(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 702 467**

(51) Int. Cl.:

C07D 498/10	(2006.01)	***A61P 25/00***	(2006.01)
C07D 519/00	(2006.01)	***A61P 9/00***	(2006.01)
A61K 31/5386	(2006.01)	***A61P 35/00***	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01)	***A61P 29/00***	(2006.01)
A61P 37/00	(2006.01)		
A61P 19/00	(2006.01)		
A61P 17/00	(2006.01)		
A61P 27/00	(2006.01)		
A61P 1/00	(2006.01)		
A61P 13/00	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2010** **PCT/GB2010/051242**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **03.02.2011** **WO11012896**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2010** **E 10752118 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018** **EP 2459572**

(54) Título: **Derivados de amidas espirocíclicas**

(30) Prioridad:

31.07.2009 GB 0913342

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.03.2019

(73) Titular/es:

ASTRAZENECA AB (50.0%)
151 85 Södertälje, SE y
PULMAGEN THERAPEUTICS (SYNERGY) LIMITED (50.0%)

(72) Inventor/es:

ALCARAZ, LILIAN;
BAILEY, ANDREW y
KINDON, NICHOLAS

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 702 467 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

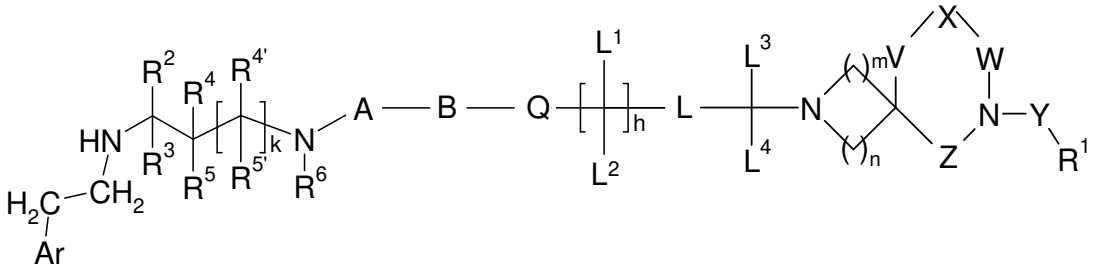
Derivados de amidas espirocíclicas

La presente invención se refiere a derivados de amidas espirocíclicas, un proceso para su preparación, las composiciones farmacéuticas que los contienen, un proceso para preparar dichas composiciones farmacéuticas, su uso en tratamientos e intermediarios para uso en su preparación.

El tratamiento de primera línea para diversos trastornos pulmonares como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y el asma se realiza a través de broncodilatadores. Los antagonistas de los receptores muscarínicos (anticolinérgicos) son broncodilatadores que son eficaces porque reducen el tono colinérgico vagal, el principal componente reversible de la constricción de las vías respiratorias en la EPOC. Los agonistas de β-adrenoceptores también son broncodilatadores debido a su capacidad de contrarrestar funcionalmente las respuestas broncoconstrictoras de diversos mediadores, incluida la acetilcolina.

Además de mejorar la función pulmonar, estos agentes mejoran la disnea (dificultad para respirar), la calidad de vida, la tolerancia al ejercicio y disminuyen las exacerbaciones. Varios estudios clínicos han demostrado que la administración combinada de un anticolinérgico y un agonista del receptor de β_2 resulta más eficaz que la administración de cada uno de los componentes por separado (van Noord, J.A., Aumann, J-L., Janssens, E., Smeets, J.J., Verhaert, J., Disse, B., Mueller, A. y Cornelissen, P.J.G., 2005. "Comparison of tiotropium once daily, formoterol twice daily and both combined once daily in patients with COPD", *Eur. Respir. J.*, vol. 26, págs. 214-222.). Es posible que una única molécula con actividad sobre los receptores muscarínicos y β_2 (MABA) proporcione beneficios adicionales a los pacientes con EPOC en cuanto a la eficacia y el perfil de efectos secundarios en comparación con cada uno de los agentes en forma independiente. Además, es posible que una molécula que posea actividad dual también brinde beneficios en cuanto a la facilidad de uso y adhesión del paciente en comparación con la coadministración de terapias individuales. También puede resultar beneficioso un agente único en cuanto a la formulación en comparación con dos compuestos separados, y también, en combinación con otro agente terapéutico, habilita una terapia de triple acción.

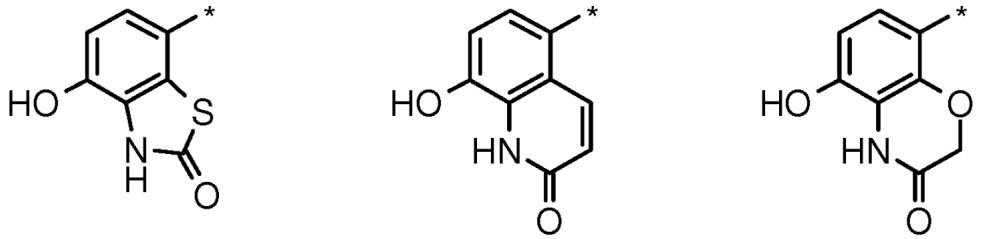
De conformidad con un primer aspecto de la divulgación, se proporciona un compuesto de fórmula I



(I)

donde

$ArCH_2CH_2NH$- representa un grupo de unión β-adrenoceptor donde Ar se selecciona de cualesquiera de



cada uno de R^2, R^3, R^4, R^5, $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es hidrógeno;

k es 0

R^6 es un grupo alquiloC_{1-8} opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes seleccionados de halógeno, alquiloC_{1-6} (opcionalmente sustituido con hasta 3 átomos de halógeno), OR^{10}, alquil$C_{1-6}S(O)_{0-2}$, NR^8R^9 , OC(O)(alquiloC_{1-6}), cicloalquiloC_{3-8} (donde uno o dos de los átomos de carbono pueden reemplazarse con O, S o N) opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquiloC_{1-6} (opcionalmente sustituido con hasta 3 átomos de halógeno), OR^{10}, alquil$C_{1-6}S(O)_{0-2}$, NR^8R^9, y OC(O)(alquiloC_{1-6});

o

R^6 es un grupo alquiloC_{1-8} sustituido con un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

o

R^6 es un grupo cicloalquiloC_{3-9} (donde uno o dos de los átomos en el anillo de carbono pueden estar reemplazados con O, S o N) y opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquiloC_{1-6} (opcionalmente sustituido con hasta 3 átomos de halógeno y/o donde dos grupos alquilo pueden formar un anillo de hasta 9 átomos en el anillo), OR^{10}, alquil$C_{1-6}S(O)_{0-2}$, NR^8R^9 , OC(O)(alquiloC_{1-6}), y opcionalmente arilo o heteroarilo sustituido;

o

R^6 es un grupo bicicloalquiloC_{7-9} opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquiloC_{1-6}, OR^{10} y alquil$C_{1-6}S(O)_{0-2}$ o

R^6 es un anillo heterocíclico aromático o no aromático de 5 ó 6 miembros que contiene hasta dos heteroátomos independientemente seleccionados de N, O y S;

R^8 y **R^9** son independientemente hidrógeno, alquiloC_{1-6}, o R^8 y R^9 pueden unirse para formar un anillo heterocíclico que comprende hasta 9 átomos en el anillo (que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de O, N o S) donde el anillo puede estar opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, hidroxilo, alquiloC_{1-6} o cicloalquiloC_{3-6}, y donde el alquilo y el cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, hidroxilo y alcoxiC_{1-6};

R^{10} representa hidrógeno, alquiloC_{1-6} o cicloalquiloC_{3-6}, donde el alquilo y el cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, hidroxilo y alcoxiC_{1-6};

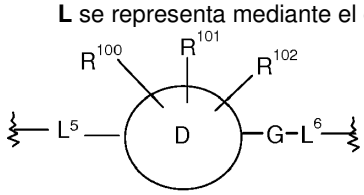
A es C(O);

B es etileno

Q es oxígeno;

R^7 es hidrógeno o alquiloC_{1-6};

L se representa mediante el grupo de Fórmula (II)



(II)

donde L^5 está conectado a $C(L^1)(L^2)$ y L^6 está conectado a $C(L^3)(L^4)$ y;

donde el anillo D representa un anillo de fenilo, tiofeno, furano o tiazol;

R^{100}, R^{101} y R^{102} se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno (por ejemplo, fluoro o cloro), alquiloC_{1-4}, alcoxiC_{1-4} y CF_3;

L^5 representa un grupo alquilenoC_{1-4} opcionalmente sustituido con hasta 2 grupos metileno; o

L^5 representa $-(CH_2)_qQ^1(CH_2)_t-$ donde Q^1 es oxígeno o azufre y t es 0, 1 o 2 y q es 1 o 2

G representa un enlace, oxígeno, $CR^{10}R^{10}$ o S;

cuando G representa oxígeno o S, entonces L^6 es un grupo alquilenoC_{1-2} opcionalmente sustituido con hasta dos grupos metilo;

cuando G representa un enlace o $CR^{10}R^{10}$, entonces L^6 es un enlace o un grupo alquilenoC_{1-2} opcionalmente sustituido con hasta dos grupos metileno;

L^1 y **L^2** representan independientemente hidrógeno;

h es 1;

L^3 y **L^4** representan independientemente hidrógeno;

R^1 se selecciona de los siguientes:

(i) un anillo de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituidos, anillo que puede ser aromático o total o parcialmente saturado y donde hasta cuatro de los átomos del anillo pueden reemplazarse con heteroátomos independientemente seleccionados de N, O y S;

(ii) un sistema fusionado de anillos bicíclicos opcionalmente sustituidos de hasta 10 átomos, anillos que son aromáticos o total o parcialmente saturados, y donde hasta cuatro átomos del anillo pueden reemplazarse con heteroátomos independientemente seleccionados de N, O y S;

(iii) un grupo alquiloC_{1-6} opcionalmente sustituido donde uno o dos de los átomos de carbono pueden reemplazarse con O, S o N y donde dicho grupo alquilo puede sustituirse una o dos veces con un sistema de anillos independientemente seleccionados de (i) y (ii) anteriores, y donde la cadena de alquiloC_{1-6} puede sustituirse con hasta cinco sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, $S(O)_{0-2}R^{10}$, NR^8R^9, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^8R^9$, $C(O)OR^{10}$, $NR^{10}S(O)_2R^{11}$, $NR^{10}C(O)R^{10}$, $NR^{10}C(O)OR^{11}$, $NR^{10}C(O)NR^8R^9$, OR^{10}, alquiloC_{1-6} y cicloalquiloC_{3-6} (donde dos cadenas de alquiloC_{1-3} pueden unirse para formar un anillo cicloalquilo opcionalmente sustituido de hasta ocho átomos en el anillo),

y donde para cualquier anillo en (i), (ii) y (iii) anteriores, “opcionalmente sustituido” significa opcionalmente sustituido con hasta cuatro sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^{10}$, NR^8R^9, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^8R^9$, $C(O)OR^{10}$, $NR^{10}S(O)_2R^{11}$, $NR^{10}C(O)R^{10}$, $NR^{10}C(O)OR^{11}$, $NR^{10}C(O)NR^8R^9$, OR^{10}, alquiloC_{1-6} o cicloalquiloC_{3-6} (donde un átomo de carbono del alquilo o cicloalquilo puede ser opcionalmente reemplazado con N, O o

S, y el alquilo o el cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido con hasta cinco sustituyentes seleccionados de alquiloC_{1-6}, halógeno, ciano, SH, $S(O)_{0-2}R^{10}$, NR^8R^9, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^8R^9$, $C(O)OR^{10}$, $NR^{10}S(O)_2R^{11}$, $NR^{10}C(O)R^{10}$, $NR^{10}C(O)OR^{11}$, $NR^{10}C(O)NR^8R^9$, y OR^{10}),

y donde los sistemas de anillos saturados en (i) y (iii) pueden sustituirse también con hasta tres grupos alquiloC_{1-6} que pueden unirse para formar estructuras de anillos puenteadas, opcionalmente sustituidas con halógeno u OR^{10}. Los ejemplos de estos sistemas de anillos incluyen adamantilo y biciclo [2.2.1]heptanilo;

X representa O;
m = 1 ó 2;
n = 1, 2, 3 ó 4; siempre que **m + n** sea mayor o igual a 2;
W representa $CR^{12}R^{13}$-$CR^{12}R^{13}$ o $CR^{12}R^{13}$-$CR^{12}R^{13}$-$CR^{12}R^{13}$;
V y **Z** representan independientemente un enlace, $CR^{12}R^{13}$ o $CR^{12}R^{13}$-$CR^{12}R^{13}$, siempre que cuando X representa O o $S(O)_{0-2}$ entonces m, V y Z son tales que todos los heteroátomos en los anillos se separan con al menos dos átomos de carbono;
Y representa C(O);
R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente hidrógeno, fluoro, alquiloC_{1-6} o cicloalquiloC_{3-6}; o
R^{12} y **R^{13}** cuando se unen al mismo átomo de carbono, junto con el átomo de carbono al que ambos están unidos, pueden formar adicionalmente un anillo alifático de 3 a 6 miembros;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Por “grupo de unión β-adrenoceptor” se entiende un grupo capaz de unirse a un receptor β-adrenérgico como, por ejemplo, se describe en el artículo de reseña “β-adrenergic receptors in Comprehensive Medicinal Chemistry, 1990, B.E. Main, pág. 187 (Pergamon Press). Estos grupos también se dan a conocer, por ejemplo, en WO/2005092841, US/20050215542, WO/2005070872, WO/2006023460, WO/2006051373, WO/2006087315, WO/2006032627, Véase también WO2007018461, WO2008075025, WO2008075026 y WO2008096119

Cada compuesto ejemplificado de la invención o cualquier combinación conveniente de estos representa un aspecto particular e independiente de la invención.

Se entenderá que ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas solvatadas, por ejemplo, hidratadas así como también no solvatadas. Se entenderá que la presente invención abarca todas dichas formas solvatadas. Ciertos compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas estereoisoméricas. Se entenderá que la invención abarca todas las formas geométricas y ópticas de los compuestos de fórmula (I) y mezclas de éstos, incluidos los racematos. Los tautómeros y sus mezclas también conforman un aspecto de la presente invención.

Se divulga el reemplazo de cualquier carbono cuaternario, más específicamente el carbono cuaternario presente en el sistema espirocíclico, mediante un átomo de silicio, por ejemplo, según se divulga en “Silicon switches of Marketed Drugs: Mini-reviews in Med. Chem.”, 2006, *6*, 1169-1177.

Definiciones

A menos que se indique lo contrario:

El término “heteroarilo” significa un sistema de anillos aromáticos de hasta 7 átomos, convenientemente 5 ó 6 átomos, que tienen hasta tres heteroátomos seleccionados de N, O y S. Los ejemplos de dichos anillos de heteroarilo incluyen tiazolilo, tienilo, isoxazolilo, furilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, pirazinilo, piridazinilo, pirazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolilo, tetrazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo y similares. El grupo heteroarilo puede conectarse a través de cualquier átomo de carbono o nitrógeno.

El término “anillo bicíclico fusionado” significa un sistema de anillos de hasta 12 átomos donde 2 anillos se fusionan juntos. El sistema opcionalmente puede contener hasta 4 heteroátomos seleccionados de N, S y O. Los anillos pueden ser independientemente aromáticos, parcialmente saturados o totalmente saturados. Ejemplos de dichos sistemas de anillos bicíclicos fusionados incluyen benzo[b]tienilo, benzofuranilo, benzo[d]imidazolilo, quinoxalinilo, pirazolo[1,5-a]pirimidinilo, pirazolo[1,5-a]piridinilo, dihidrobenzo[b][1,4]dioxinilo, 4,5,6,7-tetrahidro-2H-indazolilo, benzo[d][1,3]dioxolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, naftilo, indanilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, 1,2,3,4-tetrahidroquinolinilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolinilo y similares. El sistema de anillos puede unirse al resto de la molécula a través de cualquier átomo de nitrógeno o carbono conveniente.

El término “arilo” significa un anillo carbocíclico aromático. Los ejemplos son fenilo, naftilo y similares.

El término ‘alicíclico’ significa un grupo que tiene una estructura de anillos carbocíclicos que pueden estar saturados o insaturados, pero no pueden ser un bencenoide u otro sistema aromático.

El término “alifático” significa un grupo no aromático.

El término “anillo heteroalifático” significa un anillo heterocíclico que está total o parcialmente saturado, pero no aromático. El anillo tiene hasta 10 átomos con hasta 4 heteroátomos seleccionados de N, O o S. Los ejemplos son piperidina, morfolina, tetrahidrofurano, pirrolidina y similares.

Los grupos de anillos “arilo”, “heteroarilo”, “bicíclico fusionado”, “alicíclico” y “heteroalifático” pueden estar sustituidos con uno o más grupos sustituyentes seleccionados de alquiloC_{1-6}, cicloalquiloC_{3-6}, halógeno, ciano, nitro, SH, $S(O)_{0-2}R^{10}$, NR^8R^9, $S(O)_2NR^8R^9$, $C(O)NR^8R^9$, $C(O)OR^{10}$, $NR^{10}S(O)_2R^{11}$, $NR^{10}C(O)R^{10}$, $NR^{10}C(O)OR^{11}$, $NR^{10}C(O)NR^8N^9$, OR^{10}.

A menos que se establezca lo contrario, en el contexto de la presente memoria descriptiva, los grupos y las fracciones alquilo pueden ser de cadena lineal o ramificada e incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo o terc-butilo. Los grupos cicloalquilo son monocíclicos, por ejemplo ciclopentilo o ciclohexilo. Halógeno es por ejemplo, fluoro, cloro o bromo.

En el contexto de la presente memoria descriptiva, cuando se establece que un grupo puede estar opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes, el grupo puede estar insustituido o sustituido; cuando está sustituido, el grupo generalmente estará sustituido con uno, dos o tres sustituyentes. En general, una fracción hidroxilo no se conectará a un átomo de carbono que sea adyacente a un átomo de nitrógeno, otro átomo de oxígeno o un átomo de azufre.

Los compuestos de fórmula I tienen actividad como productos farmacéuticos, en particular agonistas duales de receptores β adrenérgicos y anticolinérgicos, inclusive los antagonistas del receptor muscarínico (M1, M2, y M3), en particular, los antagonistas de M3. Las enfermedades y afecciones que pueden tratarse con los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables incluyen:

1. tracto respiratorio: las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, inclusive el asma, como el asma bronquial, alérgica, intrínseca, extrínseca, inducida por el ejercicio, inducida por fármacos (incluida la inducida por la aspirina y los AINE) y el asma inducida por el polvo, tanto intermitente como persistente en todos sus niveles, y otras causas de hipersensibilidad de las vías respiratorias; la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); la bronquitis, inclusive la bronquitis infecciosa y eosinofílica; el enfisema; la bronquiectasia; la fibrosis cística; la sarcoidosis; el pulmón de granjero y las enfermedades relacionadas; la neumonitis por hipersensibilidad; la fibrosis pulmonar, inclusive la alveolitis fibrosante criptogénica, las neumonias idiopáticas intersticiales, la fibrosis que complica la terapia neoplásica y la infección crónica, inclusive la tuberculosis y la aspergilosis y otras infecciones fúngicas; las complicaciones del transplante pulmonar; los trastornos vasculíticos y trombóticos de la vasculatura pulmonar y la hipertensión pulmonar; la actividad antitusiva inclusive el tratamiento de la tos crónica asociada con afecciones inflamatorias y secretoras de las vías respiratorias y la tos iatrogénica; la rinitis aguda y crónica inclusive la rinitis medicamentosa y la rinitis vasomotora; la rinitis alérgica perenne y estacional, inclusive la rinitis nervosa (fiebre del heno); la poliposis nasal; la infección viral aguda, inclusive el resfrío común, y la infección debida al virus sincitial respiratorio, la influenza, el coronavirus (inclusive SARS) o el adenovirus; o la esofagitis eosinofílica;

2. huesos y articulaciones: la artritis asociada con la osteoartritis/osteoartrosis o estas inclusive, tanto primaria como secundaria, por ejemplo, la displasia de cadera congénita; la espondilitis cervical y lumbar y el dolor lumbar bajo y de cuello; la osteoporosis; la artritis reumatoide y la enfermedad de Still; las espondiloartropatías seronegativas, inclusive la espondilitis anquilosante, la artritis psoriásica, la artritis reactiva y la espondartropatía indiferenciada; la artritis séptica y otras artropatías relacionadas con infecciones y trastornos óseos como la tuberculosis, inclusive la enfermedad de Potts y el síndrome de Poncet; la sinovitis inducida por cristal aguda y crónica, inclusive la gota urato, la enfermedad de deposición de pirofosfato de calcio y la inflamación de tendones, bursal y sinovial relacionada con el apatito de calcio; la enfermedad de Behcet; el síndrome de Sjogren primario y secundario; la esclerosis sistémica y el escleroderma limitado; el lupus sistémico eritematoso, la enfermedad del tejido conectivo mixto y la enfermedad del tejido conectivo indiferenciado; las miopatías inflamatorias inclusive la dermatomiositis y la polimiositis; la polimialgia reumática; la artritis juvenil inclusive la artritis inflamatoria idiopática de cualquier estructura articulatoria y los síndromes asociados y la fiebre reumática y sus complicaciones sistémicas; la vasculitis inclusive la arteritis de célula gigante, la arteritis de Takayasu, el síndrome de Churg-Strauss, la poliarteritis nodosa, la poliarteritis microscópica y la vasculitis asociada con la infección viral, las reacciones de hipersensibilidad, las crioglobulinas y paraproteínas; el dolor lumbar bajo; la fiebre mediterránea familiar, el síndrome de Muckle-Wells y la fiebre hiberniana familiar, la enfermedad de Kikuchi; las artalgias inducidas por fármacos, la tendonititis y las miopatías;

3. el dolor y la remodelación del tejido conectivo de los trastornos musculoesqueléticos debido a una lesión [por ejemplo, una lesión deportiva] o una enfermedad: la artritis (por ejemplo, la artritis reumatoide, la osteoartritis, la gota o la artropatía de cristal), otra enfermedad de las articulaciones (como la degeneración de los discos intervertebrales o la degeneración de la articulación temporomandibular), la enfermedad de remodelación ósea (como la osteoporosis, la enfermedad de Paget o la osteonecrosis), la policondritits, el escleroderma, el trastorno del tejido conectivo mixto, las espondiloartropatías o la enfermedad periodontal (como la periodontitis);

4. la piel: la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto y otras dermatitis eccematosas y las reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado; las fito y las fotodermatitis; la dermatitis seborreica, la dermatitis herpetiforme, el liquen plano, el liquen escleroso y atrófico, el pioderma gangrenoso, el sarcoide de piel, el lupus discoide eritematoso, el pénfigo, el penfigoide, la epidermólisis bullosa, la urticaria, el angioedema, la vasculitis, los eritemas tóxicos, las eosinofilias cutáneas, la alopecia areata, la calvicie de patrón masculino, el síndrome de Sweet, el

síndrome de Weber-Christian, el eritema multiforme; la celulitis, tanto infecciosa como no infecciosa; la paniculitis; los linfomas cutáneos, el cáncer de piel no melanoma y otras lesiones displásicas; los trastornos inducidos por fármacos, inclusive las erupciones a fármacos fijos;

