) e, depois, concentradas *in vacuo*. O resíduo foi submetido a

cromatografia em sílica gel, eluída com CH₂Cl₂:MeOH (98:2 a 95:5) para proporcionar 22 mg (44%) do composto do título.

LC-MS: (M+1) 480; (M-1) 478 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,76,-7,63 (m, 3H), 7,59-7,50 (m, 3H), 7,44-7,20 (m, 2H), 5,20-5,14 (m, 1H), 4,61-4,02 (m, 4H), 3,97-3,87 (m, 5H), 2,74-2,44 (m, 3H), 2,34-2,09 (m, 3H).

Exemplo 20

Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

(i) (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (6,0 g, 24,8 mmol; ver Exemplo 9 (ii) acima) e pentóxido de fósforo (3,5 g, 24,8 mmol) em tolueno seco (50 mL), foi adicionado, gota a gota, 2,5-dimetoxitetra-hidrofurano (4,9 g, 37,3 mmol). A reacção foi aquecida até refluxo durante 30 min e, depois, deixada a arrefecer até à temperatura ambiente. A reacção foi arrefecida rapidamente com NaOH 2 N (10 mL), transferida para um funil de separação e a fase aquosa foi separada e extraída com tolueno (100 mL). As fases orgânicas foram, subsequentemente, lavadas com solução salina saturada (20 mL), secas (MgSO₄), filtradas e concentradas *in vacuo* para proporcionar um óleo laranja pálido (5,0 g). A cromatografia flash em sílica gel eluída com CH₂Cl₂ proporcionou 2,8 g (39%) do composto do subtítulo como um sólido amarelo.

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ 7,28–7,42 (m, 3H), 7,18 (t, $J = 2,1$ Hz, 2H), 6,38 (t, $J = 2,1$ Hz, 2H), 5,40 (s, 1H), 1,72 (d, $J = 8,2$ Hz, 6H).

(ii) Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (3,1 g, 10,7 mmol; ver passo (i) acima) em THF (40 mL) à temperatura ambiente, foi adicionado NaOH 3 N (36 mL, 107,3 mmol) em conjunto com brometo de tetrabutilamónio (0,35 g, 1,07 mmol). A mistura reaccional foi depois agitada à temperatura ambiente durante mais 2 h. A mistura reaccional foi concentrada *in vacuo* para remover o THF. A restante fase aquosa foi arrefecida a 0 °C e acidificada para pH 2 com HCl concentrado e extraída com EtOAc (2 x 150 mL). Os orgânicos combinados foram lavados com solução salina saturada, secos (MgSO_4), filtrados e concentrados *in vacuo* para proporcionar uma espuma laranja. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl_3 :MeOH:hidróxido de amónio concentrado (85:15:5), proporcionou o sal de amónio do composto do subtítulo, como um sólido branco (2,0 g). A subsequente acidificação com HCl 2 N para pH 1, seguida por extracção com EtOAc, concentração *in vacuo* e secagem proporcionaram 1,8 g (68%) do composto do subtítulo como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ 7,52 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,22 (t, $J = 3$ Hz, 2H), 6,32 (t, $J = 3$ Hz, 2H), 5,4 (s, 1H).

(iii) Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(S) ou -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (1,8 g, 7,3 mmol; ver passo (ii) acima), Lipase PS 'Amano' (1,0 g), acetato de vinilo (5,0 mL) e MTBE (5,0 mL) foi aquecida a 45 °C durante 24 h. A reacção foi filtrada e o bolo do filtro lavado com EtOAc (100 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a cromatografia em sílica, eluída com CHCl₃:HOAc (95:5), para proporcionar 710 mg (38%) do composto do subtítulo (a) como um sólido branco e 910 mg (42%) do composto do subtítulo (b) como um sólido colorido cremoso.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 7,54 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,19 (d, *J* = 3 Hz, 2H), 6,30 (d, *J* = 3 Hz, 2H), 5,21 (s, 1H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CD₃OD): δ 175,2, 142,9, 136,1, 124,4, 120,3, 119,9, 117,3, 112,0, 73,2.

Análise por HPLC: 98,3%, 98,0% ee.

$[\alpha]_D^{25} = -99^\circ$ (c = 1,0, metanol)

API-MS: (M+1) 252 m/z

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ 7,52 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,20 (br s, 2H), 6,30 (br s, 2H), 5,22 (s, 1H), 1,98 (s, 3H).

(iv) Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)OH (285 mg, 1,14 mmol; ver passo (iii) acima), HAZe-Pab(Teoc) (470 mg, 1,25 mmol), PyBOP (650 mg, 1,25 mmol) e 2,4,6-colidina (0,33 mL, 2,49 mmol) em DMF (14 mL), foi agitada a 0 °C durante 2 h e, depois, a 25 °C durante 30 minutos. A reacção foi arrefecida rapidamente com H_2O (50 mL) e extraída com EtOAc (3 x 50 mL). Os extractos combinados foram secos (Na_2SO_4), filtrados e concentrados *in vacuo*. A cromatografia flash (2x) em sílica gel, eluída com EtOAc, proporcionou 180 mg (26%) do composto do subtítulo como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ 7,74-7,86 (m, 2H), 7,14-7,58 (m, 7H), 6,28 (br s, 2H), 5,14-5,28 (m, 2H), 4,76-4,82 (m, 1H), 3,92-4,58 (m, 7H), 2,40-2,68 (m, 2H), 2,10-2,38 (m, 2H), 1,02-1,16 (m, 2H), 0,09 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 610 m/z

(v) Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (38 mg, 0,06 mmol; ver passo (iv) acima) em acetonitrilo, foi adicionado ião fluoreto ligado a polímero

(Amberlyst® A-26) (170 mg) e a mistura foi aquecida a 60 °C de um dia para o outro, depois a 70 °C durante 4 h. A mistura resultante foi filtrada, o polímero foi lavado com e a solução foi lavada com acetonitrilo, etanol e THF, e a solução foi concentrada *in vacuo*. O produto em bruto foi purificado duas vezes utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amónio 0,1 M, 40:60 e CH₃CN:acetato de amónio 0,1 M, 30:70, respectivamente). As fracções de interesse foram secas por congelação (3x), proporcionando 8 mg (28%) do composto do título.

RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 7,77 (m, 2H), 7,61-7,48 (m, 3H), 7,40 (d, 1H), 7,26 (m, 2H), 6,33 (m, 2H), 5,30 (d, 1H), 4,68-4,25 (m, 2H), 4,09 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 1,94 (s, 3H)

LC-MS: (M+1) 466 m/z

Exemplo 21

Ph(3-Cl,5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)

(i) Ph(3-Cl,5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-n-Pr)

A uma solução de Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,064 mol; ver Exemplo 9 (vi) acima) em THF (3 mL), foi adicionada O-n-propil-hidroxilamina x HCl (43 mg, 0,38 mmol) e a solução foi aquecida a 60 °C durante 4,5 h. A solução foi concentrada *in vacuo* e o material em bruto resultante foi purificado por

cromatografia flash (gel de Si, EtOAc:MeOH 9:1). As fracções de interesse foram concentradas, proporcionando 43 mg (98%) do composto do subtítulo.

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD): δ 7,75 (2s, 1H), 7,59 (br, 1H), 7,43 (d, 2H), 7,23 (m, 3H), 5,18 (br, 1H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,20-4,05 (m, 5H), 3,99 (t, 3H), 3,84 (m, 2H), 2,55 (t, 2H), 2,28 (m, 1H), 2,12 (m, 2H), 1,71 (m, 2H), 0,99 (m, 4H), 0,02 (s, 9H).

(ii) Ph(3-Cl,5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(On-Pr)

A uma solução gelada de Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)(Teoc) (43 mg, 0,063 mmol; do Passo (i) acima) em cloreto de metileno (0,5 mL), foi adicionada TFA (2,5 mL) e a solução foi agitada a 0 °C durante 100 min, subsequentemente, a solução foi concentrada *in vacuo* e o material em bruto resultante foi purificado utilizando HPLC preparativa (CH_3CN :acetato de amónio 0,1 M, 30:70). As fracções de interesse foram reunidas e secas por congelação, proporcionando 23 mg (68%).

Pureza de 99,9%

LC-MS (M+1) 542 m/z

RMN de ^1H (400 MHz; CD_3OD) (complexo devido ao rotamerismo): δ 7,75 (br, 1H), 7,57 (m, 2,5H), 7,49 (s, 0,5H), 7,36-7,22 (m, 3H), 5,16 (s, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,48-4,32 (m, 3H), 4,17 (m,

1H), 3,97 (m, 2H), 3,86 (m, 2H), 2,55 (t, 3H), 2,52 (m, 0,5H), 2,28 (m, 0,5H), 2,13 (m, 3H), 1,71 (m, 2H), 0,98 (m, 2H).

Exemplo 22

Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (OMe)

A uma mistura de Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (80 mg, 0,13 mmol; ver Exemplo 9(vi) acima) em THF (6 mL), foi adicionada O-metil-hidroxilamina x HCl (64 mg, 0,77 mmol). A mistura foi agitada a 60°C durante 5 h e, depois, evaporada. O resíduo foi submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com acetato de etilo:metanol (9:1), para proporcionar 75 mg do produto em bruto. O produto em bruto foi depois purificado utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amónio 0,1 M, 60:40). As fracções de interesse foram concentradas. O CH₃CN foi removido *in vacuo*. A fase aquosa foi extraída com EtOAc (3x). As fases de acetato de etilo combinadas foram lavadas com solução salina saturada, depois, secas (Na₂SO₄) e concentradas, proporcionando 65,8 mg (78%) do composto do subtítulo.

RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 7,97-7,90 (m, 1H), 7,60-7,55 (m, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,29 (d, 2H), 7,13 (s, 1H), 4,95-4,81 (m, 2H), 4,55-4,30 (m, 3H), 4,18-4,09 (m, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,87-3,75 (m, 3H), 2,69-2,55 (m, 3H), 2,45-2,34 (m, 1H),

2,20-2,10 (m, 2H), 2,00 (br, 1H), 1,01-0,92 (m, 2H), 0,00 (s, 9H).

(ii) Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou
-(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A uma solução gelada de Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- ou -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (55,9 mg, 0,08 mmol; do passo (i) acima) em cloreto de metileno (0,5 mL), foi adicionada TFA (3,0 mL). A solução foi agitada a 0 °C durante 130 min, subsequentemente, a solução foi concentrada *in vacuo* e o material em bruto resultante foi purificado utilizando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amónio 0,1 M, 30:70). As fracções de interesse foram reunidas e secas por congelação (2x), proporcionando 38 mg (87%) do composto do título.

LC-MS (M+1) 514 m/z

RMN de ¹H (400 MHz; CD₃OD) d 7,75 (s, 1H), 7,62-7,47 (m, 3H), 7,36-7,21 (m, 3H), 5,19-5,10 (m, 1H), 4,48-3,93 (m, 4H), 3,89-3,79 (m, 5H), 2,72-2,45 (m, 3H), 2,33-2,06 (m, 3H).

