

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

(22) Data de pedido: <b>2010.04.16</b>	(73) Titular(es): <b>THERAVANCE, INC.</b> <b>901 GATEWAY BOULEVARD SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080</b> <b>US</b>
(30) Prioridade(s): <b>2009.04.23 US 172039 P</b>	
(43) Data de publicação do pedido: <b>2012.02.29</b>	
(45) Data e BPI da concessão: <b>2013.04.03</b> <b>100/2013</b>	(72) Inventor(es): <b>JOHN R. JACOBSEN</b> <b>US</b> <b>ADAM HUGHES</b> <b>US</b> <b>YAN CHEN</b> <b>US</b> <b>MELISSA FLEURY</b> <b>US</b> <b>ERIC L. STANGELAND</b> <b>US</b>
	(74) Mandatário: <b>ANTÓNIO INFANTE DA CÂMARA TRIGUEIROS DE ARAGÃO</b> <b>RUA DO PATROCÍNIO, Nº 94 1399-019 LISBOA</b> <b>PT</b>

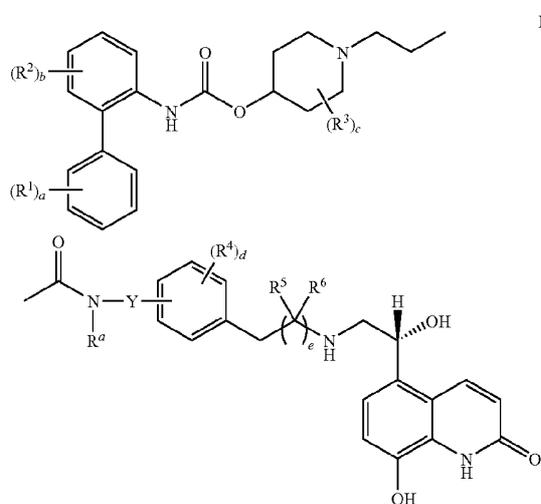
(54) Epígrafe: **COMPOSTOS DE DIAMIDA TENDO ACTIVIDADE ANTAGONISTA DO RECEPTOR MUSCARÍNICO E AGONISTA DO RECEPTOR ADRENÉRGICO BETA2**

(57) Resumo:  
ESTA INVENÇÃO REFERE-SE A UM COMPOSTO DE FÓRMULA I: OU UM SEU SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL. TAIS COMPOSTOS POSSUEM ACTIVIDADES ANTAGONISTA DO RECEPTOR MUSCARÍNICO E AGONISTA DO RECEPTOR ADRENÉRGICO &#914;2. A INVENÇÃO TAMBÉM SE REFERE A COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO TAIS COMPOSTOS, A PROCESSOS E INTERMEDIÁRIOS PARA PREPARAR TAIS COMPOSTOS E A MÉTODOS DE UTILIZAÇÃO DE TAIS COMPOSTOS COMO AGENTES BRONCODILATADORES PARA TRATAR DISTÚRBIOS PULMONARES.

## RESUMO

### "COMPOSTOS DE DIAMIDA TENDO ACTIVIDADE ANTAGONISTA DO RECEPTOR MUSCARÍNICO E AGONISTA DO RECEPTOR ADRENÉRGICO BETA2"

Esta invenção refere-se a um composto de fórmula I:



ou um seu sal farmacologicamente aceitável. Tais compostos possuem actividades antagonista do receptor muscarínico e agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ . A invenção também se refere a composições farmacêuticas compreendendo tais compostos, a processos e intermediários para preparar tais compostos e a métodos de utilização de tais compostos como agentes broncodilatadores para tratar distúrbios pulmonares.

## DESCRIÇÃO

### "COMPOSTOS DE DIAMIDA TENDO ACTIVIDADE ANTAGONISTA DO RECEPTOR MUSCARÍNICO E AGONISTA DO RECEPTOR ADRENÉRGICO BETA2"

#### ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

##### Campo da Invenção

Esta invenção refere-se a novos compostos de diamida tendo actividade antagonista do receptor muscarínico e agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ . A invenção refere-se também a composições farmacêuticas compreendendo tais compostos e a processos e intermediários para preparar tais compostos. Os compostos encontram utilidade como agentes broncodilatadores para tratar distúrbios pulmonares.

##### Estado da Técnica

Os distúrbios pulmonares, tais como a doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD) e a asma, são tratados geralmente com broncodilatadores. Ver, por exemplo, Ziedalski et al., *Advances in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Expert Opin. Pharmacother.*, (2003) 4(7), 1063-1082; Tashkin et al., *The Role of Long-Acting Bronchodilators in the Management of Stable COPD, Chest*, 2004: 125; 249-259; and Donohue, *Therapeutic Responses in Asthma and COPD: Bronchodilators, Chest*, 2004: 126; 125-137. Tais

broncodilatadores são tipicamente administrados utilizando um dispositivo inalador portátil.

Os agentes broncodilatadores habitualmente utilizados têm tipicamente actividade antagonista do receptor muscarínico (*i. e.*, agentes anticolinérgicos) ou actividade agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$  (adenorreceptor). Mais recentemente, foram reportados compostos tendo ambas as actividades antagonista do receptor muscarínico e agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$  (MABA) na mesma molécula. Por exemplo, a Patente U.S. N° 7141671, concedida em 28 de Novembro de 2006, divulga compostos de bifenilo tendo ambas as actividades antagonista do receptor muscarínico e agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ .

É esperado que os compostos MABA de acção dupla sejam particularmente úteis para tratar distúrbios pulmonares porque tais compostos podem ser formulados e administrados como um único agente terapêutico mas, uma vez administrados, estes proporcionam broncodilatação através de dois modos de acção distintos e possivelmente sinérgicos. Adicionalmente, os compostos MABA têm o potencial para serem combinados com um agente anti-inflamatório, tal como um corticosteróide inalado (ICS), para proporcionar terapia tripla num único inalador utilizando apenas dois agentes terapêuticos (MABA + ICS).

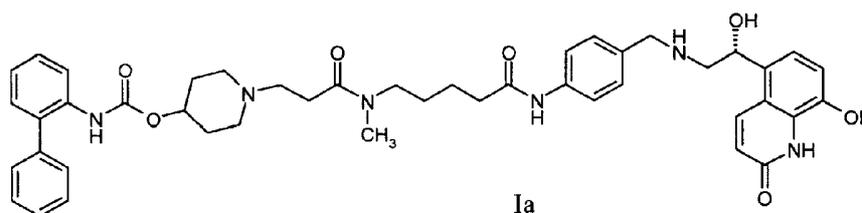
Assim, existe uma necessidade para novos compostos MABA. Em particular, existe uma necessidade para novos compostos MABA que sejam altamente eficazes tanto como um antagonista do receptor muscarínico como um agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ . Adicionalmente, os compostos MABA tendo uma longa duração de acção, *i. e.*, compostos que proporcionam uma broncodilatação significativa durante, pelo menos, cerca de 24 horas após administração por inalação, podem ser particularmente úteis para

tratar determinados distúrbios pulmonares onde é desejada uma administração uma vez ao dia de um agente broncodilatador.

### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

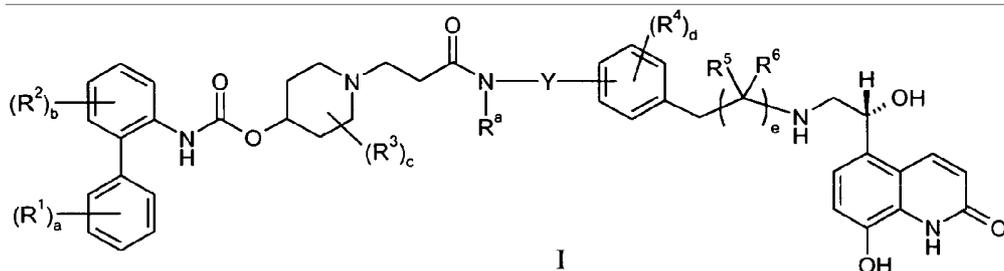
Esta invenção refere-se a novos compostos de diamida tendo ambas as actividades antagonista do receptor muscarínico e agonista do receptor adrenérgico  $\beta 2$ . Tais compostos produzem broncodilatação quando administrados a um mamífero por inalação. Verificou-se que os compostos desta invenção possuem uma longa acção de duração, *i. e.*, para produzirem broncodilatação durante, pelo menos, cerca de 24 horas após a administração. Desta forma, é esperado que os compostos desta invenção sejam úteis e vantajosos como agentes broncodilatadores para tratamento de distúrbios pulmonares.

A invenção proporciona um composto da fórmula Ia



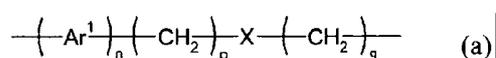
ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

A fórmula Ia é um membro da classe de compostos de fórmula I:



em que

Y é um grupo da fórmula (a):



e Y está ligado na posição 3 ou 4 do anel fenileno relativamente ao grupo  $\text{---CH}_2\text{---}(\text{CR}^5\text{R}^6)_e\text{---}$ ;

X é seleccionado de  $\text{---C(O)NH---}$  e  $\text{---NHC(O)---}$ ;

$\text{Ar}^1$  é seleccionado de fen-1,3-ileno e fen-1,4-ileno, em que o grupo fenileno está não substituído ou substituído com 1 a 3 substituintes independentemente seleccionados de alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ,  $\text{---O---}$ (alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ) e halo;

cada  $\text{R}^1$  é independentemente seleccionado de alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ,  $\text{---O---}$ (alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ), hidroxilo e halo;

cada  $\text{R}^2$  é independentemente seleccionado de alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ,  $\text{---O---}$ (alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ) e halo;

cada  $\text{R}^3$  é independentemente seleccionado de alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ; ou dois grupos  $\text{R}^3$  estão ligados para formar alquileno  $\text{C}_{1-3}$ , alcenileno  $\text{C}_{2-3}$  ou oxirano-2,3-diilo;

cada  $\text{R}^4$  é independentemente seleccionado de alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ,  $\text{---O---}$ (alquilo  $\text{C}_{1-3}$ ) e halo;

$\text{R}^5$  é seleccionado de hidrogénio, metilo e etilo;

$\text{R}^6$  é seleccionado de hidrogénio, metilo e etilo;

$\text{R}^a$  é seleccionado de alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ;

a é 0, 1, 2 ou 3;

b é 0, 1, 2 ou 3;

$c$  é 0, 1, 2, 3 ou 4;

$d$  é 0, 1, 2 ou 3;

$e$  é 0 ou 1;

$n$  é 0 ou 1;

$p$  é 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6; desde que, quando  $n$  for 0,  $p$  é 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

$q$  é 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

Como aqui utilizada adiante, a expressão "composto de fórmula I" significa um composto de fórmula I ou um seu sal farmacêuticamente aceitável; *i. e.*, esta frase significa um composto de fórmula I na forma de base livre ou numa forma salina farmacêuticamente aceitável, salvo indicação em contrário; e de modo semelhante com o "composto de fórmula Ia".

Noutro aspecto, esta invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo (a) um composto de fórmula Ia; (b) um veículo farmacêuticamente aceitável. Este aspecto da invenção inclui, por exemplo, composições farmacêuticas adequadas para administração por inalação.

Ainda noutro aspecto, esta invenção refere-se a uma composição compreendendo (a) um composto de fórmula Ia, e (b) um agente anti-inflamatório esteróide (*e. g.*, um corticosteróide). A expressão "agente anti-inflamatório esteróide" como aqui utilizada inclui sais e/ou solvatos farmacêuticamente aceitáveis de tais agentes, salvo indicação em contrário. Esta invenção também se refere a uma composição farmacêutica compreendendo (a) um composto de fórmula Ia; (b) um agente anti-inflamatório esteróide; e (c) um veículo farmacêuticamente aceitável. Estes aspectos da invenção incluem, por exemplo, composições adequadas para administração por inalação. Numa forma de realização

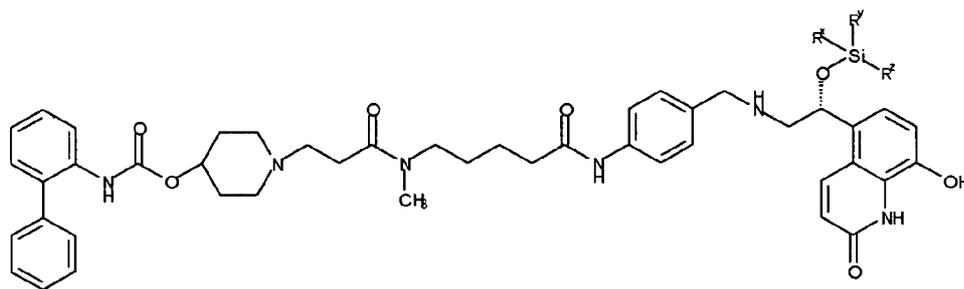
particular, o agente anti-inflamatório esteróide é um corticosteróide (e. g., um glucocorticóide), tal como propionato de fluticasona ou um seu solvato; ou furoato de fluticasona ou um seu solvato.

Esta invenção encontra utilidade num método para tratar um distúrbio pulmonar num doente compreendendo a administração de um composto de fórmula I ao doente. Isto inclui, por exemplo, tratar a doença pulmonar obstrutiva crónica ou a asma. São também úteis métodos em que um agente anti-inflamatório esteróide é administrado simultaneamente ou sequencialmente com o composto de fórmula Ia para tratar um distúrbio pulmonar.

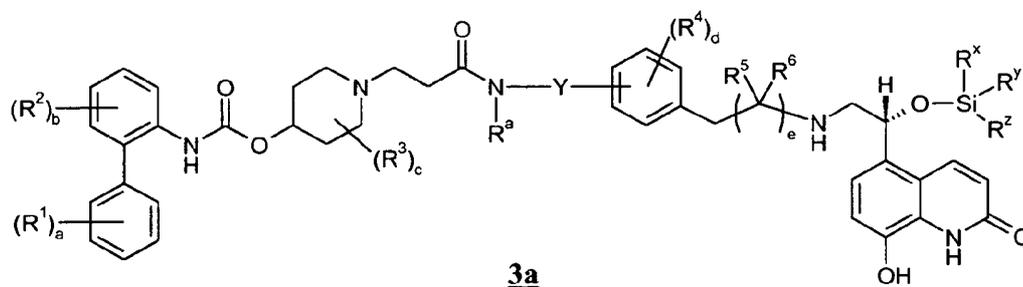
Esta invenção encontra também utilidade num método para produzir broncodilatação num mamífero compreendendo administrar uma quantidade produtora de broncodilatação de um composto de fórmula Ia ao mamífero, por exemplo, um humano.

Esta invenção encontra também utilidade num método para antagonizar um receptor muscarínico e agonizar um receptor adrenérgico  $\beta_2$  num sistema ou amostra biológica compreendendo um receptor muscarínico e um receptor adrenérgico  $\beta_2$ , o método compreendendo tratar a amostra ou sistema biológico com um composto de fórmula I. Podem ser utilizados métodos *in vivo* e *in vitro*.

Esta invenção também se refere a processos e novos intermediários úteis para preparar compostos de fórmula Ia. Numa tal forma de realização, esta invenção refere-se a um composto de fórmula



ou um seu sal, que é um exemplo específico de um composto da fórmula geral **3a**:



ou um seu sal, em que  $R^x$  e  $R^y$  são independentemente seleccionados de alquilo  $C_{1-4}$ , fenilo e -alquil  $C_{1-4}$ -(fenilo); e  $R^z$  é seleccionado de alquilo  $C_{1-4}$ , fenilo, -alquil  $C_{1-4}$ -(fenilo) e -O-(alquilo  $C_{1-4}$ ).

Contudo, noutros de seus aspectos de método, esta invenção refere-se a um processo de preparar um composto de fórmula Ia, o processo compreendendo desproteger um composto de fórmula acima para proporcionar um composto de fórmula Ia.

