

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

(22) Data de pedido: **2007.04.04**

(30) Prioridade(s): **2006.04.04 US 744269 P**
2006.04.04 US 744270 P

(43) Data de publicação do pedido: **2008.12.24**

(45) Data e BPI da concessão: **2013.05.22**
162/2013

(73) Titular(es):

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA
12TH FLOOR 1111 FRANKLIN STREET
OAKLAND CA 94607-5200**

US

(72) Inventor(es):

**KEVAN M. SHOKAT
ZACHARY A. KNIGHT
BETH APSEL**

US

US

US

(74) Mandatário:

**ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA**

PT

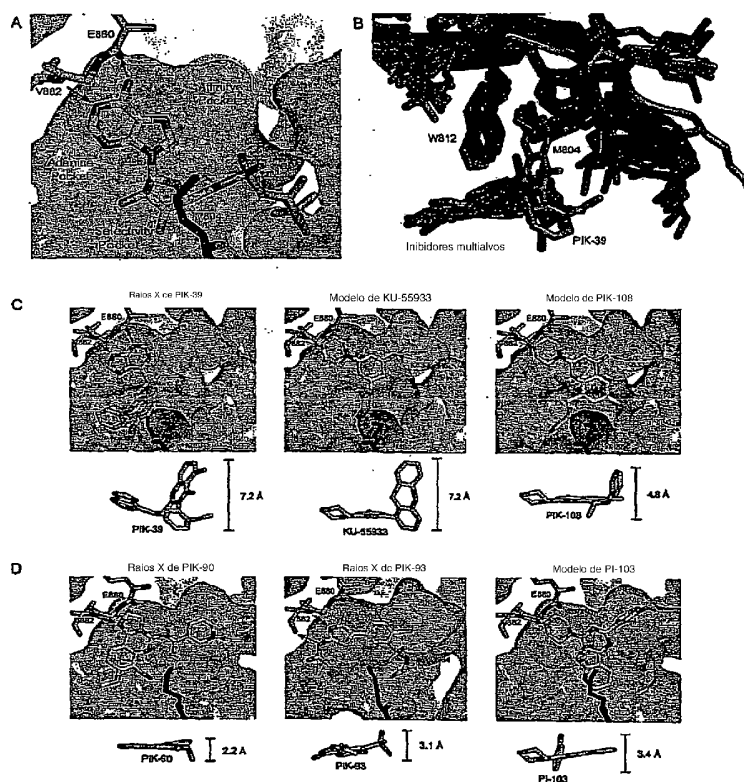
(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE PIRAZOLOPIRIMIDINA PARA UTILIZAÇÃO COMO ANTAGONISTAS DA QUINASE**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO PROPORCIONA NOVOS COMPOSTOS QUE SÃO ANTAGONISTAS DA PI3-QUINASE, DA PI3-QUINASE E TIROSINAQUINASE, DA PI3-QUINASE E MTOR, OU DA PI3-QUINASE, MTOR E TIROSINA-QUINASE.

RESUMO**"Derivados de pirazolopirimidina para utilização como antagonistas da quinase"**

A presente invenção proporciona novos compostos que são antagonistas da PI3-quinase, da PI3-quinase e tirosina-quinase, da PI3-quinase e mTOR, ou da PI3-quinase, mTOR e tirosina-quinase.



DESCRIÇÃO

"Derivados de pirazolopirimidina para utilização como antagonistas da quinase"

DECLARAÇÃO SOBRE OS DIREITOS DAS INVENÇÕES REALIZADAS NO ÂMBITO DA INVESTIGAÇÃO E DO DESENVOLVIMENTO PATROCINADOS PELO GOVERNO FEDERAL

A presente invenção foi financiada pelo National Institutes of Health (AI44009). O Governo detém certos direitos sobre a invenção.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

As fosfoinositida 3-quinases (PI3-Ks) catalisam a síntese dos segundos mensageiros do fosfatidilinositol (PI), ou seja, (PI)(3)P, PI(3,4)P₂, e PI(3,4,5)P₃(PIP₃) (Fruman et al., 1998). No contexto celular adequado, estes três lípidos controlam diversos processos fisiológicos, incluindo o crescimento celular, a sobrevivência, a diferenciação e a quimiotaxia (Katso et al., 2001). A família PI3-K é composta por 15 quinases com distintas especificidades de substrato, padrões de expressão e modos de regulação (Katso et al., 2001). A classe I das PI3-Ks (p100 α , p110 β , p110 δ e p110 γ) é ativada por recetores tirosina-quinase ou acoplados à proteína G, dando origem a PIP₃, o qual interage a jusante com efetores tais como a via Akt/PDK1, as quinases da família Tec, e as GTPases da família Rho. As classes II e III das PI3-Ks desempenham um papel fundamental no tráfico intracelular através da síntese de PI(3)P e de PI(3,4)P₂. As PIKKs são proteínas-quinases que controlam o crescimento celular (mTORC1) ou monitorizam a integridade genómica (ATM, ATR, DNA-PK, e HSMG-1).

A importância destas enzimas em diversas fisiopatologias voltou a atenção para a família PI3-K como uma nova classe de alvos terapêuticos (Ward et al., 2003). Este interesse foi alimentado pela recente descoberta de que a p110 α é frequentemente mutada em tumores primários (Samuels et al., 2004) e pela constatação de que a fosfatase lipídica PTEN, um inibidor da sinalização de PI3-K, é um supressor de tumores

geralmente inativado (Cantley e Neel, 1999). Estão em curso esforços para desenvolver inibidores da PI3-K de pequenas moléculas para o tratamento de inflamação e doenças autoimunes (p110 δ , p110 γ e mTOR), trombose (p110 β), infecção viral (as PIKKs) e cancro (p110 α , mTOR, e outras). Foram relatados recentemente os primeiros inibidores seletivos destas enzimas (Camps et al., 2005; Condliffe et al., 2005; Jackson et al., 2005;. Knight et al., 2004;. Lau et al., 2005;. Sadhu et al., 2003).