Exemplo 23

Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)- ou -(S)CH(OH)C(O)-
Aze-Pab(OMe)

(i) (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NHMe)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-
dioxolano

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5NH₂)-2,2-dimediil-4-oxo-1,3-dioxolano (3,0 g, 12,4 mmol; ver Exemplo 9(ii) acima), formaldeído (0,81 mL de 37% em peso em H₂O, 9,9 mmol) e óxido de platina(IV) (330 mg) em EtOAc (100 mL), foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio durante 5 h a 25 °C. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite e o bolo do filtro lavado com EtOAc (200 mL). Os orgânicos foram concentrados *in vacuo* e submetidos a cromatografia flash em sílica gel, eluída com EtOAc:Hex (1:4), para proporcionar 1,63 g (52%) do composto do subtítulo, como um óleo amarelo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6,75 (s, 1H), 6,54 (s, 2H), 5,25 (s, 1H), 3,90 (br s, 1H), 2,80 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,64 (s, 3H).

(ii) (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-2,2-dimetil-
4-oxo-1,3-dioxolano

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NHMe)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (945 mg, 3,70 mmol; ver passo (i) acima) e trietilamina (560 mg, 5,54 mmol) em acetona (20 mL) a 0 °C, foi adicionado, gota a gota, cloreto de isovalerilo (623 mg, 5,17 mmol). A mistura foi agitada durante 0,5 h e particionada

com EtOAc (3 x 30 mL) e H₂O (30 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com NaHCO₃ aquoso (30 mL), secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo* para proporcionar 1,35 g (> 100%) do composto do subtítulo, como um óleo amarelo que foi utilizado directamente sem purificação.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,50 (s, 1H), 7,20 (s, 2H), 5,38 (s, 1H), 3,28 (s, 3H), 1,90-2,22 (m, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H).

(iii) Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (1,35 g, 3,97 mmol; ver passo (ii) acima) e NaOH (1,60 g, 39,7 mmol) em MeOH (20 mL), foi agitada durante 1 h a 25 °C. A mistura foi concentrada *in vacuo* e o resíduo foi diluído com H₂O (30 mL), acidificado com HCl 2 N (20 mL) e extraída com EtOAc (3 x 50 mL). Os extractos orgânicos combinados foram secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo* para proporcionar 1,0 g (100%) do composto do subtítulo como um óleo amarelo que foi utilizado directamente sem purificação.

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,34 (s, 2H), 5,21 (s, 1H), 3,23 (s, 3H), 1,90-2,10 (m, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H).

(iv) Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)- ou
-(S)-CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-(S)- ou
-(R)-CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-
(R,S)CH(OH)C(O)OH (1,0 g, 3,34 mmol; ver passo (iii) acima) e
Lipase PS Amano (510 mg) em acetato de vinilo (25 mL) e MTBE
(25 mL) foi aquecida a 55 °C durante 14 h. A reacção foi
filtrada através de Celite e o bolo do filtro lavado com MeOH
(200 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a
cromatografia em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₄OH
concentrado (6,5:3,0:0,5), para proporcionar 285 mg do sal de
amónio do composto do subtítulo (a), como uma espuma quebrável e
370 mg (32%) do sal de amónio do composto do subtítulo (b), como
uma espuma brancerca O sal de amónio do composto do subtítulo
(a) foi recolhido em EtOAc (25 mL) e neutralizado com HCl 2 M em
Et₂O (0,60 mL). Foi adicionada água (25 mL) e as camadas foram
separadas. A camada orgânica foi extraída com EtOAc (2 x 25 mL)
e os extratos orgânicos foram secos (Na₂SO₄), filtrados e
concentrados *in vacuo* para proporcionar 230 mg (23%) do composto
do subtítulo (a) como uma espuma branca quebrável.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,34 (s, 1H),
7,30 (s, 1H), 5,21 (s, 1H), 3,23 (s, 3H), 1,90-2,10 (m, 3H),
0,70-0,92 (m, 6H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CD₃OD) δ 175,4, 175,0, 146,6, 145,2,
136,2, 128,1, 127,4, 125,6, 73,6, 44,0, 37,7, 27,4, 22,8.

Análise por HPLC: 96,0%, >99% ee

$[\alpha]_D^{25} = -85,1^\circ$ (c = 0,5, MeOH)

API-MS (M+1) = 300 m/z

Para o composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 3,23 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,90-2,10 (m, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H).

(v) Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)- ou
-(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)- ou -(S)-CH(OH)C(O)OH (119 mg, 0,40 mmol; ver passo (iv) acima) e H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (146 mg, 0,44 mmol; ver Exemplo 2(iv) acima) em DMF (5 mL), foi adicionado PyBOP (227 mg, 0,44 mmol) e colidina (168 mg, 1,39 mmol). A solução foi agitada durante 3 h a 0 °C sob azoto. A mistura foi particionada com EtOAc (3 x 30 mL) e H_2O (30 mL), seca (Na_2SO_4), filtrada e concentrada *in vacuo*. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (15:1), proporcionou 125 mg (58%) do composto do título como uma espuma branca quebrável.

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD , mistura de rotâmeros) δ 7,60 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,42-7,54 (m, 1H), 7,20-7,50 (m, 4H), 5,20 e 5,14 (s, 1H), 4,72-4,81 (m, 1H), 4,30-4,48 (m, 3H), 3,90-4,20 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,46-2,72 (m, 2H), 2,10-2,36 (m, 1H), 1,94-2,10 (m, 2H), 0,80-0,94 (m, 6H).