Outros aspectos e formas de realização desta invenção são aqui descritos.

## DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Os compostos de fórmula Ia contêm diversos grupos básicos (e. g., grupos amino) e, deste modo, tais compostos podem existir como a base livre ou em várias formas salinas, tais como uma forma salina mono-protonada ou uma forma salina di-protonada ou suas misturas. Todas essas formas estão incluídas no âmbito desta invenção, salvo indicação em contrário. Esta invenção inclui também compostos marcados isotopicamente de fórmula Ia, i. e., compostos de fórmula Ia onde um átomo foi substituído ou enriquecido com um átomo que tem o mesmo número atômico, mas uma massa atômica diferente da massa atômica que predomina na natureza. Os exemplos de isótopos que podem ser incorporados num composto de fórmula I incluem mas não estão limitados a  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$  e  $^{18}\text{F}$ . Têm particular interesse os compostos de fórmula Ia enriquecidos em trítio ou carbono-14, cujos compostos podem ser utilizados, por exemplo, em estudos de distribuição em tecido. Têm também particular interesse os compostos de fórmula Ia enriquecidos em deutério, especialmente num local de metabolismo, cujos compostos são esperados terem uma maior estabilidade metabólica. Têm também particular interesse os compostos de fórmula Ia enriquecidos num isótopo emissor de positrões, tais como  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$  e  $^{13}\text{N}$ , cujos compostos podem ser utilizados, por exemplo, em estudos de Tomografia por Emissão de Positrões (PET).

Numa forma de realização, o composto de fórmula Ia é uma base livre. Noutra forma de realização, o composto de fórmula Ia é uma forma monossalina. Ainda noutra forma de realização, o composto de fórmula Ia é uma forma dissalina.

## Definições

Ao descrever esta invenção incluindo os seus vários aspectos e formas de realização, os seguintes termos têm os seguintes significados, salvo indicação em contrário.

Os termos singulares "um" "uma", "o" e "a" incluem os termos no plural correspondentes, a menos que o contexto de utilização indique claramente o contrário.

O termo "alquilo" significa um grupo hidrocarboneto saturado monovalente que pode ser linear ou ramificado. Salvo definição em contrário, tais grupos alquilo contêm tipicamente desde 1 a 10 átomos de carbono. Os grupos alquilo representativos incluem, a título exemplificativo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo e *n*-decilo.

Quando um número específico de átomos de carbono for pretendido para um termo particular, o número de átomos de carbono é mostrado após o termo. Por exemplo, o termo "alquilo C<sub>1-3</sub>" significa um grupo alquilo tendo desde 1 a 3 átomos de carbono em que os átomos de carbono estão em qualquer configuração quimicamente aceitável, incluindo configurações lineares ou ramificadas.

O termo "alquileno" significa um grupo hidrocarboneto saturado divalente que pode ser linear ou ramificado. Salvo definição em contrário, tais grupos alquileno contêm tipicamente desde 1 a 10 átomos de carbono. Os grupos alquileno representativos incluem, a título exemplificativo, metileno, etano-1,2-diilo ("etileno"), propano-1,2-diilo, propano-1,3-diilo, butano-1,4-diilo e pentano-1,5-diilo.

A expressão "grupo protector de amino" significa um grupo protector adequado para prevenir reacções indesejadas num grupo amino. Os grupos protectores de amino representativos incluem mas não estão limitados a *terc*-butoxicarbonilo (BOC), tritilo (Tr), benziloxicarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), benzilo, formilo, trimetilsililo (TMS) e *terc*-butildimetilsililo (TBS).

A expressão "grupo protector de carboxilo" significa um grupo protector adequado para prevenir reacções indesejadas num grupo carboxilo (*i. e.*, -COOH). Os grupos protectores de carboxilo representativos incluem mas não estão limitados a, ésteres, tais como metilo, etilo, *terc*-butilo, benzilo (Bn), *p*-metoxibenzilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm), trimetilsililo (TMS), *terc*-butildimetilsililo (TBS, TBDMS) e difenilmetilo (benzo-hidrilo, DPM).

O termo "halo" significa fluoro, cloro, bromo e iodo.

A expressão "grupo protector de hidroxilo" significa um grupo protector adequado para prevenir reacções indesejáveis num grupo hidroxilo. Os grupos protectores de hidroxilo representativos incluem, mas não estão limitados a, grupos sililo incluindo grupos tri(alquil C<sub>1-6</sub>)sililo, tais como trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES) e *terc*-butildimetilsililo (TBS); ésteres (grupos acilo) incluindo grupos alcanóilo C<sub>1-6</sub>, tais como formilo e acetilo; grupos arilmetilo, tais como benzilo (Bn), *p*-metoxibenzilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm) e difenilmetilo (benzo-hidrilo, DPM). Adicionalmente, dois grupos hidroxilo podem também ser protegidos como um grupo alquilideno, tal como prop-2-ilidino, formado, por exemplo, por reacção com uma cetona, tal como acetona.

A expressão "grupo abandonante" significa um grupo funcional ou um átomo que pode ser deslocado por outro grupo funcional ou átomo numa reacção de substituição, tal como uma reacção de substituição nucleofílica. A título exemplificativo, grupos abandonantes representativos incluem, mas não estão limitados a, grupos cloro, bromo e iodo; grupos ésteres sulfónicos, tais como mesilato, tosilato, brosilato e nosilato; e grupos aciloxilo, tais como acetoxilo e trifluoroacetoxilo.

O termo "micronizado" ou a expressão "em forma micronizada" significa partículas em que, pelo menos, cerca de 90 por cento das partículas têm um diâmetro menor do que 10 µm, salvo indicação em contrário.

A expressão "sal farmacologicamente aceitável" significa um sal que é aceitável para administração a um doente ou a um mamífero, tal como um humano (e.g., sais que têm segurança aceitável para mamíferos num determinado regime de dosagem). Os sais farmacologicamente aceitáveis representativos incluem sais de ácido acético, ascórbico, benzenossulfónico, benzóico, canforsulfónico, cítrico, etanossulfónico, edisílico, fumárico, gentísico, glucónico, glucorónico, glutâmico, hipúrico, bromídrico, clorídrico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, mandélico, metanossulfónico, múcico, naftalenossulfónico, naftaleno-1,5-dissulfónico, naftaleno-2,6-dissulfónico, nicotínico, nítrico, orótico, pamóico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenossulfónico e xinafóico.

A expressão "seus derivados protegidos" significa um derivado do composto especificado em que um ou mais grupos funcionais do composto estão protegidos ou bloqueados de

sofrerem reacções indesejadas com um grupo protector ou de bloqueamento. Os grupos funcionais que podem ser protegidos incluem, a título exemplificativo, grupos carboxilo, grupos amino, grupos hidroxilo, grupos tiol e grupos carbonilo. Os grupos protectores adequados para tais grupos funcionais são bem conhecidos dos técnicos com conhecimento geral na matéria como exemplificado pelos ensinamentos em T. W. Greene e P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Chemistry*, Terceira Edição, Wiley, Nova Iorque, 1999 e referências aí citadas.

A expressão "seu sal" significa um composto formado quando o hidrogénio de um ácido é substituído com um catião, tais como um catião metálico ou um catião orgânico. Por exemplo, o catião pode ser uma forma protonada de um composto de fórmula Ia, *i. e.* onde um ou mais grupos amino foram protonados por um ácido. Tipicamente, o sal é um sal farmacologicamente aceitável, embora isto não seja requerido para sais de compostos intermediários que não são pretendidos para administração a um doente.

O termo "solvato" significa um complexo ou um agregado formado por uma ou mais moléculas de um soluto, *i. e.*, um composto de fórmula Ia ou um seu sal farmacologicamente aceitável e uma ou mais moléculas de um solvente. Tais solvatos são tipicamente sólidos cristalinos tendo uma razão molar substancialmente fixa de soluto e solvente. Os solventes representativos incluem, a título exemplificativo, água, metanol, etanol, isopropanol ou ácido acético. Quando o solvente for água, o solvato formado é um hidrato.

A expressão "quantidade terapêuticamente eficaz" significa uma quantidade suficiente para efectuar o tratamento quando administrado a um doente com necessidade do tratamento.

O termo "tratar" ou "tratamento" como aqui utilizado significa tratar ou o tratamento de uma doença ou estado patológico (tais como COPD ou asma) num doente, tal como um mamífero (e. g., um humano) que inclui qualquer dos seguintes ou as suas combinações:

- (a) prevenir a doença ou a estado patológico de ocorrerem, *i. e.*, tratamento profilático de um doente;
- (b) melhorar a doença ou estado patológico, *i. e.*, eliminar ou provocar a regressão da doença ou estado patológico num doente;
- (c) suprimir a doença ou estado patológico, *i. e.*, retardar ou parar o desenvolvimento da doença ou estado patológico num doente; ou
- (d) aliviar os sintomas da doença ou estado patológico num doente.

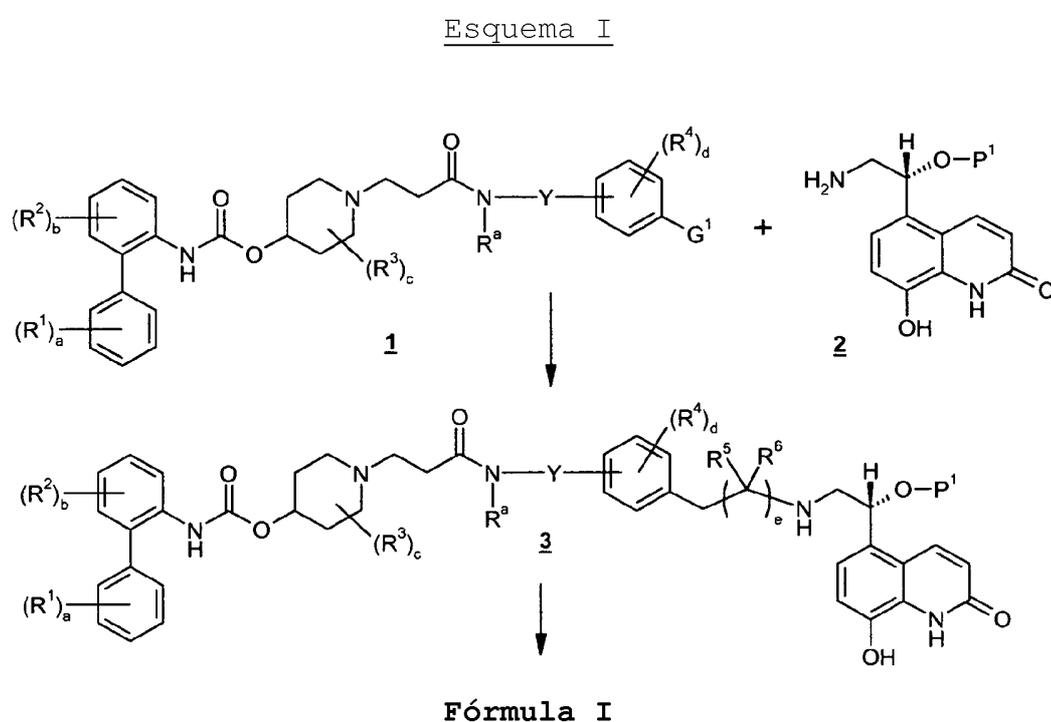
Todos os outros termos aqui utilizados pretendem ter os seus significados comuns como entendidos pelos técnicos com conhecimento geral no campo técnico a que pertencem.

#### Processos Sintéticos Gerais

Os compostos desta invenção de fórmula Ia e os seus intermediários, podem ser preparados de acordo com os seguintes métodos e processos gerais para compostos de fórmula geral I utilizando materiais iniciais e reagentes disponíveis comercialmente ou preparados rotineiramente. Os substituintes e variáveis (e. g.,  $R^1$ ,  $R^2$ , Y, a, b, etc.), utilizados nos seguintes esquemas, têm os mesmos significados que aqueles aqui definidos algures, salvo indicação em contrário. Adicionalmente, os compostos tendo um átomo ácido ou básico ou um grupo funcional podem ser utilizados ou podem ser produzidos como um

sal, salvo indicação em contrário (em alguns casos, a utilização de um sal numa reacção particular irá requerer conversão do sal numa forma não salina, e. g., uma base livre, utilizando processos habituais antes de conduzir a reacção).

O esquema 1 ilustra um processo típico para preparar compostos de fórmula I (em que R<sup>6</sup> é hidrogénio):



em que

G<sup>1</sup> é -CHO ou -CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>5</sup>; e

P<sup>1</sup> é um grupo protector de hidroxilo, tal como *tert*-butildimetilsililo.

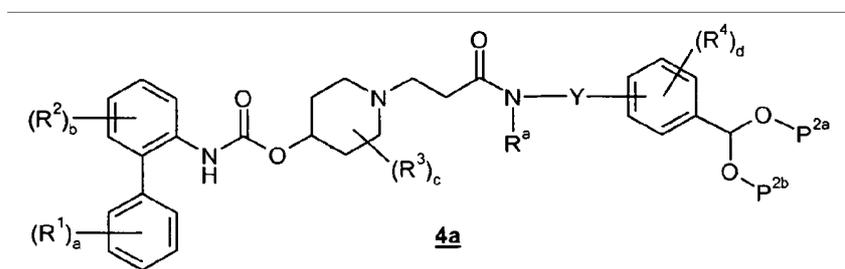
Neste processo, o composto **1** é feito reagir com cerca de 0,95 a cerca de 1,5 equivalentes molares do composto **2** na presença de um agente redutor para produzir o composto **3**.

Qualquer agente redutor adequado pode ser utilizado nesta reacção incluindo, a título ilustrativo, um reagente de hidreto metálico, tais como boro-hidreto de sódio, triacetoxiboro-hidreto de sódio ou cianoboro-hidreto de sódio, ou hidrogénio e um catalisador metálico, tal como paládio sobre carbono. Esta reacção é conduzida tipicamente a uma temperatura que varia desde cerca de -20 °C a cerca de 30 °C (e. g., cerca de 0 °C a cerca de 5 °C) durante cerca de 1 hora a cerca de 6 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Tipicamente, esta reacção é conduzida num diluente, tais como diclorometano (DCM) ou dicloroetano. Opcionalmente, o diluente pode conter um solvente prótico, tal como metanol. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia. Alternativamente, se desejado, a mistura reaccional contendo composto **3** pode ser utilizada directamente no passo seguinte da síntese sem isolamento ou purificação adicional.

O composto **3** é depois desprotegido para proporcionar um composto de fórmula I. As condições particulares utilizadas para desproteger o composto **3** irão depender do grupo protector utilizado. Por exemplo, quando P<sup>1</sup> for um grupo protector de sililo, tais como *tert*-butildimetilsililo, *tert*-butildifenilsililo, difenilmetilsililo, di-*tert*-butilmetilsililo ou *tert*-butoxidifenilsililo (*i. e.*, um composto de fórmula **3a** como aqui definido), esta reacção de desprotecção é conduzida tipicamente por contacto do composto **3** com uma fonte de ião fluoreto. Numa forma de realização particular, a fonte de ião fluoreto é tri-hidrofluoreto de trietilamina. Outras fontes adequadas de ião fluoreto incluem fluoreto de tetrabutylamónio, fluoreto de potássio com 18-coroa-6, fluoreto de hidrogénio ou

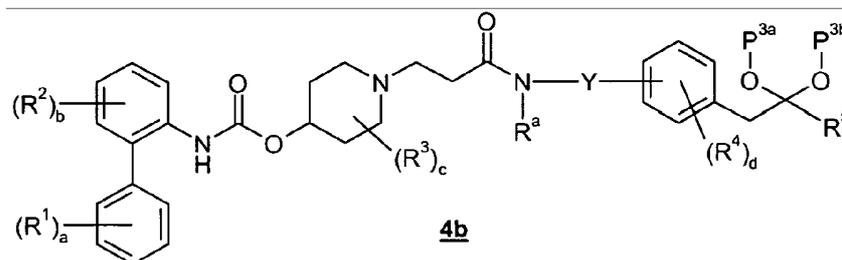
hidrofluoreto de piridina. Esta reacção é conduzida tipicamente a uma temperatura que varia desde cerca de 0 °C a cerca de 50 °C, (e. g., cerca de 10 °C a cerca de 25 °C) durante cerca de 24 a cerca de 72 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Tipicamente, esta reacção é conduzida num diluente, tais como DCM ou dicloroetano. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

Os compostos de fórmula **1** são preparados tipicamente através de desprotecção do correspondente acetal ou cetal intermediário. Por exemplo, quando  $G^1$  for  $-CHO$ , os compostos de fórmula **1** são preparados tipicamente através de desprotecção de um intermediário de fórmula **4a**:



em que  $P^{2a}$  e  $P^{2b}$  são independentemente seleccionados de  $alkylC_{1-6}$  ou  $P^{2a}$  e  $P^{2b}$  são ligados para formar  $alkylene C_{2-6}$ , tipicamente  $alkylene C_{2-4}$ .