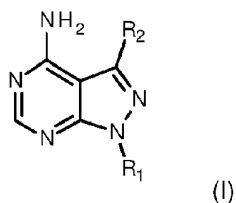
As proteínas-tirosina-quinases, proteínas-serina/treonina-quinases e as lipídios-quinases são classes distintas de proteínas que desempenham um papel fundamental na regulação e proliferação da atividade celular. As pequenas moléculas que inibem estas classes de proteínas têm o potencial para interromper as vias disfuncionais/patológicas em dois pontos distintos. Por exemplo, sabe-se que a sinalização por meio de recetores da tirosina-quinase está desregulada em vários tipos de cancro. Esta via de sinalização envolve proteínas a jusante, tais como a PI3-quinase. A sinalização através da proteína-serina/treonina-quinase mTOR (também conhecida como o alvo da rapamicina em mamíferos) regula o crescimento celular, a proliferação celular, a motilidade celular, a sobrevivência celular, a síntese de proteínas e a transcrição. A interrupção da via da mTOR é apontada como uma causa de vários processos de doenças humanas, especialmente vários tipos de cancro. Um inibidor que bloqueie a atividade da proteína-tirosina-quinase e PI3-quinase, da mTOR e PI3-quinase, ou da mTOR, proteína-tirosina-quinase e PI3-quinase, tem o potencial para interromper a sinalização aberrante em dois ou três níveis diferentes. A inibição dupla ou tripla por uma pequena molécula pode ampliar a potência do fármaco, aumentando o potencial terapêutico do composto.

A presente invenção satisfaz estas e outras necessidades da técnica, proporcionando uma nova classe de antagonistas da PI3-quinase, antagonistas da PI3-quinase e tirosina-quinase, antagonistas da PI3-quinase e mTOR, e antagonistas da PI3-quinase, mTOR e tirosina-quinase.

BREVE RESUMO DA INVENÇÃO

Foi constatado que certos compostos aqui descritos são antagonistas potentes da PI3-quinase, da PI3-quinase e tirosina-quinase, da PI3-quinase e mTOR, ou da PI3-quinase, mTOR e tirosina-quinase.

Por conseguinte, num aspeto, a presente invenção proporciona compostos da fórmula:



em que:

R^1 é hidrogénio, alquilo substituído com R^3 ou não substituído, heteroalquilo substituído com R^3 ou não substituído, cicloalquilo substituído com R^3 ou não substituído, heterocicloalquilo substituído com R^3 ou não substituído, ou heteroarilo substituído com R^3 ou não substituído;

R^2 é heteroarilo substituído com R^4 ;

R^3 é um halogéneo, $-CN$, $-OR^5$, $-S(O)_nR^6$, $-NR^7R^8$, $-C(O)R^9$, $=N-NH_2$, $-NR^{10}-C(O)R^{11}$, $-NR^{12}-C(O)-OR^{13}$, $-C(O)NR^{14}R^{15}$, $-NR^{16}S(O)_2R^{17}$, $-S(O)_2NR^{18}$, alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , heteroalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , arilo não substituído ou substituído com R^{19} , heteroarilo não substituído ou substituído com R^{19} , em que n é um número inteiro de 0 a 2;

R^4 é um halogéneo, $-CN$, $-OR^{20}$, ou $-NR^{22}R^{23}$;

R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} e R^{18} são independentemente hidrogénio, alquilo não substituído ou substituído com R^{35} , heteroalquilo não substituído ou

substituído com R^{35} , cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{35} , arilo não substituído ou substituído com R^{35} , ou heteroarilo não substituído ou substituído com R^{35} ;

R^{20} , R^{22} e R^{23} são independentemente hidrogénio, alquilo não substituído ou heteroalquilo não substituído;

R^{19} , R^{34} e R^{35} são independentemente hidrogénio, halogéneo, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído ou heteroarilo não substituído.

Descrevem-se novos antagonistas da quinase, consistindo de antagonistas que se ligam à cavidade de afinidade da PI3-quinase (por exemplo, um antagonista de pirazolopirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou um antagonista de pirrolpirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase). O antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase é um composto constituído por uma parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase. Os antagonistas de pirazolopirimidina que se ligam à cavidade de afinidade da PI3-quinase da presente invenção são compostos de pirazolopirimidina substituídos, constituídos por uma parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase. Do mesmo modo, os antagonistas de pirrolpirimidina que se ligam à cavidade de afinidade da PI3-quinase aqui descritos são compostos substituídos de pirrolpirimidina, constituídos por uma parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase.

São descritos também antagonistas da quinase da Fórmula (I) definida adiante.

Descrevem-se igualmente métodos para diminuir a atividade catalítica de uma PI3-quinase (por exemplo, de uma quinase p110 δ). O método inclui uma etapa em que a referida PI3-quinase é contatada com uma quantidade de atividade cada vez menor de um composto da presente invenção (ou seja, um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase, ou um antagonista de Fórmula I).

É também descrito um método de tratamento de um estado clínico mediado pela atividade da PI3-quinase, atividade da PI3-quinase e atividade da tirosina-quinase, atividade da PI3-quinase e atividade da mTOR, ou atividade da PI3-quinase, atividade da tirosina-quinase, e atividade da mTOR, num indivíduo com necessidade de tal tratamento. O método inclui a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da presente invenção (isto é, um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase, ou um antagonista de Fórmula I).

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 ilustra as estruturas de compostos representativos de onze quimiotipos de inibidores da PI3-K.

A Figura 2 ilustra estruturas de inibidores da PI3-K seletivos para isoformas. A. Estrutura do ATP no local ativo da p110 γ , destacando-se diferentes regiões da cavidade de afinidade do ATP. B. Um alinhamento de todas as estruturas conhecidas de co-cristais inibidores da PI3-K. Met 804 adota uma conformação em todas as estruturas, exceto em PIK-39. C. Estruturas ou modelos de inibidores da PI3-K seletivos para isoformas ligados a p110 γ . D. Estruturas ou modelos de inibidores multialvos da PI3-K ligados a p110 γ .