API-MS (M+1) = 545 m/z

Exemplo 24

Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R)- ou
-(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-2,2-
dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

A uma solução de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NHMe)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (945 mg, 3,70 mmol; ver Exemplo 23 (i) acima) e trietilamina (635 mg, 5,86 mmol) em acetona (20 mL) a 0 °C, foi adicionado, gota a gota, cloreto de ciclopentanocarbonilo (776 mg, 5,86 mmol). A mistura foi agitada durante 1 h e particionada com EtOAc (3 x 30 mL) e H₂O (30 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com NaHCO₃ aquoso (30 mL), secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo* para proporcionar 1,58 g (> 100%) do composto do subtítulo, como um óleo amarelo que foi utilizado directamente sem purificação.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,50 (s, 1H), 7,20 (s, 2H), 5,38 (s, 1H), 3,28 (s, 3H), 2,50-2,60 (m, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,40-1,90 (m, 8H).

(ii) Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Uma mistura de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

(1,58 g, 5,07 mmol; ver passo (i) acima) e NaOH (2,03 g, 50,7 mmol) em MeOH (25 mL), foi agitada 1 h a 25 °C. A mistura foi concentrada *in vacuo*, diluída com H₂O (30 mL) e acidificada com HCl 2 N (20 mL). A camada aquosa foi extraída com EtOAc (3 x 50 mL), os extractos orgânicos combinados foram secos (Na₂SO₄), filtrados e concentrados *in vacuo* para proporcionar 1,17 g (100%) do composto do subtítulo como uma espuma branca, que foi utilizada directamente sem purificação.

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,32 (s, 2H), 5,20 (s, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,50–2,62 (m, 1H), 1,40–1,80 (m, 8H).

(iii) Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R)- ou
-(S)-CH(OH)C(O)OH (a) e Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-
(S)- ou -(R)-CH(OAc)C(O)OH (b)

Uma mistura de Ph(3-Cl, 5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (1,17 g, 3,75 mmol; ver passo (ii) acima) e Lipase PS Amano (600 mg) em acetato de vinilo (25 mL) e MTBE (25 mL), foi aquecida a 55 °C durante 14 h. A reacção foi filtrada através de Celite e o bolo do filtro lavado com MeOH (100 mL). O filtrado foi concentrado *in vacuo* e submetido a cromatografia em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH:NH₄OH concentrado (6,5:3,0:0,5), para proporcionar 336 mg do sal de amónio do composto do subtítulo (a), como uma espuma quebrável e 557 mg (50%) do sal de amónio do composto do subtítulo (b), como uma espuma brancerca. O sal de amónio do composto do subtítulo (a) foi recolhido em EtOAc (25 mL) e neutralizado com HCl 2 M em Et₂O (0,70 mL). Foi adicionada água (25 mL) e as camadas foram separadas. A camada aquosa foi extraída com EtOAc (2 x 25 mL) e

os extractos orgânicos foram secos (Na_2SO_4), filtrados e concentrados, para proporcionar 290 mg (29%) do composto do subtítulo (a) como uma espuma branca quebrável.

Para o composto do subtítulo (a):

RMN de ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,32 (s, 2H), 5,20 (s, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,50-2,62 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 8H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 178,8, 175,1, 146,5, 144,9, 136,2, 128,2, 127,5, 125,7, 73,0, 43,4, 38,0, 32,2, 27,3.

Análise por HPLC: 91,9%, > 99% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -77,9^\circ$ (c = 1,0, MeOH)

CI-MS (M+1) = 312 m/z

Para composto do subtítulo (b):

RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,50-2,62 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 1,40-1,80 (m, 8H).

(iv) Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R)- ou -
(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

A uma mistura Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-
(R,S)CH(OH)C(O)OH (120 mg, 0,39 mmol; ver passo (iii) acima) e

HAze-Pab(OMe) x 2HCl (142 mg, 0,42 mmol; ver Exemplo 2 (iv) acima) em DMF (5 mL) foi adicionado PyBOP (220 mg, 0,42 mmol) e colidina (161 mg, 1,35 mmol). A solução foi agitada duante 6 h a 0 °C sob azoto. A mistura foi particionada com EtOAc (3 x 30 mL) e H₂O (30 mL), seca (Na₂SO₄), filtrada e concentrada *in vacuo*. A cromatografia flash em sílica gel, eluída com CHCl₃:MeOH (15:1), seguida por cromatografia com EtOAc:EtOH (20:1) proporcionou 85 mg (40%) do composto do título como uma espuma branca quebrável.

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD, mistura de rotâmeros) δ 7,60 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,42-7,54 (m, 1H), 7,20-7,50 (m, 4H), 5,20 e 5,14 (s, 1H), 4,72-4,81 (m, 1H), 4,30-4,48 (m, 3H), 3,90-4,20 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,46-2,72 (m, 2H), 2,10-2,36 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 8H).

API-MS (M+1) = 556 m/z

Exemplo 25

Os compostos do título dos Exemplos 1, 3 a 11 e 20 foram testados no Teste A acima e verificou-se que exibiram um valor de IC₅₀TT inferior a 0,5 µM.

Exemplo 26

Os compostos do título dos Exemplos 2, 12, 13, 15, 18, 19 e 21 foram testados no Teste E acima e verificou-se que exibiram uma biodisponibilidade oral e/ou parentérica no rato como o inibidor activo correspondente (amidina livre).

Exemplo 27

Os compostos do título dos Exemplos 2, 12 a 19 e 21 foram testados no Teste G acima e exibiram formação do inibidor activo correspondente (amidina livre).