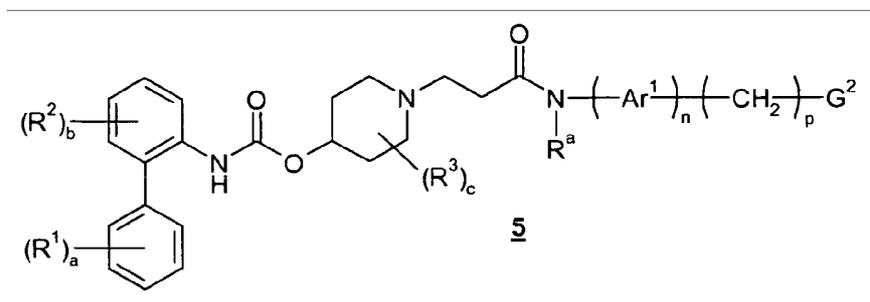
De modo semelhante, quando  $G^1$  for  $-CH_2C(O)R^5$ , os compostos de fórmula **1** são preparados tipicamente através de desprotecção de um intermediário de fórmula **4b**:



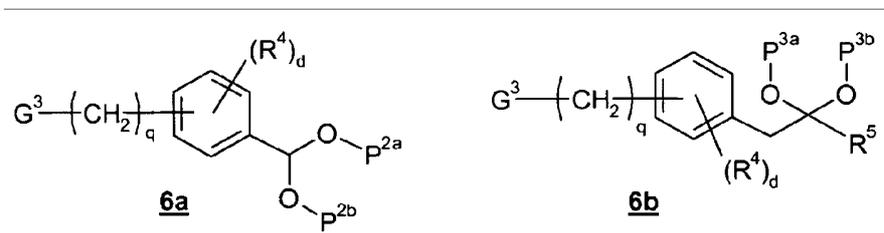
em que  $p^{3a}$  e  $P^{3b}$  são independentemente seleccionados de alquilo $C_{1-6}$  ou  $p^{3a}$  e  $P^{3b}$  são ligados para formar alquileno  $C_{2-6}$ , tipicamente alquileno  $C_{2-4}$ .

A desprotecção do composto **4a** ou **4b** é conduzida tipicamente por reacção de **4a** ou **4b** com ácido aquoso para hidrolisar o grupo acetal ou cetal e proporcionar o correspondente composto **1** aldeído ou cetona. Qualquer ácido adequado pode ser utilizado nesta reacção incluindo, a título exemplificativo, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido metanossulfónico ou ácido *p*-toluenossulfónico. A reacção de hidrólise é conduzida tipicamente a uma temperatura que varia desde cerca de 0 °C a cerca de 30 °C (e. g., cerca de 20 °C a cerca de 25 °C) durante cerca de 1 a cerca de 6 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Tipicamente, esta reacção é conduzida num diluente, tais como metanol, etanol, isopropanol, diclorometano/etanol ou acetonitrilo. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia. Alternativamente, a mistura reaccional contendo composto **1** pode ser utilizada directamente no passo seguinte da síntese.

Os compostos de fórmula **4a** ou **4b** são preparados tipicamente através de acoplamento de um composto de fórmula **5**:



com um composto de fórmula **6a** ou **6b**:



em que

$G^2$  é  $-NH_2$  e  $G^3$  é  $-COOH$ ; ou  $G^2$  é  $-COOH$  e  $G^3$  é  $-NH_2$ .

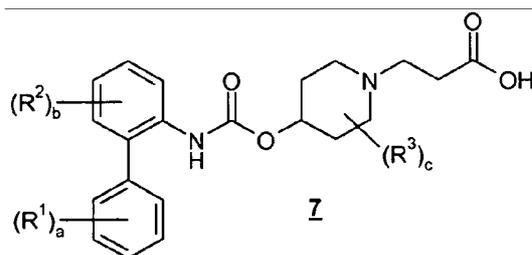
A reacção de acoplamento entre o composto **5** e o composto **6a** ou **6b** para formar o composto **4a** ou **4b** é conduzida tipicamente utilizando um reagente de acoplamento de ácido carboxílico-amina. Qualquer reagente de acoplamento de ácido carboxílico-amina adequado pode ser utilizado nesta reacção incluindo, a título ilustrativo, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)fosfónio (BOP); *N,N'*-carbonildiimidazole (CDI); diciclo-hexilcarbodiimida (DCC); 3-(dietoxifosforiloxi)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona (DEPBT); cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC HCl); hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (HATU); hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (HBTU); hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (HCTU); 1-hidroxi-7-

azabenzotriazole (HOAt); N-hidroxibenzotriazole (HOBt); hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfónio (PyBOP); hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfónio (PyBrOP); O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrafluoroborato de tetrametilurónio (TATU); tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (TBTU); tetrafluoroborato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(3,4-di-hidro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-il)urânio (TDBTU); tetrafluoroborato de O-(N-succinimidil)-1,1,3,3-tetrametilurânio (TSTU); e as suas combinações, tais como EDC e HOBt.

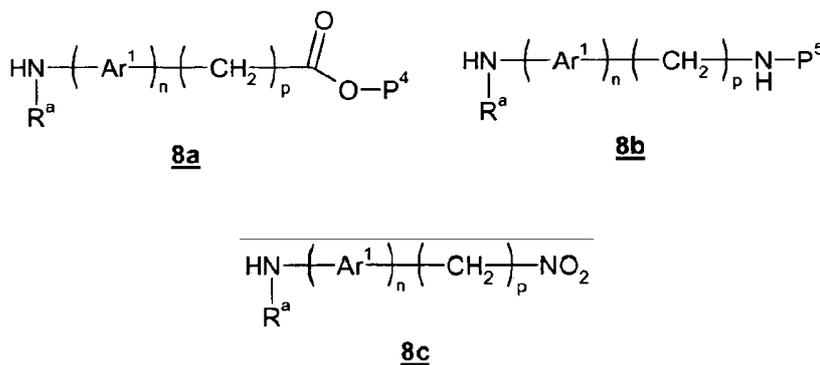
A reacção de acoplamento é conduzida tipicamente fazendo reagir cerca de 0,95 a cerca de 1,5 equivalentes molares do composto de amina (5, quando G<sup>2</sup> for -NH<sub>2</sub>; ou 6a ou 6b quando G<sup>3</sup> for -NH<sub>2</sub>) com o ácido carboxílico (5, quando G<sup>2</sup> for -COOH; ou 6a ou 6b quando G<sup>3</sup> for -COOH) na presença do reagente de acoplamento. O reagente de acoplamento é utilizado tipicamente numa quantidade que varia desde cerca de 1,0 a cerca de 1,5 equivalentes molares relativamente ao ácido carboxílico. Geralmente, esta reacção é conduzida na presença de uma amina protegida, tais como diisopropiletilamina (DIEA), N-metilmorfolina (NMM), colidina, 2,3,5,6-tetrametilpiridina (TEMP), 2,6-di-*terc*-butil-4-dimetilaminopiridina (DBDMAP) e semelhantes, num diluente, tais como diclorometano, tetra-hidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo, dimetilformamida, acetamida dimetilo, N-metilpirrolidona ou as suas misturas. A reacção é conduzida tipicamente a uma temperatura que varia desde cerca de -20 °C a cerca de 50 °C (e. g., cerca de 20 °C a cerca de 25 °C) durante cerca de 1 a cerca de 30 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos

convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

Os compostos de fórmula 5 são preparados tipicamente através de acoplamento de um composto de fórmula 7:



com um composto de fórmula 8a, 8b ou 8c:



em que  $P^4$  é um grupo protector de carboxilo (tal como alquilo  $C_{1-6}$ , incluindo metilo, etilo, *n*-propilo e semelhantes; ou benzilo); e  $P^5$  é um grupo protector de amino (tais como BOC, Fmoc ou Cbz). Quando for utilizado um composto de fórmula 8c, o grupo nitro é reduzido subsequentemente a um grupo amino utilizando reagentes e processos convencionais, tais como metais de zinco, estanho ou ferro e ácido (tal como ácido acético ou ácido clorídrico) ou hidrogenação catalítica. Nesta forma de realização, *p* é tipicamente 0.

Os compostos de fórmula **8a**, **8b** e **8c** estão comercialmente disponíveis, são conhecidos na técnica ou podem ser preparados utilizando variações rotineiras de processos conhecidos na técnica.

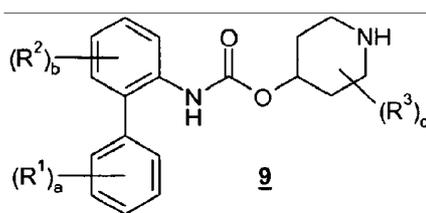
Os compostos representativos de fórmula **8a** incluem, a título exemplificativo, 4-(metilamino)butirato de metilo, 5-(metilamino)pentanoato de metilo, 3-(metilamino)benzoato de metilo, 4-(metilamino)benzoato de metilo, 3-(metilamino)-4-metilbenzoato de metilo e [3-(metilamino)fenil]acetato de metilo.

Os compostos representativos de fórmula **8b** incluem, a título exemplificativo, éster *terc*-butílico do ácido (3-metilaminopropil)carbâmico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido (3-metilaminopropil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (4-metilaminobutil)carbâmico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido (4-metilaminobutil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (3-metilaminofenil)carbâmico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido (3-metilaminofenil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (4-metilaminofenil)carbâmico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido (4-metilaminofenil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (3-metilaminobenzil)carbâmico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido (3-metilaminobenzil)-carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (4-metilaminobenzil)-carbâmico e éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido (4-metilaminobenzil)carbâmico.

Os compostos representativos de fórmula **8c** incluem, a título exemplificativo, *N*-metil-3-nitroanilina, *N*-metil-4-nitroanilina, *N*-etil-3-nitroanilina e *N*-etil-4-nitroanilina.

A reacção de acoplamento de ácido carboxílico-amina entre o composto 7 e composto 8a ou 8b para formar o composto 5 é conduzida tipicamente utilizando os reagentes e condições reaccionais aqui descritos para acoplar um ácido carboxílico e uma amina (e. g., composto 5 e composto 6a ou 6b). Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

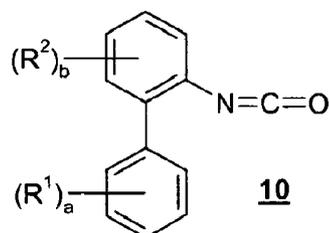
Os compostos de fórmula 7 são preparados tipicamente por reacção de um composto de fórmula 9:



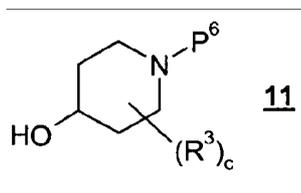
com cerca de 0,95 a cerca de 1,5 equivalentes molares de ácido acrílico. Esta reacção é tipicamente conduzida num diluente, tal como diclorometano, a uma temperatura que varia desde cerca de 20 °C a cerca de 70 °C (e. g., cerca de 50 °C) durante cerca de 6 a cerca de 30 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

Os compostos de fórmula 9 são conhecidos na técnica ou podem ser preparados utilizando variações rotineiras de processos conhecidos na técnica. Por exemplo, os processos para preparar tais compostos são encontrados na publicação do Pedido de Patente U.S. N° U.S. 2004/0167167 A1 e R. Naito *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **46**(8) 1286-1294 (1998). A título ilustrativo, os

compostos de fórmula 9 são preparados tipicamente por reacção de um composto de fórmula 10:



com um álcool de fórmula 11:



em que P<sup>6</sup> é um grupo protector de amino, tais como benzilo, BOC, Fmoc ou Cbz.

Os compostos representativos de fórmula 10 incluem, a título exemplificativo, isocianato de 2-(fenilo)fenilo, isocianato de 2-(fenilo)-5-metilfenilo, isocianato de 2-(3-clorofenil)-4,6-difluorofenilo, isocianato de 2-(fenilo)-6-fluorofenilo, isocianato de 2-(fenilo)-5-bromofenilo, isocianato de 2-(4-bromofenil)-5-bromofenilo, isocianato de 2-(fenilo)-4-metoxifenilo, isocianato de 2-(4-metoxifenil)fenilo e isocianato de 2-(fenilo)-5-metoxifenilo.

Os compostos representativos de fórmula 11 incluem, a título exemplificativo, 4-hidroxi-1-benzilpiperidina, éster *terc*-butílico do ácido 4-hidroxipiperidina-1-carboxílico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico do ácido 4-hidroxipiperidina-1-

carboxílico, 4-hidroxi-4-metil-1-benzilpiperidina, 2-benzil-2-azabicyclo[2,2,1]heptan-5-ol, 2-benzil-2-azabicyclo[2,2,2]octan-5-ol, 8-benzil-8-azabicyclo[3,2,1]oct-6-en-3-ol, 3-benzil-3-azabicyclo[3,2,1]octan-8-ol, 8-benzil-8-azabicyclo[3,2,1]octan-3-ol, 3-benzil-3-azabicyclo[3,3,1]nonan-9-ol, 9-benzil-9-azabicyclo[3,3,1]nonan-3-ol, 8-benzilnortropina e 8-benzilnorpseudotropina.

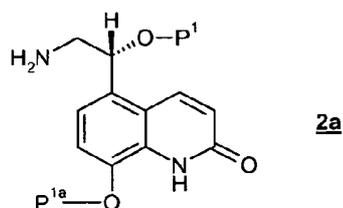
Esta reacção é conduzida tipicamente fazendo reagir de **10** com cerca de 0,95 a cerca de 1,2 equivalentes molares de **11** a uma temperatura que varia desde cerca de 20 °C a cerca de 100 °C (e. g., cerca de 60 °C a cerca de 80 °C) durante cerca de 6 a cerca de 24 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Se desejado, esta reacção pode ser conduzida num diluente, tais como diclorometano ou tolueno. Alternativamente, esta reacção pode ser conduzida na ausência de um diluente. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia. Alternativamente, a mistura reaccional é utilizada directamente no passo seguinte da síntese sem isolamento do produto.