5. los ojos: la blefaritis; la conjuntivitis, inclusive la conjuntivitis alérgica perenne y la vernal; la iritis; la uveítis anterior y posterior; la coroiditis; los trastornos autoinmunitarios, degenerativos o inflamatorios que afectan la retina; la oftalmitis inclusive la oftalmitis simpática; la sarcoidosis; inclusive la viral, la fúngica y la bacteriana;

6. el tracto gastrointestinal: la glositis, la gingivitis, la periodontitis; la esofagitis, inclusive el reflujo; la gastroenteritis eosinofílica, la mastocitosis, la enfermedad de Crohn, la colitis inclusive la colitis ulcerativa, la proctitis, la pruritis ani; la enfermedad celiaca, el síndrome del intestino irritable y las alergias relacionadas con los alimentos que pueden tener efectos remotos desde el intestino (por ejemplo, la migraña, la rinitis o el eczema);

7. abdominal: la hepatitis, inclusive la autoinmune, la alcohólica y la viral; la fibrosis y la cirrosis del hígado; la colecistitis; la pancreatitis, aguda y crónica;

8. genitourinaria: la nefritis inclusive la intersticial y la glomerulonefritis; el síndrome nefrótico; la cistitis inclusive la cistitis aguda y la crónica (intersticial) y la úlcera de Hunner; la uretritis aguda y crónica, la prostatitis, la epididiitis, la ooforitis y la salpingitis; la vulvovaginitis; la enfermedad de Peyronie; la disfunción eréctil (masculina y femenina);

9. el rechazo de aloinjertos: aguda y crónica después de, por ejemplo, un trasplante de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula, piel o córnea o después de una transfusión de sangre; o la enfermedad crónica de injerto contra huésped;

10. SNC: mal de Alzheimer y otras demencias inclusive la enfermedad de Creuztfeldt-Jakob y la enfermedad de Creuztfeldt-Jakob de variante nueva; la amiloidosis; la esclerosis múltiple y otros síndrome desmielinizantes; la aterosclerosis cerebral y la vasculitis; la arteritis temporal; la miastenia grave, el dolor agudo y crónico (agudo, intermitente o persistente, de origen central o periférico) inclusive el dolor visceral, la cefalea, la migraña, la neuralgia del trigémino, el dolor facial atípico, el dolor de los huesos y las articulaciones, el dolor como consecuencia del cáncer y la invasión tumoral; los síndromes del dolor neuropático, inclusive las neuropatías asociadas con VIH, postherpéticas y diabéticas; la neurosarcoidosis; las complicaciones del sistema nervioso central y periférico de procesos malignos, infecciosos o autoinmunes;

11. otros trastornos autoinmunitarios y alérgicos, inclusive la tiroiditis de Hashimoto, la enfermedad de Graves, la enfermedad de Addison, la diabetes mellitus, la púrpura trombocitopénica idiopática, la fascitis eosinofílica, el síndrome hiper-IgE, el síndrome antifosfolipídico;

12. otros trastornos con un componente inflamatorio o inmunológico; inclusive el síndrome de deficiencia inmune adquirida (SIDA), la lepra, el síndrome de Sezary y los síndromes paraneoplásicos;

13. cardiovascular: la aterosclerosis que afecta la circulación coronaria y periférica; la pericarditis; la miocarditis, las cardiomiopatías inflamatorias y autoinmunes, inclusive el sarcoide al miocardio; las lesiones por reperfusión isquémica; la endocarditis, la valvulitis y la aortitis, inclusive la aortitis infecciosa (por ejemplo, la sifilítica); la vasculitis; los trastornos de las venas proximal y periférica, inclusive la flebitis y la trombosis, inclusive la trombosis venosa profunda y las complicaciones de las venas varicosas;

14. oncología: el tratamiento de cánceres comunes, inclusive el de próstata, mama, pulmón, ovario, páncreas, intestino y colon, estómago, piel y los tumores cerebrales y las neoplasias que afectan la médula (inclusive las leucemias) y los sistemas linfoproliferativos, como linfoma de Hodgkin y no Hodgkin; inclusive, la prevención y el tratamiento de la enfermedad metastásica y los síndromes paraneoplásicos; y,

15. el tracto gastrointestinal: la enfermedad celíaca, la proctitis, la gastroenteritis eosinofílica, la mastocitosis, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerativa, la colitis microscópica, la colitis indeterminada, el trastorno del intestino irritable, el síndrome del intestino irritable, la diarrea no inflamatoria, las alergias relacionadas con los alimentos que tienen efecto remoto desde el intestino, por ejemplo, la migraña, la rinitis y el eczema.

Así, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, según se define anteriormente en la presente, para uso en terapia.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este según se define anteriormente en la presente en la fabricación de un medicamento para uso en terapia.

En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "terapia" también incluye la "profilaxis", a menos que se indique específicamente lo contrario. Los términos "terapéutico" y "terapéuticamente" deberán interpretarse de forma acorde.

Se espera que la profilaxis sea particularmente importante para el tratamiento de las personas que hayan sufrido, o se consideran en riesgo de sufrir, un episodio previo de la enfermedad o la afección en cuestión. Las personas con riesgo

de desarrollar una enfermedad o afección particular generalmente incluyen las que tienen una historia familiar de la enfermedad o la afección, o aquellos a quienes se los ha identificado a través de pruebas o exámenes genéticos como particularmente sensibles a desarrollar la enfermedad o la afección.

En particular, pueden utilizarse los compuestos de esta invención en el tratamiento del síndrome de distrés respiratorio en el adulto (SDRA), enfisema pulmonar, bronquitis, bronquiectasia, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma y rinitis.

Para los usos terapéuticos antemencionados, la dosificación administrada variará, por supuesto, con el compuesto empleado, el modo de administración, el tratamiento deseado y el trastorno indicado. Por ejemplo, la dosificación diaria del compuesto de la invención, si inhalado, puede estar en el intervalo de 0,05 microgramos por kilogramo en peso corporal (µg/kg) a 100 microgramos por kilogramo en peso corporal (µg/kg). Alternativamente, si el compuesto se administra oralmente, entonces la dosificación diaria del compuesto de la invención puede estar en el intervalo de 0,01 microgramos por kilogramo en peso corporal (µg/kg) a 100 miligramos por kilogramo en peso corporal (mg/kg).

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden utilizarse por sí solos, pero se administrarán generalmente en forma de una composición farmacéutica en la que el compuesto/sal de fórmula (I) (ingrediente activo) se encuentra en asociación con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Se describen procedimientos convencionales para la selección y preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas en, por ejemplo, "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

En función del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá preferentemente entre 0,05 y 99 %p (por ciento en peso), más preferentemente entre 0,05 y 80 %p, aun más preferentemente entre 0,10 y 70 %p, y aun más preferentemente entre 0,10 y 50 %p, de ingrediente activo; estos porcentajes en peso se basan en la composición total.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este, según se define anteriormente en la presente, en asociación con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona además un proceso para la preparación de una composición farmacéutica de la invención que comprende mezclar un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este, según se define anteriormente en la presente, con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse tópicamente (por ejemplo, sobre la piel o el pulmón y/o vías respiratorias) en forma, por ejemplo, de cremas, soluciones, suspensiones, aerosoles de hidrofluoroalcano (HFA) y formulaciones de polvo seco, por ejemplo, formulaciones en el dispositivo inhalador conocido como el Turbuhaler®; o sistémicamente, por ejemplo por administración oral en forma de comprimidos, cápsulas, jarabes, polvos o gránulos; o mediante administración parenteral en forma de soluciones o suspensiones; o por administración subcutánea; o mediante administración rectal en forma de supositorios, o transdérmicamente.

Las formulaciones de polvo seco y aerosoles de HFA presurizados de los compuestos de la invención pueden administrarse mediante inhalación oral o nasal. Para inhalación, el compuesto se presenta deseablemente finamente dividido. El compuesto finamente dividido tiene preferentemente un diámetro medio de masa inferior a 10 µm, y puede suspenderse en una mezcla de propelentes con ayuda de un dispersante, como un ácido graso C_8-C_{20} o sal de este, (por ejemplo, ácido oleico), una sal biliar, un fosfolípido, un alquilsacárido, un surfactante perfluorado o polietoxilado, u otro dispersante farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención también pueden administrarse a través de un inhalador de polvo seco. El inhalador puede ser un inhalador monodosis o multidosis, y puede ser un inhalador de polvo seco por aspiración.

Una posibilidad es mezclar el compuesto finamente dividido de la invención con una sustancia portadora, por ejemplo, un mono, di o polisacárido, un alcohol de azúcar, u otro poliol. Los portadores adecuados son los azúcares, por ejemplo, la lactosa, la glucosa, la rafinosa, la melecitosa, el lactitol, el maltitol, la trehalosa, la sacarosa, el manitol y el almidón. Alternativamente, el compuesto finamente dividido puede recubrirse con otra sustancia. La mezcla de polvos puede dispensarse también en cápsulas de gelatina dura que contengan la dosis deseada del compuesto activo.

Otra posibilidad consiste en procesar el polvo finamente dividido en microesferas que se descomponen durante el procedimiento de inhalación. Este polvo esferonizado puede colocarse en el reservorio de fármaco de un inhalador multidosis, por ejemplo, el conocido como Turbuhaler® en el que una unidad dosificadora mide la dosis deseada que después es inhalada por el paciente. Con este sistema, el ingrediente activo, con o sin sustancia portadora, es administrado al paciente.

Para la administración oral, el compuesto de la invención puede mezclarse con un adyuvante o portador, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol; un almidón, por ejemplo, almidón de patata, almidón de maíz o amilopectina; un derivado de celulosa; un aglutinante, por ejemplo, la gelatina o la polivinilpirrolidona; y/o un lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio, polietilenglicol, una cera, parafina y similares, y después comprimirse en comprimidos. Si es necesario recubrir los comprimidos, pueden recubrirse los núcleos, preparados como se describe

anteriormente, con una solución de azúcar concentrada que puede contener, por ejemplo, goma arábiga, gelatina, talco y dióxido de titanio. Alternativamente, puede recubrirse el comprimido con un polímero adecuado disuelto en un disolvente orgánico volátil.

Para la preparación de cápsulas de gelatina blanda, puede mezclarse el compuesto de la invención con, por ejemplo, un aceite vegetal o polietilenglicol. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos del compuesto utilizando los excipientes antemencionados para los comprimidos. También, pueden colocarse formulaciones líquidas o semisólidas del compuesto de la invención en cápsulas de gelatina dura.

Las preparaciones líquidas para aplicación oral pueden presentarse en forma de jarabes o suspensiones, por ejemplo, soluciones que contengan el compuesto de la invención, cuyo equilibrio sea azúcar y una mezcla de etanol, agua, glicerol y propilenglicol. Opcionalmente, dichas preparaciones líquidas pueden contener agentes colorantes, agentes saborizantes, sacarina y/o carboximetilcelulosa como agente espesante u otros agentes espesantes u otros excipientes conocidos para los entendidos en la técnica.

La invención se ilustrará ahora, de modo no limitante, con referencia a los siguientes ejemplos en los que se utilizaron los siguientes métodos generales:

Métodos generales

A menos que se establezca lo contrario, los materiales de partida están disponibles a nivel comercial. Todos los disolventes y reactivos comerciales fueron de grado de laboratorio y se utilizaron como se recibieron. Todas las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, es decir, en el intervalo de 17 a 28°C y, cuando corresponde, bajo una atmósfera de gas inerte como nitrógeno. Por calentamiento por “microondas” se entenderá el calentamiento a temperatura constante, utilizando irradiación de microondas de potencia variable en un reactor de microondas CEM Discover®. Las reacciones de hidrogenación se llevaron a cabo con un sistema Büchi Peteric® o un sistema ThalesNano H-Cube®, según se detalla. La concentración de todas las soluciones se llevó a cabo mediante evaporación bajo presión reducida (*in vacuo*), por ejemplo utilizando un evaporador rotatorio Büchi Rotavapor® .

Se llevó a cabo la cromatografía en capa fina (TLC) utilizando placas con soporte de aluminio o vidrio recubiertas con sílice (tamaño de partícula <63 µm; porosidad 60 Å; área superficial ~500 m^2/g), con un indicador fluorescente (UV_{254}) . Después de la elución, se visualizaron las placas por irradiación de UV_{254} o desarrollo con un indicador adecuado, como yodo (preabsorbido en sílice), una solución acuosa de permanganato de potasio, o una solución acuosa de nitrato amónico de cerio (IV). Se pueden encontrar ejemplos de preparaciones indicadoras en ‘Experimental Organic Chemistry: Preparative and Microscale’ 2.ª Ed. (Harwood, L., Moody, C. y Percy, J.), WileyBlackwell, 1998.

Se llevó a cabo la HPLC analítica con una columna C8 Waters XBridge™ 3,5 µm eluyendo con un gradiente de acetonitrilo en ácido trifluoroacético acuoso al 0,1% , ácido fórmico acuoso al 0,1%, acetato de amonio acuoso al 0,1% o amoníaco acuoso al 0,1%; una columna C18 Waters XBridge™ de 3,5 µm con un gradiente de acetonitrilo en amoníaco acuoso al 0,1%; una columna C18 Waters Symmetry™ 3,5 µm con un gradiente de acetonitrilo en ácido trifluoroacético acuoso al 0,1%; un columna C8 Waters Sunfire™ 3,5 µm con un gradiente de acetonitrilo en ácido trifluoroacético acuoso al 0,1%; o una columna C18 Phenomenex Gemini™ 3 µm con un gradiente de acetonitrilo en ácido trifluoroacético acuoso al 0,1%. Se midió el espectro UV de los picos eluidos con un arreglo de diodos en un sistema Agilant 1100® o equivalente.

La cromatografía líquida a presión media (MPLC) en sílice (tamaño de partícula <63 µm; porosidad 60 Å; área superficial ~500 m^2/g) se llevó a cabo con columnas Biotage FLASH™ preempaquetadas o equivalentes, por ejemplo, columnas de sílice Thomson SINGLE StEP™, Biotage Isolute™, Teledyne Isco RediSep™, o Silicycle UltraPure a las velocidades de flujo de disolvente recomendadas y cargas de muestras. Se determinó la pureza de las fracciones mediante TLC o HPLC analítica.

La HPLC preparativa se llevó a cabo con gradiente de acetonitrilo o metanol en TFA acuoso al 0,1% u 0,2%, ácido fórmico acuoso o una solución de amoníaco acuoso, con una columna C18 Phenomenex Gemini™ NX (30 x 100 mm, 5 µm) , una columna C8 Waters Sunfire™ Prep (30 x 100 mm, 10 µm) , una columna C18 Waters Sunfire™ Prep (30 x 100 mm, 5 µm) o una columna C8 Waters XBridge™ (30 x 100 mm, 5 µm) como fase estacionaria a una velocidad de flujo de 30 a 35 mL/min, según se describe. Se recogieron las fracciones después de la detección mediante espectroscopía de UV a una longitud de onda como 220 o 254 nm. Se determinó la pureza de las fracciones mediante TLC o HPLC analítica.

Los espectros de ^1H NMR se registraron en un instrumento Bruker Avance 600 (600 MHz), un Bruker DRX 500 (500 MHz) o un Varian UnityInova 500 MHz, 400 MHz o 300 MHz. Se utilizaron los picos centrales de cloroformo-*d* ($CDCl_3$; δ_H 7,27 ppm), dimetilsulfóxido-d_6 (d_6-DMSO; δ_H 2,50 ppm) o metanol-d_4 (CD_3OD; δ_H 3,31 ppm), o un estándar interno de tetrametilsilano (TMS; δ_H 0,00 ppm) como referencias. Los espectros de masas se registraron en un Agilent MSD (+ve y –ve APCI y/o electrospray (por ejemplo, en multimodo)) seguido de HPLC analítica.

Todos los otros procesos se llevaron a cabo con técnicas de laboratorio estándar, por ejemplo, como se detalla en ‘Experimental Organic Chemistry: Preparative and Microscale’ 2.ª Ed. (Harwood, L., Moody, C. y Percy, J.), WileyBlackwell, 1998.

Las abreviaturas o términos utilizados en los ejemplos tienen los siguientes significados:

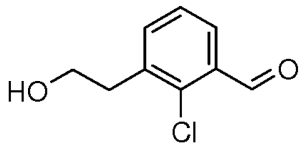
g	gramos
h	hora(s)
min	minuto(s)
mL	mililitros
AIBN	azobisisobutironitrilo
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
DCM	diclorometano
DMF	*N,N*-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
HATU	hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio
HCl	clorhidrógeno/ácido clorhídrico
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
Base de Hunig	*N,N*-diisopropiletilamina
IPA	isopropanol
MeOH	metanol
MTBE	éter terc-butil metílico
NBS	*N*-bromosuccinimida
NCS	*N*-clorosuccinimida
NMP	1-metilpirrolidin-2-ona
RT	temperatura ambiente
T3P	anhídrido del ácido 2-propanofosfónico
TBAF	fluoro de tetrabutilamonio
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
Tosic-65	polímero macroporoso unido a la resina de intercambio de iones suministrado por Biotage AB.
Triton-B	hidróxido de benciltrimetilamonio

Preparación de intermediarios sintéticos

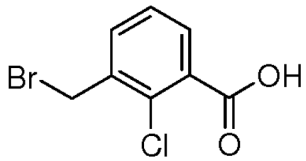
A) Preparación de porciones aromáticas de unión:

Intermediario aromático 11

2-Cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldehído



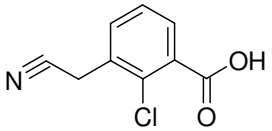
a) Ácido 3-(bromometil)-2-clorobenzoico



Se agregó peróxido de benzoílo (1,33 g) a una suspensión de ácido 2-cloro-3-metilbenzoico (25 g) y N-bromosuccinimida (28,7 g) en clorobenceno (250 mL) y la mezcla resultante se calentó hasta 85°C durante 4 h. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y se lavó con 10% de salmuera acuosa (3 x 100 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó. El sólido beige se recristalizó de acetato de etilo (~75 mL)/isohexano (~250 mL) para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido blanco. Rendimiento 25,3 g.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,93 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,36 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 4,67 (s, 2H). No se observó un protón intercambiable.

b) Ácido 2-cloro-3-(cianometil) benzoico

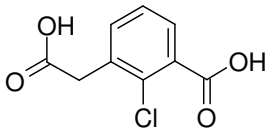


Una solución de ácido 3-(bromometil)-2-clorobenzoico [Intermediario aromático 11, etapa a] (13,2 g) en DMF (150 mL) se trató con una solución de cianuro de potasio (7,23 g) en agua (50 mL) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con agua (200 mL) y se acidificó cuidadosamente con ácido clorhídrico concentrado (25 mL), para ventilar el HCN que se hubiera liberado por contacto con una solución blanqueadora mediante una corriente de nitrógeno. Después de agitarse durante 2 horas, la fase acuosa se extrajo con acetato de

etilo (3 x 250 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 250 mL) y salmuera (250 mL), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido blanco. Rendimiento 10,3 g.

^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 13,54 (s, 1H), 7,75 - 7,67 (m, 2H), 7,48 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 4,16 (s, 2H).

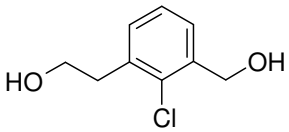
c) Ácido 3-(carboximetil)-2-clorobenzoico



Se agregó por goteo ácido sulfúrico concentrado (60 mL) a hielo-agua fría (75 mL) y la solución resultante se agregó a ácido 2-cloro-3-(cianometil)benzoico [Intermediario aromático 11, etapa b] (14 g). La suspensión resultante se calentó a reflujo (165°C) durante 30 min durante los que se disolvió el material de partida y se observó un precipitado nuevo. La reacción se dejó enfriar y se diluyó con agua (250 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 500 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (250 mL) y salmuera (250 mL). Se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido blanco. Rendimiento 13,7 g.

^{1}H NMR (400MHz, D_6-DMSO) δ 7,62 (dd, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H), 7,54 (dd, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 3,78 (s, 2H). No se observaron dos protones intercambiables.

d) 2-(2-Cloro-3-(hidroximetil)fenil)etanol



Una solución de complejo de dimetil sulfuro de borano (2M en THF, 220 mL) se agregó en porciones durante 5 minutos a una suspensión de ácido 3-(carboximetil)-2-clorobenzoico [Intermediario aromático 11, etapa c] (18,9 g) en THF seco (800 mL) a temperatura ambiente. La suspensión efervescente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, se calentó a reflujo durante 60 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se inactivó mediante la adición en porciones de metanol (100 mL) durante 15 minutos y se agitó hasta que cesó la evolución de burbujas. Se agregó HCl acuoso concentrado (25 mL), la mezcla se agitó durante 30 min y se concentró bajo presión reducida. El residuo gomoso se repartió entre acetato de etilo (500 mL) y HCl acuoso (2M, 200 mL). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del subtítulo como un aceite amarillo. Rendimiento 17,8 g.

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO) δ 7,40 (dd, J = 7,0, 2,2 Hz, 1H), 7,29 - 7,21 (m, 2H), 5,34 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 4,71 (t, J = 4,9 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 3,63 - 3,56 (m, 2H), 2,87 (t, J = 7,2 Hz, 2H).

e) 2-Cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldehído

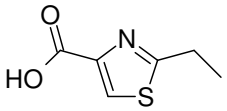
Se agregó dióxido de manganeso (IV) (43,1 g) a una suspensión de 2-(2-cloro-3-(hidroximetil)fenil)etanol [Intermediario aromático 11, etapa d] (18,5 g) en cloroformo (500 mL) y la suspensión resultante se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió, se filtró a través de Celite y la almohadilla de filtrado se lavó con DCM (3 x 300 mL). Los lavados combinados y el filtrado se evaporaron y el residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida eluyendo con gradiente de 3:1 a 1:1 isohexano:acetato de etilo. Las fracciones que contenían producto se combinaron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. Rendimiento 12,00 g.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,55 (s, 1H), 10,54 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 7,83 (dd, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H), 7,55 (dd, J = 7,4, 1,8 Hz, 1H), 7,35 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,94 (q, J = 6,4 Hz, 2H), 3,11 (t, J = 6,5 Hz, 2H).

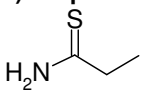
B) Preparación de ácidos carboxílicos:

<u>Ácido carboxílico 1</u>

Ácido 2-etiltiazol-4-carboxílico



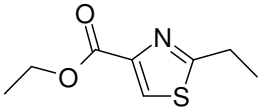
a) Propanotioamida



Se agregó pentasulfuro de fósforo (15,2 g) a una suspensión de propionamida (20 g) en *t*-butil éter de metilo (900 mL) y la mezcla se agitó durante 18 horas. La mezcla se filtró a través de Celite y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del subtítulo como un aceite amarillo. Rendimiento 15,8 g.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,59 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 2,70 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,32 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

b) 2-Etiltiazol-4-carboxilato de etilo



Se agregó por goteo 3-bromo-2-oxopropanoato de etilo (24,7 mL) durante 10 min a una solución de propanotioamida [ácido carboxílico 1, etapa a] (15,8 g) en etanol (150 mL) a 0-10°C bajo nitrógeno. Cuando la adición se completó la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se concentró al vacío, el residuo se diluyó con agua y se extrajo en acetato de etilo (x 3). Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se eliminó el solvente. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, gradiente de elución de 10, 15 y 20% de acetato de etilo en isohexano. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron a sequedad para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido verde claro. Rendimiento 16,0 g.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,06 (s, 1H), 4,42 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,10 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,44 - 1,38 (m, 6H).

c) Ácido 2-etiltiazol-4-carboxílico

Se agregó HCl concentrado (75 mL) a una suspensión de etil 2-etiltiazol-4-carboxilato [Ácido carboxílico 1, etapa b] (16 g) en agua (75 mL) y la mezcla se agitó a 100°C durante 24 horas. La mezcla se enfrió y se concentró al vacío. El residuo se trituró con acetona, el sólido recogió mediante filtración y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido gris. Rendimiento 14,4 g.