Abreviaturas

Ac = acetilo

AcOH = ácido acético

API = ionização à pressão atmosférica (em relação ao EM)

Aze = azetidina-2-carboxilato

AzeOH = ácido azetidina-2-carboxílico

Bzl = benzilo

CI = ionização química (em relação ao EM)

DIPEA = diisopropiletilamina

DMAP = 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina

DMF = dimetilformamida

DMSO = dimetilsulfóxido

EDC = cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida

Et = etilo

ether = éter etílico

EtOAc = acetato de etilo

EtOH = etanol

h = horas

HATU = hexafluorofosfato de O-(azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurónio

HBTU = [hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)urónio]

HCl = ácido clorídrico

HCl (g) = cloreto de hidrogénio gasoso

Hex = hexanos

HOAc = ácido acético

HPLC = cromatografia líquida de elevado desempenho

LC = cromatografia líquida

Me = metilo

MeOH = metanol

MS = espectroscopia de massa

MTBE = éter de *terc*-butilmetílico

Pab = *para*-amidinobenzilamino

H-Pab = *para*-amidinobenzilamina

PyBOP = hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidino-fosfónio

RPLC = cromatografia líquida de elevado desempenho de fase reversa

t.a. = temperatura ambiente

TBTU = [tetrafluoroborato de *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(benzotriazol-1-il)urónio]

TEA = trietilamina

Teoc = 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo

TFA = ácido trifluoroacético

THF = tetra-hidrofurano

THP = tetra-hidropiraniolo

TLC = cromatografia de camada fina

TMSCN = cianeto de trimetilsililo

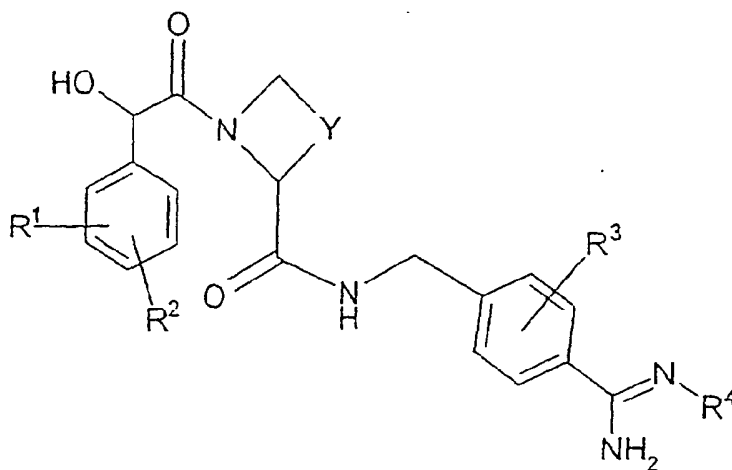
Z = benziloxicarbonilo

Os prefixos *n*, *s*, *i* e *t* apresentam os seus significados habituais: normal, secundário, iso e terciário.

Lisboa, 3 de Janeiro de 2008

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula I,



em que

R^1 representa um substituinte $N(R^5)R^6$ ou um $S(O)_mR^7$;

R^2 e R^3 representam, independentemente, um substituinte opcional seleccionado de halo, alquilo C_{1-4} ou alcoxilo C_{1-4} , cujos últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com halo;

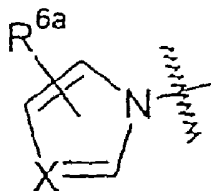
Y representa alquilenoc C_{1-3} , opcionalmente substituído com alquilo C_{1-4} , metileno, =O ou hidroxilo;

R^4 representa H, OH, OR^{8a} , $C(O)OR^{8b}$ ou R^{8c} ;

R^5 representa alquiloC₁₋₆ opcionalmente substituído com halo ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual estão ligados, R^5 e R^6 representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto, cujo anel inclui, opcionalmente, um átomo de oxigénio e/ou é opcionalmente substituído com um grupo =O;

R^6 representa alquiloC₁₋₆ opcionalmente substituído com halo, C(O) R^9 ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto ao qual estão ligados R^5 e R^6 representam um anel de 3 a 7 membros contendo azoto, cujo anel inclui, opcionalmente, um átomo de oxigénio e/ou é opcionalmente substituído com um grupo =O;

ou o grupo N(R^5) R^6 representa o fragmento estrutural Ia,



Ia

R^6a representa um ou mais substituintes opcionais seleccionados de halo, alquiloC₁₋₄ e alcoxiloC₁₋₄, cujos últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com halo;

X representa CH ou N;

m representa 0, 1 ou 2;

R^7 representa H, NH_2 ou alquilo C_{1-6} ;

R^{8a} e R^{8b} representam, independentemente, alquilo C_{1-10} , alquil C_{1-3} fenilo ou arilo C_{6-10} ou R^{8a} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$, $C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR^{12}$ ou $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$;

R^{8c} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$, $C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR^{12}$ ou $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$;

R^{10a} e R^{10b} representam, independentemente, em cada situação, H ou alquilo C_{1-4} ;

R^{11} representa, em cada situação, arilo C_{6-10} , OR^{12} ou alquilo C_{1-7} , cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO_2H e arilo C_{6-10} ;

R^{12} representa, em cada situação, arilo C_{6-10} ou alquilo C_{1-6} , cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO_2H e arilo C_{6-10} ;

R^9 representa alquilo C_{1-8} , Het^1 , arilo C_{6-10} ou alquilo C_{1-4} substituído com arilo C_{6-10} ; e,