A Figura 3 ilustra a avaliação da seletividade e uma cavidade de afinidade da PI3-quinase. A. A estrutura do PIK-39 ligada a p110 γ sugere um modelo para a ligação de IC87114. PIK-293 e PIK-294 são análogos de pirazolopirimidina de IC87114. O PIK-294 projeta um m-fenol para a cavidade de afinidade, e este composto é mais potente relativamente à classe I das PI3-Ks. B. (Esquerda) Rácio de valores de CI_{50} entre mutantes e do tipo selvagem para inibidores da p110 δ e inibidores da p110 α /multialvos. (Centro) Curvas dose-resposta para a ligação de dois inibidores da p110 δ a p110 δ do tipo selvagem, de M752I e de M752V (Direita) Modelos sugerindo o impacto de mutações de M752I e de M752V em p110 δ , na ligação das diferentes classes de inibidores.

Figura 4. Estruturas de outros inibidores da PI3-quinase e de análogos inativos.

Figura 5. Valores de CI_{50} (μM) para determinados inibidores da PI3-K contra quinases lipídicas.

Figura 6. Inibição de proteínas-quinases por inibidores da PI3-K. Os valores representam a percentagem de atividade remanescente na presença de 10 μM de inibidor. Os valores são médias de medições em triplicado. Os valores de CI_{50} estão entre parênteses, quando adequado (μM).

A Figura 7 apresenta a sequência de uma quinase p110 δ humana.

A Figura 8 apresenta a sequência de uma quinase p110 γ humana.

A Figura 9 apresenta a sequência de uma quinase p110 α humana.

A Figura 10 apresenta a sequência de uma quinase p110 β humana.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

I. Definições

As abreviaturas aqui utilizadas têm o significado convencional utilizado em química e biologia.

Nos casos em que grupos substituintes são especificados pelas suas fórmulas químicas convencionais escritas da esquerda para a direita, são igualmente abrangidos os substituintes quimicamente idênticos que resultariam de escrever a estrutura da direita para a esquerda, por exemplo, $-CH_2O-$ é equivalente a $-OCH_2-$.

O termo "alquilo", por si só ou como parte de outro substituinte, significa, salvo indicação em contrário, uma cadeia linear (ou seja, não ramificada) ou ramificada, ou um radical hidrocarboneto cíclico, ou uma sua combinação, que

pode ser totalmente saturado, ou mono- ou polinsaturado, e pode incluir radicais bi- e multi-valentes, com o designado número de átomos de carbono (isto é, C₁-C₁₀ significa 1 a 10 átomos de carbono). Entre os exemplos de radicais hidrocarboneto saturados constam, mas não lhes estando limitados, grupos tais como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclo-hexilo, (ciclo-hexil)metilo, ciclopropilmetilo, homólogos e isómeros de, por exemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, e semelhantes. Um grupo alquilo insaturado é um que tem uma ou mais ligações duplas ou ligações triplas. Exemplos de grupos alquilo insaturados incluem, mas não lhes estando limitados, vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- e 3-propinilo, 3-butinilo, e os homólogos e isómeros superiores.

O termo "alquileno" por si próprio ou como parte de outro substituinte significa um radical bivalente derivado de um grupo alquilo, tal como exemplificado por, mas não limitado a $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$. Tipicamente, um grupo alquilo (ou alquileno) terá de 1 a 24 átomos de carbono, sendo os grupos com 10 ou menos átomos de carbono preferidos na presente invenção. Um "alquilo inferior" ou "alquileno inferior" é um alquilo de cadeia mais curta ou um grupo alquileno, tendo geralmente oito ou menos átomos de carbono.

O termo "heteroalquilo", por si só ou em combinação com outro termo, significa, a menos que indicado de outra forma, uma cadeia linear ou ramificada estável, ou radical hidrocarboneto cíclico, ou suas combinações, consistindo em pelo menos um átomo de carbono e pelo menos um heteroátomo selecionado do grupo composto por O, N, P, Si e S, e em que o azoto, fósforo e enxofre podem ser opcionalmente oxidados e o heteroátomo de azoto pode opcionalmente ser quaternizado. O(s) heteroátomo(s) O, N, P, S e Si podem estar em qualquer posição interna no grupo heteroalquilo ou na posição em que o grupo alquilo está ligado ao resto da molécula. Entre os exemplos constam, mas não lhes estando limitados, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2-$

CH=N-OCH₃, -CH=CH-N(CH₃)-CH₃, O-CH₃, -O-CH₂-CH₃, e -CN. Até dois ou três heteroátomos podem ser consecutivos, tal como, por exemplo, -CH₂-NH-OCH₃ e -CH₂-O-Si(CH₃)₃. Da mesma forma, o termo "heteroalquileno" por si próprio ou como parte de outro substituinte significa um radical bivalente derivado de heteroalquilo, tal como exemplificado por, mas não limitado a -CH₂-CH₂-S-CH₂-CH₂- e -CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-. Nos grupos heteroalquileno, os heteroátomos podem também ocupar qualquer um ou ambos os terminais da cadeia (por exemplo, alquilenooxo, alquilenodioxo, alquilenamino, alquilenodiamino, e semelhantes). Além disso, nos grupos de ligação alquileno e heteroalquileno, o sentido em que é descrita a fórmula do grupo de ligação não implica qualquer orientação do grupo ligante. Por exemplo, a fórmula -C(O)-OR' representa tanto -C(O)OR'- como -R'OC(O)-. Tal como referido atrás, os grupos heteroalquilo aqui utilizados incluem os grupos que estão ligados ao resto da molécula através de um heteroátomo, tal como -C(O)R', -C(O)NR', -NR'R'', -OR', -SR' e/ou -SO₂R'. Onde "heteroalquilo" é referido e seguido por menções a grupos heteroalquilo específicos, tais como -NR'R'' ou afins, deverá ser entendido que os termos heteroalquilo e -NR'R'' não são redundantes ou mutuamente exclusivos; é sim por razões de clareza que são referidos grupos heteroalquilo específicos. Assim, o termo "heteroalquilo" não deve ser aqui interpretado como excluindo grupos heteroalquilo específicos, tais como -NR'R'' ou afins.