O grupo protector de amino, P<sup>6</sup>, é depois removido utilizando processos convencionais para produzir o composto **9**. Por exemplo, quando P<sup>6</sup> for um grupo benzilo, a reacção de desprotecção é tipicamente conduzida utilizando hidrogénio ou formato de amónio, na presença de um catalisador, tal como um catalisador de paládio. Os catalisadores representativos incluem, a título ilustrativo, paládio sobre carbono ou hidróxido de paládio sobre carbono. Esta reacção é conduzida tipicamente a uma temperatura que varia desde cerca de 20 °C a cerca de 50 °C (e. g., cerca de 40 °C) durante cerca de 6 a cerca de 24 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Tipicamente, esta

reacção é conduzida num diluente, tais como metanol, etanol ou isopropanol. Após conclusão da reacção, o composto **9** é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

Os compostos de fórmula **2** são conhecidos na técnica ou podem ser preparados a partir de materiais iniciais e reagentes comercialmente disponíveis utilizando processos conhecidos. Por exemplo, a preparação de um composto de fórmula **2**, em que P<sup>1</sup> é *tert*-butildimetilsililo, é descrito na publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2006/0035931, publicada em 16 de Fevereiro de 2006. Outros grupos protectores que podem ser utilizados para P<sup>1</sup> incluem, por exemplo, dimetilisopropilsililo, dietilisopropilsililo, dimetil-hexilsililo, *tert*-butildifenilsililo e difenilmetilsililo.

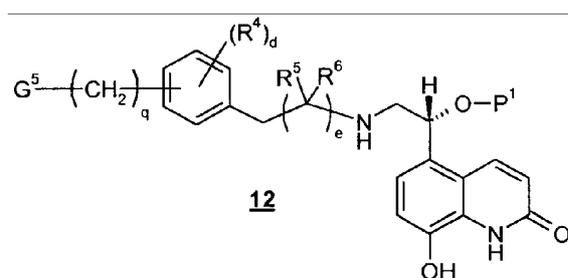
Adicionalmente, se desejado, o grupo hidroxilo de **2** pode também ser protegido, *i. e.*, pode ser utilizado um composto de fórmula **2a**:



onde P<sup>1a</sup> é um grupo protector de hidroxilo, tal como um grupo benzilo ou 4-metoxibenzilo. Por exemplo, a preparação de um composto de fórmula **2a**, em que P<sup>1</sup> é *tert*-butildimetilsililo e o grupo hidroxilo é protegido como um grupo 4-metoxibenzilo é descrito no documento WO 2008/096129. Quando for utilizado **2a**, os intermediários, tais como **3**, **12** e semelhantes, irão conter tipicamente o grupo P<sup>1a</sup>. O grupo P<sup>1a</sup> é subsequentemente removido

utilizando processos e reagentes convencionais. Por exemplo, quando P<sup>1a</sup> for um grupo benzilo, a reacção de desprotecção é tipicamente conduzida utilizando hidrogénio ou formato de amónio, na presença de um catalisador, tal como um catalisador de paládio. Quando P<sup>1a</sup> for 4-metoxibenzilo, este grupo pode ser removido sob condições da hidrólise ácida, tal como 30% de TFA em DCM.

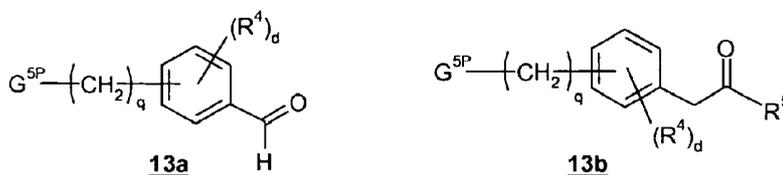
Alternativamente, os compostos de fórmula I são preparados através de acoplamento de um composto de fórmula 5 com um composto de fórmula 12:



em que G<sup>5</sup> é -COOH (quando G<sup>2</sup> for -NH<sub>2</sub>); ou G<sup>5</sup> é -NH<sub>2</sub> (quando G<sup>2</sup> for -COOH).

A reacção de acoplamento de ácido carboxílico-amina entre o composto 5 e o composto 12 é conduzida tipicamente utilizando os reagentes e condições reaccionais aqui descritos para acoplar um ácido carboxílico e uma amina (e. g., composto 5 e composto 6a ou 6b). Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia. A desprotecção do produto resultante (e. g., remoção de P<sup>1</sup>) utilizando reagentes e condições convencionais proporciona depois um composto de fórmula I.

Os compostos de fórmula **12** são preparados por reacção de um composto de fórmula **2** com um composto de fórmula **13a** ou **13b**:



na presença de um agente redutor; em que  $\text{G}^{5\text{P}}$  é seleccionado de:  $-\text{COOP}^7$ , em que  $\text{P}^7$  é um grupo protector de carboxilo (tal como alquilo  $\text{C}_{1-6}$ , incluindo metilo, etilo e *n*-propilo; ou benzilo); e  $-\text{NHP}^8$ , em que  $\text{P}^8$  é um grupo protector de amino (tais como BOC, Fmoc ou Cbz).

Alternativamente,  $\text{G}^{5\text{P}}$  é um grupo nitro ou  $\text{G}^{5\text{P}}-(\text{CH}_2)_q$  é  $\text{NC}-(\text{CH}_2)_{q-1}-$ , em que o grupo nitro ou o grupo ciano é subsequentemente reduzido a um grupo amino utilizando reagentes e processos convencionais.

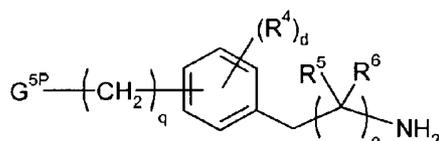
A reacção do composto **2** com o composto **13a** ou **13b** é tipicamente conduzida utilizando os reagentes e condições reaccionais aqui descritos para alquilação redutora de uma amina com um aldeído ou cetona (e. g., composto **1** e composto **2**). Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

Os compostos de fórmula **13a** e **13b** estão comercialmente disponíveis, são conhecidos na técnica ou podem ser preparados utilizando variações rotineiras de processos conhecidos na técnica.

Os compostos representativos de fórmula **13a** incluem, a título exemplificativo, 3-formilbenzoato de metilo, 4-formilbenzoato de metilo, (3-formilfenil)acetato de metilo, (4-formilfenil)acetato de metilo, 3-(3-formilfenil)propionato de metilo, 3-(4-formilfenil)propionato de metilo, éster *terc*-butílico do ácido (3-formilfenil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (4-formilfenil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (3-formilbenzil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido (4-formilbenzil)carbâmico, éster *terc*-butílico do ácido [2-(3-formilfenil)etil]carbâmico e éster *terc*-butílico do ácido [2-(4-formilfenil)etil]carbâmico.

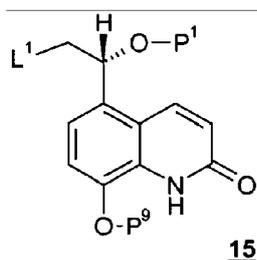
Os compostos representativos de fórmula **13b** incluem, a título exemplificativo, 3-(2-oxoetil)benzoato de metilo, 4-(2-oxoetil)benzoato de metilo, [3-(2-oxoetil)fenil]acetato de metilo, [4-(2-oxoetil)fenil]acetato de metilo, 3-[3-(2-oxoetil)-fenil]propionato de metilo, 3-[4-(2-oxoetil)fenil]propionato de metilo, 2-(3-*terc*-butoxicarbonilaminofenil)acetaldeído, 2-(4-*terc*-butoxicarbonilaminofenil)-acetaldeído, 2-[3-(*terc*-butoxi-carbonilaminometil)fenil]acetaldeído, 2-[4-(*terc*-butoxicarbonil-aminometil)fenil]acetaldeído, 2-{3-[2-(*terc*-butoxicarbonil-amino)-etil]fenil}acetaldeído e 2-{4-[2-(*terc*-butoxicarbonil-amino)etil]fenil}acetaldeído.

Os compostos intermediários de fórmula **12** podem também ser preparados por reação de um composto de fórmula **14**:



**14**

com um composto de fórmula **15**:



em que  $L^1$  é um grupo abandonante, tais como cloro, bromo, iodo, tosilo ou nosilo; e  $P^9$  é um grupo protector de hidroxilo, tal como benzilo. O produto resultante é depois parcialmente desprotegido (por remoção de  $P^7$  ou  $P^8$ , e  $P^9$ ) para proporcionar um composto de fórmula 12.

A reacção do composto 14 com o composto 15 é tipicamente conduzida por reacção do composto 14 com cerca de 0,95 a cerca de 1,1 equivalentes molares do composto 15 na presença de uma quantidade adicional de uma base. As bases representativas incluem, por exemplo, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, bicarbonato de potássio, carbonato de potássio e trialkilaminas (tais como trietilamina ou diisopropil-etilamina). Esta reacção é tipicamente conduzida a uma temperatura que varia desde cerca de 20 °C a cerca de 120 °C, (e. g., cerca de 100 °C) durante cerca de 2 a cerca de 24 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Tipicamente, esta reacção é conduzida num diluente, tais como *N*-metil-pirrolidinona ou acetonitrilo. Se desejado, esta reacção pode ser facilitada ao submeter a mistura reaccional a radiação de microondas (e. g., 300 watts). A reacção pode também ser conduzida pura, i. e., na ausência de um diluente. Adicionalmente, se desejado, pode ser utilizado um excesso de amina 14 em vez de outra base. Após conclusão da reacção, o produto é isolado utilizando tipicamente processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia.

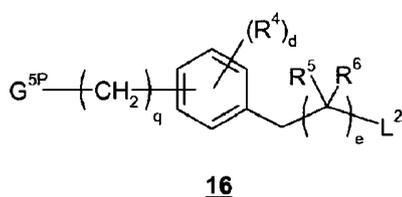
O produto resultante é depois parcialmente desprotegido (*i. e.*, P<sup>7</sup> ou P<sup>8</sup> são removidos; e P<sup>9</sup> é removido, se desejado) para proporcionar um composto de fórmula **12**. As condições particulares utilizadas para remover os grupos protectores irão depender dos grupos particulares utilizados. Por exemplo, quando P<sup>7</sup> for alquilo C<sub>1-6</sub>, tais grupos são tipicamente removidos por hidrólise da unidade éster com uma base, tais como, hidróxido de lítio, hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, num diluente, tal como uma mistura de metanol e água. Esta reacção é tipicamente conduzida à temperatura ambiente durante cerca de 30 minutos a cerca de 24 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Quando P<sup>8</sup> for um grupo *terc*-butoxicarbonilo, este grupo é removido tipicamente sob condições de hidrólise ácida, tal como 20% de ácido trifluoroacético em DCM à temperatura ambiente. Quando P<sup>9</sup> for um grupo benzilo, este grupo é prontamente removido por hidrogenólise. Tipicamente, esta reacção é conduzida por contacto do composto com hidrogénio na presença de um catalisador, tal como um catalisador de paládio. Os catalisadores representativos incluem hidróxido de paládio sobre carbono ou paládio sobre carbono. Geralmente, esta reacção de desbenzilação é conduzida na presença de um ácido, tais como ácido acético ou ácido fórmico. Esta reacção é tipicamente conduzida a uma temperatura que varia desde cerca de 10 °C a cerca de 50 °C (*e. g.*, cerca de 25 °C) durante cerca de 6 a cerca de 24 horas ou até a reacção estar substancialmente completa. Tipicamente, esta reacção é conduzida num diluente, tais como metanol ou etanol. Após conclusão da reacção, o produto pode ser isolado utilizando processos convencionais, tais como extracção, recristalização ou cromatografia, ou utilizado directamente na reacção seguinte.

Os compostos de fórmula **14** são conhecidos na técnica ou podem ser preparados a partir de materiais iniciais e reagentes comercialmente disponíveis utilizando processos conhecidos. Por exemplo, os compostos de fórmula **14** podem ser preparados por reacção de **13a** ou **13b** com uma benzilamina sob condições de alquilação redutora e depois removendo o grupo benzilo por hidrogenólise, para produzir o composto de fórmula **14**. As benzilaminas representativas que podem ser utilizadas incluem, benzilamina, (*S*)-1-feniletilamina e (*R*)-1-feniletilamina. Em particular, as benzilaminas quirais são úteis para preparar intermediários de fórmula **14** onde R<sup>5</sup> está presente (*i. e.*, e = 1) e o átomo de carbono a que R<sup>5</sup> está ligado tem uma estereoquímica particular (*i. e.*, *R* ou *S*).

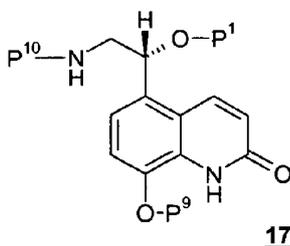
Adicionalmente, os compostos de fórmula **14** onde R<sup>5</sup> e R<sup>6</sup> são independentemente metilo ou etilo (*i. e.*, não hidrogénio) são conhecidos na técnica ou podem ser preparados utilizando processos rotineiros, como exemplificado pelos ensinamentos na publicação do Pedido de Patente U.S. 2005/0171147 A1, publicada em 4 de Agosto de 2005; publicação do Pedido de Patente U.S. 2005/0277632 A1, publicada em 15 de Dezembro de 2005; e documento WO 2005/092861 A1, publicado em 6 de Outubro de 2005.

Os compostos de fórmula **15** são também conhecidos na técnica ou podem ser preparados a partir de materiais iniciais e reagentes comercialmente disponíveis utilizando processos conhecidos. Por exemplo, a preparação de um composto de fórmula **15**, onde L<sup>1</sup> é bromo; P<sup>1</sup> é *terc*-butildimetilsililo e P<sup>9</sup> é benzilo é descrita na publicação do Pedido de Patente U.S. N° 2006/0035931, publicada em 16 de Fevereiro de 2006.

Alternativamente, os compostos de fórmula **12** são preparados por reacção de um composto de fórmula **16**:



com um composto de fórmula **17**:



em que L<sup>2</sup> é um grupo abandonante, tais como cloro, bromo, iodo, tosilo ou nosilo; e P<sup>10</sup> é um grupo protector de amino, tal como benzilo. Nesta forma de realização, R<sup>5</sup> e R<sup>6</sup> quando presentes, são tipicamente hidrogénio. Esta reacção é conduzida sob condições semelhantes àsquelas descritas para a reacção de **14** e **15**. Os compostos de fórmula **16** e **17** são conhecidos na técnica ou podem ser preparados a partir de materiais iniciais e reagentes comercialmente disponíveis utilizando processos conhecidos. Por exemplo, a preparação de um composto de fórmula **17**, onde P<sup>1</sup> é *terc*-butildimetilsililo, P<sup>9</sup> é benzilo e P<sup>10</sup> é benzilo é descrita na publicação do Pedido de Patente U.S. N° 2006/0035931, publicada em 16 de Fevereiro de 2006.

Se desejado, um sal farmacologicamente aceitável de um composto de fórmula Ia é preparado por contacto da forma de base

livre do composto de fórmula Ia com um ácido farmacêuticamente aceitável.

Mais detalhes relativamente a condições reacionais específicas e outros processos para preparar compostos representativos desta invenção ou os seus intermediários são descritos nos Exemplos aqui apresentados.

### Composições Farmacêuticas, Composições e Formulações

Os compostos de fórmula Ia podem ser formulados com um veículo ou excipiente para formar uma composição ou formulação farmacêutica. Tais composições farmacêuticas irão conter tipicamente uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de fórmula Ia. Em alguns casos, contudo, a composição farmacêutica pode conter mais do que uma quantidade terapêuticamente eficaz, e. g., uma composição concentrada; ou menos do que uma quantidade terapêuticamente eficaz, e. g., doses unitárias individuais para administrações múltiplas para atingir uma quantidade terapêuticamente eficaz.

A composição farmacêutica conterá tipicamente desde 0,01 a 95 por cento em peso de um composto de fórmula Ia incluindo, por exemplo, desde 0,01 a 30 por cento em peso; ou desde 0,01 a 10 por cento em peso; ou desde 0,01 a 1 por cento em peso.