Het^1 representa um anel heterocíclico de 4 a 12 membros, cujo anel contém um ou mais heteroátomos seleccionados de oxigénio, azoto e/ou enxofre, e cujo anel pode ser totalmente saturado, parcialmente saturado ou aromático e/ou opcionalmente monocíclico, bicíclico e/ou fundido a benzo;

em que cada grupo arilo/fenilo e grupo Het¹, identificado acima, é opcionalmente substituído com um ou mais grupos halo, alquiloC₁₋₄ e/ou alcoxiloC₁₋₄, cujos últimos dois grupos são, eles próprios, opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo;

cada grupo arilo representa fenilo ou naftilo; ou um seu sal farmacêuticamente aceitável,

desde que:

(a) quando m representa 1 ou 2, então R⁷ não representa H; e

(b) quando m representa 0, então R⁷, não representa NH₂;

2. Composto como reivindicado na Reivindicação 1, em que quando R⁵ e R⁶, em conjunto como átomo de azoto ao qual estão ligados, representa um anel de 3 a 7 membros substituído com um grupo =O, o anel é substituído num átomo de carbono que é α ao átomo de azoto.
3. Composto como reivindicado na Reivindicação 1 ou Reinvidicação 2, em que R² representa alquiloC₁₋₄ ou alcoxiloC₁₋₄ linear ou ramificado, cujos últimos dois grupos são opcionalmente substuídos por halo, ou halo.
4. Composto como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que R³ está ausente ou representa alquiloC₁₋₄ linear ou ramificado ou halo.

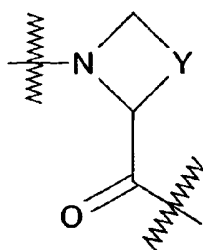
5. Composto como reivindicado na Reivindicação 4, em que R^3 representa um grupo metilo ou cloro.
6. Composto como reivindicado na Reivindicação 4 ou Reivindicação 5, em que o substituinte está na posição 2 relativamente ao grupo $-CH_2-$ ao qual o anel fenilo está também ligado.
7. Composto como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que R^1 representa $N(R^5)R^6$.
8. Composto como reivindicado em qualquer uma das Reivindicações 1 ou 3 a 7, em que R^5 representa alquilo C_{1-7} linear, ramificado ou cíclico ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 4 a 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O.
9. Composto como reivindicado na Reivindicação 8, em que R^5 representa alquilo C_{1-4} ou, em conjunto com R^6 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 5 a 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O.
10. Composto como reivindicado em qualquer uma das Reivindicações 1 ou 3 a 9, em que R^6 representa alquilo C_{1-6} , C(O)-alquilo C_{1-6} linear, ramificado ou cíclico ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 4 a 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O.

11. Composto como reivindicado na Reivindicação 10, em que R^6 representa metilo, $C(O)$ -alquilo C_{1-6} ou, em conjunto com R^5 e o átomo de azoto ao qual R^5 e R^6 estão ligados, representam um anel de 5 a 6 membros contendo azoto, opcionalmente substituído com um grupo =O.
12. Composto como reivindicado em qualquer uma das Reivindicações 1 ou 3 a 6, em que R^7 representa um alquilo C_{1-6} linear, ramificado ou cíclico.
13. Composto como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que R^1 está ligado ao anel fenilo na posição 3 relativamente ao grupo $-CH(OH)-$, ao qual o anel fenilo está, também, ligado.
14. Composto como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que R^2 está ligado ao anel fenilo na posição 5 relativamente ao grupo $-CH(OH)-$, ao qual o anel fenilo está, também, ligado.
15. Composto como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que, quando R^4 representa OR^{8a} , então R^{8a} representa alquilo C_{1-6} linear ou ramificado, alquilo C_{4-5} cíclico, cujos dois últimos grupos estão, opcionalmente, interrompidos por oxigénio ou fenilo ou alquil C_{1-2} fenilo, a parte fenilo da qual os últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo, alquilo C_{1-4} e/ou alcoxilo C_{1-4} , cujos últimos dois grupos são, eles próprios, opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo ou R^{8a} representa $CH_2OC(O)R^{11}$, no qual R^{11} representa fenilo, alquilo C_{1-6} linear, ramificado ou cíclico, cujos últimos grupos são opcionalmente

substituídos com um substituinte seleccionado de OH, CO₂H e fenilo ou OR¹², em que R¹² representa fenilo ou alquiloC₁₋₆ linear, ramificado ou cíclico, cujo último grupo é opcionalmente substituído com um substituinte seleccionado de OH, CO₂H e fenilo.

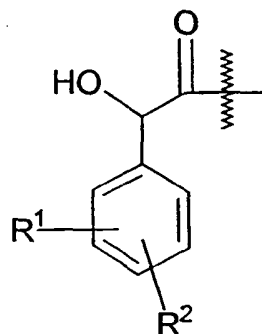
16. Composto como reivindicado em qualquer uma das Reivindicações 1 a 14, em que R⁴ representa C(O)OR^{8b}, então R^{8b} representa alquilC₁₋₂fenilo linear ou ramificado ou fenilo, a parte fenilo da qual os últimos dois grupos são opcionalmente substituídos com um ou mais grupos halo, alquiloC¹⁻⁴ e/ou alcoxiloC₁₋₄, cujos últimos dois grupos são, eles próprios, opcionalmente substituídos por um ou mais grupos halo.

17. Composto de fórmula I, como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o fragmento



está na configuração S.