Os termos "cicloalquilo" e "heterocicloalquilo", por si só ou em combinação com outros termos, representam, salvo indicação em contrário, versões cíclicas de "alquilo" e "heteroalquilo", respetivamente. Além disso, no caso do heterocicloalquilo, um heteroátomo pode ocupar a posição através da qual o heterociclo está ligado ao resto da molécula. Entre os exemplos de cicloalquilo constam, mas não lhes estando limitados, ciclopentilo, ciclo-hexilo, 1-ciclo-hexenilo, 3-ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, e semelhantes. Como exemplos de heterocicloalquilo podem referir-se, mas não lhes estando limitados, 1-(1,2,5,6-tetra-hidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, tetra-hidrofurano-2-ilo, tetra-hidrofurano-3-ilo, tetra-hidrotien-2-ilo, tetra-hidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo, e afins. Os termos

"cicloalquilenos" e "heterocicloalquilenos" referem-se aos derivados bivalentes de cicloalquilo e heterocicloalquilo, respetivamente.

Os termos "halo" ou "halogéneos," por si ou como parte de outro substituinte, significam, salvo indicação em contrário, um átomo de flúor, cloro, bromo, ou iodo. Adicionalmente, termos como "haloalquilo" devem incluir mono-haloalquilo e poli-haloalquilo. Por exemplo, o termo "haloalquilo(C₁-C₄)" deve incluir, mas não estar limitado a trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo e afins.

O termo "arilo" significa, a menos que indicado de outra forma, um substituinte de hidrocarboneto aromático polinsaturado, que pode consistir de um anel simples ou de anéis múltiplos (de preferência de 1 até 3 anéis) fundidos (por exemplo, naftilo) ou ligados covalentemente. O termo "heteroarilo" refere-se a grupos arilo (ou anéis) com um a quatro heteroátomos (em cada anel separado, no caso de múltiplos anéis), selecionados entre N, O e S, em que os átomos de azoto e enxofre estão opcionalmente oxidados e o(s) átomo(s) de azoto é opcionalmente quaternizado. Um grupo heteroarilo pode ser ligado ao resto da molécula através de um carbono ou heteroátomo. Como exemplos não limitativos de grupos arilo e heteroarilo podem referir-se fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-benzimidazolilo, 5-indolilo, 1-isoquinolilo, 6-isoquinolilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolilo, e 6-quinolilo. Assim, o termo "heteroarilo" inclui estruturas de anel fundidas, em que pelo menos um anel inclui no mínimo duas ligações duplas. Os substituintes de cada um dos sistemas de anel arilo e heteroarilo acima referidos são selecionados do grupo de substituintes aceitáveis descrito a seguir. Os termos "arileno" e "heteroarileno" referem-se a radicais bivalentes de arilo e

heteroarilo, respetivamente.

Para abreviar, o termo "arilo", quando usado em combinação com outros termos (por exemplo, ariloxo, ariltioxo, arilalquilo), inclui ambos os anéis arilo e heteroarilo tal como definidos atrás. Assim, o termo "arilalquilo" deve incluir os radicais em que um grupo arilo está ligado a um grupo alquilo (por exemplo, benzilo, fenetilo, piridilmetilo e semelhantes), incluindo os grupos alquilo em que um átomo de carbono (por exemplo, um grupo metileno) foi substituído por, por exemplo, um átomo de oxigénio (por exemplo, fenoximetilo, 2-piridiloximetilo, 3-(1-naftiloxi)propilo, e afins). No entanto, o termo "haloarilo", tal como aqui utilizado, deve abranger apenas os grupos arilo substituídos com um ou mais halogéneos.

Sempre que um heteroalquilo, heterocicloalquilo, ou heteroarilo inclui um determinado número de membros (por exemplo, de "3 a 7 membros"), o termo "membro" refere-se a um carbono ou heteroátomo.

O termo "oxo", tal como aqui utilizado, significa um átomo de oxigénio ligado por uma ligação dupla a um átomo de carbono.

Cada um dos termos anteriores (por exemplo, "alquilo", "heteroalquilo", "cicloalquilo, e "heterocicloalquilo", "arilo", "heteroarilo", bem como os seus derivados radicais bivalentes) incluem ambas as formas, substituída e não substituída, do referido radical. Os substituintes preferidos para cada tipo de radical são dados a seguir.

Os substituintes de radicais monovalentes e bivalentes derivados de grupos alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo (incluindo os grupos frequentemente referidos como alquilenos, alcenilos, heteroalquilenos, heteroalcenilos, alcinilos, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalcenilo, e heterocicloalcenilo) podem ser um ou mais de uma variedade de grupos selecionados entre, mas não lhes estando limitados, $-OR'$, $=O$, $=NR'$, $=N-OR'$, $-NR'R''$, $-SR'$, $-SiR'R''R'''$, $-OC(O)R'$, $-C(O)R'$, $-CO_2R'$, $-C(O)NR'R''$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$,

$-NR''C(O)OR'$, $-NR-C(NR'R'')=NR'''$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$,
 $-S(O)_2NR'R''$, $-NRSO_2R'$, $-CN$ e $-NO_2$, num número entre zero e
 $(2m' + 1)$, em que m' é o número total de átomos de carbono
 num tal radical. R' , R'' , R''' e R'''' referem-se cada um,
 preferivelmente de forma independente, a hidrogénio,
 heteroalquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo
 substituído ou não substituído, heterocicloalquilo
 substituído ou não substituído, arilo substituído ou não
 substituído (por exemplo, arilo substituído com 1 a 3
 halogéneos), grupos alquilo, alcoxi, tioalcoxi ou arilalquilo
 substituídos ou não substituídos. Tal como aqui empregue, um
 grupo "alcoxi" é um grupo alquilo ligado ao resto da molécula
 através de um radical de oxigénio bivalente. Quando um
 composto da invenção inclui mais do que um grupo R, cada um
 dos grupos R é independentemente selecionado, assim como cada
 um dos grupos R' , R'' , R''' e R'''' , quando mais do que um destes
 grupos está presente. Quando R' e R'' estão ligados ao mesmo
 átomo de azoto, estes podem ser combinados com o átomo de
 azoto para formar um grupo de 4, 5, 6 ou 7 membros. Por
 exemplo, $-NR'R''$ deve incluir, mas não lhes estando limitados,
 1-pirrolidinilo e 4-morfolinilo. A partir do que foi atrás
 referido sobre os substituintes, um perito na especialidade
 entenderá que o termo "alquilo" deve incluir grupos tal como
 átomos de carbono ligados a grupos diferentes do hidrogénio,
 tais como grupos haloalquilo (por exemplo, grupos $-CF_3$ e
 $-CH_2CF_3$) e acilo (por exemplo, $-C(O)CH_3$, $-C(O)CF_3$,
 $-C(O)CH_2OCH_3$, e afins).