Tais composições farmacêuticas são preparadas tipicamente utilizando veículos ou excipientes convencionais. A escolha de um veículo ou excipiente particular, ou combinações de veículos ou excipientes, irá depender de vários factores, tal como o modo da administração para a composição ou o estado patológico ou doença a ser tratada. Estão comercialmente disponíveis muitos

veículos e excipientes adequados para preparar composições farmacêuticas. Por exemplo, tais materiais podem ser adquiridos à Sigma (St. Louis, MO). Os processos e materiais para preparar composições farmacêuticas adequadas para um modo particular de administração são descritos nas técnicas farmacêuticas incluindo, por exemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20<sup>a</sup> edição, Lippincott Williams & White, Baltimore, Mariland (2000); e H.C. Ansel *et al.*, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7<sup>a</sup> edição, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Os exemplos representativos de materiais que podem servir como veículos farmacêuticamente aceitáveis incluem, mas não estão limitados, ao seguinte: (1) açúcares, tais como lactose, glucose e sacarose; (2) amidos, tais como amido de milho e amido de batata; (3) celulose e os seus derivados, tais como carboximetilcelulose de sódio, etilcelulose e acetato de celulose; (4) tragacanto pulverizado; (5) malte; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tais como manteiga de cacau e ceras de supositórios; (9) óleos, tais como óleo de amendoim, óleo de semente de algodão, óleo de cártamo, óleo de sésamo, azeite, óleo de milho e óleo de soja; (10) glicóis, tais como propilenoglicol; (11) polióis, tais como glicerina, sorbitol, manitol e polietilenoglicol; (12) ésteres, tais como oleato de etilo e laurato de etilo; (13) ágar; (14) agentes tamponantes, tais como hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; (15) ácido algínico; (16) água apirógena; (17) solução salina isotónica; (18) solução de ringer; (19) álcool etílico; (20) soluções de tampão fosfato; (21) gases propulsores comprimidos, tais como clorofluorocarbono e hidrofluorocarbono; e (22) outras substâncias compatíveis não tóxicas utilizadas em composições farmacêuticas.

A composição farmacêutica é preparada tipicamente através de mistura exaustiva e íntima ou mistura de um composto de fórmula Ia com um veículo farmacêuticamente aceitável e quaisquer ingredientes opcionais. Se necessário ou desejado, a mistura uniformemente misturada resultante pode ser depois enformada ou carregada em comprimidos, cápsulas, pílulas, botijas, cartuchos ou distribuidores utilizando processos e equipamento convencionais.

Numa forma de realização, a composição farmacêutica é adequada para administração inalada. As composições farmacêuticas para administração inalada serão tipicamente na forma de um aerossol ou um pó. Tais composições são administradas utilizando geralmente dispositivos de distribuição bem conhecidos, tais como um inalador nebulizador, um inalador de dose calibrada (MDI), inalador de pó seco (DPI) ou um dispositivo semelhante de distribuição.

Numa forma de realização particular, a composição farmacêutica compreendendo o agente terapêutico é administrada por inalação utilizando um inalador nebulizador. Tais dispositivos nebulizadores produzem tipicamente uma corrente de ar a alta velocidade que faz com que a composição farmacêutica compreendendo o agente terapêutico se pulverize como uma névoa que é introduzida no tracto respiratório do doente. Desta forma, quando formulado para utilização num inalador nebulizador, o agente terapêutico é tipicamente dissolvido num veículo adequado para formar uma solução. Alternativamente, o agente terapêutico pode ser micronizado e combinado com um veículo adequado para formar uma suspensão de partículas micronizadas. Os dispositivos nebulizadores adequados para administrar agentes terapêuticos por inalação são descritos na técnica ou tais dispositivos estão comercialmente disponíveis. Por exemplo, os produtos ou

dispositivos nebulizadores representativos incluem o inalador Respimat Softmist (Boehringer Ingelheim); o sistema de distribuição pulmonar AERx (Aradigm Corp.); o Nebulizador Reutilizável PARI LC Plus (Pari GmbH); e semelhantes.

Uma composição farmacêutica representativa para utilização num inalador nebulizador compreende uma solução aquosa isotónica compreendendo desde 0,05 µg/mL a 10 mg/mL de um composto de fórmula Ia. Numa forma de realização, a solução tem um pH de 4 a 6.

Numa outra forma de realização particular, a composição farmacêutica compreendendo o agente terapêutico é administrada por inalação utilizando um inalador de pó seco. Tais inaladores de pó seco administram tipicamente o agente terapêutico como um pó de escoamento livre que é disperso numa corrente de ar do doente durante a inspiração. De modo a conseguir um pó de escoamento livre, o agente terapêutico é formulado tipicamente com um excipiente adequado, tais como lactose, amido, manitol, dextrose, ácido poliláctico (PLA), polilactide-co-glicolide (PLGA) ou as suas composições. Tipicamente, o agente terapêutico é micronizado e combinado com um veículo adequado para formar uma mistura adequada para inalação. Desta forma, numa forma de realização, o composto de fórmula Ia está numa forma micronizada.

Uma composição farmacêutica representativa para utilização num inalador de pó seco compreende lactose moída seca e partículas micronizadas de um composto de fórmula Ia.

Uma tal formulação de pó seco pode ser feita, por exemplo, por combinação da lactose com o agente terapêutico e depois misturar a seco os componentes. Alternativamente, se desejado, o

agente terapêutico pode ser formulado sem um excipiente. A composição farmacêutica é depois tipicamente carregada num distribuidor de pó seco ou em cartuchos ou cápsulas de inalação para utilização com um dispositivo de distribuição de pó seco.

Os dispositivos de distribuição inaladores de pó seco adequados para administrar agentes terapêuticos por inalação são descritos na técnica ou tais dispositivos estão comercialmente disponíveis. Por exemplo, os produtos ou dispositivos de distribuição inaladores de pó seco representativos incluem Aeolizer (Novartis); Airmax (IVAX); ClickHaler (Innovata Biomed); Diskhaler (GlaxoSmithKline); Diskus/Accuhaler (GlaxoSmithKline); Easihaler (Orion Pharma); Eclipse (Aventis); FlowCaps (Hovione); Handihaler (Boehringer Ingelheim); Pulvinal (Chiesi); Rotahaler (GlaxoSmithKline); SkyeHaler/Certihaler (SkyePharma); Twistaler (Schering-Plough); Turbuhaler (AstraZeneca); e Ultrahaler (Aventis).

Ainda noutra forma de realização particular, a composição farmacêutica compreendendo o agente terapêutico é administrada por inalação utilizando um inalador de dose calibrada. Tais inaladores de dose calibrada descarregam tipicamente uma quantidade medida do agente terapêutico utilizando um gás propulsor comprimido. Desta forma, as composições farmacêuticas administradas utilizando um inalador de dose calibrada tipicamente compreendem uma solução ou suspensão do agente terapêutico num propulsor liquefeito. Pode ser utilizado qualquer propulsor liquefeito adequado incluindo hidrofluoroalcanos (HFA), tais como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a) e 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-*n*-propano, (HFA 227); e os clorofluorocarbonos, tal como CCl<sub>3</sub>F. Numa forma de realização particular, o propulsor é hidrofluoroalcano. Em algumas formas de realização, a formulação de hidrofluoroalcano contém um

co-solvente, tais como etanol ou pentano, e/ou um tensioactivo, tais como trioleato de sorbitano, ácido oleico, lecitina e glicerina.

Uma composição farmacêutica representativa para utilização num inalador de dose calibrada compreende desde 0,01% a 5% em peso de um composto de fórmula Ia; desde 0% a 20% em peso de etanol; e desde 0% a 5% em peso de tensioactivo; sendo o restante um propulsor de HFA.

Tais composições são preparadas tipicamente por adição de hidrofluoroalcano arrefecido ou pressurizado a um recipiente adequado contendo agente terapêutico, etanol (se presente) e o tensioactivo (se presente). Para preparar uma suspensão, o agente terapêutico é micronizado e depois combinado com o propulsor. A formulação é depois carregada numa botija de aerossol, que forma tipicamente uma parte de um dispositivo inalador de dose calibrada.

Os dispositivos inaladores de dose calibrada adequados para administrar agentes terapêuticos por inalação são descritos na técnica ou tais dispositivos estão comercialmente disponíveis. Por exemplo, os produtos ou dispositivos inaladores de dose calibrada representativos incluem o Sistema Inalador AeroBid (Forest Pharmaceuticals); Aerossol de Inalação Atrovent (Boehringer Ingelheim); Flovent (GlaxoSmithKline); inalador Maxair (3M); Inalador Proventil (Schering); e Aerossol de Inalação Serevent (GlaxoSmithKline).

Noutra forma de realização, a composição farmacêutica é adequada para administração oral. As composições farmacêuticas para administração oral podem ser na forma de cápsulas, comprimidos, pílulas, pastilhas, hóstias, drageias, pós,

granulados; ou como uma solução ou suspensão num líquido aquoso ou não aquoso; ou como uma emulsão líqüida de óleo-em-água ou água-em-óleo; ou como um elixir ou xarope, cada contendo uma quantidade predeterminada de um ingrediente activo.

Quando pretendida para administração oral numa forma de dosagem sólida (*i. e.*, como cápsulas, comprimidos ou pílulas), a composição farmacêutica irá tipicamente compreender um composto de fórmula Ia e um ou mais veículos farmacêuticamente aceitáveis, tais como citrato de sódio ou fosfato dicálcico. Opcionalmente ou alternativamente, tais formas de dosagem sólida podem também compreender: (1) enchimentos ou cargas, tais como amidos, lactose, sacarose, glucose, manitol e/ou ácido silícico; (2) aglutinantes, tais como carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose e/ou acácia; (3) humectantes, tal como glicerol; (4) agentes de desintegração, tais como ágar-ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, determinados silicatos, e/ou carbonato de sódio; (5) agentes retardantes de solução, tal como parafina; (6) aceleradores de absorção, tal como compostos de amónio quaternário; (7) agentes molhantes, tais como álcool cetílico e/ou monoestearato de glicerol; (8) absorventes, tais como caulino e/ou argila de bentonite; (9) lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, laurilsulfato de sódio, e/ou as suas misturas; (10) agentes corantes; e (11) agentes de tamponamento.

Estão também presentes na composição farmacêutica agentes de libertação, agentes molhantes, agentes de revestimento, agentes edulcorantes, aromatizantes e perfumantes, conservantes e antioxidantes. Os exemplos de antioxidantes farmacêuticamente aceitáveis incluem: (1) antioxidantes hidrossolúveis, tais como ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfato de sódio,

metabissulfato de sódio e sulfito de sódio; (2) antioxidantes lipossolúveis, tais como palmitato de ascorbilo, hidroxianisole butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo e alfa-tocoferol; e (3) agentes quelantes de metal, tais como ácido cítrico, ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico e ácido fosfórico. Os agentes de revestimento para comprimidos, cápsulas ou pílulas incluem aqueles utilizados para revestimentos entéricos, tais como acetoftalato de celulose (CAP), acetoftalato de polivinilo (PVAP), metilcelulose-ftalato de hidroxipropilo, copolímeros de éster de ácido metacrílico/ácido metacrílico, trimelitato de acetato de celulose (CAT), carboximetiletilcelulose (CMEC) e acetato-succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS).

Se desejado, a composição farmacêutica pode também ser formulada para proporcionar libertação retardada ou controlada do ingrediente activo utilizando, a título exemplificativo, hidroxipropilmetilo celulose em várias proporções; ou outras matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microesferas.

Adicionalmente, a composição farmacêutica pode opcionalmente conter um agente opacificante e pode ser formulada de modo que o ingrediente activo seja libertado principalmente numa determinada porção do tracto gastrointestinal ou de um modo retardado. Os exemplos de composições embebidas que podem ser utilizadas incluem substâncias poliméricas e ceras. O ingrediente activo ou uma composição farmacêutica contendo os ingredientes activos podem também estar em forma microencapsulada.

As formas de dosagem líquida adequadas para administração oral incluem, a título ilustrativo, emulsões, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacêuticamente

aceitáveis. Tais formas de dosagem líquida compreendem tipicamente o ingrediente activo e um diluente inerte, tais como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes solubilizantes e emulsionantes, tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, álcool benzílico, benzoato de benzilo, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, óleos (esp., óleos de semente de algodão, amendoim, milho, gérmen, azeite, rícino e sésamo), glicerol, álcool tetra-hidrofurílico, polietilenoglicóis e ésteres de ácido gordo de sorbitano e as suas misturas. As suspensões, para além do ingrediente activo, podem conter agentes de suspensão, tais como, por exemplo, álcoois isostearílicos etoxilados, ésteres de polioxietileno-sorbitol e de sorbitano, celulose microcristalina, meta-hidróxido de alumínio, bentonite, ágar-ágar e tragacanto e as suas misturas.

Quando pretendida para administração oral, a composição farmacêutica pode ser empacotada numa forma de dosagem unitária. A expressão "forma de dosagem unitária" significa uma unidade fisicamente discreta adequada para dosagem de um doente, *i. e.*, cada unidade contendo uma quantidade predeterminada do agente activo, calculada para produzir o efeito terapêutico desejado isoladamente ou em combinação com uma ou mais unidades adicionais. Por exemplo, tal forma de dosagem unitária pode ser uma cápsula, comprimido ou pílula.

Os compostos de fórmula Ia podem também ser administrados transdermicamente utilizando excipientes e sistemas de distribuição transdérmica conhecidos. Por exemplo, o composto pode ser misturado com intensificadores de permeação, tais como propilenoglicol, monolaurato de polietilenoglicol ou azacicloalcan-2-onas, e incorporado num penso ou num sistema de distribuição semelhante. Podem também ser utilizados excipientes

adicionais, incluindo agentes gelantes, emulsionantes e tampões, em tais composições transdérmicas, se desejado.

Adicionalmente, um composto de fórmula Ia pode ser administrado parentericamente, *i. e.*, intravenosamente, subcutaneamente ou intramuscularmente. Para administração parentérica, um composto de fórmula Ia é tipicamente dissolvido num veículo aceitável para administração parentérica, tais como água estéril, soro fisiológico ou óleo vegetal. A título ilustrativo, uma composição intravenosa compreende tipicamente uma solução aquosa estéril de um composto de fórmula Ia, em que a solução tem um pH na gama de 4 a 7.

Se desejado, um composto de fórmula Ia pode ser administrado em combinação com um ou mais outros agentes terapêuticos. Neste aspecto da invenção, um composto de fórmula Ia é fisicamente misturado com outro agente terapêutico para formar uma composição contendo ambos os agentes; ou cada agente está presente em composições distintas e separadas que são administradas ao doente simultaneamente ou sequencialmente.

Por exemplo, um composto de fórmula Ia pode ser combinado com um segundo agente terapêutico utilizando processos e equipamento convencionais para formar uma composição compreendendo um composto de fórmula Ia e um segundo agente terapêutico. Adicionalmente, os agentes terapêuticos podem ser combinados com um veículo farmacêuticamente aceitável para formar uma composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula Ia, um segundo agente terapêutico e um veículo farmacêuticamente aceitável. Nesta forma de realização, os componentes da composição são tipicamente misturados para criar uma mistura física. A mistura física é depois administrada numa

quantidade terapeuticamente eficaz utilizando qualquer das vias aqui descritas.

Alternativamente, os agentes terapêuticos podem permanecer separados e distintos antes de administração ao doente. Nesta forma de realização, os agentes terapêuticos não são fisicamente misturados em conjunto, antes da administração, mas são administrados simultaneamente ou sequencialmente como composições separadas. Por exemplo, um composto de fórmula Ia pode ser administrado por inalação simultaneamente ou sequencialmente com outro agente terapêutico, utilizando um dispositivo de distribuição de inalação que utiliza compartimentos separados (e. g., embalagens blister) para cada agente terapêutico. Alternativamente, a combinação pode ser administrada utilizando dispositivos de distribuição separados, *i. e.*, um dispositivo de distribuição para cada agente terapêutico. Adicionalmente, os agentes terapêuticos podem ser distribuídos através de diferentes vias de administração, *i. e.*, uma por inalação e a outra por administração oral.