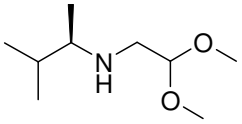
M/Z 158 $(M+H)^+$ / 156 $(M-H)^-$ (APCI).

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,31 (s, 1H), 3,01 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,31 (t, J = 7,6 Hz, 3H). No se observó un protón intercambiable.

C) Preparación de aminas:

<u>Amina 2</u>

(*R*)-*N*-(2,2-Dimetoxietil)-3-metilbutan-2-amina

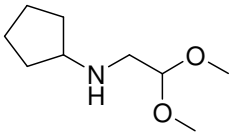


Se agregó 2,2-dimetoxiacetaldehído (60% en agua, 8,7 mL) a (*R*)-3-metilbutan-2-amina (5,0 g) en metanol (25 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se agregó una suspensión de paladio sobre carbono (5%, 1,2 g) en agua (10 mL) y la mezcla se hidrogenó a una presión de 5 bar , agitándose durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de Celite y la almohadilla de filtrado se lavó con metanol (3 x 100 mL). El filtrado y los lavados combinados se concentraron a un volumen de ~10 mL y se agregó tolueno (200 mL). La mezcla se concentró, se agregó más tolueno (200 mL) y la mezcla se concentró una vez más para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo. Rendimiento 8,0 g.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4,46 (t, J = 2,4 Hz, 1H), 3,38 (s, 6H), 2,78 (dd, J = 5,5, 11,9 Hz, 1H), 2,67 (dd, J = 5,5, 11,6 Hz, 1H), 2,49 - 2,39 (m, 1H), 1,76 - 1,62 (m, 1H), 0,96 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,90 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,85 (d, J = 6,7 Hz, 3H). No se observó un protón intercambiable.

<u>Amina 6</u>

***N*-(2,2-Dimetoxietil)ciclopentanamina**



Se preparó mediante el método de Amina 2 utilizando ciclopentanamina (5,0 g) en lugar de (*R*)-3-metilbutan-2-amina. Rendimiento 9,4 g.

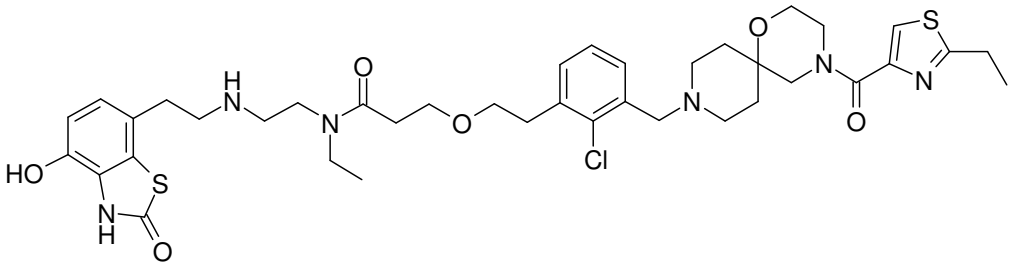
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,47 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 3,39 (s, 6H), 3,05 (quinteto, J = 6,8 Hz, 1H), 2,72 (d, J = 5,4 Hz, 2H), 1,89 - 1,80 (m, 2H), 1,73 - 1,62 (m, 2H), 1,58 - 1,48 (m, 2H), 1,36 - 1,27 (m, 2H). No se observó un protón intercambiable.

Preparación de los compuestos finales:

Todos los compuestos finales siguientes se aislaron como sus sales de ditrifluoroacetato, al menos que se indique lo contrario.

Ejemplo de referencia 1

Ditrifluoroacetato de 3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-etil-*N*-(2-(2-(4-hidroxi-2-oxo-2,3-dihidrobenzo[d]tiazol-7-il)etilamino)etil)propanamida



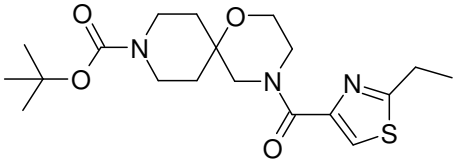
Se agregó monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (0,51 g) a una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-(2,2-dimetoxietil)-*N*-etilpropanamida (0,35 g) en THF (5 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. La solución se agregó a una suspensión de hidrocloruro de 7-(2-aminoetil)-4-hidroxibenzo[d]tiazol-2(3H)-ona [Org. Proc. Res. Dev. 2004, 8(4), 628] (0,20 g) y bicarbonato de sodio (0,29 g) en una mezcla de NMP (2 mL) y agua (0,2 mL). La solución turbia resultante se agitó durante 10 min, se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (0,34 g) y la mezcla resultante se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (15 mL) y solución saturada de bicarbonato de sodio (15 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con un 10% de salmuera (2 x 15 mL), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, gradiente de elución de 97,25:2,5:0,25 a 92,3:7:0,7 diclorometano:metanol:amoníaco acuoso '880'. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron. La goma resultante se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (Gemini™ NX, Gradiente: 27-62% de metanol en 0,1% de TFA acuoso). Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del título como una espuma blanca. Rendimiento 0,17 g.

m/z 799 M^+ (MultiModo+).

^{1}H NMR (500 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 11,35 (s, 1H), 7,95 - 7,90 (m, 1H), 7,53 - 7,47 (m, 1H), 7,44 - 7,38 (m, 1H), 7,36 - 7,30 (m, 1H), 6,87 - 6,81 (m, 1H), 6,77 - 6,71 (m, 1H), 4,36 - 4,23 (m, 2H), 3,75 - 2,54 (m, 30H), 2,06 - 1,94 (m, 2H), 1,83 - 1,68 (m, 2H), 1,38 - 1,29 (m, 3H), 1,16 - 1,03 (m, 3H). No se observaron cuatro protones intercambiables.

La 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-(2,2-dimetoxietil)-*N*-etilpropanamida utilizada como material de partida se preparó como se indica continuación:

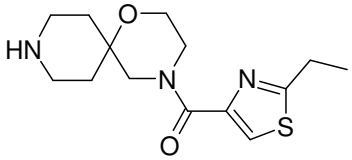
a) 4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de *terc*-butilo



Se agregó T3P (1,6M en THF, 51 mL) por goteo a una suspensión agitada de hidrocloruro de 1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo [WuXi PharmaTech] (18 g), ácido 2-etiltiazol-4-carboxílico [ácido carboxílico 1] (12,0 g) y trietilamina (52 mL) en DMF (120 mL) bajo nitrógeno y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo en acetato de etilo (x 3). Los extractos combinados se lavaron sucesivamente con un 10% de salmuera, un 30% de salmuera y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se eliminó el solvente. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, eluyendo con acetato de etilo. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para proporcionar el compuesto del subtítulo como un aceite amarillo. Rendimiento 24 g.

m/z 340 $(M\text{-}tBu+H)^+$ (APCI).

b) Trifluoroacetato de (2-Etiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona

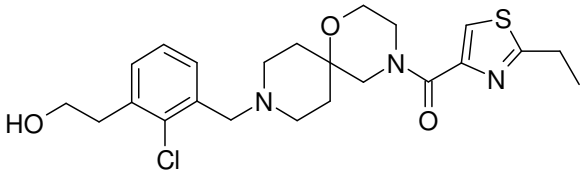


Se agregó ácido trifluoroacético (20 mL) a una solución de 4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo [Ejemplo 26, etapa a] (24 g) en diclorometano (100 mL) y la mezcla se agitó a temperatura

ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (50 mL) y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano (50 mL). Se agregó TFA (50 mL) y la mezcla se agitó durante 4 horas. La mezcla se diluyó con tolueno (50 mL), se concentró al vacío, el residuo se trituró con éter y el sólido precipitado recogió mediante filtración y se secó para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido blanco. Rendimiento 28 g.

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,55 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,04 - 8,00 (m, 1H), 3,81 - 3,51 (m, 6H), 3,18 - 2,91 (m, 6H), 2,00 - 1,90 (m, 2H), 1,72 - 1,56 (m, 2H), 1,32 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

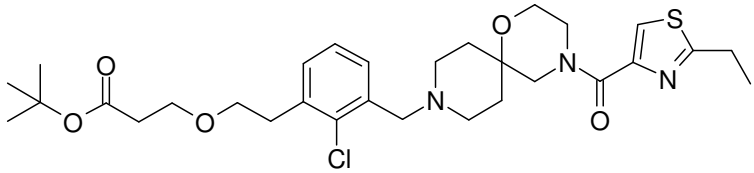
c) (9-(2-Cloro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-etiltiazol-4-il)metanona



A una suspensión de 2-cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldehído [Intermediario aromático 11] (1,5 g) y trifluoroacetato de (2-etiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona [Ejemplo 26, etapa b] (4,25 g) en tetrahidrofurán (50 mL) se agregó trietilamina (2,5 mL) en una porción. La mezcla se agitó durante 0,5 h, se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (2,58 g) en una porción y la solución resultante se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (100 mL) y solución saturada de bicarbonato de sodio (50 mL). La mezcla se agitó vigorosamente durante 10 min y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (100 mL). Las soluciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida utilizando 95:5 acetato de etilo:trietilamina como solvente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del subtítulo como un aceite transparente. Rendimiento 3,40 g.

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 7,89 (s, 1H), 7,33 - 7,28 (m, 1H), 7,24 - 7,16 (m, 2H), 4,35 (t, J = 5,4 Hz, 1H), 3,68 - 3,60 (m, 8H), 3,55 (s, 2H), 3,02 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,46 - 2,31 (m, 4H), 1,75 - 1,67 (m, 2H), 1,59 - 1,51 (m, 2H), 1,33 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

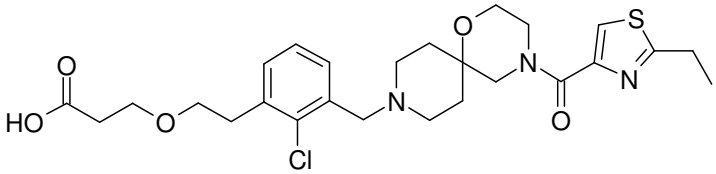
d) 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo



Se agregó Triton-B (40% en agua, 0,94 mL) a una solución de (9-(2-cloro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-etiltiazol-4-il)metanona [Ejemplo 26, etapa c] (3,2 g) y acrilato de terc-butilo (1,5 mL) en acetonitrilo (1 mL) y la mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El solvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, gradiente de elución de 1:1:0,05 acetato de etilo:isohexano:trietilamina a 95:5 acetato de etilo:trietilamina para proporcionar el compuesto del subtítulo como un aceite transparente. Rendimiento 3,2 g.

m/z 592 M^+ (APCI).

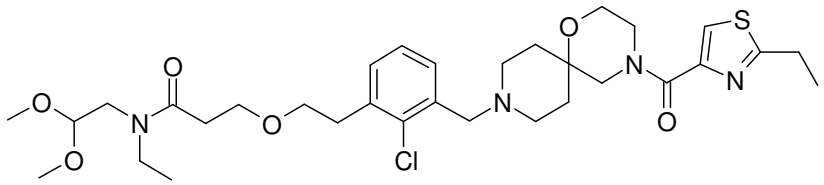
e) Ácido 3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico



Se agregó TFA (10 mL) a una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo [Ejemplo 26, etapa d] (3,1 g) en DCM (30 mL), la mezcla resultante se agitó durante 2 h y se evaporó. El residuo se repartió entre acetato de etilo (100 mL) y solución saturada de bicarbonato de sodio (50 mL). Las fases se separaron y la fase acuosa se lavó con más acetato de etilo (2 x 100 mL). La fase acuosa se acidificó con ácido acético y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las soluciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del subtítulo como una espuma blanca. Rendimiento 2,7 g.

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 7,92 (s, 1H), 7,60 - 7,53 (m, 1H), 7,44 - 7,39 (m, 1H), 7,32 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,76 - 3,56 (m, 12H), 3,12 - 2,92 (m, 8H), 2,42 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,01 - 1,73 (m, 4H), 1,33 (t, J = 7,6 Hz, 3H). No se observó un protón intercambiable.

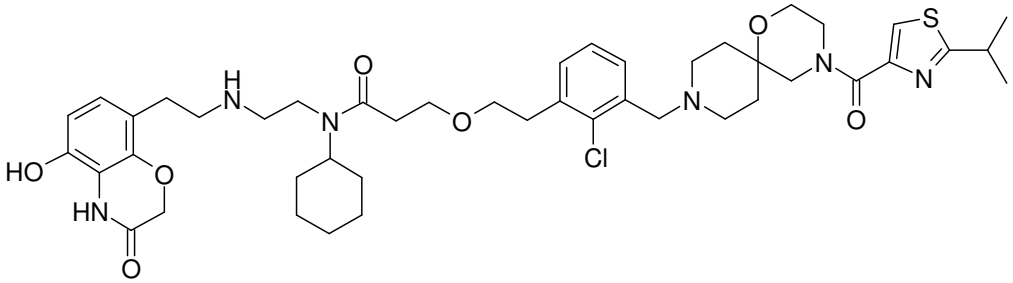
f) 3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-(2,2-dimetoxietil)-*N*-etilpropanamida



Se agregó HATU (1,06 g) a una solución de ácido 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico [Ejemplo 26, etapa e] (0,75 g), base de Hunig (1,22 mL) y *N*-etil-2,2-dimetoxietanamina [US 2707186] (0,37 g) en DMF (5 mL). La solución oscura resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (25 mL) y un 20% de salmuera (25 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con un 20% de salmuera (2 x 25 mL). La solución orgánica se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice, elución de gradiente isohexano:trietilamina 95:5 a acetato de etilo:trietilamina 95:5. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron para proporcionar el compuesto del subtítulo como un aceite. Rendimiento 0,70 g.

m/z 651 M^+ (APCI).

<u>Ejemplo de referencia 27</u>
Ditrifluoroacetato de 3-(2-Cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-ciclohexil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida



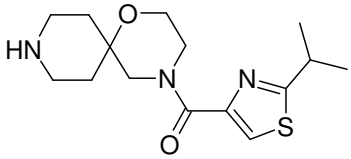
Se agregó monohidrato de ácido p-Toluenosulfónico (0,29 g) a una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-ciclohexil-*N*-(2,2-dimetoxietil)propanamida (0,22 g) en DCM (5 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La solución se agregó a una suspensión de hidrocloruro de 8-(2-aminoetil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona [WO 2008075025] (0,11 g) y bicarbonato de sodio (0,17 g) en una mezcla de NMP (2 mL) y agua (0,2 mL) y la solución turbia resultante se agitó durante 10 min. Se agregó ácido acético (0,018 mL), seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (0,16 g) y la mezcla resultante se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se repartió entre 2-metiltetrahidrofurán (15 mL) y solución saturada de bicarbonato de sodio (15 mL). La fase orgánica se separó, se lavó con un 10% de salmuera (2 x 15 mL), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, gradiente de elución de 97,25:2,5:0,25 a 92,3:7:0,7 diclorometano:metanol:amoníaco acuoso '880'. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se evaporaron. La goma resultante se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (Sunfire™, Gradiente: 35-60% de metanol en 0,2% de TFA acuoso). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, se evaporaron y se trituraron con éter para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco. Rendimiento 0,037 g.

m/z 865 M^+ (MultiModo+).

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 9,40 (br s, 1H), 8,40 (br s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,49 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,32 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,53 (s, 2H), 4,26 (br s, 2H), 3,75 - 3,60 (m, 11H), 3,51 - 2,93 (m, 13H), 2,82 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,60 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,03 - 1,89 (m, 2H), 1,82 - 1,69 (m, 4H), 1,68 - 1,56 (m, 4H), 1,50 - 1,23 (m, 4H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H). No se observaron tres protones intercambiables.

La 3-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-ciclohexil-*N*-(2,2-dimetoxietil)propanamida utilizada como material de partida se preparó como se indica continuación:

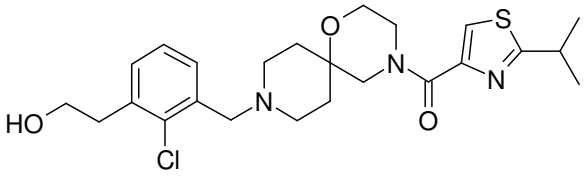
a) Hidrocloruro de (2-Isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona



Una solución de 2-isopropiltiazol-4-Ácido carboxílico (12 g) e hidrocloruro de 1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo [WuXi PharmaTech] (20 g) en 2-metiltetrahidrofurán (140 mL) se enfrió en hielo-agua y se trató con trietilamina (47 mL), seguido de T3P (1,6M en THF, 54 mL). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se agregó agua (140 mL), agitándose, y se separaron las fases. La fase orgánica se lavó con agua (80 mL) y se concentró a un volumen de (~100 mL) bajo presión reducida utilizando una temperatura de <30°C. Se agregó IPA (75 mL) y la mezcla se concentró a un volumen de (~100 mL). Se agregó más IPA (75 mL) y la mezcla se volvió a concentrar a un volumen de (~100 mL). Una solución de cloruro de hidrógeno en IPA (~6M, 81 mL) se agregó enfriando en hielo-agua, se calentó la mezcla hasta 40°C y se agitó durante 3,5 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con MTBE (34 mL) y se agitó durante 30 min. El precipitado resultante sólido se eliminó mediante filtración y secó en un horno de vacío a 55°C durante la noche. Rendimiento 20,5 g.

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO) δ 8,88 (d, J = 41,0 Hz, 2H), 8,05 (s, 1H), 3,86 - 3,46 (m, 6H), 3,32 (quinteto, J = 6,7 Hz, 1H), 3,17 - 3,02 (m, 2H), 3,01 - 2,85 (m, 2H), 1,96 (d, J = 14,1 Hz, 2H), 1,81 - 1,55 (m, 2H), 1,35 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

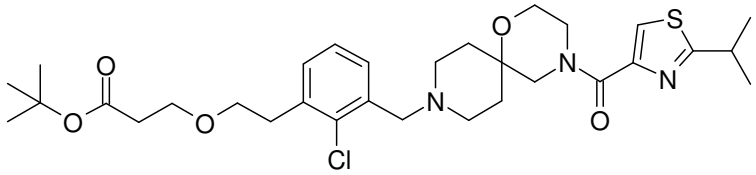
b) (9-(2-Cloro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Se preparó mediante el método del Ejemplo 26, etapa c utilizando hidrocloruro de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona [Ejemplo 27, etapa a] (1,37 g) en lugar de trifluoroacetato de (2-etiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona y 2-metiltetrahidrofurán (50 mL) en lugar de tetrahidrofurán. Rendimiento 1,00 g.

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO 90°C) δ 7,91 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,24 - 7,16 (m, 2H), 4,36 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,73 - 3,59 (m, 8H), 3,55 (s, 2H), 3,32 (septeto, J = 6,8 Hz, 1H), 2,89 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,46 - 2,40 (m, 1H), 2,40 - 2,28 (m, 1H), 2,17 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 1,91 (quinteto, J = 7,5 Hz, 1H), 1,77 - 1,65 (m, 2H), 1,62 - 1,50 (m, 2H), 1,36 (d, J = 6,5 Hz, 6H).

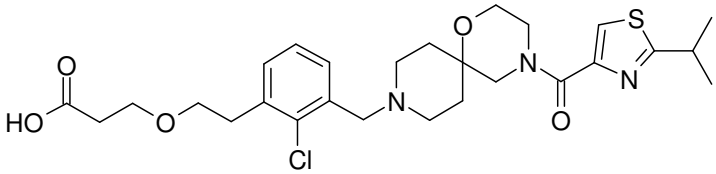
c) 3-(2-Cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de *terc*-butilo



Se preparó mediante el método del Ejemplo 7, etapa c utilizando (9-(2-cloro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona [Ejemplo 27, etapa b] (1,0 g) en lugar de (9-(2-fluoro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona. Rendimiento 0,93 g.

m/z 606 M^+ (APCI).

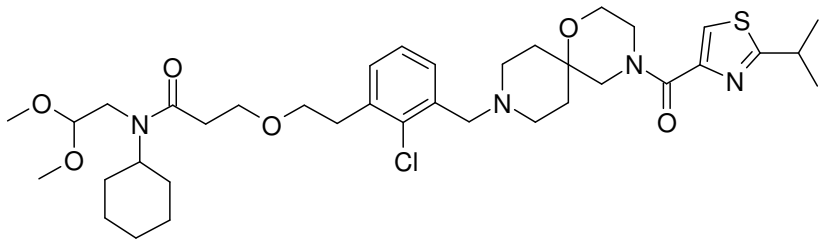
d) Ácido 3-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico



Se preparó mediante el método del Ejemplo 7, etapa d, utilizando 3-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo [Ejemplo 27, etapa c] (0,93 g) en lugar de 3-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo. Rendimiento 0,76 g.

m/z 550 M^+ (APCI).

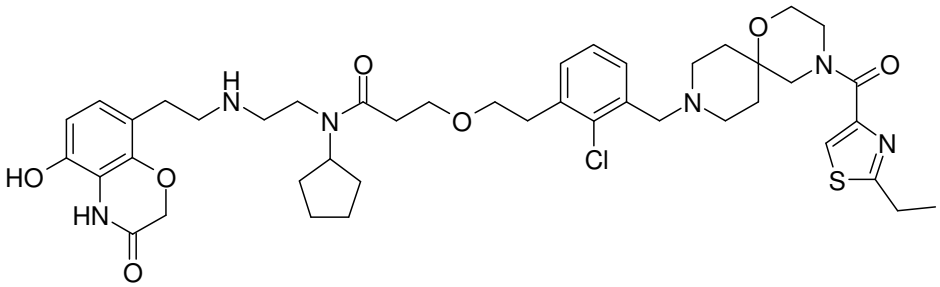
e) 3-(2-Cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-ciclohexil-*N*-(2,2-dimetoxietil)propanamida



Se preparó mediante el método del Ejemplo 7, etapa e, utilizando ácido 3-(2-cloro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico [Ejemplo 27, etapa d] (0,28 g) en lugar de ácido 3-(2-fluoro-3-((4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico y *N*-(2,2-dimetoxietil)ciclohexanamina [WO 2008075025] (0,10 g) en lugar de *N*-(2,2-dimetoxietil)cicloheptanamina. Rendimiento 0,11 g.

m/z 719 M^+ (APCI).