De forma semelhante aos substituintes descritos para os
 radicais alquilo anteriores, os substituintes
 exemplificativos para os grupos arilo e heteroarilo (bem como
 os seus derivados bivalentes) são variados e são selecionados
 de entre, por exemplo: halogéneos, $-OR'$, $-NR'R''$, $-SR'$,
 $-halogéneo$, $-SiR'R''R'''$, $-OC(O)R'$, $-C(O)R'$, $-CO_2R'$,
 $-C(O)NR'R''$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$,
 $-NR''C(O)OR$, $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$, $-NR-C(NR'R'')=NR'''$,
 $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NRSO_2R'$, $-CN$ e NO_2 , $-R'$, $-N_3$,
 $-CH(Ph)_2$, fluoroalcoxo (C_1-C_4) e fluoroalquilo (C_1-C_4), num
 número entre zero e o número total de valências não
 preenchidas no sistema de anel aromático; e em que R' , R'' ,
 R''' e R'''' são selecionados, de preferência independentemente,
 entre hidrogénio, alquilo substituído ou não substituído,

heteroalquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído e heteroarilo substituído ou não substituído. Quando um composto da invenção inclui mais do que um grupo R, cada um dos grupos R é independentemente selecionado, assim como cada um dos grupos R', R'', R''' e R'''' quando mais do que um destes grupos está presente.

Dois dos substituintes em átomos adjacentes do anel arilo ou heteroarilo podem opcionalmente formar um anel da fórmula $-T-C(O)-(CRR')_q-U-$, em que T e U são independentemente -NR-, -O-, -CRR'- ou uma ligação simples, e q é um número inteiro de 0 a 3. Alternativamente, dois dos substituintes em átomos adjacentes do anel arilo ou heteroarilo podem ser opcionalmente substituídos com um substituinte da fórmula $-A-(CH_2)_r-B-$, em que A e B são independentemente, -CRR'-, -O-, -NR-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂-NR' ou uma ligação simples e r é um número inteiro de 1 a 4. Uma das ligações simples do novo anel assim formado pode ser opcionalmente substituída por uma ligação dupla. Alternativamente, dois dos substituintes em átomos adjacentes do anel arilo ou heteroarilo podem ser opcionalmente substituídos com um substituinte da fórmula $-(CRR')_s-X'-(C''R''')_d-$, em que s e d são independentemente números inteiros de 0 a 3 e X' é -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, ou -S(O)₂NR'-. Os substituintes R, R', R'' e R''' são de preferência selecionados independentemente entre hidrogénio, alquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído, e heteroarilo substituído ou não substituído.

Tal como aqui empregue, o termo "heteroátomo" ou "heteroátomo de anel" inclui oxigénio (O), azoto (N), enxofre (S), fósforo (P) e silício (Si).

Um "aminoalquilo" tal como aqui utilizado refere-se a um grupo amino ligado covalentemente a um ligante de alquileno. O grupo amino é -NR'R'', onde R' e R'' são tipicamente selecionados entre hidrogénio, alquilo substituído ou não substituído, heteroalquilo substituído ou não substituído,

cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído, heteroarilo substituído ou não substituído.

Um "grupo substituinte", como aqui empregue, significa um grupo selecionado de entre os seguintes radicais:

(A) (A) -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, oxo, halogéneos, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído, heteroarilo não substituído, e

(B) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo e heteroarilo, substituído com pelo menos um substituinte selecionado entre:

(i) oxo, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, halogéneos, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído, heteroarilo não substituído, e

(ii) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo e heteroarilo, substituído com pelo menos um substituinte selecionado de entre:

(a) oxo, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, halogéneos, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído, heteroarilo não substituído, e

(b) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, ou heteroarilo, substituído com pelo menos um substituinte selecionado de entre oxo, -OH, NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, halogénios, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído e heteroarilo não substituído.

Um "substituinte de tamanho limitado" ou "grupo substituinte de tamanho limitado", tal como aqui utilizado, significa um grupo selecionado de entre todos os substituintes descritos atrás para um "grupo substituinte," em que cada alquilo substituído ou não substituído é um alquilo C_1-C_{20} substituído ou não substituído, cada heteroalquilo substituído ou não substituído é um heteroalquilo de 2 a 20 membros substituído ou não substituído, cada cicloalquilo substituído ou não substituído é um cicloalquilo C_4-C_8 substituído ou não substituído, e cada heterocicloalquilo substituído ou não substituído é um heterocicloalquilo de 4 a 8 membros, substituído ou não substituído.

Um "substituinte inferior" ou "grupo substituinte inferior", tal como aqui utilizado, significa um grupo selecionado de entre todos os substituintes descritos atrás para um "grupo substituinte," em que cada alquilo substituído ou não substituído é um alquilo C_1-C_8 substituído ou não substituído, cada heteroalquilo substituído ou não substituído é um heteroalquilo de 2 a 8 membros substituído ou não substituído, cada cicloalquilo substituído ou não substituído é um cicloalquilo C_5-C_7 substituído ou não substituído, e cada heterocicloalquilo substituído ou não substituído é um heterocicloalquilo de 5 a 7 membros substituído ou não substituído.