Qualquer agente terapêutico compatível com os compostos de fórmula Ia pode ser utilizado em combinação com tais compostos. Numa forma de realização particular, o segundo agente terapêutico é um que é eficazmente administrado por inalação. A título ilustrativo, tipos de agentes terapêuticos representativos que podem ser utilizados com os compostos das formas de realização incluem, mas não estão limitados a, agentes anti-inflamatórios, tais como agentes anti-inflamatórios esteróides (incluindo corticosteróides e glucocorticóides), agentes anti-inflamatórios não esteróides (NSAID) e inibidores de PDE<sub>4</sub>; broncodilatadores, tais como inibidores de PDE<sub>3</sub>, moduladores da adenosina 2b e agonistas do receptor adrenérgico  $\beta_2$ ; agentes anti-infecciosos, tais como antibióticos

Gram-positivos, antibióticos Gram-negativos e agentes antivirais; anti-histamínicos; inibidores de proteases; bloqueadores aferentes, tais como agonistas de D<sub>2</sub> e moduladores de neurocinina; e antagonistas do receptor muscarínico (agentes anticolinérgicos). Numerosos exemplos de tais agentes terapêuticos são bem conhecidos na técnica. As doses adequadas para os outros agentes terapêuticos administrados em combinação com um composto da invenção estão tipicamente na gama de 0,05 µg/dia a 500 mg/dia.

Numa forma de realização particular, um composto de fórmula Ia é administrado em combinação com um agente anti-inflamatório esteróide. Os exemplos representativos de agentes anti-inflamatórios esteróides que podem ser utilizados em combinação com os compostos das formas de realização incluem, mas não estão limitados a, dipropionato de beclometasona; budesonida; propionato de butixocort; 20R-16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -[butilidenebis(oxi)]-6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-17 $\beta$ -(metiltio)-androst-4-en-3-ona (RPR-106541); ciclesonida; dexametasona; éster S-fluorometílico do ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-17 $\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxoandrost-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotiólico; éster S-fluorometílico do ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-17 $\alpha$ -[(4-metiltl-1,3-tiazole-5-carbonil)oxi]-3-oxoandrost-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotiólico; éster (S)-(2-oxotetra-hidrofuran-3S-ílico) do ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-17 $\alpha$ -propioniloxiandrost-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotiólico; flunisolida; furoato de fluticasona; propionato de fluticasona; metilprednisolona; furoato de mometasona; prednisolona; prednisona; rofleponida; ST-126; e acetona de triamcinolona; ou os seus sais ou solvatos farmacologicamente aceitáveis. Tais agentes anti-inflamatórios esteróides estão comercialmente disponíveis ou podem ser preparados utilizando processos e reagentes convencionais. Por exemplo, a preparação e

a utilização de agentes anti-inflamatórios esteróide são descritas na Patente U.S. N° 6537983, concedida em 25 de Março de 2003; Patente U.S. N° 6750210 B2, concedida em 15 de Junho de 2004; Patente U.S. N° 6759398 B2, concedida em 6 de Julho de 2004; Patente U.S. N° 6858596 B2, concedida em 22 de Fevereiro de 2005; Patente U.S. 7101866 B2, concedida em 5 de Setembro de 2006; e referências aí citadas.

Quando utilizado, o agente anti-inflamatório esteróide é administrado tipicamente numa quantidade que produza um efeito terapêuticamente benéfico quando co-administrado com um composto das formas de realização. Tipicamente, o agente anti-inflamatório esteróide será administrado numa quantidade suficiente para proporcionar desde 0,05 µg a 500 µg por dose.

Os seguintes exemplos ilustram composições farmacêuticas representativas:

#### A. Composição de Pó Seco

Um composto micronizado de fórmula Ia (100 mg) é misturado com lactose moída (25 g) (e. g., lactose em que não mais do que cerca de 85% das partículas têm uma MMD de cerca de 60 µm a cerca de 90 µm e não menos de 15% das partículas têm uma MMD de menos que 15 µm). Esta mistura triturada é depois carregada em blister individuais de uma embalagem blister de película removível numa quantidade suficiente para proporcionar 10 µg a 500 µg do composto de fórmula Ia por dose. Os conteúdos dos blisters são administrados utilizando um inalador de pó seco.

#### B. Composição de Pó Seco

Um composto micronizado de fórmula Ia (1 g) é misturado com lactose moída (200 g) para formar uma composição tendo uma razão em peso de composto para lactose moída de 1:200. A composição misturada é embalada num dispositivo de inalação de pó seco capaz de distribuir entre 10 µg a 500 µg do composto de fórmula Ia por dose.

#### C. Composição de Pó Seco

Um composto micronizado de fórmula Ia (100 mg) e um agente anti-inflamatório esteróide micronizado (500 mg) são misturados com lactose moída (30 g). Esta mistura triturada é depois carregada em blister individuais de uma embalagem blister de película removível numa quantidade suficiente para proporcionar 10 µg a 500 µg do composto de fórmula Ia por dose. Os conteúdos dos blisters são administrados utilizando um inalador de pó seco.

#### D. Composição de Inalador de Dose Calibrada

Um composto micronizado de fórmula Ia (10 g) é disperso numa solução preparada por dissolução de lecitina (0,2 g) em água desmineralizada (200 mL). A suspensão resultante é seca por pulverização e depois micronizada para formar uma composição micronizado compreendendo partículas tendo um diâmetro médio menor do que 1,5 µm. A composição micronizada é depois carregada em cartuchos de inalador de dose calibrada contendo 1,1,1,2-tetrafluoroetano pressurizado, numa quantidade

suficiente para proporcionar 10 µg a 500 µg do composto de fórmula Ia por dose, quando administrada através do inalador de dose calibrada.

#### E. Composição Nebulizadora

Um composto de fórmula Ia (25 mg) é dissolvido em solução salina isotónica tamponada com citrato (pH 5) (125 mL). A mistura é agitada e sonicada até o composto estar dissolvido. O pH da solução é verificado e ajustado, se necessário, para pH 5 por adição lenta de hidróxido de sódio aquoso a 1 N. A solução é administrada utilizando um dispositivo nebulizador que proporciona 10 µg a 500 µg do composto de fórmula Ia por dose.

#### F. Cápsulas de Gelatina Dura

Um composto de fórmula Ia (50 g), lactose seca por pulverização (440 g) e estearato de magnésio (10g) são misturados exaustivamente. A composição resultante é carregada numa cápsula de gelatina dura (500 mg de composição por cápsula) que é administrada oralmente.

#### G. Composição Injectável

Um composto de fórmula Ia (0,2 g) é misturado com solução de tampão de acetato de sódio 0,4 M (2,0 mL). O pH da solução resultante é ajustado a pH 4 utilizando ácido clorídrico aquoso 0,5 N ou hidróxido de sódio aquoso 0,5 N, como necessário, e depois é adicionada água suficiente para injeção para

proporcionar um volume total de 20 mL. A mistura é depois filtrada através de um filtro estéril (0,22 micrones) para proporcionar uma solução estéril adequada para administração por injeção.

### Utilidade

Os compostos de fórmula Ia possuem actividade antagonista do receptor muscarínico e agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$  e, deste modo, é esperado que tais compostos sejam úteis como agentes terapêuticos para tratar estados patológicos mediados por receptores muscarínicos e/ou receptores adrenérgicos  $\beta_2$ , i. e., estados patológicos que são melhorados ou moderados por tratamento com um antagonista do receptor muscarínico ou um agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ . Tais estados patológicos são bem conhecidos dos técnicos com conhecimento geral na matéria, como exemplificado pelos ensinamentos de Eglen et al., *Muscarinic Receptor Subtypes: Pharmacology and Therapeutic Potential*, *DN&P* **10**(8), 462-469 (1997); Emilien et al., *Current Therapeutic Uses and Potential of beta-Adrenoceptor Agonists and Antagonists*, *European J. Clinical Pharm.*, **53**(6), 389-404 (1998); e referências aí citadas. Tal estados patológicos incluem, a título exemplificativo, distúrbios ou doenças pulmonares associados com a obstrução reversível das vias aéreas, tais como doença pulmonar obstrutiva crónica (e. g., bronquite crónica e sibilante e enfisema), asma, fibrose pulmonar, síndrome de dificuldade respiratória do adulto/aguda (ARDS), obstrução respiratória crónica, hiperactividade brônquica, rinite alérgica, pneumoconiose (tais como aluminose, antracose, asbestose, calicose, ptilose, siderose, silicose, tabacose e bissinose) e outros distúrbios pulmonares de origem desconhecida

que beneficiam de broncodilatação induzida por agente terapêutico. Adicionalmente, outros estados conhecidos como sendo tratáveis, pelo menos em parte, com um antagonista do receptor muscarínico ou um agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$  incluem parto prematuro, depressão, insuficiência cardíaca congestiva, doenças da pele (e. g., doenças inflamatórias, alérgicas, psoriáticas e proliferativas da pele), estados onde é desejável a diminuição da acidez péptica (e. g., ulceração péptica e gástrica) e doença de atrofia muscular.

Desta forma, esta invenção tem utilidade num método para tratar um distúrbio pulmonar, o método compreendendo administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de fórmula Ia a um doente com necessidade do tratamento. Quando utilizados para tratar um distúrbio pulmonar, os compostos de fórmula Ia serão tipicamente administrados por inalação em doses múltiplas por dia, numa única dose por dia ou numa única dose por semana. Geralmente, é esperado que a dose para tratar um distúrbio pulmonar varie desde 10  $\mu\text{g}/\text{dia}$  a 1500  $\mu\text{g}/\text{dia}$ ; tal como 25  $\mu\text{g}/\text{dia}$  a 1000  $\mu\text{g}/\text{dia}$ ; incluindo 50  $\mu\text{g}/\text{dia}$  a 500  $\mu\text{g}/\text{dia}$ .

Esta invenção encontra ainda utilidade num método para tratar doença pulmonar obstrutiva crónica ou asma, o método compreendendo administrar a um doente uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de fórmula Ia. Geralmente, é esperado que a dose para tratar COPD ou asma varie desde 10  $\mu\text{g}/\text{dia}$  a 1500  $\mu\text{g}/\text{dia}$ . Em particular, este método inclui aliviar os sintomas de COPD ou asma. O termo "COPD" é entendido pelos técnicos com conhecimento geral na matéria como incluindo uma variedade de estados respiratórios, incluindo bronquite obstrutiva crónica e enfisema, como exemplificado pelos ensinamentos de Barnes, *Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, *N. Engl. J. Med.*, 2000: 343:269-78 e referências aí citadas.

Quando administrados por inalação, os compostos de fórmula Ia têm tipicamente o efeito de produzir broncodilatação. Desta forma, a invenção tem também utilidade num método para produzir broncodilatação num mamífero, o método compreendendo administrar ao mamífero uma quantidade produtora de broncodilatação de um composto de fórmula Ia. Geralmente, a dose para produzir broncodilatação irá variar desde 10 µg/dia a 1500 µg/dia.

Quando utilizados como um agente terapêutico, os compostos de fórmula Ia são administrados opcionalmente em combinação com um ou mais agentes terapêuticos. Em particular, por administração de compostos de fórmula Ia com um agente anti-inflamatória esteróide, é esperada terapia tripla, *i. e.*, actividade antagonista do receptor muscarínico, actividade agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$  e actividade anti-inflamatória, utilizando apenas dois agentes terapêuticos. Uma vez que as composições farmacêuticas (e combinações) contendo dois agentes terapêuticos são tipicamente mais fáceis de formular e/ou administrar comparativamente a composições contendo três agentes terapêuticos, tais composições de dois componentes proporcionam uma vantagem significativa relativamente a composições contendo três agentes terapêuticos. Desta forma, em formas de realização particulares, as composições farmacêuticas, combinações e métodos desta invenção compreendem ainda um agente anti-inflamatório esteróide.

Uma vez que os compostos de fórmula Ia possuem actividade antagonista do receptor muscarínico e actividade agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ , tais compostos são também úteis como ferramentas da investigação para investigar ou estudar os sistemas ou as amostras biológicas tendo receptores muscarínicos

ou receptores adrenérgicos  $\beta_2$ . Adicionalmente, tais compostos são úteis em ensaios de rastreio para identificar, por exemplo, novos compostos tendo actividade antagonista do receptor muscarínico e actividade agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$ . Os sistemas ou amostras biológicas utilizados podem compreender receptores muscarínicos ou receptores adrenérgicos  $\beta_2$  ou ambos. Qualquer sistema ou amostra biológica adequada tendo receptores muscarínicos e/ou receptores adrenérgicos  $\beta_2$  podem ser utilizados em tais estudos que podem ser conduzidos *in vitro* ou *in vivo*. Os sistemas ou amostras biológicas representativos adequados para tais estudos incluem, mas não estão limitados a células, extractos celulares, membranas plasmáticas, amostras de tecido, mamíferos (tais como murganhos, ratos, cobaios, coelhos, cães, porcos, etc.).

Quando utilizado como uma ferramenta de investigação, um sistema ou amostra biológica compreendendo um receptor muscarínico e/ou um receptor adrenérgico  $\beta_2$  é tipicamente colocado em contacto com uma quantidade antagonista do receptor muscarínico ou agonista do receptor adrenérgico  $\beta_2$  de um composto de fórmula Ia. Os efeitos no sistema ou amostra biológica produzidos pelo composto são depois determinados ou medidos utilizando processos e equipamento convencionais, tais como por medição da ligação num ensaio de ligação com radioligando ou alterações mediadas por ligação num ensaio funcional ou por determinação da quantidade de broncoprotecção proporcionada pelo composto num ensaio de broncoprotecção num mamífero. Os ensaios funcionais representativos incluem alterações mediadas por ligando em monofosfato cíclico de adenosina intracelular (cAMP); alterações mediadas por ligando na actividade da enzima adenilil ciclase (que sintetiza cAMP); alterações mediadas por ligando na incorporação de 5'-O-(tio)trifosfato de guanósina ( $[^{35}\text{S}]\text{GTP S}$ ) em membranas isoladas através permuta catalizada por receptor de

[<sup>35</sup>S]GTP S para GDP; alterações mediadas por ligando em iões de cálcio intracelulares livres (medidas, por exemplo, com um leitor de placas de imagiologia associada a fluorescência ou FLIPR<sup>®</sup> da Molecular Devices, Inc.); e semelhantes. É esperado que os compostos da fórmula Ia antagonizem ou diminuam a activação de um receptor muscarínico ou agonizem ou provoquem activação de um receptor adrenérgico  $\beta_2$  e nos ensaios funcionais aqui listados ou em ensaios de uma natureza semelhante. Os compostos de fórmula Ia serão tipicamente utilizados nestes estudos numa concentração que varia desde 0,1 nanomolar a 100 nanomolar.

Adicionalmente, os compostos de fórmula Ia podem ser utilizados como ferramentas de investigação para avaliar outros compostos químicos. Neste aspecto, um composto de fórmula Ia é utilizado como um padrão num ensaio para permitir a comparação dos resultados obtidos com um composto de teste e o composto de fórmula Ia. Por exemplo, os dados de ligação a receptor muscarínico e/ou receptor adrenérgico  $\beta_2$  (como determinado, por exemplo, através de ensaios de deslocamento de radioligando *in vitro*) para um composto de teste ou um grupo de compostos de teste são comparados com os dados de ligação ao receptor muscarínico e/ou receptor adrenérgico  $\beta_2$  para um composto de fórmula Ia, para identificar aqueles compostos de teste tendo ligação desejável, *i. e.*, compostos de teste tendo ligação aproximadamente igual ou superior a um composto de fórmula Ia, se existir. Alternativamente, por exemplo, os efeitos broncoprotectores podem ser determinados para compostos de teste e um composto de fórmula Ia num ensaio de broncoprotecção num mamífero e estes dados são comparados para identificar compostos de teste que proporcionam efeitos broncoprotectores ou duração de acção aproximadamente iguais ou superiores. Pode ser conseguida (i) a produção de dados comparativos (utilizando os

ensaios apropriados) e (ii) a análise dos dados de teste para identificar compostos de teste de interesse.