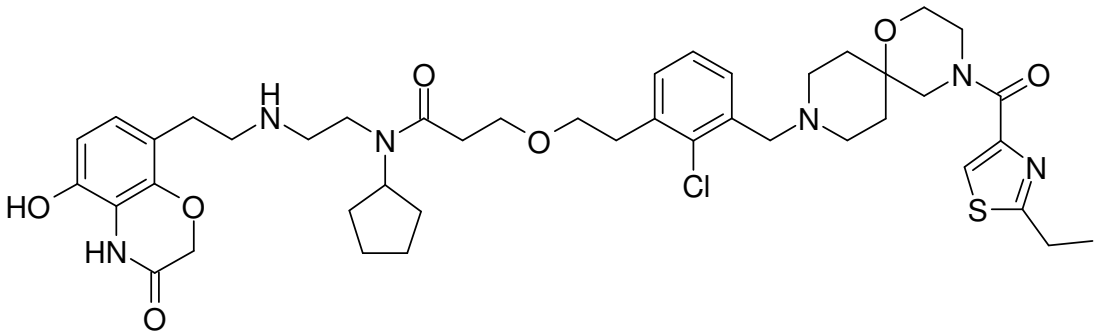
<u>Ejemplo 33</u>
Ditrifluoroacetato de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-*N*-ciclopentil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida



m/z 837 M^+ (MultiModo+).

^{1}H NMR (500 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 9,37 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,52 - 7,48 (m, 1H), 7,44 - 7,39 (m, 1H), 7,36 - 7,30 (m, 1H), 6,66 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,53 (s, 2H), 4,34 - 4,16 (m, 2H), 3,74 - 2,96 (m, 25H), 2,82 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,62 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,02 - 1,41 (m, 12H), 1,32 (t, J = 7,5 Hz, 3H). No se observaron tres protones intercambiables.

<u>Ejemplo 33a</u>
3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida, sal de sulfato



A una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2,2-dimetoxietil)propanamida (9,6 g) en THF (80 mL) y NMP (8,0 mL) se agregó ácido tósico. Se agitaron H_2O (13,25 g) y la reacción a temperatura ambiente durante 30 mins.

Mientras tanto, a una solución de 8-(2-aminoetil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, HCl (4,09 g) en NMP (48,0 mL) y agua (4,8 mL) se agregó bicarbonato de sodio (7,84 g) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 mins.

La solución anterior de aldehído se agregó a la solución de amina, la reacción se agitó durante 15mins y se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (8,86 g). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 90 mins.

La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (300mL) y se lavó con bicarbonato de sodio sat (2x300mL) y salmuera. La solución de acetato de etilo se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de sílice, eluyendo con DCM (300mL) seguido de un 6-9% de $NH_3$7N /metanol en diclorometano para proporcionar 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida (4,90 g).

A una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida (4,9 g) en etanol (50 mL) se agregó ácido sulfúrico (0,5 Molar ac.) (10,62 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 min.

Se evaporó la mezcla de reacción al vacío a aprox. 5-10ml, se agregó MeCN y el solvente se evaporó (x2) para proporcionar un sólido blanco 5,2g.

El material anterior (5,2g) se disolvió en MeOH (100mL), se agregaron cuentas de material cristalino (ver más abajo)* y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. El sólido se filtró, se lavó con MeOH y se secó al vacío a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida, sal de sulfato (3,04 g) como un sólido blanco cristalino.

$[M+H]^+$=837 (calc=837) (MultiModo$^+$)

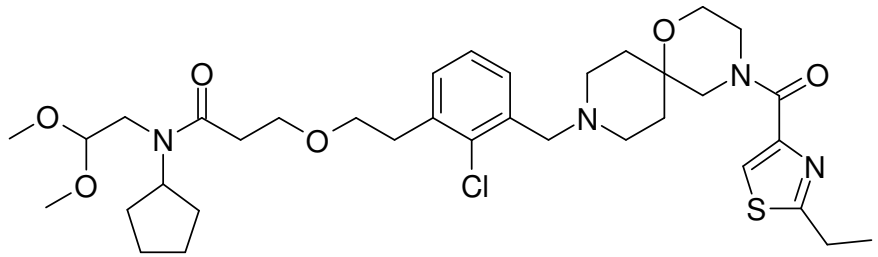
^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO) δ 9,96 - 9,90 (m, 1H), 9,82 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,40 - 7,18 (m, 3H), 6,69 - 6,63 (m, 1H), 6,51 - 6,45 (m, 1H), 4,54 (s, 2H), 4,17 (quinteto, *J* = 8,5 Hz, 1H), 3,75 - 3,45 (m, 12H), 3,37 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,09 - 2,90 (m, 8H), 2,77 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,69 - 2,22 (m, 8H), 1,84 - 1,21 (m, 16H)

*Parte de la sal ditrifluoroacetato (1,05g) (Ejemplo 33) se repartió entre DCM (30mL) y bicarbonato de sodio saturado (30mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío para proporcionar 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida (0,82 g) como una espuma blanca.

A una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida (230 mg) en etanol (5 mL) se agregó ácido sulfúrico (0,5 Molar ac.) (0,549 mL). Después de 5 min la mezcla se evaporó al vacío y se hicieron azeótropos con MeCN (x2) para proporcionar un sólido blanco (280mg).

Se disolvieron 50mg de este material en metanol (5mL) y se agregaron 15 mL de dietil éter durante 6 días bajo condiciones experimentales de difusión de vapor (utilizando dietil éter como antisolvente). El sólido cristalino (20mg) se recogió mediante filtración.

3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2,2-dimetoxietil)propanamida

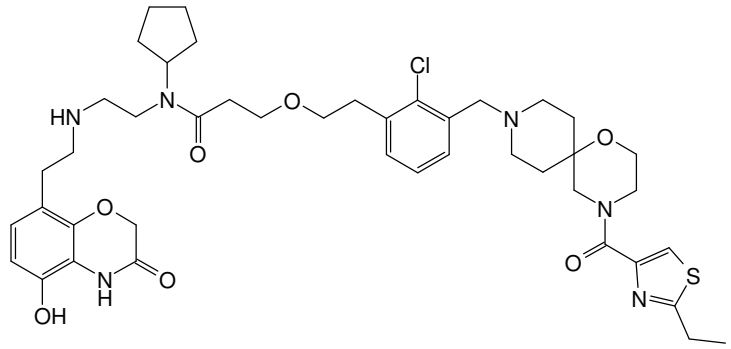


A una solución de ácido 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico (9,8 g) en DCM (100 mL) se agregó base de Hunig (9,58 mL). La reacción se agitó durante 10 mins antes de la adición de N-(2,2-dimetoxietil)ciclopentanamina (4,12 g) seguido de HATU (7,65 g). Después de 1h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (200mL) y se lavó con bicarbonato de sodio saturado (300mL) seguido de agua (300mL). La solución DCM se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía de sílice, eluyendo con un 2 a 5% de 7N/NH_3/metanol en diclorometano para proporcionar 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2,2-dimetoxietil)propanamida (12,0 g) como una goma amarillo pálido.

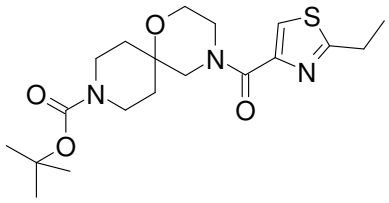
m/z = 691 $[M+H]^+$

Ejemplo 33b

3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo [b][1,4] oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida



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

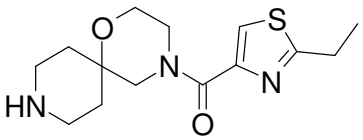


Una mezcla de hidrocloruro de 1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (reactivo limitante) y ácido 4-etiltiazol-2-carboxílico (1 equivalente molar) se suspendió en DCM (4,5 volúmenes) y se enfrió a 16°C. Se agregó trietilamina (5 equivalentes molares) en porciones. La suspensión espesa se enfrió a 6°C y se agregó por goteo T3P (1,1 equivalentes molares de a 1,57M en THF) a 5-15°C durante 0,5hr. La mezcla de reacción se dejó calentar a 22°C y se agitó a 22°C durante 2hr. La mezcla se diluyó con agua (6,5 volúmenes, 4°C exotermia) y la mezcla se agitó durante 10 mins; el acuoso se separó y se extrajo con DCM (4,5 volúmenes). Los extractos orgánicos combinados se lavaron solución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (5,5 volúmenes) y una solución de 20% de salmuera (1,5 volúmenes). Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron para proporcionar un aceite marrón. Rendimiento: 96% del rendimiento teórico.

m/z [M+H]+=296 -boc (calc=396) (MultiModo+)

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,84 (s, 1H), 4,08 - 3,51 (m, 10H), 3,22 (dd, *J* = 15,0, 25,7 Hz, 2H), 3,04 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,88 - 1,78 (m, 2H), 1,55 (d, *J* = 26,2 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,40 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

b) (2-Etiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona

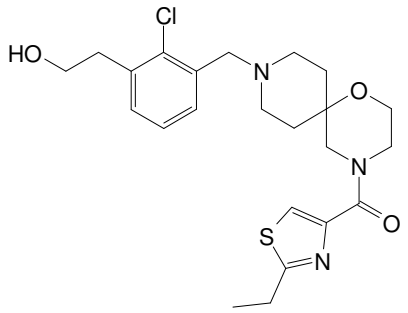


A una solución de 4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (reactivo limitante) (etapa) en iPrOH (3 volúmenes) se agregó cloruro de hidrógeno (2 equivalentes molares de una solución 5-6N en iPrOH). La mezcla de reacción se calentó, se agitó a 49 °C (interna) durante 18hr y se enfrió a 22°C. Se agregó TBME (4,3 volúmenes) y la suspensión se agitó a 22°C durante 3 días. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con TBME (3,5 volúmenes) y se secó al aire 2 días para proporcionar un sólido blanquecino. 95% del rendimiento teórico.

m/z [M+H]+=295 (calc=295) (MultiModo+)

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,03 (s, 1H), 3,82 - 3,50 (m, 8H), 3,14 - 2,86 (m, 8H), 1,32 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

c) (9-(2-Cloro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-etiltiazol-4-il)metanona

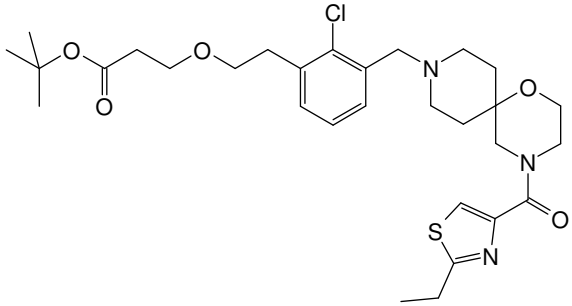


A una solución de 2-cloro-3-(2-hidroxietil)benzaldehído (1,1 equivalentes molares) en DCM (12 volúmenes) se agregó a (2-etiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona ((reactivo limitante) (etapa b). Se agregó trietilamina (2 equivalentes molares) y la mezcla se agitó durante 1,15 hr. Se agregó por porciones triacetoxiborohidruro de sodio (2,5 equivalentes molares) durante 15 minutos manteniendo la temperatura bajo 25°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 22,5hr. Se agregó lentamente solución de saturada acuosa bicarbonato de sodio (8 volúmenes) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 1hr; el acuoso se separó y se extrajo con DCM (5,3 volúmenes). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de 20% de salmuera (5,3 volúmenes), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar un aceite marrón. 107% del rendimiento teórico.

m/z [M+H]+=465 (calc=465) (MultiModo+)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCL_3$) δ 7,80 (s, 1H), 7,38 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 4,3 Hz, 2H), 3,89 (dd, J = 15,4, 22,0 Hz, 4H), 3,78 (s, 2H), 3,63 (d, J = 11,9 Hz, 3H), 3,04 (t, J = 6,6 Hz, 4H), 2,49 (s, 4H), 1,85 (s, 3H), 1,66 (d, J = 74,8 Hz, 2H), 1,42 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

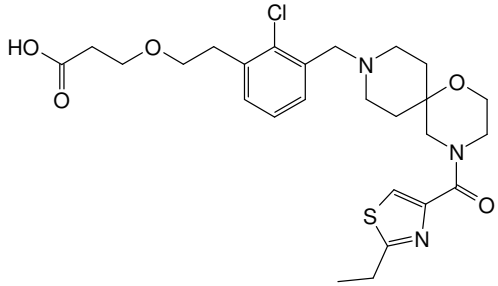
d) 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo



Se agregó triton-B (0,3 equivalentes molares de a 40% solución en agua) a una solución de (9-(2-cloro-3-(2-hidroxietil)bencil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-etiltiazol-4-il)metanona (reactivo limitante) (etapa c) y acrilato de terc-butilo (5 equivalentes molares) en acetonitrilo (3,4 volúmenes). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1hr. El solvente se evaporó y el residuo se repartió entre agua (2 volúmenes) y 2-MeTHF (2 volúmenes). Las capas se separaron y los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron para proporcionar un aceite marrón. Rendimiento: 94% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,80 (s, 1H), 7,44 - 7,31 (m, 1H), 7,22 - 7,09 (m, 2H), 4,01 - 3,48 (m, 11H), 3,10 - 2,95 (m, 4H), 2,62 - 2,39 (m, 6H), 1,94 - 1,63 (m, 2H), 1,63 - 1,50 (m, 2H), 1,47 - 1,35 (m, 13H).

e) Ácido 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico

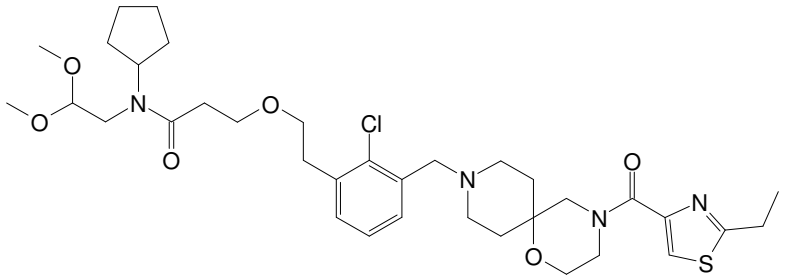


Una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5] undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo (reactivo limitante) (etapa d) en DCM (2,8 volúmenes) se enfrió a 5°C. Se agregó ácido trifluoroacético (10 equivalentes molares) durante 20 min (exotermia a 15°C). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18hr. Se agregó tolueno (3 volúmenes) y la mezcla se evaporó. La goma resultante se

trituró con tolueno (2 x 1,5 volúmenes) y se evaporó para proporcionar una goma marrón. Rendimiento: 200% teórico, (se usó en bruto – indicó el ensayo NMR ~45% de pureza en peso con peso de TFA remanente en la goma)

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,88 (s, 1H), 7,40 – 7,33 (m, 2H), 7,27 – 7,22 (m, 1H), 4,42 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 3,90 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 3,82 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 3,77 (dd, J = 5,9, 10,6 Hz, 4H), 3,69 (dd, J = 6,2, 11,8 Hz, 2H), 3,65 (s, 2H), 3,26 – 3,13 (m, 2H), 3,09 – 2,98 (m, 4H), 2,67 (dt, J = 5,8, 11,6 Hz, 1H), 2,49 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,16 (t, J = 14,1 Hz, 2H), 1,98 (dd, J = 8,5, 19,8 Hz, 2H), 1,45 – 1,31 (m, 3H).

f) 3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2,2-dimetoxietil)propanamida

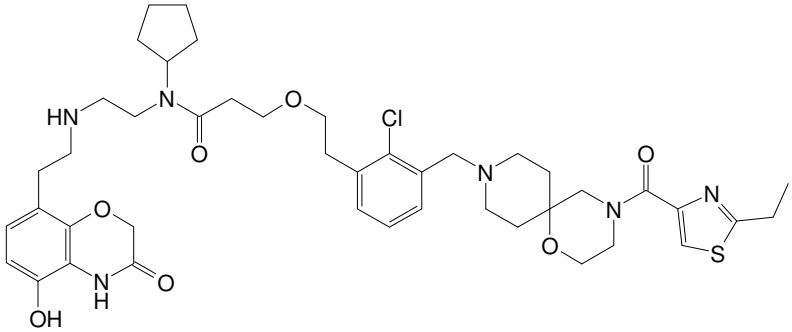


Una solución de ácido 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)propanoico (reactivo limitante) (etapa e) en DCM (6,4 volúmenes) se enfrió a 13°C. Se agregó trietilamina (15 equivalentes molares) durante 80 mins (exotermia de 5°C). Se agregó N-(2,2-dimetoxietil)ciclopentanamina (1,3 equivalentes molares) durante 5 mins (sin exotermia). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 45 mins a 22°C. Se agregó por porciones T3P (2 equivalentes molares de una solución 1,57M en THF) durante 10 mins (exotermia 8°C). La mezcla de reacción se agitó a 22°C durante 1,5hr. Se agregó solución saturada de bicarbonato de sodio (4,2 volúmenes) y la mezcla se agitó durante 5 mins. Las capas se repartieron y el acuoso se extrajo con DCM (1,4 volúmenes). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una solución de 20% de salmuera (1,4 volúmenes), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía de Si en columna (cartucho instantáneo de 1500g Biotage) producto eluido con 95% de DCM : 5% (9:1 MeOH: $NH_{3ac.}$) para proporcionar aceite amarillo. Rendimiento: 79% del rendimiento teórico.

m/z [M+H]+=691 (calc=691) (MultiModo+)

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81 (s, 1H), 7,41 - 7,26 (m, 1H), 7,15 (d, J = 3,4 Hz, 2H), 4,69 - 4,62 (m, 1H), 4,37 (dd, J = 6,8, 12,0 Hz, 1H), 4,21 - 4,08 (m, 1H), 3,99 - 3,52 (m, 12H), 3,45 - 3,36 (m, 8H), 3,28 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 3,11 - 2,97 (m, 4H), 2,70 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,63 - 2,36 (m, 4H), 1,93 - 1,32 (m, 16H)

g) 3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4] oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida



Una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2,2-dimetoxietil)propanamida (reactivo limitante) (etapa f) en THF (9,5 volúmenes) se calentó hasta 40°C. Se agregó monohidrato del ácido P-toluenosulfónico (5 equivalentes molares) y la mezcla se mantuvo at 40°C durante 10 min. Se agregó lentamente una solución de bicarbonato de sodio (8 equivalentes molares) en agua (16 volúmenes) a la mezcla de reacción. Una vez que la efervescencia cesó la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 16 volúmenes). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El residuo se disolvió en NMP (4 volúmenes) y se agregó a una suspensión de 8-(2-aminoetil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, HCl (1,2 equivalentes molares) en NMP (4 volúmenes), agua (0,4 volúmenes) y bicarbonato de sodio (3 equivalentes molares) que habían sido previamente agitados durante 3hr a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 mins. Se agregó en una porción triacetoxiborohidruro de sodio (3 equivalentes molares) y la mezcla se agitó durante 90 mins a temperatura ambiente. Se agregó lentamente a la mezcla de reacción una solución saturada de bicarbonato de sodio (16 volúmenes)

(efervescencia y exotermia de 10 °C). Se agregó 2-MeTHF (16 volúmenes). Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con 2-MeTHF (16 volúmenes). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua que contenía bicarbonato de sodio (pH8) (2 x 16 volúmenes de una solución de 15 g bicarbonato de sodio en 2000 mL agua). Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía de sílice (columna instantánea Biotage de 750g) gradiente de elución de 1% de amoníaco / 3% de metanol en DCM aumentando a 1% de amoníaco/ 5% de metanol en DCM para eluir el producto. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para proporcionar una espuma crocante color blanco apagado. Rendimiento: 33% del rendimiento teórico.

m/z [M+H]+=837 (calc=837) (MultiModo+)

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO, 90°C) δ 7,89 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,20 (dt, J = 7,3, 14,7 Hz, 2H), 6,61 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,46 (d, J = 1,4 Hz, 2H), 4,29 - 4,13 (m, 1H), 3,71 - 3,49 (m, 12H), 3,18 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,08 - 2,90 (m, 7H), 2,71 - 2,29 (m, 12H), 1,67 (d, J = 14,9 Hz, 6H), 1,51 (d, J = 23,5 Hz, 6H), 1,33 (dd, J = 6,0, 7,5 Hz, 3H).

h) 3-(2-Cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4] oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida. Sal monohidrato del ácido sulfúrico.

Una solución de 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida (reactivo limitante) (etapa g) 37,85 g, 45,20 mmol) en metanol (6 volúmenes) se calentó hasta 50°C y se agregó por goteo ácido sulfúrico (1 equivalente molar) en metanol (6 volúmenes) durante 10 mins. Se agregaron cuentas a la mezcla y se agitó a 50°C durante 1 hr. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente durante 2hrs y se agitó durante 18hrs. El precipitado se recogió mediante filtración y se secó en el horno bajo vacío (sin calentar) para proporcionar un sólido blanco. Rendimiento: 76 % del rendimiento teórico.

m/z [M+H]+=837 (calc=837) (MultiModo+)

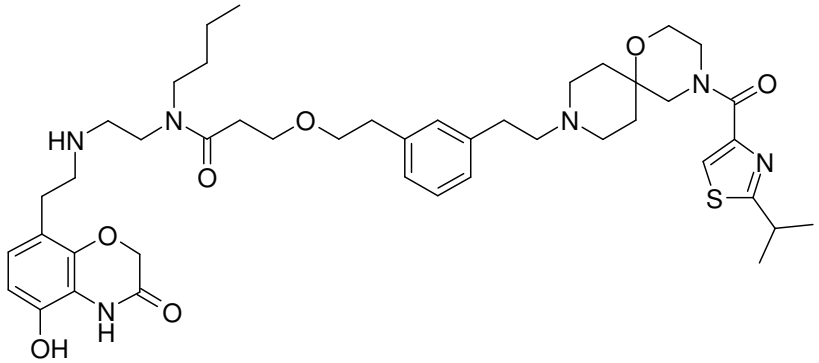
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,99 (s, 1H), 7,43 - 7,16 (m, 3H), 6,67 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 6,48 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 4,59 - 4,36 (m, 2H), 4,23 - 4,13 (m, 1H), 3,63 (dt, J = 27,8, 53,1 Hz, 12H), 3,37 (dd, J = 9,0, 16,1 Hz, 6H), 3,11 - 2,89 (m, 8H), 2,77 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,38 (dd, J = 33,4, 51,6 Hz, 4H), 1,83 - 1,38 (m, 12H), 1,32 (s, 3H).

El ejemplo 3333a se preparó utilizando los siguientes ácidos carboxílicos y aminas:

Número de ejemplo	Ácido carboxílico	Amina
33, 33a	Ácido carboxílico 1	Amina 6

Ejemplo 34

Ditrifluoroacetato de N-butil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida



Se disolvió N-butil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (0,45 g) en tetrahidrofurán (10 mL) y se agregó ácido tósico (0,28 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se agregó a una mezcla de hidrocloruro de 8-(2-aminoetil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona [WO 2008075025] (0,245 g) y bicarbonato de sodio (0,20 g) en NMP (4 mL) y agua (0,5 mL) y se agitó durante 15 minutos. Se agregaron triacetoxiborohidruro de sodio (0,35 g) y ácido acético (0,5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se vertió en solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos se combinaron y se evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida utilizando un 8% de metanol en diclorometano que contenía un 1% de amoníaco acuoso ‘880’ como solvente. La purificación adicional mediante HPLC preparativa (Sunfire™,

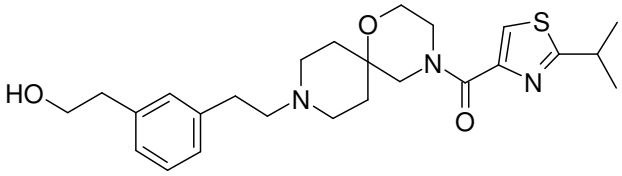
Gradiente: 33-68% de metanol en 0,1% de TFA acuoso) proporcionó el compuesto del título como un sólido blanco. Rendimiento 0,194 g.

m/z 819 M^+ (MultiModo+).