Os compostos aqui descritos podem existir como sais. Exemplos de formas de sais aplicáveis incluem cloridratos, bromidratos, sulfatos, metanossulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartaratos por exemplo, ((+)-tartaratos, (-)-tartaratos ou suas misturas, incluindo misturas racêmicas, succinatos, benzoatos e sais com aminoácidos, como ácido glutâmico. Estes sais podem ser preparados por métodos conhecidos pelos peritos na especialidade. Também estão incluídos os sais de adição de bases, tais como sais de sódio, potássio, cálcio, amónio, amina orgânica, magnésio, ou um sal semelhante. Quando os compostos contêm funcionalidades relativamente básicas, os sais de adição de ácidos podem ser obtidos contatando a forma neutra desses compostos com uma quantidade suficiente do ácido desejado, quer puro ou num solvente inerte adequado.

Exemplos de sais de adição de ácidos aceitáveis incluem os que derivam de ácidos inorgânicos, como os ácidos clorídrico, bromídrico, nítrico, carbônico, mono-hidrogenocarbônico, fosfórico, mono-hidrogenofosfórico, di-hidrogenofosfórico, sulfúrico, mono-hidrogenossulfúrico, iodídrico ou ácidos fosforosos e semelhantes, bem como os sais derivados de ácidos orgânicos como acético, propiônico, isobutírico, maleico, malônico, benzóico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, benzenossulfônico, p-tolil-sulfônico, cítrico, tartárico, metanossulfônico, e outros semelhantes. Também estão incluídos os sais de aminoácidos, tais como arginato e semelhantes, e os sais de ácidos orgânicos, como os ácidos glucorônico ou galatunórico e semelhantes. Certos compostos aqui descritos contêm funcionalidades básicas e ácidas que permitem a conversão dos compostos quer em sais de adição de bases ou ácidos.

As formas neutras dos compostos são preferivelmente regeneradas por contato do sal com uma base ou ácido e separação do composto inicial de um modo convencional. A forma mãe do composto difere em certas propriedades físicas das várias formas de sal, tal como a solubilidade em solventes polares.

Certos compostos aqui descritos podem existir em formas não solvatadas, bem como em formas solvatadas, incluindo formas hidratadas. Em geral, as formas solvatadas são equivalentes às formas não solvatadas e estão incluídas no âmbito da presente invenção. Certos compostos podem existir em múltiplas formas cristalinas ou amorfas. Em geral, todas as formas físicas são equivalentes.

Certos compostos aqui descritos possuem átomos de carbono assimétricos (centros ópticos ou quirais) ou ligações duplas; enantiómeros, racematos, diastereómeros, tautómeros, isómeros geométricos, formas estereoisoméricas que, em termos de estereoquímica absoluta, podem ser definidas como (R)- ou (S)- ou como (D)- ou (L)- para os aminoácidos. Os compostos aqui descritos não incluem os que se sabem ser demasiado instáveis para sintetizar e/ou isolar. Os compostos podem estar sob as formas racêmica e opticamente pura. Os isómeros opticamente ativos (R)- e (S)- ou (D)- e (L)- podem ser

preparados usando sínteses quirais ou reagentes quirais, ou podem ser resolvidos por técnicas convencionais. Quando os compostos aqui descritos contêm ligações olefínicas ou outros centros de assimetria geométrica, e a menos que especificado de outro modo, pretende-se que os compostos incluam ambos os isómeros geométricos E e Z.

O termo "tautómero" como aqui utilizado refere-se a um de dois ou mais isómeros estruturais que existem em equilíbrio e que são facilmente convertidos de uma para outra forma isomérica.

Será evidente para um perito na especialidade que certos compostos aqui descritos podem existir em formas tautoméricas.

A menos que indicado de outra forma, as estruturas aqui representadas incluem também todas as estruturas estereoquímicas, isto é, as configurações R e S, para cada centro assimétrico. Portanto, os isómeros estereoquímicos individuais bem como as misturas enantioméricas e diastereoméricas dos presentes compostos estão dentro do âmbito da invenção.

A menos que indicado de outra forma, as estruturas aqui representadas devem também incluir compostos que diferem apenas na presença de um ou mais átomos isotopicamente enriquecidos. Como exemplos podem referir-se compostos que possuem as presentes estruturas excetuando um hidrogénio substituído por deutério ou trítio, ou um carbono substituído por carbono enriquecido com ^{13}C ou ^{14}C .

Os compostos aqui descritos também podem conter proporções não naturais de isótopos atômicos em um ou mais dos átomos que os constituem. Por exemplo, os compostos podem ser radiomarcados com isótopos radioativos, tais como, por exemplo, trítio (^3H), iodo-125 (^{125}I) ou carbono-14 (^{14}C).

O termo "sais farmacêuticamente aceitáveis" inclui sais dos compostos ativos que são preparados com ácidos ou bases relativamente não tóxicos, dependendo das específicas moléculas substituintes encontradas nos compostos aqui

descritos. Quando os compostos da presente invenção contêm funcionalidades relativamente acídicas, os sais de adição de bases podem ser obtidos contatando a forma neutra desses compostos com uma quantidade suficiente da base desejada, quer pura ou num solvente inerte adequado. Exemplos de sais de adição de bases farmacêuticamente aceitáveis incluem sais de sódio, potássio, cálcio, amónio, amina orgânica, ou magnésio, ou um sal semelhante. Quando os compostos contêm funcionalidades relativamente básicas, os sais de adição de ácido podem ser obtidos fazendo contatar a forma neutra de tais compostos com uma quantidade suficiente do ácido desejado, quer puro ou num solvente inerte adequado. Exemplos de sais de adição de ácido farmacêuticamente aceitáveis incluem os derivados de ácidos inorgânicos como o ácido clorídrico, bromídrico, nítrico, carbónico, mono-hidrogenocarbónico, fosfórico, mono-hidrogenofosfórico, di-hidrogenofosfórico, sulfúrico, mono-hidrogenossulfúrico, iodídrico ou ácidos fosforosos e semelhantes, bem como os sais derivados de ácidos orgânicos relativamente não tóxicos como acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzóico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, benzenossulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanossulfónico, e outros semelhantes. Também estão incluídos os sais de aminoácidos tais como arginato e semelhantes, e os sais de ácidos orgânicos como os ácidos glucorónico ou galatunórico e semelhantes (ver, por exemplo, Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Certos compostos contêm funcionalidades básicas e ácidas que permitem a conversão dos compostos quer em sais de adição de bases ou de adição de ácidos.