As propriedades e utilidade dos compostos de fórmula Ia podem ser demonstradas utilizando vários ensaios *in vitro* e *in vivo* conhecidos dos técnicos com conhecimento geral na matéria. Por exemplo, são descritos com mais detalhe ensaios representativos nos seguintes Exemplos.

### **EXEMPLOS**

Os seguintes exemplos são proporcionados para ilustrar várias formas de realização e aspectos representativos desta invenção e não pretendem limitar, de forma alguma, o âmbito desta invenção, salvo indicação em contrário.

Todos os reagentes, materiais iniciais e solventes utilizados nos seguintes exemplos foram adquiridos de fornecedores comerciais (tais como Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) e foram utilizados sem purificação adicional, salvo indicação em contrário.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram registados num espectrómetro Varian AS400 de 400 MHz, salvo indicação em contrário. Os deslocamentos químicos são descritos como valores  $\delta$  em ppm relativamente a tetrametilsilano (TMS) como um padrão interno. As constantes do acoplamento (valores de  $J$ ) são dados em hertz (Hz) e as multiplicidades são descritas utilizando as seguintes abreviaturas: s = singuleto, d = duplete, t = triplete, q = quarteto, m = multiplete, Br = largo, nd = não determinado.

### Condições de Cromatografia Líquida - Espectroscopia de Massa (LC-MS)

Os dados de LC-MS foram obtidos utilizando um sistema de cromatografia líquida Agilent 1100 - de bomba binária G1312A (Agilent Technologies), um Rx ZORBAX de resolução rápida de 3,5 µm, coluna Bonus-RP (tamanho de partícula de 3,5 µm; 2,1 mm x 50 mm) (Agilent Technologies) e espectrómetro de massa API 150EX Single Quadrupole LC/MS (Perkin-Elmer Sciex Instruments). Os sistemas de solventes utilizados foram:

- Solvente A: 98% de água e 2% de acetonitrilo (v/v) + 1 mL/L de TFA
- Solvente B: 90% de acetonitrilo e 10% de água (v/v) + 1 mL/L de TFA
- Caudal: 500 µL/min
- Gradiente: (Método 10-90): 10% de B a 90% de B durante 3 min  
(Método 2-90): 2% de B a 90% de B durante 3 min  
(Método 10-70): 10% de B a 70% de B durante 3 min.

### Condições de HPLC

A HPLC foi conduzida utilizando um sistema de HPLC HP 1100 Series (Agilent Technologies) e um Rx ZORBAX de resolução rápida de 3,5 µm, coluna Bonus-RP (tamanho de partícula de 3,5 µm; 2,1 mm x 50 mm) (Agilent Technologies) e uma coluna de HPLC

Ascentis Express C18 (tamanho de partícula de 2,7  $\mu\text{m}$ , 3,0 mm x 3 cm). Os sistemas de solventes utilizados foram:

Solvente A: 98% de água e 2% de acetonitrilo (v/v) + 1 mL/L de TFA

Solvente B: 90% de acetonitrilo e 10% de água (v/v) + 1 mL/L de TFA

Caudal: 500  $\mu\text{L}/\text{min}$

Gradiente: (Método 10-50): 10% de B a 50% de B durante 6 min

(Método 10-70): 10% de B a 70% de B durante 6 min

(Método 2-90): 2% de B a 90% de B durante 6 min.

### **Exemplo 1**

#### **Preparação de Cloridrato de 5-Metilaminopentanoato de Metilo**

Uma solução agitada de 1-metil-2-piperidinona (4,40 mL, 40,0 mmol) em hidróxido de sódio aquoso (4 M, 11,0 mL, 44,0 mmol) foi aquecida a 100 °C durante 15 h. A mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e depois acidificada até pH 2 com ácido clorídrico concentrado. A mistura foi depois concentrada sob pressão reduzida para produzir ácido 5-metilaminopentanóico em bruto como um sólido branco rosado. Ao ácido 5-metilaminopentanóico em bruto foi adicionado MeOH (40,0 mL, 987 mmol) e ácido clorídrico concentrado (0,33 mL, 4,0 mmol). A solução turva resultante foi aquecida a 60 °C durante 39 h, no final das quais a LC-MS mostrou material

inicial remanescente. Foi adicionado ácido clorídrico concentrado adicional (0,33 mL, 4,0 mmol) e a mistura resultante foi aquecida a 60 °C durante 33 h e depois a 65 °C durante mais 24 h. A LC-MS mostrou material inicial remanescente. A mistura reaccional foi concentrada sob pressão reduzida e foi adicionada uma solução de cloreto de hidrogénio em MeOH (1,25 M) ao resíduo. A mistura resultante foi aquecida a 60 °C durante 72 h, no final das quais não foi observado por LC-MS qualquer material inicial remanescente. A mistura reaccional foi parcialmente concentrada sob pressão reduzida e o material sólido que se formou foi removido por filtração, lavando com MeOH. O filtrado foi depois concentrado sob pressão reduzida para proporcionar cloridrato de 5-metilaminopentanoato de metilo (7,57 g, 100% de rendimento) como um sólido amarelo claro.

LC-MS (Método 2-90): Rt 1,10 min;  $m/z$  146,4  $[M+H]^+$ . RMN de  $^1H$  ( $CD_3OD$ )  $\delta$  4,86 (s), 3,66 (s), 3,30 (t), 3,00 (t), 2,69 (s), 2,41 (t), 1,71 (m).

## **Exemplo 2**

### **Preparação do Éster Metílico do Ácido 5-({3-[4-(Bifenil-2-ilcarbamoiloxi)piperidin-1-il]propionil}metilamino)pentanóico**

Uma mistura de cloridrato de 5-metilaminopentanoato de metilo (7,27 g, 40,0 mmol), ácido 3-[4-(bifenil-2-ilcarbamoiloxi)piperidin-1-il]propiónico (13,3 g, 36,0 mmol) e 1-hidroxi-7-azabenzotriazole (5,14 g, 37,8 mmol) em DCM (160 mL) e 2,6-lutidina (12,5 mL, 108 mmol) foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h. Foi adicionado cloridrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida (10,4 g, 54,0 mmol)

e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. Foi adicionada uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (~100 mL) e as camadas foram separadas. A camada aquosa foi extraída com DCM (50 mL) e as camadas orgânicas foram combinadas, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia flash em sílica gel (30-100% de EtOAc em hexanos; depois 2-10% de MeOH em DCM) para produzir o composto do título (12,38 g, 69% de rendimento) como um óleo grosso amarelo claro/sólido branco.

LC-MS (Método 2-90): Rt 2,43 min;  $m/z$  496,6  $[M+H]^+$ . RMN de  $^1H$  ( $CDCl_3$ )  $\delta$  8,10 (d, 1H), 7,40 (m, 6H), 7,20 (m, 2H), 6,58 (s, 1H), 4,74 (m, 1H), 3,66 (d, 3H), 3,37 (t, 1H), 3,29 (m, 1H), 2,97 (s, 2H), 2,91 (s, 1H), 2,70 (m, 4H), 2,49 (m, 2H), 2,34 (m, 4H), 1,92 (m, 2H), 1,60 (m, 5H).

### **Exemplo 3**

#### **Preparação de Ácido 5-((3-[4-(Bifenil-2-ilcarbamoiloxi)-piperidin-1-il]propionil)metilamino)pentanóico**

A uma mistura de éster metílico de ácido 5-((3-[4-(bifenil-2-ilcarbamoiloxi)piperidin-1-il]propionil)-metilamino)pentanóico (10,21 g, 20,60 mmol), álcool *terc*-butílico (20 mL) e água (20 mL) foi adicionada uma mistura 1:1 de LiOH:água (1,97 g, 41,2 mmol). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 4 h e depois o pH da mistura foi ajustado até cerca de pH 2 utilizando ácido clorídrico aquoso (1 N). A camada aquosa foi extraída com DCM (2 x ~80 mL) e as camadas orgânicas foram combinadas, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e

concentradas sob pressão reduzida para produzir o composto do título (12,23 g, quantitativo) como um sólido espumoso esbranquiçado (contendo álcool *terc*-butílico residual).

LC-MS (Método 2-90): Rt 2,32 min;  $m/z$  482,4 [M+H]<sup>+</sup>.

#### **Exemplo 4**

##### **Preparação de 2-(4-Nitrofenil)-1,3-dioxolano**

Uma solução agitada de *p*-nitrobenzaldeído (101,5 g, 672 mmol), etilenoglicol (112 mL) e ácido *p*-toluenossulfônico (12,8 g, 67,2 mmol) em tolueno (800 mL) foi aquecida num balão equipado com uma armadilha de Dean-Stark a 120 °C durante 4 h. Após arrefecer até à temperatura ambiente, a mistura reaccional foi concentrada sob pressão reduzida. Ao resíduo foi adicionado bicarbonato de sódio aquoso saturado (800 mL) e esta mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 15 min. O sólido resultante foi isolado por filtração e seco sob vácuo para produzir o composto do título (121,8 g, 92% de rendimento) como um sólido amarelo.

RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 8,12 (d, 2H), 7,59 (d, 2H), 5,78 (s, 1H), 3,8-4,0 (m, 4H).

### **Exemplo 5**

#### **Preparação de 4-(1,3-Dioxolan-2-il)fenilamina**

A uma mistura de dióxido de platina (227 mg, 1,00 mmol) e bicarbonato de sódio (420 mg, 5,00 mmol) sob azoto seco, foi adicionada uma solução de 2-(4-nitrofenil)-1,3-dioxolano (976 mg, 5,00 mmol) em EtOH (30,0 mL). A mistura reaccional foi borbulhada com hidrogénio durante 15 min e depois agitada sob uma atmosfera de hidrogénio (balão) durante 2 h. A mistura reaccional foi depois filtrada através de uma almofada de Celite lavando com MeOH. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida para produzir o composto do título (0,80 g, 96% de rendimento).

### **Exemplo 6**

#### **Preparação de Éster 1-(2-([4-(4-(1,3-Dioxolan-2-il)-fenilcarbamoil)butil]metilcarbamoil)etil)piperidin-4-ílico do Ácido Bifenil-2-ilcarbâmico**

A uma solução agitada de ácido 5-({3-[4-(bifenil-2-ilcarbamoiloxi)piperidin-1-il]-propionil}metilamino)pentanóico (2,33 g, 4,84 mmol), 4-(1,3-dioxolan-2-il)fenilamina (800 mg, 5 mmol) e *N,N*-diisopropiletilamina (1,26 mL, 7,26 mmol) em DCM (48,4 mL) foi adicionado 1-hidroxi-7-azabenzotriazole (692 mg, 5,08 mmol) e cloridrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (1,39 g, 7,26 mmol). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura reaccional foi depois lavada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e

concentrada sob pressão reduzida para produzir o composto do título (3,04 g, 100% rendimento) como um sólido amarelo.

LC-MS (Método 10-70): Rt 2,67 min;  $m/z$  629,6 [M+H]<sup>+</sup>.

### **Exemplo 7**

#### **Preparação de Éster 1-(2-{[4-(4-Formilfenilcarbamoil)butil]metilcarbamoil}etil)piperidin-4-ílico do Ácido Bifenil-2-ilcarbâmico**

Uma mistura agitada de éster 1-(2-{[4-(4-(1,3-dioxolan-2-il)fenilcarbamoil)butil]metilcarbamoil}etil)piperidin-4-ílico do ácido bifenil-2-ilcarbâmico (3,04 g, 4,84 mmol) em ácido clorídrico aquoso (1 M, 10 mL) e acetonitrilo (10 mL) foi aquecida a 50 °C durante 2 h. A mistura reaccional foi concentrada sob pressão reduzida e foram adicionados uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e DCM ao resíduo. As camadas foram separadas e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para produzir o composto do título (2,83 g, 100% de rendimento).

LC-MS (Método 10-70): Rt 2,67 min;  $m/z$  585,4 [M+H]<sup>+</sup>.

### Exemplo 8

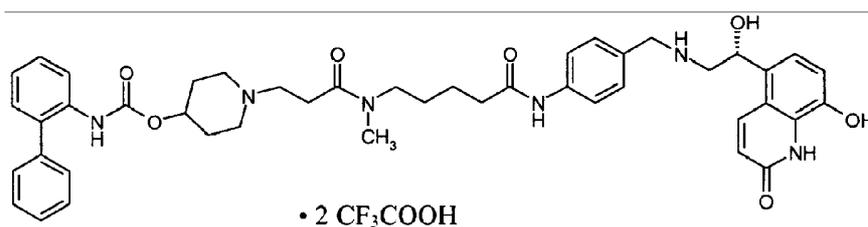
**Preparação de Éster 1-(2-{[4-(4-{[(R)-2-(*terc*-butildimetil-silanoloxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolin-5-il)-etilamino]metil}-fenilcarbamoil)butil]metilcarbamoil}etil)-piperidin-4-ílico do Ácido Bifenil-2-ilcarbâmico**

A uma solução agitada de éster 1-(2-{[4-(4-formil-fenilcarbamoil)butil]metilcarbamoil}etil)piperidin-4-ílico do ácido bifenil-2-ilcarbâmico (2,83 g, 4,84 mmol) e sal de ácido acético de 5-[(R)-2-amino-1-(*terc*-butildimetilsilanoloxi)etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona (ver, e. g., publicação de Patente U.S. N° 2006/0035931 A1, publicada em 16 de Fevereiro de 2006) (1,91 g, 4,84 mmol) numa mistura 1:1 de MeOH:DCM (40,0 mL, 312 mmol) foi adicionado triacetoxiboro-hidreto de sódio (3,08 g, 14,5 mmol). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h e depois as camadas foram separadas. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida para produzir um sólido amarelo. O sólido foi purificado por cromatografia flash em sílica gel (0-30% de MeOH em DCM + 0,5% de NH<sub>4</sub>OH) para produzir o composto do título (3,60 g, 82% de rendimento) como um sólido amarelo.

LC-MS (Método 10-70): Rt 2,72 min; *m/z* 903,8 [M+H]<sup>+</sup>.

## Exemplo 9

Preparação do Sal de Di(Ácido trifluoroacético) do Éster 1-(2-{[4-(4-{[(R)-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)etilamino]metil}fenilcarbamoil)-butil]metilcarbamoil}etil)piperidin-4-ílico do Ácido Bifenil-2-ilcarbâmico (Composto 1-14)



A uma solução agitada de éster 1-(2-{[4-(4-{[(R)-2-(*tert*-butildimetilsilaniloxi)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)etilamino]-metil}fenilcarbamoil)butil]metilcarbamoil}etil)-piperidin-4-ílico do ácido bifenil-2-ilcarbâmico (3,60 g, 3,98 mmol) numa mistura 9:1 de DCM:DMF (32,9 mL) foi adicionado tri-hidrofluoreto de trietilamina (1,95 mL, 12,0 mmol). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente, de um dia para o outro, e depois concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por HPLC (método 10-70) para produzir o composto do título (1,90 g, 46% de rendimento) como um sólido branco.

LC-MS (Método 10-70): Rt 2,12 min;  $m/z$  789,6 [M+H]<sup>+</sup>.

## Preparações e Ensaio Biológicos

### **Exemplo A**

#### **Cultura de Células e Preparação de Membranas a partir de Células que Expressam os Receptores Muscarínicos Humanos M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> e M<sub>4</sub>**

As linhas celulares CHO que expressam estavelmente subtipos de receptores muscarínicos humanos clonados hM<sub>1</sub>, hM<sub>2</sub>, hM<sub>3</sub> e hM<sub>4</sub>, respectivamente, foram cultivadas até quase confluência em meio F-12 de Ham suplementado com 10% de FBS e 250 µg/mL de Geneticina. As células foram cultivadas numa incubadora a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>, e retiradas com EDTA 2 mM em dPBS. As células foram recolhidas através de uma centrifugação de 5 min a 650 x g e os sedimentos celulares foram armazenados congelados a -80 °C ou as membranas foram preparadas imediatamente para utilização.