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 9,44 - 9,34 (m, 1H), 8,36 - 8,27 (m, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,26 - 7,19 (m, 1H), 7,15 - 7,08 (m, 3H), 6,68 - 6,63 (m, 1H), 6,51 - 6,45 (m, 1H), 4,53 (s, 2H), 3,73 - 3,48 (m, 14H), 3,37 - 2,52 (m, 20H), 2,15 - 1,41 (m, 6H), 1,36 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 1,32 - 1,25 (m, 2H), 0,91 (t, J = 7,4 Hz, 3H). No se observaron dos protones intercambiables.

La N-Butil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida utilizada como material de partida se preparó como se indica continuación:

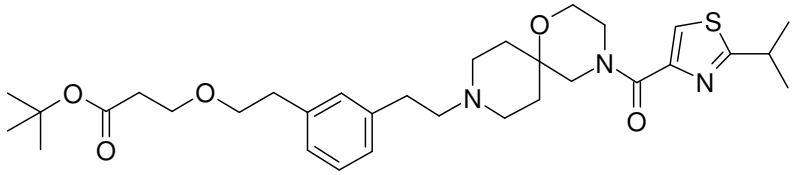
a) (9-(3-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Una mezcla de hidrocloruro de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona [Ejemplo de referencia 27, etapa a] (10 g) y 2-(3-(2-bromoetil)fenil)etanol [Organometallics 2002, 21(20), 4217] (10 g) y carbonato de potasio (16 g) en acetonitrilo (600 mL) y agua (10 mL) se calentó a 60°C durante 36 horas. El solvente se decantó y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se repartió entre acetato de etilo y salmuera, la capa acuosa se extrajo nuevamente con acetato de etilo las capas orgánicas combinadas se secaron, se filtraron y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, utilizando un 5% de metanol acetato de etilo que contenía un 1% de trietilamina como solvente. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron a sequedad para proporcionar el compuesto del subtítulo. Rendimiento 11 g.

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

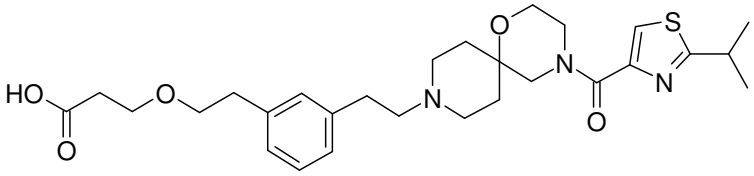
b) 3-(3-(2-(4-(2-Isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo



Se disolvió (9-(3-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona [Ejemplo 34, etapa a] (2,4 g) en acetonitrilo (2 mL) y se agregó acrilato de terc-butilo (1,7 mL), seguido de hidróxido de benciltrimetilamonio (40% en agua, 0,72 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Los extractos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida eluyendo con un 3% de metanol en diclorometano que contenía un 1% de amoníaco acuoso '880' para proporcionar el compuesto del subtítulo Rendimiento 2,7 g.

m/z 586 $(M+H)^+$ (APCI).

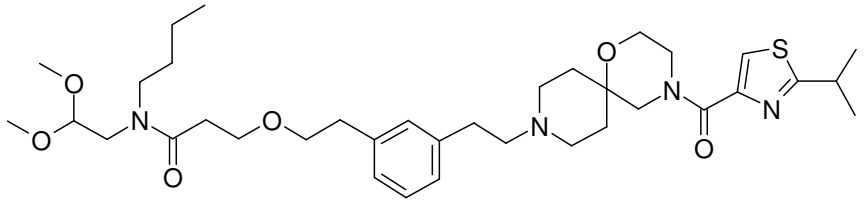
c) Ácido 3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoico



Se agitó 3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo [Ejemplo 34, etapa b] (0,70 g) en diclorometano (8 mL) y se agregó ácido trifluoroacético (2 mL). La solución se agitó durante 18 horas y los extractos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del subtítulo. Rendimiento 1,0 g.

m/z 530 $(M+H)^+$ (APCI).

d) N-Butil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida



Se disolvieron ácido 3-(3-(2-(4-(2-Isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoico [Ejemplo 34, etapa c] (0,50 g), base de Hunig (0,58 mL) y N-(2,2-dimetoxietil)butan-1-amina [J. Am. Chem. Soc. 1949, 71(6) , 2272] (0,12 g) en diclorometano (10 mL). Se agregó HATU (0,33 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. Los extractos orgánicos se combinaron y se evaporaron bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del subtítulo. Rendimiento 0,45 g.

m/z 673 $(M+H)^+$ (APCI).

<u>Ejemplo 34a</u>

Modificación de la sal de sulfato A de N-Butil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida.

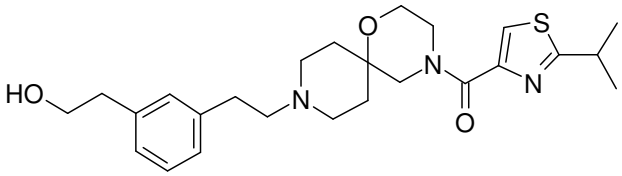
A una solución de N-butil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (100mg) (ver más abajo para preparación) en etanol (20mL) se agregó ácido sulfúrico (244 µL de solución 0,5M en agua). La mitad de la solución se dejó durante 16h y se recogió la modificación de la sal de sulfato A de N-Butil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida mediante filtración. Rendimiento 5mg.

Se agregó monohidrato de ácido tósico (4,24 g) a una solución de N-butil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (3 g) en THF (30 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora temperatura ambiente. Se agregó NMP (1 mL) y la solución se agregó a una suspensión de 8-(2-aminoetil)-5-hidroxi-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona HCl (1,636 g) y bicarbonato de sodio (3,00 g) en una mezcla de NMP (16 mL) y agua (1,6 mL) que se había agitado durante 45 min. El recipiente donde estaba el aldehído se lavó con NMP (2mL), los lavados se agregaron a la suspensión y la solución turbia resultante se agitó durante 20 min. Se agregó triacetoxiborohidruro de sodio (2,83 g) y la mezcla resultante se agitó durante 1hr.

La mezcla de reacción se repartió entre 2-metilTHF (200mL) y solución saturada de bicarbonato de sodio (150mL). Se agregó agua (~100mL) hasta que los precipitados se disolvieron. La mezcla se agitó durante 10 min (hasta que se detuvo la evolución gaseosa). La solución de 2-metil THF se separó, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida eluyendo con un 8% de metanol en diclorometano con un 1% de amoníaco 880. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad. Esta goma se disolvió en etanol (30 mL) y se trató con 1 equiv de ácido sulfúrico (a partir de una solución 0,5 molar acuosa). Los solventes se evaporaron y el residuo se hizo azeotrópico con acetonitrilo (x2). La goma resultante se disolvió en etanol (15 mL) y se implantó con la modificación de sulfato A (Ejemplo 34a, 10mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 días, se filtró bajo nitrógeno y se lavó con etanol (5 mL) seguido de acetonitrilo (5 mL) seguido de éter (10 mL). Rendimiento 1,8 g.

m/z 819,4 (MultiModo+)

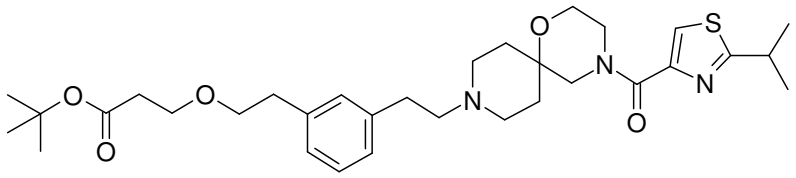
a) (9-(3-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



Una mezcla de hidrocloruro de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona [Ejemplo 27, etapa a] (13,6 g) y 2-(3-(2-bromoetil)fenil)etanol [Organometallics 2002, 21(20), 4217] (13,51 g) y carbonato de potasio (21,7 g) en acetonitrilo (700 mL) y agua (13 mL) se calentó a 60°C durante 36 horas. El solvente se decantó y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se repartió entre acetato de etilo y salmuera, la capa acuosa se extrajo nuevamente con acetato de etilo las capas orgánicas combinadas se secaron, se filtraron y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida, utilizando un 5% de metanol acetato de etilo que contenía 1% trietilamina como solvente. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron a sequedad para proporcionar el compuesto del subtítulo. Rendimiento 13,2 g.

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

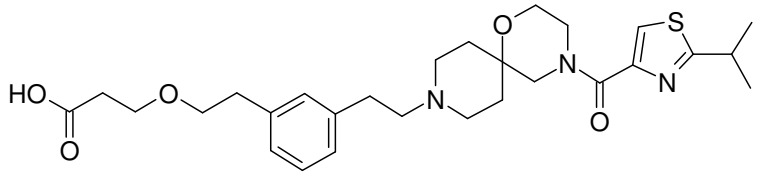
b) 3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo



(9-(3-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona [Ejemplo 34a, etapa a] (13,2 g) se disolvió en acetonitrilo (20 mL) y se agregó acrilato de terc-butilo (8,13 g), seguido de hidróxido de benciltrimetilamonio (40% en agua, 3,93 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Los extractos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de sílice ultrarrápida eluyendo con un 5% metanol y un 1% trietilamina en acetato de etilo para proporcionar el compuesto del subtítulo Rendimiento 13,2 g.

m/z 586 $(M+H)^+$ (APCI).

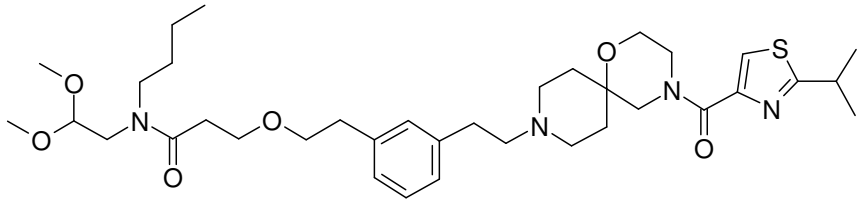
c) Sal trifluoroacetato del ácido 3-(3-(2-(4-(2-Isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoico



3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo [Ejemplo 34a, etapa b] (13,2 g) se agitó en diclorometano (150 mL) y se agregó ácido trifluoroacético (50 mL). La solución se agitó durante 1 hora. Los solventes se evaporaron bajo presión reducida, el residuo se disolvió en acetonitrilo y se evaporó la solución bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del subtítulo. Rendimiento 14,4 g.

m/z 530 $(M+H)^+$ (APCI).

d) *N*-Butil-*N*-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida



Se agregó T3P (15,67 mL de solución 1,57M en THF) por goteo durante 15 minutos a una solución agitada de sal trifluoroacetato del ácido 3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoico [Ejemplo 34a, etapa c] (14,4 g) y N-(2,2-dimetoxietil)butan-1-amina [J. Am. Chem. Soc. 1949, 71(6) , 2272] (3,97 g) y trietilamina (21,83 mL) en DMF (180 mL). La mezcla se agitó a 20°C durante 3 horas y se repartió entre acetato de etilo y salmuera acuosa. La capa orgánica se lavó con salmuera acuosa (x2), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el solvente se evaporó bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del subtítulo. Rendimiento 15,00 g.

m/z 673,4 $(M+H)^+$

<u>Ejemplo 34b</u>

***N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida**

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida, modificación A de la sal de sulfato, (Ejemplo 34a) (1,73 g) se disolvió en DCM/metanol, se filtró y se evaporó a sequedad. La goma resultante se repartió entre bicarbonato acuoso saturado (100 mL) y MeTHF recién destilado (150 mL) y la mezcla se agitó vigorosamente durante

10 mins. La capa orgánica se separó, se lavó con bicarbonato de sodio fresco (x2), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como una espuma. Rendimiento 1,2g .

m/z 819,4 (MultiModo+)

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 7,93 (s, 1H), 7,13 (t, 1H), 7,03-6,99 (m, 3H), 6,60 (d, 1H), 6,42 (d, 1H), 4,45 (s, 2H), 3,66-3,56 (m, 10H), 3,31-3,20 (m, 5H), 2,74 (t, 2H), 2,70-2,36 (m, 16H), 1,69-1,65 (m, 2H), 1,55-1,53 (m, 2H), 1,43 (s, 2H), 1,35 (d, 6H), 1,25-1,23 (m, 2H), 0,87 (t, 3H). No se observaron 3 protones intercambiables.

Ejemplo 34c

Modificación de la sal de sulfato B de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b)(0,1 g) en etanol (5 mL) se trató con ácido sulfúrico (0,244 mL de solución acuosa 0,5M). Los solventes se evaporaron al vacío reducido y el residuo se trituró con dietil éter para proporcionar un sólido blanco.

Se suspendieron 10mg de este sólido en una mezcla de etanol y acetato de etilo (9:1, 1mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 semana. El sólido resultante se recogió mediante filtración para proporcionar la modificación de la sal de sulfato B de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco. Rendimiento 3mg.

m/z 819,3 $(M+H)^+$

Ejemplo 34d

Modificación de sal de sulfato C de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b)(0,1 g) en etanol (5 mL) se trató con ácido sulfúrico (0,244 mL de solución acuosa 0,5M). Los solventes se evaporaron al vacío reducido y el residuo se trituró con dietil éter para proporcionar un sólido blanco.

Se suspendieron 10 mg de este sólido en una mezcla de dioxano y acetato de etilo (9:1, 1mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 semana. El sólido resultante se recogió mediante filtración para proporcionar la modificación de sal de sulfato C de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco. Rendimiento 3mg

m/z 819,3 $(M+H)^+$

Ejemplo 34e

Modificación de la sal de sulfato D de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b)(0,1 g) en etanol (5 mL) se trató con ácido sulfúrico (0,244 mL de solución acuosa 0,5M). Los solventes se evaporaron al vacío reducido y el residuo se trituró con dietil éter para proporcionar un sólido blanco.

Se suspendieron 10 mg de este sólido en 1,4-dioxano (1 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 días. El sólido resultante se recogió mediante filtración para proporcionar la modificación de la sal de sulfato D de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco. Rendimiento 3mg.

m/z 819,3 $(M+H)^+$

Ejemplo 34f

Modificación de la sal de sulfato E de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b)(0,1 g) en etanol (5 mL) se trató

con ácido sulfúrico (0,244 mL de solución acuosa 0,5M). Los solventes se evaporaron al vacío reducido y el residuo se trituró con dietil éter para proporcionar un sólido blanco.

Se suspendieron 10 mg de este sólido en una mezcla de Dioxano y DMF (9:1, 1mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 días. El sólido resultante se recogió mediante filtración para proporcionar la modificación de la sal de sulfato E de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco. Rendimiento 3mg.

m/z 819,3 $(M+H)^+$

Ejemplo 34g

Modificación de la sal de sulfato F de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b)(0,1 g) en etanol (5 mL) se trató con ácido sulfúrico (0,244 mL de solución acuosa 0,5M). Los solventes se evaporaron al vacío reducido y el residuo se trituró con dietil éter para proporcionar un sólido blanco.

Se suspendieron 10 mg de este sólido en una mezcla de metanol y acetonitrilo (9:1, 1mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 semana. El sólido resultante se recogió mediante filtración para proporcionar la modificación de la sal de sulfato F de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco. Rendimiento 3mg.

m/z 819,3 $(M+H)^+$

Ejemplo 34h

Modificación de la sal de sulfato G de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b)(0,1 g) en etanol (5 mL) se trató con ácido sulfúrico (0,244 mL de solución acuosa 0,5M). Los solventes se evaporaron al vacío reducido y el residuo se trituró con dietil éter para proporcionar un sólido blanco.

Se disolvieron 10 mg de este sólido en agua de reflujo (~0,2mL) y se agregó acetonitrilo (~4mL) lentamente. La mezcla resultante se dejó enfriar durante la noche. El precipitado resultante se aisló mediante filtración y se secó al vacío para proporcionar la modificación de la sal de sulfato G de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco. Rendimiento 2 mg.

Modificación de la sal de sulfato A de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

Se formó una modificación de la sal de sulfato G (Ejemplo 34a) (0,117g) y se agregó un 5% agua en acetonitrilo (3mL). Después de 1h de agitación se formó una y tras 24h se formó una suspensión blanca. Después de 72h, la modificación de la sal de sulfato G de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida como un sólido blanco se recogió mediante filtración. Rendimiento 101mg.

m/z 819,3 $(M+H)^+$

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 9,33 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,05-7,02 (m, 3H), 6,65 (d, 1H), 6,47 (d, 1H), 4,51 (s, 2H), 3,70-3,55 (m, 10H), 3,50-2,40 (m, 23H), 1,80-1,70 (m, 2H), 1,65-1,55 (m, 2H), 1,48 (s, 2H), 1,36 (d, 6H), 1,28-1,27 (m, 2H), 0,90 (t, 3H). No se observaron 4 protones intercambiables.

Ejemplo 34i

Modificación de sal napadisilato B de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida

N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (Ejemplo 34b) (332 mg) se disolvió en IPA (3 mL) y se agregó una solución de tetrahidrato del ácido 1,5-naftalenodisulfónico (144 mg) en IPA (8 mL). Después de agitar durante 10 minutos, el sólido resultante se filtró y se lavó con un poco de IPA (1 mL) y éter.

20 mg en metanol (1 mL) y compuesto del Ejemplo 39a (0,5 mg) se agitaron durante 1 día a temperatura ambiente. Se filtró la modificación de sal napadisilato B de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida. Rendimiento 10mg.

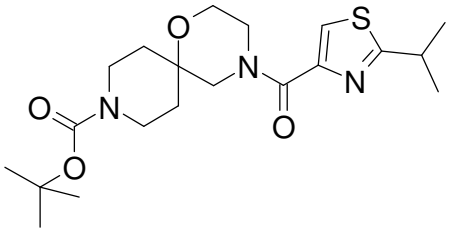
m/z 819,3 $(M+H)^+$

^{1}H NMR (400 MHz, D_6-DMSO, 90°C) δ 9,36 (s, 1H), 8,96 (d, 2H), 8,30 (s, 1H), 7,97 (d, 2H), 7,35 (t, 2H), 7,21 (t, 1H), 7,10-7,06 (m, 3H), 6,65 (d, 1H), 6,48 (d, 1H), 4,53 (s, 2H), 3,72-3,50 (m, 12H), 3,40-2,45 (m, 21H), 2,07 (s, 2H), 1,75 (s, 2H), 1,46 (s, 2H), 1,36 (d, 6H), 1,29-1,26 (m, 2H), 0,89 (t, 3H). 3 protones de intercambio.

Ejemplo 34j

***N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida**

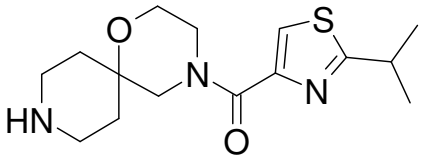
a) 4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9carboxilato de terc-butilo



A una suspensión de hidrocloruro de terc-butil 1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato y trietilamina (5 equivalentes molares) en DCM (10 volúmenes bajo nitrógeno se agregó ácido 4-isopropiltiazol-2-carboxílico (1 equivalente molar) seguido de una solución de T3P en THF (solución 1,57M, 1,1 equivalentes molares) por goteo durante 50 mins [se observó una exotermia de 23°C]. La mezcla se agitó durante 4 horas, se lavó con agua (2x 1 L), se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío hasta proporcionar un jarabe anaranjado. Rendimiento: 99% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,86 (s, 1H), 4,06 - 3,86 (m, 2H), 3,86 - 3,48 (m, 6H), 3,30 (septeto, J 6,8 Hz, 1H), 3,32 - 3,10 (m, 2H), 1,87 - 1,79 (m, 2H), 1,64 - 1,52 (m, 1H), 1,52 - 1,40 (m, 1H)1,45 (s, 9H) y 1,40 (d, J = 6,8 Hz, 6H).

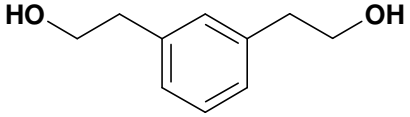
b) (2-Isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona, sal hidrocloruro



A una solución de 4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo en iPrOH (3 volúmenes) a 40°C bajo nitrógeno se agregó una solución de HCl 5-6*N* en isopropanol (2-2,4 equivalentes molares). La mezcla se agitó a 40°C durante 18 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con TBME (4 volúmenes). Se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se recogió mediante filtración, se lavó con TBME y se secó al aire hasta proporcionar un polvo blancuzco. Rendimiento: 97% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,74 - 9,59 (m, 1H), 9,59 - 9,44 (m, 1H), 7,88 (s, 1H), 4,06 - 3,86 (m, 2H), 3,86 - 3,58 (m, 4H), 3,40 - 3,12 (m, 5H), 2,28 - 2,06 (m, 2H), 2,06 - 1,84 (m, 2H) y 1,42 (d, J = 6,4 Hz, 6H).

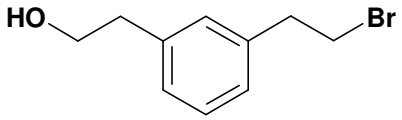
c) 2,2'-(1,3-fenileno)dietanol



Una solución de ácido 2,2'-(1,3-fenileno)diacético (1,50 kg, 7,72 mol, 1,0 equiv.) en Me-THF (21,0 L, 14,0 vols) se agregó durante 2 h 06 min a una suspensión de hidruro de litio y cuentas de aluminio (1,25 kg, 32,81 mol, 4,25 equiv.) en Me-THF (12,00 L, 8 vols) mientras se mantuvo la temperatura en el rango de 31-40°C. La mezcla de reacción se calentó a 50°C durante 2 h 10 min y se mantuvo a 50°C durante 15 h 18 min. La mezcla se enfrió a 23°C y el exceso de hidruro de litio y aluminio se inactivó mediante la adición de agua (1,25 L) durante 2 h 21 mins, 15% p/v de hidróxido de sodio (1,25 L) durante 41 min y agua (1,25 L) durante 13 min, mientras se mantuvo la temperatura bajo 30°C durante las adiciones. La suspensión se filtró y la torta de filtrado se volvió a suspender con DCM (2 x 15,00 L, 2 x 10 vols). Los filtrados combinados se concentraron a 45°C para proporcionar 1,18 kg de material. Al corregirse el contenido de tolueno esto proporcionó un rendimiento de 1,12 kg (87% Th., 75 p. %) de material aislado como un sólido blanquecino.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,0-7,25 (m, 4H), 3,75 (t, 4H), 2,80 (t, 4H)

d) 2-(3-(2-bromoetil)fenil)etanol

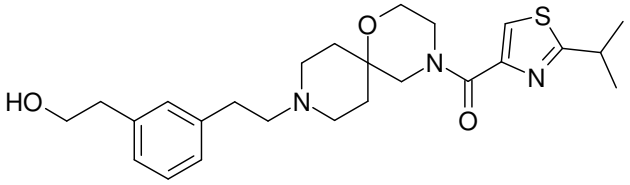


Una suspensión de 2,2'-(1,3-fenileno)dietanol (etapa c) (1,03 kg, 6,22 mol, 1,0 equiv.) en tolueno (13,49 L, 15,0 vols) y 48% de HBr (1,44 L, 12,75 mol, 2,05 equiv.) se calentó a 87°C durante 14h. Se agregó más 48% p/p de HBr (0,35 L 3,11 mol, 0,5 equiv.) y la mezcla se agitó a reflujo durante otras 24 h . La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y las capas se separaron. La capa orgánica se concentró para proporcionar 1,39 kg de material.