18. Composto de fórmula I, como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o fragmento

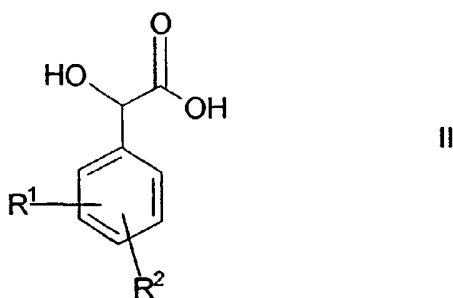


está na configuração R.

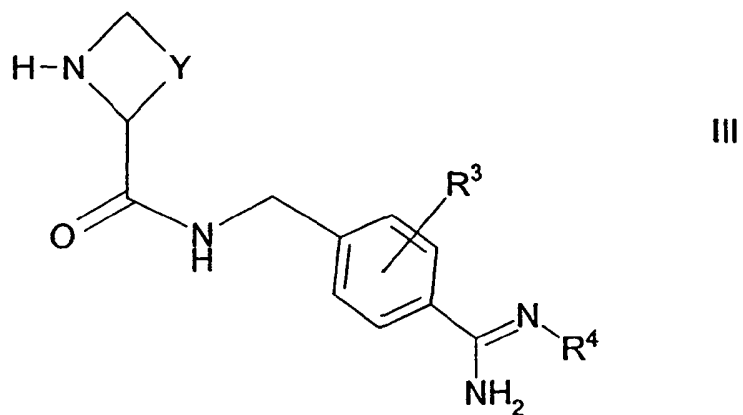
19. Formulação farmacêutica incluindo um composto como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18 ou um seu sal farmacêuticamente aceitável em mistura com um adjuvante, diluente ou veículo farmacêuticamente aceitável.
20. Composto como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, para utilização como um produto farmacêutico.
21. Composto como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, para utilização no tratamento de uma patologia onde é necessária a inibição da trombina.
22. Composto como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, para utilização no tratamento de trombose.
23. Composto como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, para utilização como um anticoagulante.

24. Utilização de um composto como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, como ingrediente activo na preparação de um medicamento para o tratamento de uma patologia onde é necessária a inibição da trombina.
25. Utilização, como reivindicado na Reivindicação 24, em que a patologia é a trombose.
26. Utilização, como reivindicado na Reivindicação 24, em que a patologia é a hipercoagulação no sangue e tecidos.
27. Utilização de um composto, como definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 18, ou um seu sal farmacologicamente aceitável, como ingrediente activo na preparação de um anticoagulante.
28. Processo para a preparação de um composto de fórmula I que compreende:

(i) ligação de um composto de fórmula II,

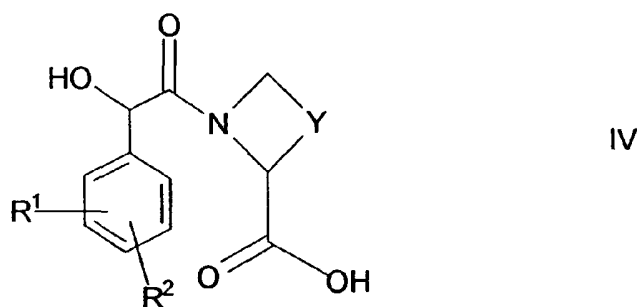


em que R¹ e R² são como definido na Reivindicação 1, com um composto de fórmula III,

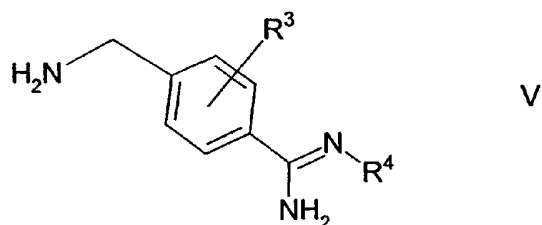


em que Y, R³, e R⁴ são como definido na Reivindicação 1;

(ii) a ligação de um composto de fórmula IV,

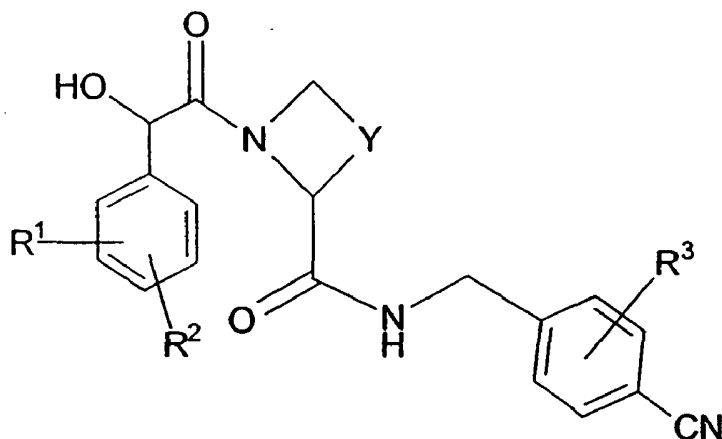


em que R¹, R² e Y são como definido na Reivindicação 1,
com um composto de fórmula V,



em que R³ e R⁴ são como definido na Reivindicação 1;

(iii) para compostos de fórmula I, nos quais R^4 representa OH ou OR^{8a} , reacção de um composto de fórmula VI,