Para a preparação de membranas, os sedimentos celulares foram ressuspensos em tampão de lise e homogeneizados com um homogeneizador de tecido Polytron PT-2100 (Kinematica AG; 20 segundos x 2 pulsos). As membranas em bruto foram centrifugadas a 40000 x g durante 15 min a 4 °C. O precipitado membranar foi depois ressuspensão com tampão de ressuspensão e novamente homogeneizado com o homogeneizador de tecido Polytron.

A concentração de proteína da suspensão membranar foi determinada pelo método descrito em Lowry *et al.*, 1951, *Journal of Biochemistry*, 193, 265. Todas as membranas foram armazenadas congeladas a -80 °C em fracções ou utilizadas imediatamente.

Alíquotas membranares preparadas do receptor hM<sub>5</sub> foram adquiridas à PerkinElmer, Inc. (Wellesley, MA) e foram armazenadas a -80 °C até à utilização.

### **Exemplo B**

#### **Ensaio de Ligação de Radioligando para Receptores Muscarínicos**

Os ensaios de ligação de radioligando para receptores muscarínicos clonados foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços num volume total de ensaio de 100 µL. As membranas celulares de CHO que expressam estavelmente o subtipo muscarínico hM<sub>1</sub>, hM<sub>2</sub>, hM<sub>3</sub>, hM<sub>4</sub> ou hM<sub>5</sub> foram diluídas em tampão de ensaio nas seguintes concentrações específicas de proteína alvo (µg/poço): 10 µg para hM<sub>1</sub>, 10-15 µg para hM<sub>2</sub>, 10-20 µg para hM<sub>3</sub>, 10-20 µg para hM<sub>4</sub> e 10-12 µg para hM<sub>5</sub> para obter sinais semelhantes (CPM). As membranas foram brevemente homogeneizadas utilizando um homogeneizador de tecido Polytron (10 segundos) antes da adição à placa de ensaio.

Os estudos de saturação de ligação para determinar valores de K<sub>D</sub> para o radioligando, foram realizados utilizando metilcloreto de L-[N-metil-<sup>3</sup>H]escopolamina ([<sup>3</sup>H]-NMS) (TRK666, 84,0 Ci/mMol, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra) a concentrações que variam desde 0,001 nM a 20 nM.

Os ensaios de deslocamento para determinação de valores de K<sub>i</sub> de compostos de teste foram realizados com [<sup>3</sup>H]-NMS a 1 nM e onze concentrações diferentes do composto de teste. Os compostos de teste foram dissolvidos inicialmente a uma concentração de

400  $\mu\text{M}$  em tampão de diluição e depois diluídos em série 5x com tampão de diluição até às concentrações finais que variam desde 10 pM a 100  $\mu\text{M}$ . A ordem de adição e volumes adicionados às placas de ensaio foram como se segue: 25  $\mu\text{L}$  de radioligando, 25  $\mu\text{L}$  de composto de teste diluído e 50  $\mu\text{L}$  de membranas. As placas de ensaio foram incubadas durante 6 horas a 37 °C. As reacções de ligação foram terminadas por filtração rápida sobre placas de filtros de fibra de vidro GF/B (PerkinElmer, Inc.) pré-tratadas em 1% de BSA. As placas de filtro foram lavadas três vezes com tampão de lavagem (10 mM HEPES) para remover radioactividade não ligada. As placas foram depois secas ao ar e foi adicionado a cada poço 50  $\mu\text{L}$  de líquido de cintilação Microscint-20 (PerkinElmer, Inc.). As placas foram depois contadas num contador de cintilações líquidas PerkinElmer Topcount (PerkinElmer, Inc.).

Os dados de ligação foram analisados por análise de regressão não linear com o GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) utilizando o modelo de competição do um local. Os valores de  $K_i$  para compostos de teste foram calculados a partir de valores observados de  $\text{IC}_{50}$  e o valor de  $K_D$  do radioligando utilizando a equação de Cheng-Prusoff (Cheng Y; Prusoff WH. (1973) *Biochemical Pharmacology*, 22(23):3099-108). Os valores de  $K_i$  foram convertidos nos valores de  $\text{p}K_i$  para determinar a média geométrica e os intervalos de confiança de 95%. Estes dados estatísticos foram depois convertidos de volta para valores de  $K_i$  para o relatório de dados.

Neste ensaio, um valor inferior de  $K_i$  significa que o composto de teste tem uma afinidade de ligação mais elevada para o receptor. Os dados ligação do receptor  $\text{hM}_3$  ( $K_i$ ) para o composto de fórmula Ia é como se segue (dados arredondados ao 0,1 nM mais próximo): 0,1 nM.

### **Exemplo C**

#### **Cultura de Células e Preparação de Membranas a partir de Células que Expressam os Receptores Adrenérgicos Humanos $\beta_1$ , $\beta_2$ ou $\beta_3$**

As linhas celulares de rim embrionário humano (HEK-293) que estavelmente expressam os receptores adrenérgicos humanos clonados  $\beta_1$  e  $\beta_2$  ou as linhas celulares de ovário de hamster chinês (CHO) que estavelmente expressam os receptores adrenérgicos humanos clonados  $\beta_3$  foram cultivadas até quase confluência em meio DMEM ou F-12 de Ham com 10% de FBS na presença de 500  $\mu\text{g/mL}$  de Geneticina. A monocamada celular foi levantada com EDTA 2 mM em PBS. As células foram sedimentadas por centrifugação a 1000 rpm e os sedimentos celulares foram armazenados congelados a  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  ou as membranas foram preparadas imediatamente para utilização.

Para a preparação das membranas que expressam o receptor  $\beta_1$  e  $\beta_2$ , os sedimentos celulares foram ressuspensos em tampão de lise (10 mM HEPES/HCl, EDTA 10 mM, pH 7,4 a  $4\text{ }^\circ\text{C}$ ) e homogeneizados utilizando um homogeneizador de vidro bem justo Dounce (30 pulsos) em gelo.

Para as membranas que expressam receptor  $\beta_3$  mais sensível a proteases, os sedimentos celulares foram homogeneizados em tampão de lise (10 mM Tris/HCl, pH 7,4) suplementado com um comprimido de "Complete Protease Inhibitor Cocktail Tablets with 2 mM EDTA" por 50 mL de tampão (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN). O homogenato foi centrifugado a 20000 x g e o

sedimento resultante foi lavado uma vez com tampão de lise por ressuspensão e centrifugação, como aqui descrito. O sedimento final foi depois ressuspensão em tampão do ensaio de ligação gelado (75 mM Tris/HCl pH 7,4, 12,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 mM de EDTA).

A concentração de proteína da suspensão membranar foi determinada através dos métodos descritos em Lowry *et al.*, **1951**, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265; e Bradford, *Analytical Biochemistry*, **1976**, 72, 248-54. Todas as membranas foram armazenadas congeladas a -80 °C em fracções ou utilizadas imediatamente.

#### **Exemplo D**

#### **Ensaio para Determinar a Potência Agonista do Receptor Adrenérgico**

Os ensaios de cAMP foram realizados num formato de radioimunoensaio utilizando o Sistema de Ensaio de Activação da Adenilil Ciclase Flashplate com [<sup>125</sup>I]-cAMP (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA), de acordo com as instruções dos fabricantes. Para este ensaio, as linhas celulares HEK-293 que expressam estavelmente receptores humanos clonados  $\beta_1$  ou  $\beta_2$  foram cultivados até próximo de confluência em DMEM suplementado com 10% FBS e Geneticina (500  $\mu$ g/mL); ou as linhas celulares CHO-K1 que expressam estavelmente os receptores adrenérgicos humanos  $\beta_3$  clonados foram cultivadas até próximo de confluência em meio F-12 de Ham suplementado com 10% de FBS e Geneticina (250  $\mu$ g/mL). As células foram lavadas com PBS e destacadas em dPBS (soro fisiológico tamponado com fosfato de Dulbecco, sem CaCl<sub>2</sub> e MgCl<sub>2</sub>), contendo 2 mM EDTA ou solução de

Tripsina-EDTA 2 mM (0,05% de tripsina/0,53 mM de EDTA). Depois de se terem contado as células num contador de células coulter, as células foram sedimentadas por centrifugação a 1000 rpm e ressuspensas em tampão da estimulação contendo IBMX (Kit PerkinElmer) pré-aquecido à temperatura ambiente a uma concentração de  $1,6 \times 10^6$  a  $2,8 \times 10^6$  células/mL. Cerca de 40000 a 80000 células por poço foram utilizadas neste ensaio. Os compostos de teste (10 mM em DMSO) foram diluídos em PBS contendo 0,1% de BSA em Beckman Biomek-2000 e testados a 11 concentrações diferentes que variam desde 100  $\mu$ M a 1 pM. As reacções foram incubadas durante 10 min a 37 °C e paradas por adição de 100  $\mu$ L de tampão de detecção frio contendo [ $^{125}$ I]-cAMP (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA). A quantidade de cAMP produzida (pmol/poço) foi calculada com base nas contagens observadas para as amostras e padrões de cAMP, como descrito no manual de utilizador do fabricante.

Os dados foram analisados por análise de regressão não linear com o GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) com equação sigmóide. A equação de Cheng-Prusoff (Cheng Y; Prusoff WH. (1973) *Biochemical Pharmacology*, 22(23):3099-108) foi utilizada para calcular os valores de  $EC_{50}$ .

Neste ensaio, um valor de  $EC_{50}$  inferior significa que o composto de teste tem uma actividade funcional mais elevada no receptor testado. Os dados de eficácia  $h\beta_2$  ( $EC_{50}$ ) para o composto de fórmula Ia são como se seguem (dados arredondados ao 1 nM mais próximo): 1 nM.

## **Exemplo E**

### **Ensaio de Einthoven**

Este ensaio mede a capacidade de um composto de teste para proporcionar broncoprotecção contra broncoconstrição induzida por metacolina (MCh) num rato.

Ratos Sprague-Dawley machos (Harlan, Indianapolis, IN), pesando entre 200 g e 350 g, foram utilizados para todos os estudos.

O composto de teste ou veículo (água desionizada estéril) foram doseados por inalação (IH) durante um período de 10 min numa câmara de inalação em forma de empada (R+S Molds, San Carlos, CA) utilizando 5 mL de solução de dosagem. Os ratos foram expostos a um aerossol, que foi gerado a partir de LC Star Nebulizer Set Model 22F51 (PARI Respiratory Equipment, Inc. Midlotian, VA) accionado por Bioblend (5% de CO<sub>2</sub>/95% de ar atmosférico) a uma pressão de 22 psi. Os ratos foram doseados com 100 µg do composto de teste, salvo indicação em contrário.

Em momentos predeterminados, os ratos foram anestesiados com uma injeccção intraperitoneal (IP) de 120 mg/kg de inactina (tiobutabarbital). Uma dose suplementar (40 mg/kg, IP) foi administrada se o animal respondesse a estímulos físicos (e. g., beliscão na pata). O local cirúrgico foi rapado e foi feita uma incisão de 1-2 cm na linha média do lado ventral do pescoço. A veia jugular foi isolada e canulada com um cateter de polietileno (PE-50) cheio com soro fisiológico para permitir a infusão IV de MCh. A traqueia foi libertada por dissecação e canulada com uma agulha 14G (N° NE-014, Small Parts, Miami Lakes, FL). Após colocação da cânula na traqueia, cada rato foi

ventilado utilizando um respirador (modelo 683, Harvard Apparatus, Inc., MA) ajustado com um volume de bombada de 1 mL/100 g de peso corporal (mas não excedendo 2,5 mL de volume) e a uma taxa de 90 bombadas por min. Uma ligação em T foi colocada ao longo da tubulação expiratória do respirador para permitir a medição de alterações na pressão de ventilação (VP), utilizando um transdutor Biopac que estava ligado a um pré-amplificador Biopac (TSD 137C). A temperatura corporal foi mantida a 37 °C utilizando uma almofada de aquecimento.

As alterações na VP foram registadas utilizando o Acknowledge Data Collection Software (Santa Barbara, CA). Os valores de linha de base foram recolhidos para, pelo menos, 2,5 min. Os ratos foram desafiados depois com infusões intravenosas (IV) não cumulativas de 40 e 80 µg/kg de MCh. O MCh foi infundido intravenosamente durante 2,5 min a partir de uma bomba de seringa (sp210iw, World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) a uma taxa de 2 mL/kg/min, com um intervalo de 2 minutos entre as duas doses de MCh. As alterações na pressão de ventilação (cm H<sub>2</sub>O) em animais tratados são expressas como % de inibição da resposta de MCh relativamente a animais de controlo.

Outros broncoconstritores, tais como histamina e acetilcolina, podem ser utilizados no lugar de MCh neste ensaio. Adicionalmente, podem ser utilizados cobaios em vez de ratos.

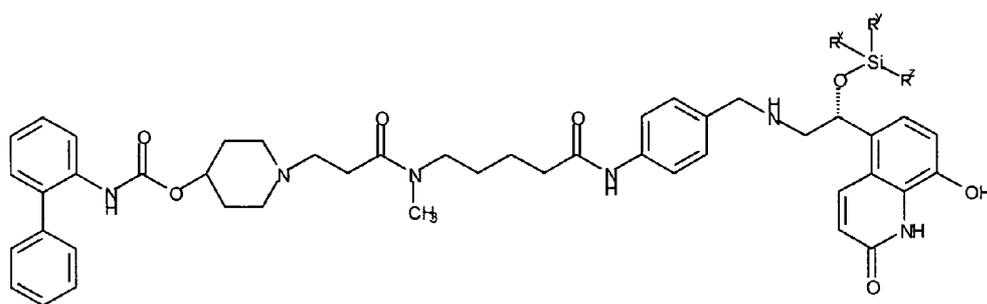
Neste ensaio, uma % superior de inibição da resposta de MCh indica que o composto de teste proporcionou um maior efeito broncoprotector. Uma inibição superior ou igual a 30 por cento às 24 h é indicativa de uma longa duração de acção. Dados de bronchoprotecção indicam que foi obtido um efeito broncoprotector presente às 24 h, e. g., ≥30% de inibição da

resposta de MCh às 24 h no ensaio de Einthoven de rato (100 µg)  
para o composto de fórmula Ia.

Lisboa, 16 de Maio de 2013



7. Composto como reivindicado na reivindicação 1 ou reivindicação 2, para a utilização em terapia.
8. Composto da reivindicação 7 para utilização no tratamento de um distúrbio pulmonar.
9. Composto da reivindicação 8, em que o distúrbio pulmonar é a doença pulmonar obstrutiva crónica ou asma.
10. Composto intermediário para preparar um composto da Reivindicação 1, tendo o composto intermediário a fórmula:



em que

$R^x$  e  $R^y$  são independentemente seleccionados de alquilo $C_{1-4}$ , fenilo e -alquil  $C_{1-4}$ -(fenilo);

$R^z$  é seleccionado de alquilo  $C_{1-4}$ , fenilo, -alquil  $C_{1-4}$ -(fenilo) e -O-(alquilo  $C_{1-4}$ );

ou um seu sal.

11. Composto da Reivindicação 10, em que  $R^x$  e  $R^y$  são metilo; e  $R^z$  é *terc*-butilo.

12. Processo para preparar um composto como reivindicado na reivindicação 1, compreendendo desproteger um composto como reivindicado na reivindicação 10 ou reivindicação 11.

Lisboa, 16 de Maio de 2013