La purificación se dividió en dos cargas iguales de 800 g. El meta-bromoalcohol Bruto (800g) se disolvió en DCM (1,6 L, 2 vols p. a temperatura ambiente de la masa del material bruto) y se agregó a una almohadilla de gel de sílice seca (3,6 kg, 4 equiv. p.). La almohadilla se eluyó con un 10% de IPAc/Heptano (16L) para eliminar las impurezas rápidas y un 50% de IPAc/Heptano (20L) para lavar el producto. El producto que contenía fracciones de cada almohadilla de sílice se combinó, se concentró a 40-45°C y se secó a peso constante para proporcionar 1,32 kg (81% t.) de meta-bromoalcohol como un aceite amarillo claro.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,0-7,25 (m, 4H), 3,75 (t, 2H), 3,60 (t, 2H), 3,15 (t, 2H), 2,82 (t, 2H)

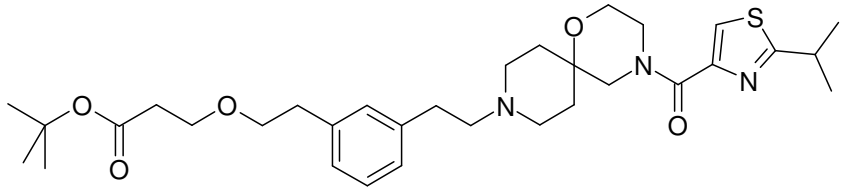
e) (9-(3-(2-Hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona



A una suspensión de hidrocloruro de (2-isopropiltiazol-4-il)(1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)metanona en una solución de 2-(3-(2-bromoetil)fenil)etanol (1,15 equivalentes molares) en acetonitrilo (10 volúmenes) a temperatura ambiente se agregó carbonato de potasio (4 equivalentes molares) seguido de agua (0,167 volúmenes). La mezcla se agitó a 60 °C durante 66 horas, se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, se lavó con MeCN y se concentró al vacío hasta proporcionar una goma anaranjada bruta. Esta goma se disolvió en EtOAc (3 volúmenes) y se lavó con HCl 2N (1,1 equivalentes molares). La capa acuosa se basificó utilizando NaOH 2N (1,5 equivalentes molares) y se extrajo con TBME (2x 2 volúmenes) [se formó un aceite en la interfaz, que no se disolvió en TBME]. Se diluyeron los extractos orgánicos combinados y el aceite con EtOAc (1 volumen) [se disolvió el aceite], se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío hasta proporcionar un goma anaranjada. Rendimiento: 88% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,84 (s, 1H), 7,23 (t, J=8,0 Hz, 1H), 7,08 - 7,06 (m, 3H), 4,03 - 3,93 (m, 1H), 3,93 - 3,83 (m, 1H), 3,85 (t, J=6,4 Hz, 2H), 3,82 – 3,74 (m, 4H), 3,71 - 3,62 (m, 1H), 3,32 (septeto, J=6,8 Hz, 1H), 2,87 - 2,76 (m, 2H), 2,84 (t, J=6,8 Hz, 2H), 2,70 - 2,40 (m, 6H), 1,96 - 1,85 (m, 2H), 1,85 – 1,71 (m, 2H), 1,71 - 1,53 (m, 2H) y 1,41 (d, J = 6,8 Hz, 6H).

f) 3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo



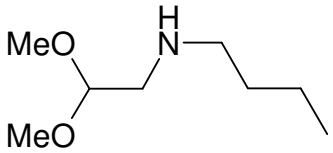
A una suspensión de (9-(3-(2-hidroxietil)fenetil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-4-il)(2-isopropiltiazol-4-il)metanona (reactivo limitante) en acetonitrilo (5 volúmenes) se agregó acrilato de terc-butilo (5 equivalentes molares) seguido de solución de hidróxido de benciltrimetilamonio (40% en peso en agua, 0,3 equivalentes molares). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora.

La mezcla se concentró al vacío hasta proporcionar un aceite marrón bruto que se repartió entre MeTHF y agua (5 volúmenes cada uno). La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío hasta proporcionar un jarabe amarillo claro. Rendimiento: 106% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,83 (s, 1H), 7,19 (t, J=8,0 Hz, 1H), 7,07 - 7,00 (m, 3H), 4,03 - 3,92 (m, 1H), 3,92 - 3,84 (m, 1H), 3,82 - 3,72 (m, 3H), 3,684 (t, J=6,4 Hz, 2H), 3,675 (t, J=6,4 Hz, 2H), 3,64 (t, J=7,2 Hz, 2H),3,31 (septeto, J=6,8 Hz,

1H), 2,84 (t, J=7,2 Hz, 2H), 2,81 - 2,71 (m, 2H), 2,68 - 2,50 (m, 3H), 2,48 (t, J=6,8 Hz, 2H), 2,47 (t, J=6,4 Hz, 2H), 1,94 - 1,90 (m, 1H), 1,90 - 1,85 (m, 1H), 1,81 - 1,65 (m, 1H), 1,63 - 1,51 (m, 1H), 1,44 (s, 9H) y 1,41 (d, J = 6,8 Hz, 6H).

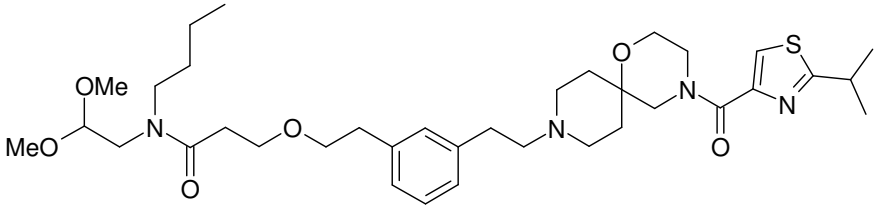
g) *N*-(2,2-Dimetoxietil)butan-1-amina



A una solución de butan-1-amina (reactivo limitante) en EtOH (5 volúmenes) se agregó 2,2-dimetoxiacetaldehído (60%) en agua (1 equivalente molar) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Se agregó una suspensión de un 5% de paladio sobre carbono (0,01 equivalente molar) en EtOH (1 volumen) y la mezcla se hidrogenó una presión de 3 bar durante 20 horas. La mezcla se filtró a través de un papel de filtro de fibra de vidrio, se lavó con EtOH (2x 3 volúmenes) y el licor se concentró cuidadosamente hasta proporcionar un aceite marrón turbio. Este aceite se disolvió en DCM (15 volúmenes), se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró cuidadosamente al vacío hasta proporcionar un aceite anaranjado. Rendimiento: 101% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,48 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 3,39 (s, 6H), 2,74 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 2,62 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,48 (quinteto, J = 7,2 Hz, 2H), 1,31 (sexteto, J = 7,2 Hz, 2H) y 0,92 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

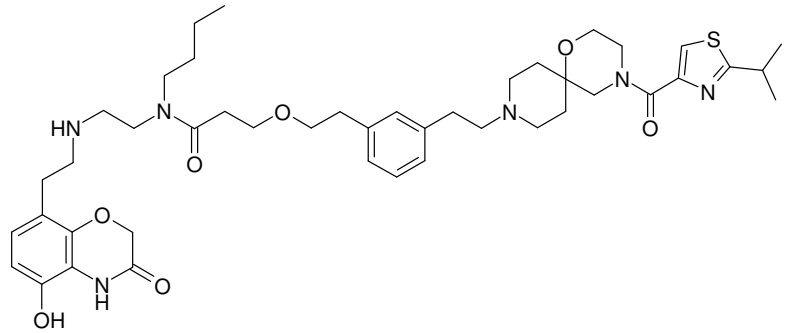
h) *N* -Butil-*N*-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida



A una solución de 3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanoato de terc-butilo (reactivo limitante) en diclorometano (4 volúmenes) a 22°C se agregó TFA (10 equivalentes molares) por goteo durante 1 hora [ocurrió una exotermia de 8°C después de que se agregaron aproximadamente 5 mL de TFA y después de 1 hr la temperatura bajó a 25°C]. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas, se concentró al vacío, se volvió a disolver en acetonitrilo (4 volúmenes) y se enfrió en un baño de hielo. Se agregó trietilamina (10 equivalentes molares) seguido de *N*-(dimetoxietil)-*N*-Butilamina (1,2 equivalentes molares) antes de añadir una solución 1,57M de T3P en THF (1,3 equivalentes molares) por goteo. La mezcla se agitó a 22°C durante 20 horas, se concentró al vacío hasta proporcionar un aceite rojo bruto. Se volvió a disolver en DCM (4 volúmenes) y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (4 volúmenes). Se secó (Na_2SO_4), se filtró y concentró al vacío hasta proporcionar un jarabe rojo. Rendimiento: 106% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,90 (s, 1H), 7,17 (t, J=7,6 Hz, 1H), 7,11 - 6,98 (m, 3H), 4,50 - 4,43 (m, 1H), 3,90 - 3,59 (m, 10H), 3,41 - 3,32 (m, 13H), 2,78 (t, J=6,8 Hz, 4H), 2,68 - 2,54 (m, 8H), 2,00 - 1,86 (m, 1H), 1,80 - 1,43 (m, 3H), 1,40 (d, J=6,8 Hz, 6H), 1,35 - 1,22 (m, 2H) y 0,97 - 0,88 (m, 3H).

i) *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida



Se agregó monohidrato de ácido p-Toluenosulfónico (4 equivalentes molares) a una solución de N-Butil-N-(2,2-dimetoxietil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (reactivo limitante) en THF (10 volúmenes) y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora temperatura ambiente. La solución se agregó a través de una bomba peristáltica a una suspensión de hidrocloruro de 8-(2-aminoetil)-5-hidroxi-2H-

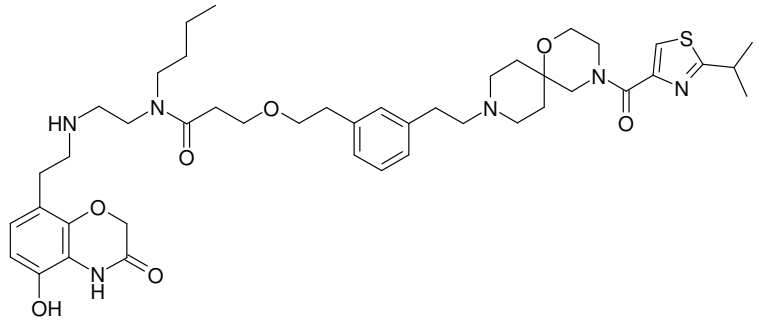
benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona (1 equivalente molar) y bicarbonato de sodio (6,5 equivalentes molares) en una mezcla de NMP (4 volúmenes) y agua (0,45 volúmenes), que se había agitado a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución turbia resultante se agitó durante 30 mins antes de agregar triacetoxiborohidruro de sodio (3 equivalentes molares) en porciones y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora.

La mezcla de reacción se inactivó con solución saturada de bicarbonato de sodio (10 volúmenes), se agregó agua (5 volúmenes) hasta que los precipitados se disolvieron y cesó la evolución gaseosa (~15 mins). Se extrajo con MeTHF (2x 10 volúmenes) y los extractos combinados se lavaron con agua (10 volúmenes), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar un jarabe marrón que se purificó sobre sílice (10 veces el peso de la mezcla de reacción bruta), eluyente DCM/8% MeOH/1% de amoníaco.

Rendimiento: 29% del rendimiento teórico.

^{1}H NMR (400 MHz, d6-DMSO) δ 9,82 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,20 - 7,10 (m, 1H), 7,10 - 6,95 (m, 3H), 6,60 (d, J=8,0 Hz, 1H), 6,41 (d, J=8,0 Hz, 1H), 4,46 (s, 1H), 3,80 - 3,45 (m, 9H), 3,40 - 3,15 (m, 12H), 2,78 - 2,17 (m, 14H), 1,77 - 1,37 (m, 4H), 1,34 (d, J=6,8 Hz, 6H), 1,30 - 1,14 (m, 2H) y 0,91 - 0,82 (m, 3H).

j) Sal monosulfato de *N*-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida



N-Butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5,5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida (reactivo limitante) se disolvió en EtOH (15 vols), se agregó ácido sulfúrico 4,9M (1 equivalente molar) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. El precipitado se recogió, se lavó con EtOH (1 vol) y se secó al vacío (horno a 40°C, bomba de aceite) hasta proporcionar un sólido blanco (70% de recuperación). Se agregó un 5% de agua en MeCN (20 volúmenes) y la mezcla se agitó durante 6 días. Se recogió el sólido cristalino (forma G) mediante filtración (95% de recuperación).

^{1}H NMR (400 MHz, d6-DMSO) δ (ppm) 9,92 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,22 - 7,13 (m, 1H), 7,12 - 6,98 (m, 3H), 6,65 (d, J=8,0 Hz, 1H), 6,47 (d, J=8,0 Hz, 1H), 4,52 (d, J=8,0 Hz, 2H), 3,82 - 3,14 (m, 20H), 3,04 - 2,90 (m, 4H), 2,83 - 2,64 (m, 7H), 2,63 - 2,47 (m, 4H), 1,85 - 1,37 (m, 4H), 1,35 (d, J=6,8 Hz, 6H), 1,32 - 1,16 (m, 2H) y 0,92 - 0,83 (m, 3H).

Los compuestos de la invención pueden examinarse para actividad farmacéutica utilizando ensayos conocidos en el arte, como por ejemplo:

Ensayo para la producción de AMPc mediada por β2 adrenérgico

Preparación de células

Se cultivan células H292 en una incubadora de matraces de 225 cm^2 a 37°C, con CO_2 al 10% en medio RPMI, con SFB (suero fetal bovino) al 10% (v/v) y L-glutamina 2 mM.

Método experimental

Se extraen células H292 adherentes de los matraces con cultivo de tejidos mediante tratamiento con solución para desprender células Accutase™ durante 15 minutos. Se incuban los matraces durante 15 minutos en una incubadora humidificada a 37°C con CO_2 al 5%. Las células desprendidas se vuelven a suspender en medio RPMI (con SFB al 10% (v/v) y L-glutamina 2 mM) a una concentración de 0,1 x 10^6 células por ml. Se añaden 10000 células en 100 µl a cada pocillo de una placa de 96 pocillos tratada para cultivo de tejidos y las células se incuban durante la noche en una incubadora humidificada a 37°C con CO_2 al 5%. Se extrae el medio de cultivo y las células se lavan dos veces con 100 µl de tampón de ensayo y se sustituyen con 50 µl de tampón de ensayo (solución HBSS que contiene HEPES 10mM, pH 7,4 y glucosa 5 mM). Las células se dejan en reposo a temperatura ambiente durante 20 minutos y luego se les añade 25 µl de rolipram (1,2 mM preparado en tampón de ensayo con dimetilsulfóxido al 2,4% (v/v)). Las células se incuban con rolipram durante 10 minutos, luego se les añaden compuestos de prueba y se incuban durante 60 minutos a temperatura ambiente. La concentración final de rolipram en el ensayo es de 300 µM y la concentración final del vehículo es de dimetilsulfóxido al 1% (v/v). Se detiene la reacción mediante la extracción de los sobrenadantes, lavado con 100 µl de tampón de ensayo y sustitución con 50 µl de tampón de lisis. Se congela la monocapa de células a -80 °C durante 30 minutos (o durante la noche).

Detección de AMPc con AlphaScreen™

Se determina la concentración de AMPc (adenosín monofosfato cíclico) en el lisado celular utilizando la metodología AlphaScreen™. Se descongela la placa celular congelada durante 20 minutos en un agitador de placas, luego se traspasan 10 µl del lisado celular a una placa de 96 pocillos blanca. Se añaden 40 µl de una mezcla de microesferas de detección AlphaScreen™ preincubadas con AMPc biotinilado a cada pocillo y se incuba la placa a temperatura ambiente durante 3 horas en un lugar oscuro. Se midió la señal AlphaScreen™ con un espectrofotómetro EnVision (Perkin-Elmer Inc.) con las configuraciones recomendadas por el fabricante. Las concentraciones de AMPc se determinan utilizando una curva de calibración determinada en el mismo experimento con concentraciones estándar de AMPc. Se construyen curvas de concentración-respuesta para agonistas y se ingresan los datos en una ecuación logística de cuatro parámetros para determinar el pCE_{50} (logaritmo negativo de la concentración efectiva media) y la actividad intrínseca. La actividad intrínseca se expresa como una fracción relativa a la actividad máxima determinada para el formoterol en cada experimento.

Ensayo de unión al receptor muscarínico 3

La afinidad (pCI_{50}) de los compuestos que se unen al receptor M_3 se determina por la unión competitiva de [^{3}H]N-metil escopolamina (NMS) a las membranas celulares de CHO-K1 (células de ovario de hámster chino) que expresan el receptor de M_3 acetilcolina muscarínica humana (M_3-ACh) en un formato de ensayo de centelleo por proximidad (SPA).

Las microesferas del SPA se recubren previamente con membranas y después se incuban a razón de 2 mg de microesferas por pocillo con diluciones seriadas de compuestos de la invención, [^{3}H]NMS a 0,1 nM, un cuarto de Kd (constante de disociación determinada experimentalmente) y un tampón de ensayo (HEPES 20 mM pH 7,4 con $MgCl_2$ 5 mM y seroalbúmina bovina 0,1% (p/v)). El ensayo se realiza en un volumen final de 200 µL, en presencia de 1% (v/v) de dimetilsulfóxido (DMSO). La unión total de [^{3}H]NMS se determina en ausencia de un compuesto de competencia y la unión no específica de [^{3}H]NMS se determina en presencia de atropina 1 µM. Se incuban las placas durante 16 horas a temperatura ambiente y se leen en un Wallac Microbeta™ utilizando un protocolo normalizado a ^{3}H. Se determina la pCI_{50}, definido como el logaritmo negativo de la concentración molar de compuesto requerida para una reducción del 50% de la unión específica [^{3}H]-NMS.

Los compuestos de la invención se analizaron con los ensayos anteriores y se obtuvieron los siguientes resultados:

Ejemplo N.º	pCE_{50} de □$_2$	Actividad intrínseca de □$_2$	pCI_{50} de unión de M_3

33 33a	7,8 7,8	1,0 1,0	9,4 9,3
34 34a	8 7,8	1,0 1,0	9,0 9,2

DATOS de XRD

Detalles del instrumento:

- Difracción de rayos X en polvo (XRPD) – la máquina PANalytical X'Pert configurada en 2Ø - Ø o la máquina PANalytical Cubix configurada en Ø – Ø en el intervalo de exploración de 2° a 40° 2Ø con exposición de 100-segundo por incrementos de 0,02°. Los rayos X fueron generados por un tubo de foco largo y delgado de cobre que funciona a 45kV y 40mA. La longitud de onda de los rayos X de cobre era de 1,5418 Å. Los datos se recolectaron en placas de muestra neutra en las que se colocaron ~ 2mg del compuesto. La placa se elaboró a partir de un único cristal de silicona, al cual se le había realizado un corte por plano no difractivo y después pulido hasta un acabado ópticamente liso. Los rayos X que incidieron sobre esta superficie fueron rechazados por extinción de Bragg.
- Se midieron Termogramas de calorimetría de exploración diferencial (DSC) utilizando un calorímetro de exploración diferencial TA Q1000, con asaderas de aluminio. La muestra pesaba entre 0,5 y 5mg. El procedimiento se realizó bajo flujo de gas nitrógeno (50 ml/minuto) y la temperatura estudiada varió entre 25 y 300 °C a un índice de aumento de temperatura constante de 10 °C por minuto.
- Se midieron Termogramas de Sorción de vapor termogravimétrica (TGA) utilizando un analizador termogravimétrico TA Q500, con asaderas de platino. La muestra pesaba entre 1 y 5 mg. El procedimiento se realizó bajo flujo de gas nitrógeno (60 ml/minuto) y la temperatura estudiada varió entre temperatura ambiente y 300 °C a un índice de aumento de temperatura constante de 10 °C por minuto.
- Se midieron los perfiles de sorción de vapor gravimétrica (GVS) con sorción de vapor dinámica Surface Measurements Systems DVS-1 o un instrumento DVS Advantage. Se colocó la muestra sólida de 1-5mg aproximadamente en un recipiente de vidrio o metal, y se registró el peso de la muestra durante un procedimiento de etapas de ciclo doble (40 a 90 a 0 a 90 a 0% de humedad relativa (RH), en etapas de 10% de RH).