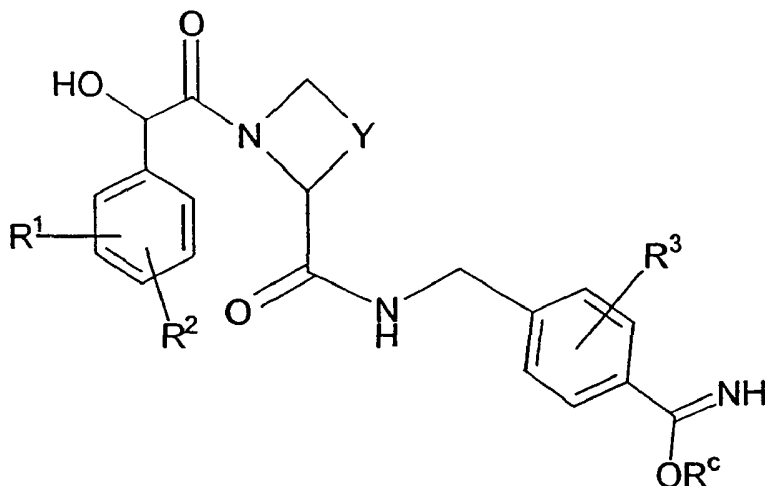
VI

em que R^1 , R^2 , Y e R^3 são como definido na Reivindicação 1, com um composto de fórmula VII,



VII

em que R^a representa H ou R^{8a} e R^{8a} é como definido na Reivindicação 1, opcionalmente, por pré-tratamento do composto de fórmula VI com HCl gasoso, na presença de um álcool de alquilo inferior, para formar um composto de fórmula VIII,



VIII

em que R^c representa alquilo inferior e R^1 , R^2 , Y e R^3 são como definido na Reivindicação 1;

(iv) para compostos de fórmula I nos quais R^4 representa OH ou OR^{8a} , a reacção de um composto correspondendo a um composto de fórmula I, no qual, no lugar de R^4 , está presente um grupo de protecção $C(O)OR^{b1}$, no qual R^{b1} representa um grupo tal como 2-trimetilsililetilo, alquilo C_{1-6} ou alquilfenilo, com um composto de fórmula VII como definido acima;

(v) para compostos de fórmula I nos quais R^4 representa $C(O)OR^{8b}$, a reacção de um composto de fórmula I no qual R^4 representa H, com um composto de fórmula IX,



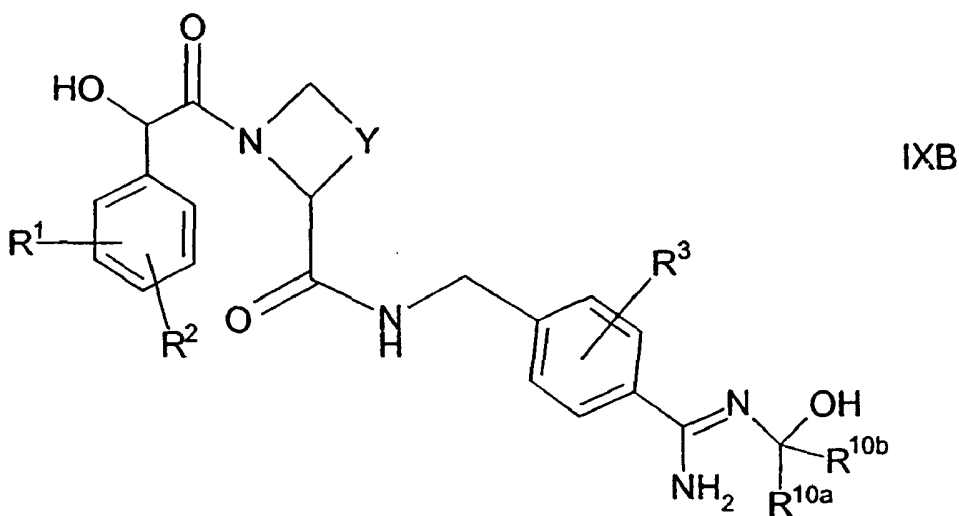
em que L^1 representa um grupo de saída e R^{8b} é como definido na Reivindicação 1;

(vi) para compostos de fórmula I nos quais R^4 representa OR^{8a} , a reacção de um composto correspondente de fórmula I, no qual R^4 representa OH, com um um composto de fórmula IXA



em que R^{8a} é como definido na Reivindicação 1 e L^1 é como definido acima;

(vii) para compostos de fórmula I, nos quais R^4 representa R^{8c} , em que R^{8c} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$ ou $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$, a reacção de um composto correspondente de fórmula IXB,

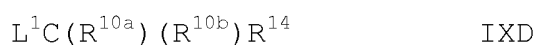


em que R^1 , R^2 , Y , R^3 , R^{10a} e R^{10b} são como definido na Reivindicação 1, com um composto de fórmula IXC,



em que R^{13} representa R^{11} ou $N(H)R^{12}$ e R^{11} e R^{12} são como definido na Reivindicação 1 e L^1 é como definido acima;

(viii) para compostos de fórmula I, nos quais R^4 representa R^{8c} , a reacção de um composto correspondente de fórmula I, no qual R^4 representa H, com um composto de fórmula IXD,



em que R_{14} representa $OC(O)R^{11}$, $NHC(O)OR^{12}$ ou $OC(O)N(H)R^{12}$ e R^{10a} , R^{10b} , R^{11} e R^{12} são como definido na Reivindicação 1 e L^1 é como definido acima;

(ix) para compostos de fórmula I, nos quais R^1 inclui um grupo $S(O)$ ou $S(O)_2$, a oxidação de um composto correspondente de fórmula I, em que R^1 inclui um grupo S;

(x) desprotecção de um derivado protegido de um composto de fórmula I como definido na Reivindicação 1; ou

(xi) introdução ou interconversão de um substituinte num anel aromático, não aromático, carbocíclico ou heterocíclico, num composto de fórmula I, como definido na Reivindicação 1.

Lisboa, 3 de Janeiro de 2008