Sal sulfato del Ejemplo 33a (el espectro XRD se muestra en la figura 1)

Datos de XRPD de la sal sulfato del ejemplo 33a		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,4	4,51	20,30048
6,1	100	14,50763
6,9	11,28	12,73003
7,8	14,82	11,26734
9,1	8,3	9,72695
9,5	3,59	9,29727
9,9	9,72	8,89847
11,8	35,65	7,48101
12,2	26,49	7,24933
13,1	10,86	6,77877

13,5	2,98	6,54974
14,0	11,03	6,34316
14,8	20,25	5,98558
15,4	8,96	5,76719
15,7	88,25	5,64579
16,4	10,06	5,4091
16,7	11,03	5,30622
17,3	6,3	5,12687
17,5	11,35	5,0547
18,0	16,65	4,91905
18,3	12,72	4,85584
19,0	7,3	4,7
19,7	49,7	4,5
20,2	17,4	4,4
20,8	9,5	4,3
21,4	61,6	4,2
21,9	8,1	4,1
22,1	9,1	4,0
22,4	19,4	4,0
22,7	18,3	3,9
23,6	23,0	3,8
24,2	9,7	3,7
24,5	47,9	3,6
25,0	10,3	3,6
25,6	2,5	3,5
26,1	8,4	3,4
26,9	10,2	3,3
27,2	8,5	3,3
27,5	9,8	3,2
29,7	2,2	3,0
30,8	21,6	2,9

Sulfato Forma A del Ejemplo 34a (el espectro XRD se muestra en la figura 2)

XRPD del sulfato de forma A del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,8	100,0	18,6
8,0	6,0	11,1
9,5	15,6	9,3
11,3	2,8	7,8
14,1	15,3	6,3
15,7	8,5	5,6
16,2	7,1	5,5
17,9	13,6	5,0
18,6	8,4	4,8
21,4	20,2	4,1

23,0	8,0	3,9
24,7	4,4	3,6
28,7	2,8	3,1
31,9	1,0	2,8
34,2	0,9	2,6

Precisión - +/- 0,1

Sulfato Forma B del Ejemplo 34c (el espectro XRD se muestra en la figura 3)

XRPD del sulfato de forma B del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,6	67,8	19,1
7,9	20,7	11,1
9,3	84,0	9,6
10,0	10,7	8,9
11,2	7,0	7,9
12,1	4,2	7,3
13,9	100,0	6,4
15,3	29,3	5,8
16,2	15,7	5,5
18,0	14,1	4,9
18,5	22,2	4,8
20,1	24,0	4,4
21,2	19,4	4,2
22,2	15,0	4,0
23,2	10,7	3,8
24,7	15,7	3,6
25,7	15,1	3,5
26,6	8,0	3,4
27,9	27,8	3,2
30,1	4,3	3,0
34,4	3,2	2,6

Precisión - +/- 0,1

Sulfato Forma C del Ejemplo 34d (el espectro XRD se muestra en la figura 4)

XRPD del sulfato de forma C del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,4	100	20,3
5,8	5,34	15,2
7,8	7,62	11,4
8,7	5,48	10,2
9,5	16,14	9,3
12,0	7,09	7,4
13,0	6,81	6,8
14,2	7,97	6,2
15,6	6,32	5,7
16,6	15,22	5,3

17,4	27,82	5,1
17,8	30,16	5,0
18,4	19,39	4,8
20,7	21,31	4,3
21,8	23,55	4,1
23,4	10,81	3,8
24,7	9,78	3,6
26,0	7,53	3,4
26,8	6,45	3,3
28,4	3,69	3,1
31,4	2,19	2,8
33,7	2,26	2,7
37,0	1,65	2,4

Precisión - +/- 0,1

Sulfato Forma D del Ejemplo 34e (el espectro XRD se muestra en la figura 5)

XRPD del sulfato de forma D del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,3	100,0	20,3
4,7	69,7	18,8
5,8	9,7	15,2
7,7	9,5	11,4
8,7	4,1	10,2
9,5	24,3	9,3
11,6	5,4	7,6
12,0	8,6	7,4
13,0	3,4	6,8
13,5	6,5	6,6
14,2	13,3	6,3
14,8	6,1	6,0
15,1	4,4	5,9
15,8	8,9	5,6
16,5	14,5	5,4
17,3	10,1	5,1
17,9	23,9	4,9
18,4	14,8	4,8
19,0	5,6	4,7
19,9	3,9	4,5
20,6	15,8	4,3
21,3	14,9	4,2
21,8	14,8	4,1
22,5	9,7	4,0
23,4	7,0	3,8
24,7	8,4	3,6
26,8	4,2	3,3
28,6	4,1	3,1

29,5	6,4	3,0
31,9	1,7	2,8
33,9	1,5	2,6

Precisión - +/- 0,1

Sulfato Forma E del Ejemplo 34f (el espectro de XRD se muestra en la Figura 6)

XRPD del sulfato de forma E del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,3	93,2	20,5
5,8	11,8	15,2
7,8	15,0	11,4
8,6	11,1	10,2
9,5	55,5	9,3
11,6	22,5	7,6
12,1	18,0	7,3
13,0	35,6	6,8
13,6	6,4	6,5
14,3	28,3	6,2
14,9	32,6	5,9
15,1	60,5	5,9
15,5	18,1	5,7
16,5	23,8	5,4
17,3	100,0	5,1
17,7	59,3	5,0
18,0	29,0	4,9
18,4	15,8	4,8
19,0	26,9	4,7
19,7	26,7	4,5
20,5	72,7	4,3
20,8	18,2	4,3
21,3	20,0	4,2
21,7	60,4	4,1
22,0	44,7	4,0
22,6	74,2	3,9
23,4	60,8	3,8
24,1	22,4	3,7
24,6	43,0	3,6
25,7	14,8	3,5
26,7	53,0	3,3
27,2	15,6	3,3
28,1	17,6	3,2
29,2	12,9	3,1
30,4	16,3	2,9
31,3	10,3	2,9
32,7	5,1	2,7
33,3	7,4	2,7

34,4	8,6	2,6
36,3	8,4	2,5
37,0	9,9	2,4

Precisión - +/- 0,1

Sulfato forma F del Ejemplo 34g (el espectro de XRD se muestra en la Figura 7)

Datos de XRPD del sulfato de forma F del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,7	100,0	18,8
7,9	18,7	11,3
9,4	10,2	9,4
9,7	19,6	9,1
11,3	14,5	7,8
13,6	12,3	6,5
14,2	15,5	6,3
15,3	12,6	5,8
15,8	23,4	5,6
17,1	13,8	5,2
17,9	51,2	5,0
18,6	20,0	4,8
19,8	38,6	4,5
20,3	9,7	4,4
21,4	37,8	4,1
22,9	14,5	3,9
24,8	14,3	3,6
26,3	9,7	3,4
28,1	8,2	3,2

Precisión - +/- 0,1

Sulfato Forma G del Ejemplo 34h (el espectro de XRD se muestra en la Figura 8)

Datos de XRPD del sulfato de forma G del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	Espaciado d
6,0	7,8	14,6
6,3	7,6	14,1
7,5	4,6	11,7
8,0	9,7	11,1
9,3	45,8	9,5
10,9	84,6	8,1
12,5	16,5	7,1
13,3	36,9	6,7
13,9	41,2	6,4
14,2	9,9	6,2
15,0	41,7	5,9
16,0	47,0	5,5
16,2	100,0	5,5

17,0	15,9	5,2
17,6	15,2	5,0
18,3	79,7	4,8
18,7	68,4	4,8
18,9	67,4	4,7
19,2	21,4	4,6
19,5	19,3	4,6
19,8	16,9	4,5
20,7	13,8	4,3
21,1	40,1	4,2
21,3	28,0	4,2
21,7	16,4	4,1
22,4	46,7	4,0
22,7	18,4	3,9
23,5	6,2	3,8
24,4	27,8	3,7
25,0	20,6	3,6
25,2	75,5	3,5
25,8	13,9	3,5
27,5	20,5	3,2
28,5	23,6	3,1
31,2	4,7	2,9
32,8	10,6	2,7
34,0	4,2	2,6

Precisión - +/- 0,1

Napadisilato forma B del Ejemplo 34i (el espectro de XRD se muestra en la Figura 9)

Datos de XRPD del napadisilato de forma B del Ejemplo 34		
2Ø	Int. Rel. %	espaciado d
4,6	1,8	19,2
6,3	28,1	14,0
7,7	5,5	11,5
8,6	15,7	10,3
9,5	9,1	9,3
10,5	27,8	8,4
10,7	8,1	8,2
11,2	27,1	7,9
11,8	20,1	7,5
12,7	13,8	7,0
14,1	4,8	6,3
14,7	14,0	6,0
15,0	8,8	5,9
15,4	43,3	5,8
15,6	51,1	5,7

16,0	100,0	5,5
17,2	16,0	5,1
17,7	10,2	5,0
18,3	9,7	4,8
18,8	31,8	4,7
19,2	75,6	4,6
19,8	19,3	4,5
20,2	10,2	4,4
21,0	46,2	4,2
21,2	38,4	4,2
21,6	26,1	4,1
22,2	53,7	4,0
22,5	16,4	3,9
23,6	25,8	3,8
24,3	11,7	3,7
25,4	53,8	3,5
25,9	8,6	3,4
26,8	2,8	3,3
27,3	12,3	3,3
27,5	8,5	3,2
28,0	6,1	3,2
28,4	5,1	3,1
29,3	9,1	3,1
29,6	10,6	3,0
30,5	7,0	2,9
31,9	2,0	2,8
32,9	1,9	2,7
33,5	3,7	2,7
35,9	1,4	2,5
37,6	3,9	2,4

Precisión - +/- 0,1

La figura 1 muestra el espectro de XRD para la sal sulfato del Ejemplo 33a;
la figura 2 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma A del Ejemplo 34a;
la figura 3 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma B del Ejemplo 34c;
la figura 4 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma C del Ejemplo 34d;
la figura 5 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma D del Ejemplo 34e;
la figura 6 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma E del Ejemplo 34f;
la figura 7 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma F del Ejemplo 34g;
la figura 8 muestra el espectro de XRD para el sulfato Forma G del Ejemplo 34h;
la figura 9 muestra el espectro de XRD para el napadisilato Forma B del Ejemplo 34i.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y que es 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida.

2. Un compuesto de fórmula (I) y que es 3-(2-cloro-3-((4-(2-etiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecan-9-il)metil)fenetoxi)-N-ciclopentil-N-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)propanamida, sal de sulfato.

3. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y que es *N*-butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida.

4. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y que es ditrifluoroacetato de *N*-butil-*N*-(2-(2-(5-hidroxi-3-oxo-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-8-il)etilamino)etil)-3-(3-(2-(4-(2-isopropiltiazol-4-carbonil)-1-oxa-4,9-diazaspiro[5.5]undecan-9-il)etil)fenetoxi)propanamida.

5. Un compuesto de fórmula (I) tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como se ha definido anteriormente en la presente para su uso en terapia.

6. El uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en la fabricación de un medicamento para uso en terapia.

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, asociado con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Figura 1

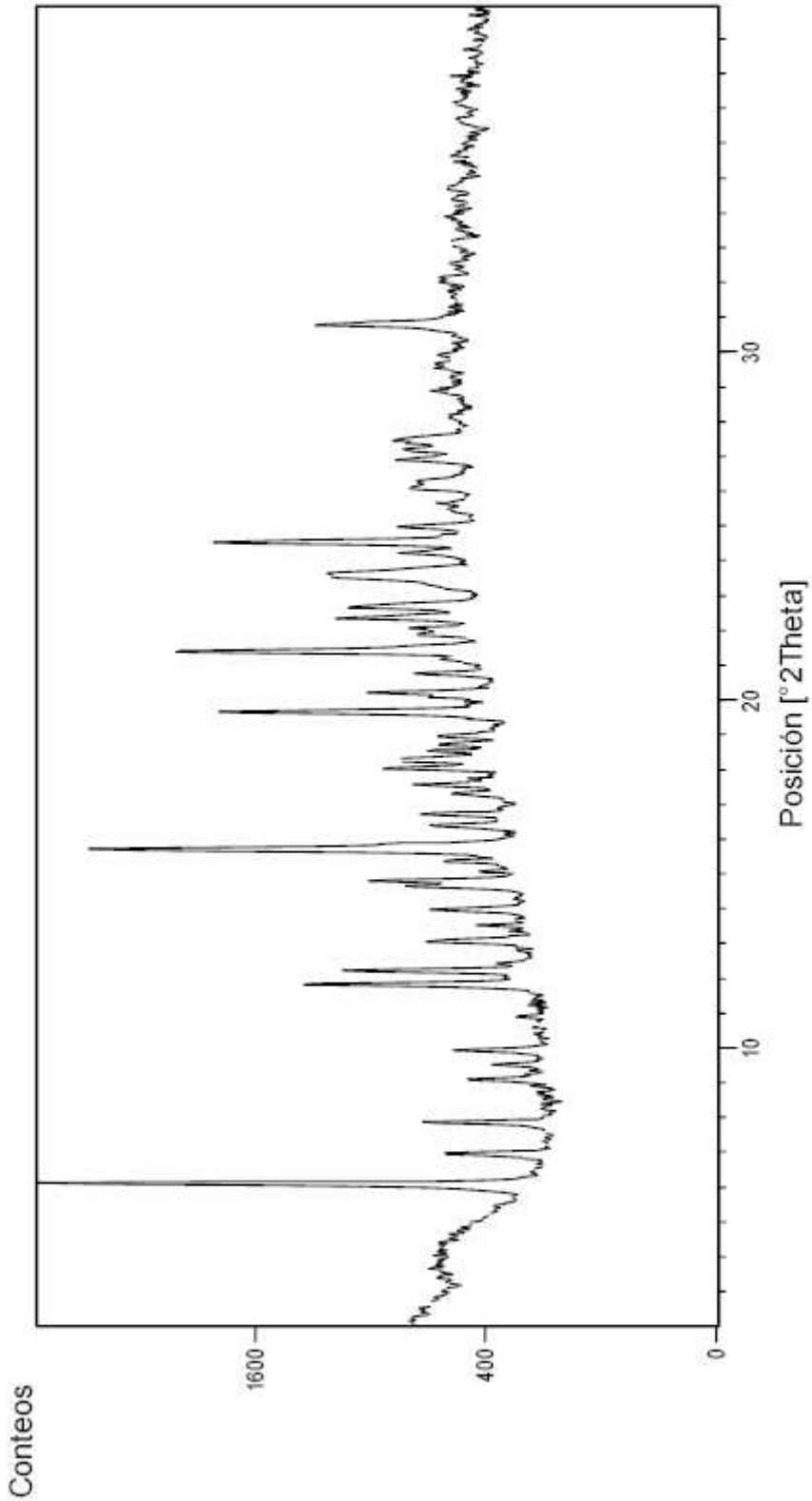


Figura 2

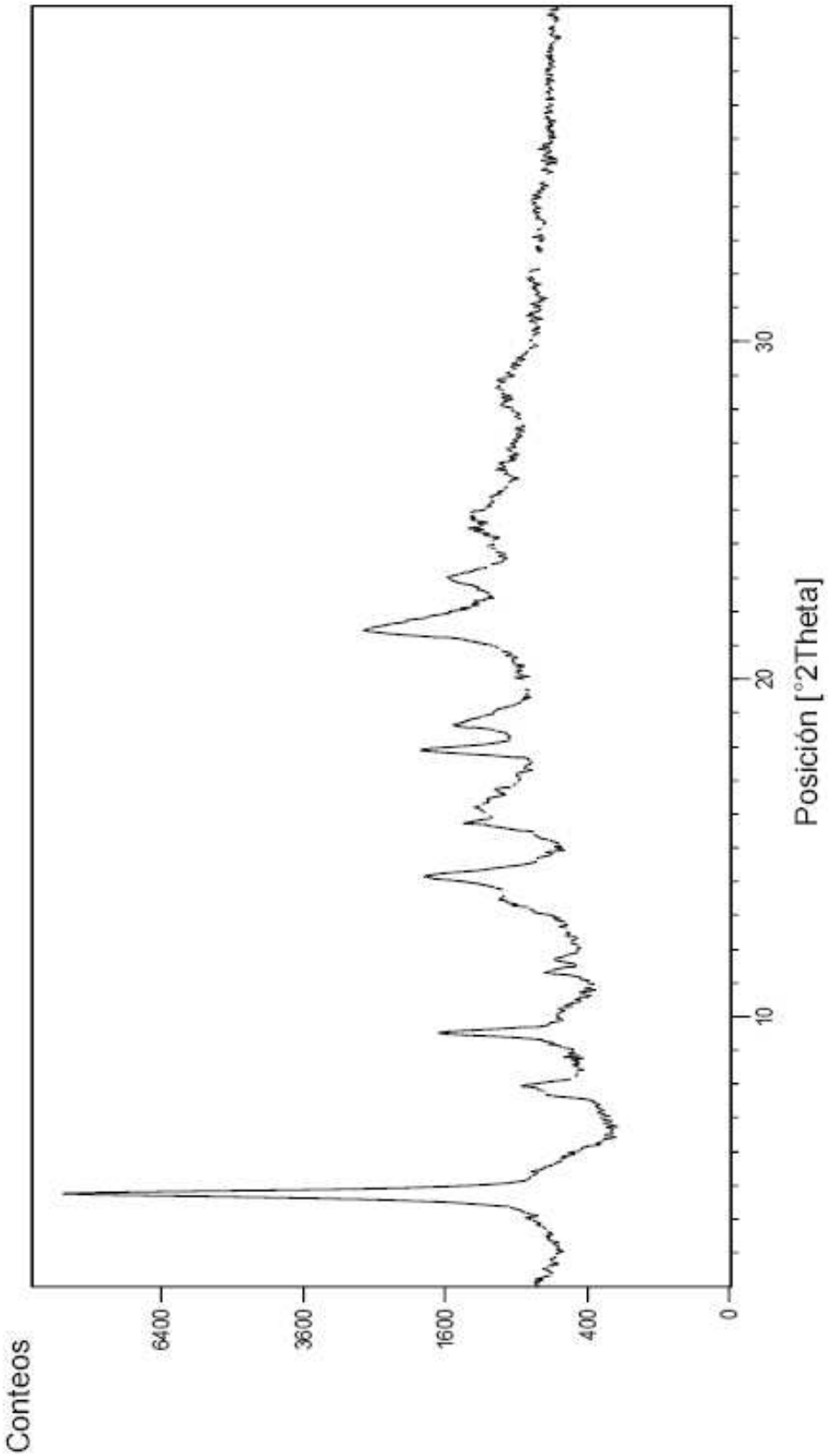


Figura 3

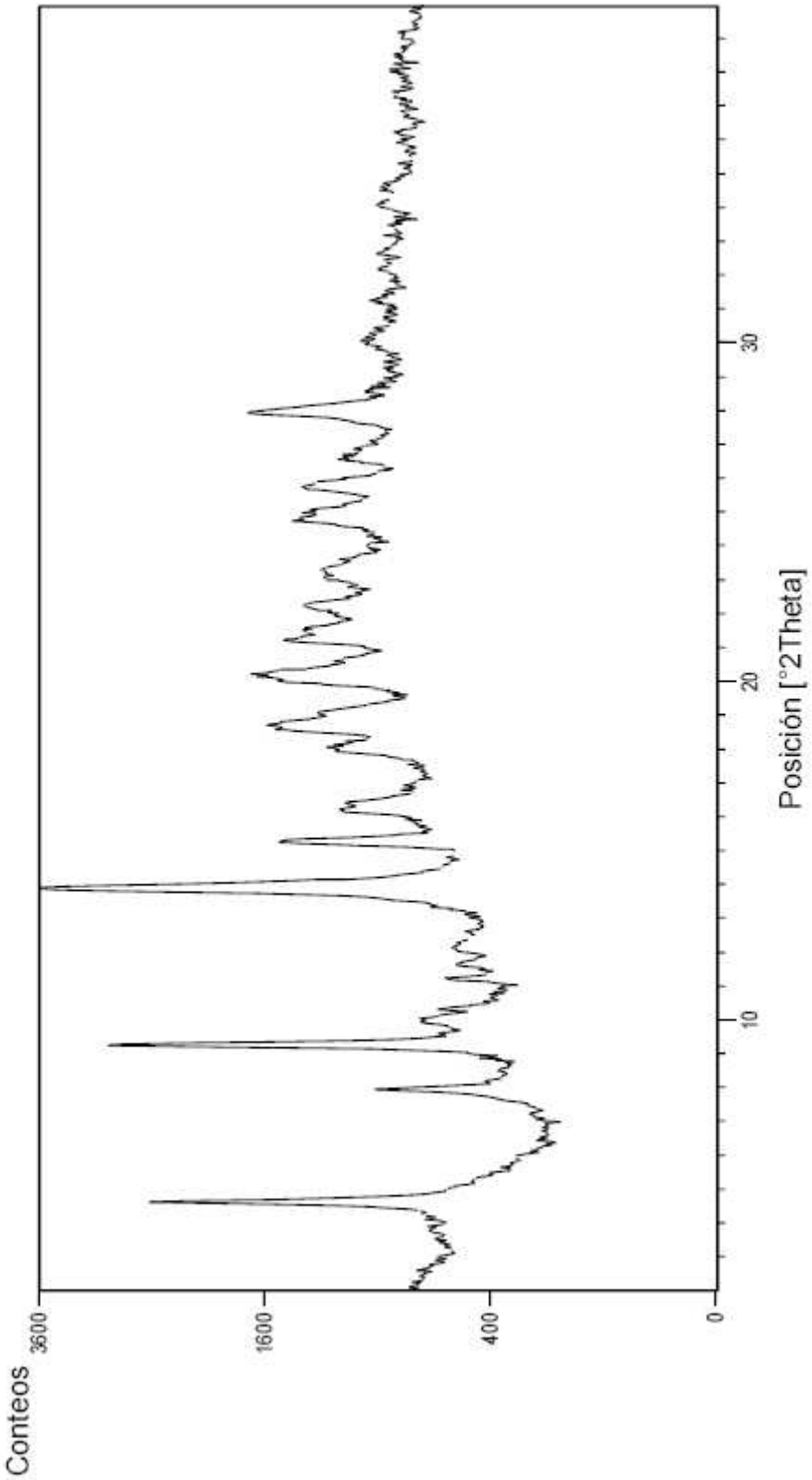


Figura 4

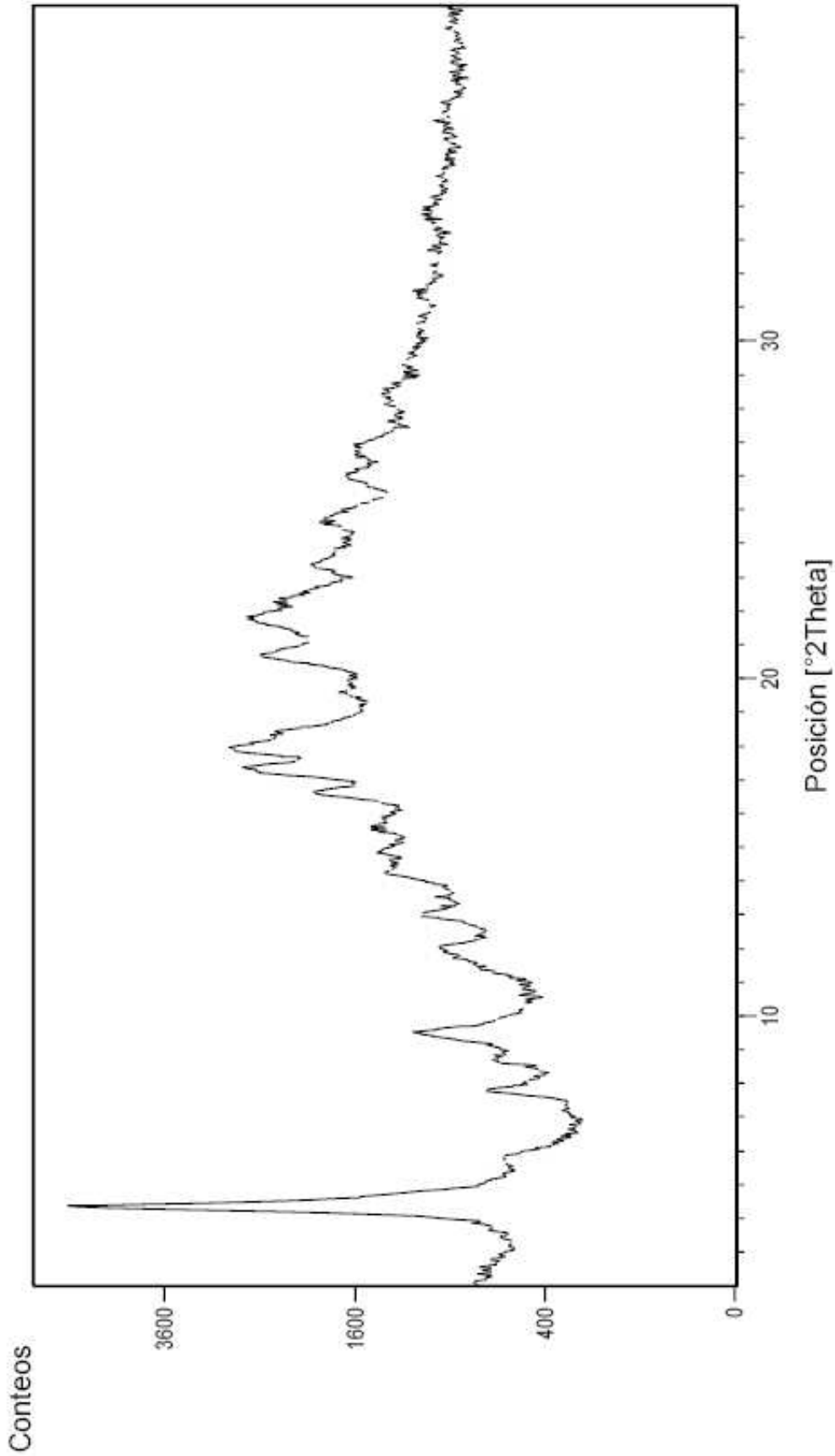


Figura 5

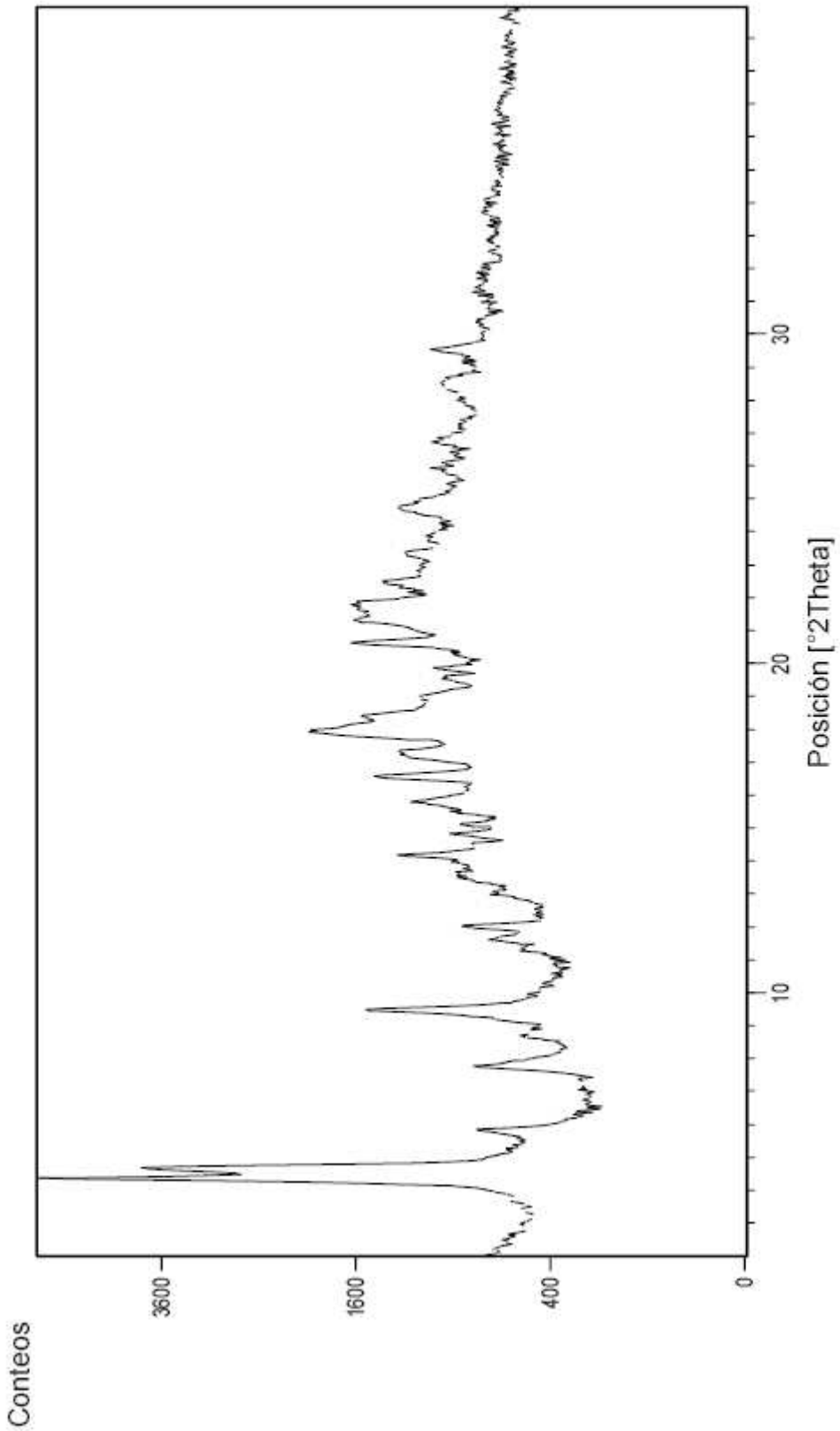


Figura 6

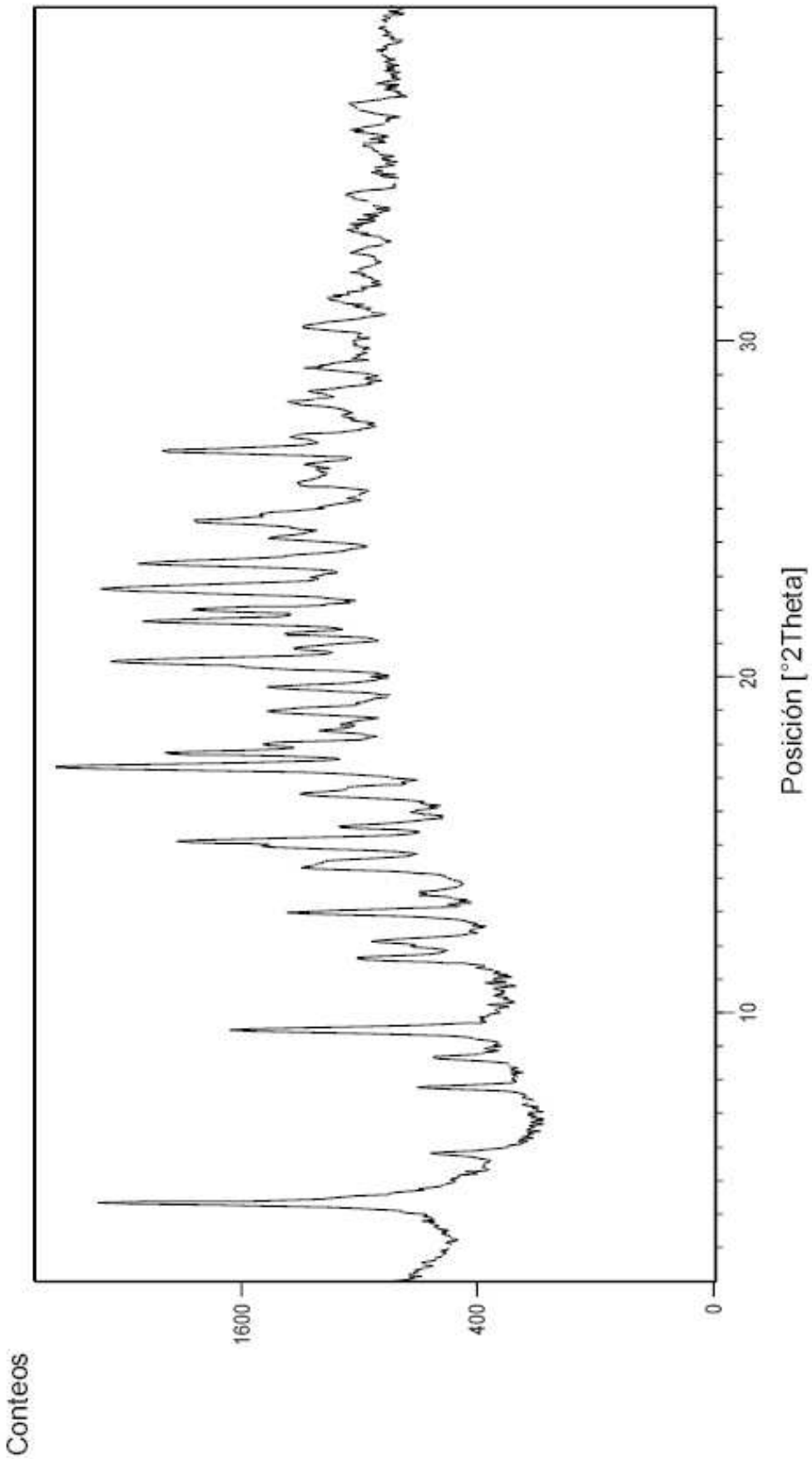


Figura 7

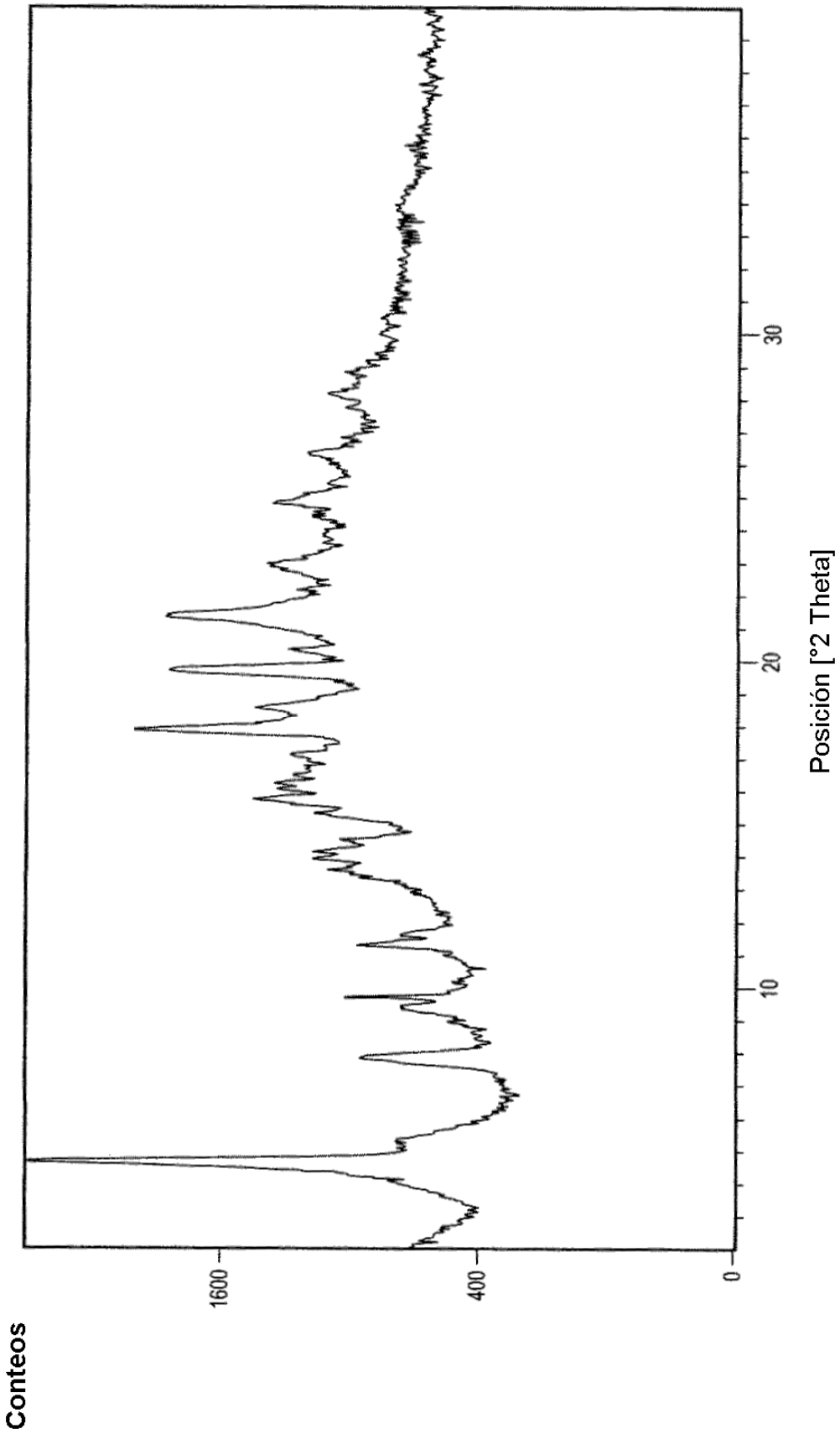


Figura 8

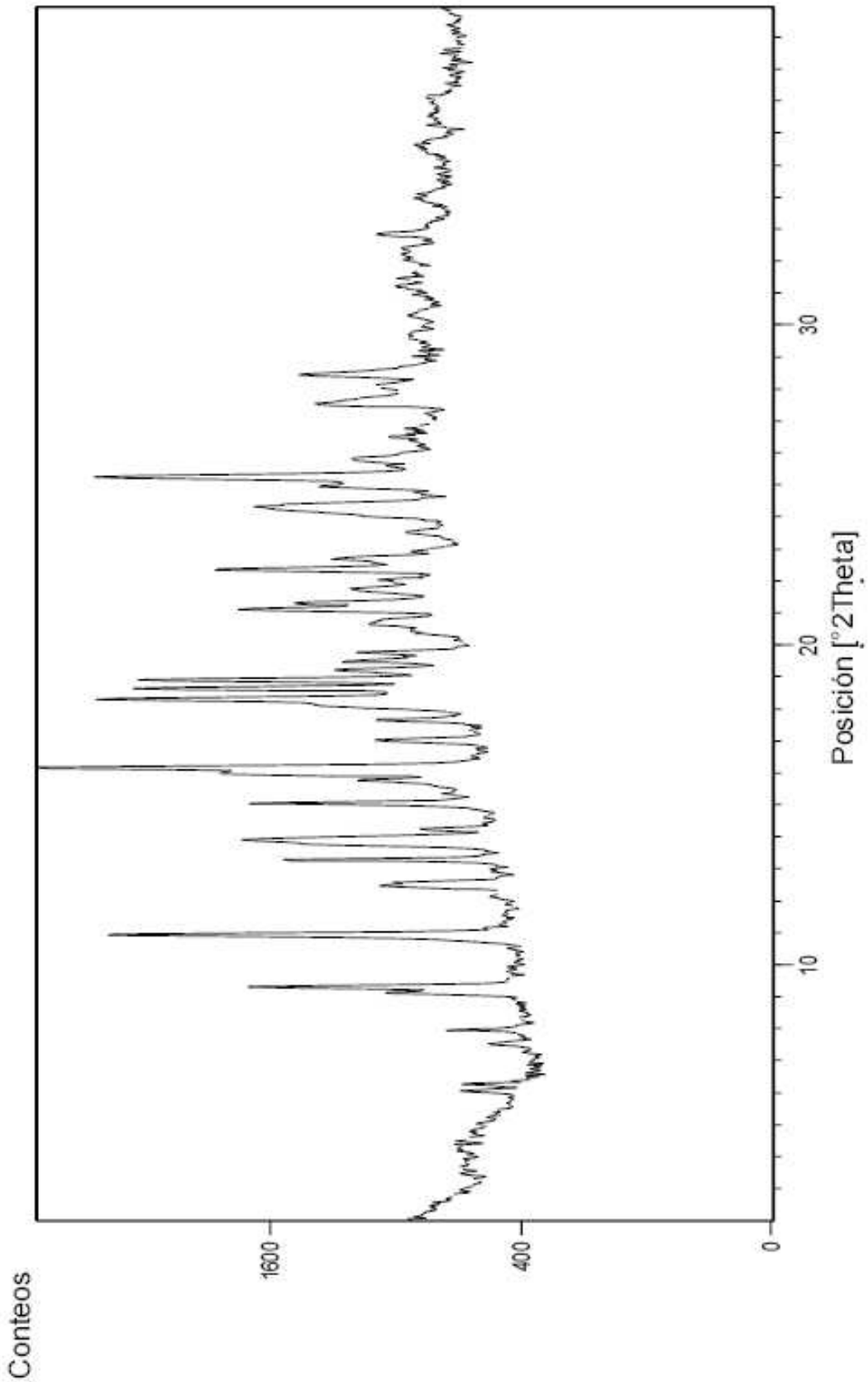


Figura 9

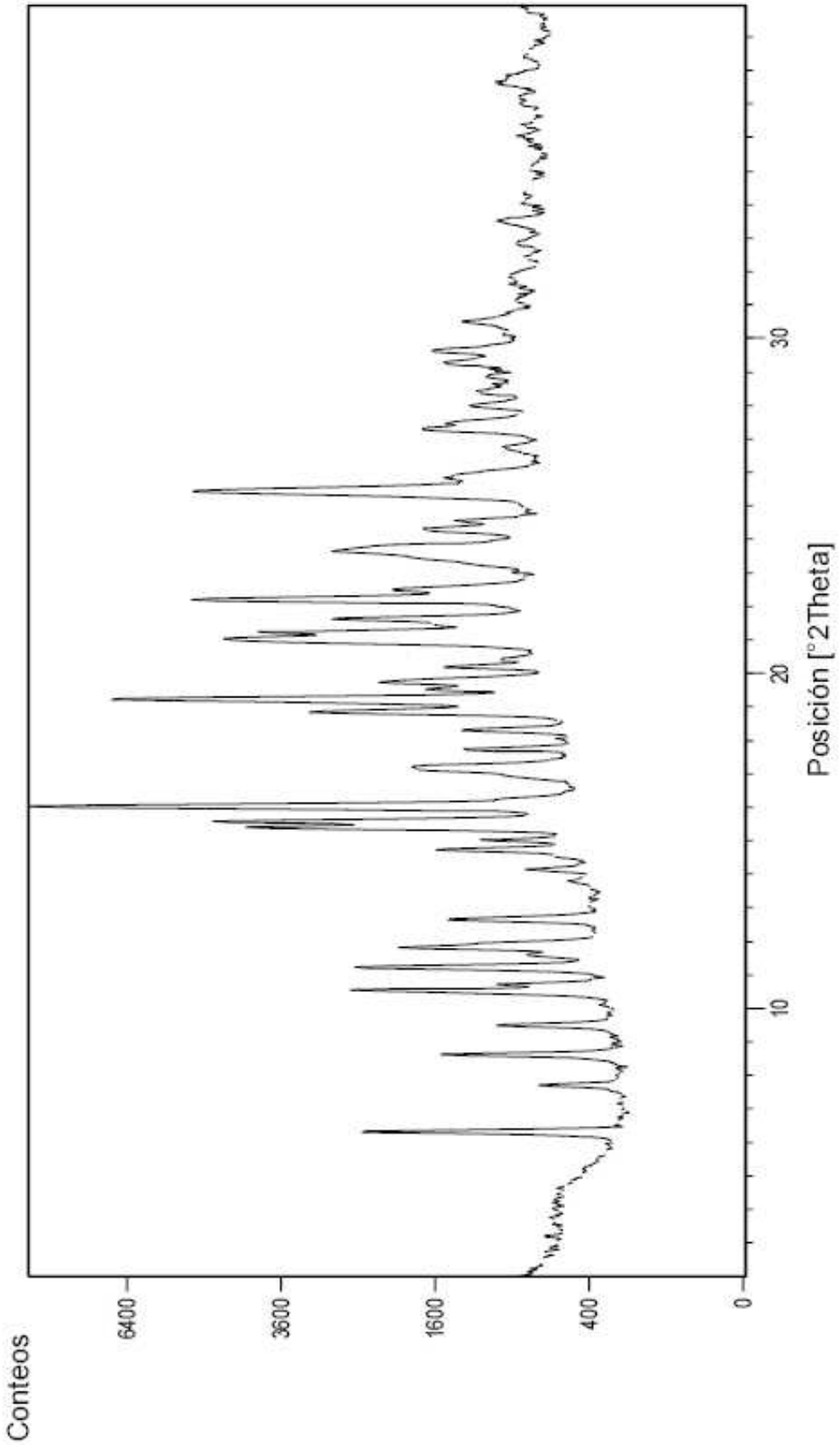
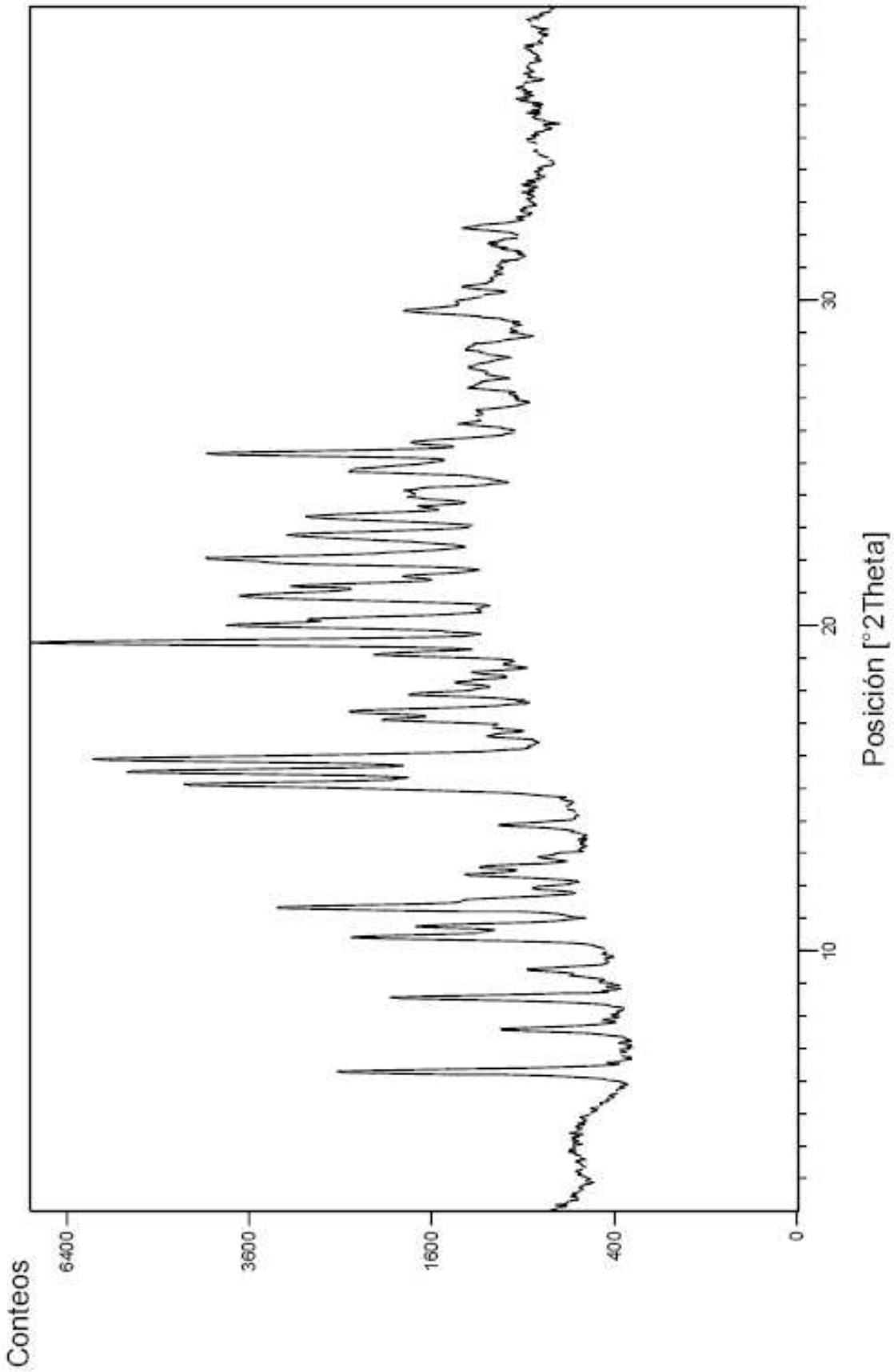



Figura 10