Para além das formas de sal, descrevem-se aqui compostos sob a forma de pró-fármaco. Os pró-fármacos dos compostos aqui descritos são os compostos que sofrem facilmente alterações químicas sob condições fisiológicas, proporcionando os compostos da presente invenção. Além disso, os pró-fármacos podem ser convertidos nos compostos da presente invenção por métodos químicos ou bioquímicos num ambiente *ex vivo*. Por exemplo, os pró-fármacos podem ser lentamente convertidos nos compostos da presente invenção quando colocados no reservatório de um sistema transdérmico

com uma enzima ou um reagente químico adequados.

Os termos "um" ou "uma" quando utilizados em referência a um grupo de substituintes significam pelo menos um. Por exemplo, quando um composto está substituído com "um" alquilo ou arilo, o composto está opcionalmente substituído com pelo menos um alquilo e/ou pelo menos um arilo. Além disso, quando uma sua parte está substituída com um substituinte R, o grupo pode ser referido como "substituído com R". Sempre que uma sua parte está substituída com R, a parte está substituída com pelo menos um substituinte R e cada um dos substituintes R é opcionalmente diferente.

A descrição dos compostos da presente invenção está limitada pelos princípios da ligação química conhecidos pelos peritos na especialidade. Consequentemente, sempre que um grupo pode ser substituído com um ou mais de uma série de substituintes, tais substituições sucedem de acordo com os princípios de ligação química e originam compostos que não são inerentemente instáveis, nem serão conhecidos por uma pessoa competente na especialidade como sendo provavelmente instáveis sob condições ambientes, como por exemplo, sob condições fisiológicas aquosas, neutras e outras conhecidas. Por exemplo, um heterocicloalquilo ou heteroarilo está ligado ao resto da molécula através de um heteroátomo do anel em conformidade com os princípios de ligação química conhecidos pelos peritos na especialidade, evitando assim compostos inerentemente instáveis.

Os termos "tratar" ou "tratamento" referem-se a quaisquer indícios de sucesso no tratamento ou melhoria de uma lesão, patologia ou estado físico, incluindo qualquer parâmetro objetivo ou subjetivo, como abatimento; remissão; diminuição de sintomas ou tornar a lesão, patologia ou estado físico mais tolerável para o paciente; desaceleração no ritmo de degeneração ou declínio; tornar o ponto final de degeneração menos debilitante; melhorar o bem-estar físico e mental do paciente. O tratamento ou melhoria dos sintomas podem ser baseados em parâmetros objetivos ou subjetivos, incluindo os resultados de um exame físico, exames neuropsiquiátricos, e/ou uma avaliação psiquiátrica. Por exemplo, os métodos aqui apresentados tratam o cancro com

êxito, diminuindo a incidência de cancro e/ou causando a sua remissão.

Uma "quantidade eficaz" é a quantidade suficiente que contribui para o tratamento, prevenção, ou redução de um sintoma ou sintomas de uma doença. Uma "quantidade eficaz" também pode ser referida como uma "quantidade terapeuticamente eficaz". Uma "redução" de um sintoma ou sintomas (e seus equivalentes gramaticais desta fase) significa diminuir a gravidade ou a frequência do(s) sintoma(s), ou eliminação de um(s) sintoma(s). Uma "quantidade profilaticamente eficaz" de um fármaco é a quantidade de um fármaco que, quando administrada a um indivíduo, tem o efeito profilático pretendido, por exemplo, prevenir ou retardar o aparecimento (ou recorrência) de uma doença, ou reduzir a probabilidade do aparecimento (ou recorrência) da doença ou dos seus sintomas. O efeito profilático completo não ocorre necessariamente por administração de uma dose, podendo ocorrer apenas após a administração de uma série de doses. Assim, uma quantidade profilaticamente eficaz pode ser administrada em uma ou mais administrações. Uma "quantidade que reduz a atividade" tal como é aqui utilizado refere-se à quantidade de antagonista necessária para diminuir a atividade de uma enzima em comparação com a ausência do antagonista. Uma "quantidade supressora da função", como aqui utilizado, refere-se à quantidade de antagonista necessária para suspender a função de um osteoclasto ou de um leucócito em comparação com a ausência do antagonista.

Tal como aqui empregue, o "antagonista" ou "o composto da presente invenção" refere-se a um composto de Fórmula (I) tal como definido na reivindicação 1. Um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase (por exemplo, um antagonista de pirazolopirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou um antagonista de pirrolpirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase) é também aqui descrito. Um "composto de Fórmula (I)" pode incluir os compostos das Fórmulas (I)-(X), como descrito adiante.

II. Antagonistas da quinase

Descrevem-se novos antagonistas da quinase. Os antagonistas da quinase podem ser um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase (por exemplo, um antagonista de pirazolopirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou um antagonista de pirrolpirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase) ou um composto de Fórmula (I). Os antagonistas que se ligam à cavidade de afinidade da PI3-quinase da presente invenção são compostos que contêm uma parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase. Os antagonistas de pirazolopirimidina que se ligam à cavidade de afinidade da PI3-quinase da presente invenção são compostos de pirazolopirimidina substituídos, constituídos por uma parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase. Descrevem-se igualmente antagonistas de pirazolopirimidina que se ligam à cavidade de afinidade da PI3-quinase, os quais são compostos de pirrolpirimidina substituídos constituídos por uma parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase.

A parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase é um substituinte que, ao entrar em contato com as quinases p110 α , p 110 β , p110 γ , ou p 110 δ , preenche o espaço no interior da cavidade de afinidade da respetiva PI3-quinase. Em algumas concretizações, a parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase desloca pelo menos uma molécula de água no interior da cavidade de afinidade da PI3-quinase. A parte que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase pode também interagir com um ou mais aminoácidos que constituem a cavidade de afinidade da PI3-quinase. Uma descrição da cavidade de afinidade da PI3-quinase e os métodos para determinar se um substituinte preenche o espaço no interior da cavidade de afinidade da PI3-quinase são indicados a seguir.

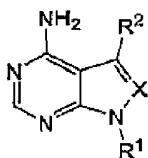
Um antagonista da quinase aqui descrito pode ter a fórmula geral:



(I).

Na Fórmula (I), R^1 é hidrogénio, um halogéneo, alquilo substituído ou não substituído, heteroalquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído, ou heteroarilo substituído ou não substituído. R^2 é um halogéneo, alquilo substituído ou não substituído, heteroalquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído, ou heteroarilo substituído ou não substituído. X representa =N- ou =C(H)-. R^{36} é um halogéneo, $-NR^{37}R^{38}$, alquilo substituído ou não substituído, heteroalquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído, ou heteroarilo substituído ou não substituído. R^{37} e R^{38} são independentemente hidrogénio, alquilo substituído ou não substituído, heteroalquilo substituído ou não substituído, cicloalquilo substituído ou não substituído, heterocicloalquilo substituído ou não substituído, arilo substituído ou não substituído, ou heteroarilo substituído ou não substituído. R^{37} e R^{38} podem ser independentemente hidrogénio, ou alquilo não substituído. R^2 pode ser uma molécula que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase.

R^{36} pode ser $-NH_2$. Assim, o antagonista da quinase pode ter a fórmula:



(II).

R^1 , R^2 e X podem ser como definidos anteriormente na Fórmula (I). Por exemplo, X pode ser =N-.

Nas Fórmulas (I) e (II), R^1 pode ser hidrogénio, alquilo não substituído ou substituído com R^3 , heteroalquilo não substituído ou substituído com R^3 , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^3 , heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^3 , arilo não substituído ou substituído com R^3 , ou heteroarilo não substituído ou substituído com R^3 . R^2 é um halogéneo, arilo substituído com R^4 , ou heteroarilo substituído ou não substituído;

R^3 pode ser um halogéneo, $-CN$, $-OR^5$, $-S(O)_nR^6$, $-NR^7R^8$, $-C(O)R^9$, $=N-NH_2$, $-NR^{10}-C(O)R^{11}$, $-NR^{12}-C(O)-OR^{13}$, $-C(O)NR^{14}R^{15}$, $-NR^{16}S(O)_2R^{17}$, $-S(O)_2NR^{18}$, alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , heteroalquilo substituído ou não substituído com R^{19} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , arilo não substituído ou substituído com R^{19} , ou heteroarilo não substituído ou substituído com R^{19} . O símbolo n representa um número inteiro de 0 a 2.

R^4 pode ser um halogéneo, $-CN$, $-OR^{20}$, $-S(O)_qR^{21}$, $-NR^{22}R^{23}$, $-C(O)R^{24}$, $=N-NH_2$, $-NR^{25}-C(O)R^{26}$, $-NR^{27}-C(O)-OR^{28}$, $-C(O)NR^{29}R^{30}$, $-NR^{31}S(O)_2R^{32}$, $-S(O)_2NR^{33}$, alquilo não substituído ou substituído com R^{34} , heteroalquilo substituído ou não substituído com R^{34} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{34} , heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{34} , arilo não substituído ou substituído com R^{34} , ou heteroarilo não substituído ou substituído com R^{34} . O símbolo q representa um número inteiro de 0 a 2.

R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} , R^{23} , R^{24} , R^{25} , R^{26} , R^{27} , R^{28} , R^{29} , R^{30} , R^{31} , R^{32} e R^{33} podem ser independentemente hidrogénio, alquilo não substituído ou substituído com R^{35} , heteroalquilo não substituído ou substituído com R^{35} , cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{35} , arilo não substituído ou substituído com R^{35} , ou heteroarilo não substituído ou substituído com R^{35} . R^{19} , R^{34} e R^{35} podem ser independentemente hidrogénio, um halogéneo, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído, ou heteroarilo não substituído.

$R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{20}, R^{21}, R^{22}, R^{23}, R^{24}, R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}$ e R^{33} podem ser independentemente hidrogénio, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído, ou heteroarilo não substituído. $R^{20}, R^{21}, R^{22}, R^{23}, R^{24}, R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}$ e R^{33} podem ser independentemente hidrogénio, alquilo não substituído, alquilo não substituído ou heteroalquilo não substituído.

R^1 pode ser alquilo não substituído ou substituído com R^3 , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^3 , arilo não substituído ou substituído com R^3 . R^1 pode também ser alquilo não substituído ou substituído com R^3 , ou cicloalquilo não substituído ou substituído com R^3 . R^1 pode ser alquilo C_1-C_4 não substituído ou substituído com R^3 , cicloalquilo C_3-C_6 não substituído ou substituído com R^3 . R^1 pode ser alquilo C_1-C_4 não substituído ou substituído ou ciclopentilo não substituído ou substituído com R^3 . R^1 também pode ser metilo ou alquilo C_3-C_6 ramificado não substituído (por exemplo isopropilo, isobutilo, etc.)

R^3 pode ser alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , ou arilo não substituído ou substituído com R^{19} . R^3 pode também ser alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , ou arilo não substituído ou substituído com R^{19} . R^3 pode também ser alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , ou cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} .

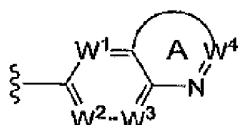
R^{19} pode ser alquilo não substituído ou cicloalquilo não substituído. R^{19} pode ser alquilo C_1-C_4 não substituído ou ciclopentilo não substituído.

R^2 pode ser arilo substituído com R^4 , ou heteroarilo substituído ou não substituído com R^4 . R^2 pode ser fenilo substituído com R^4 , naftilo não substituído ou substituído com R^4 , piridinilo não substituído ou substituído com R^4 , pirimidinilo não substituído ou substituído com R^4 , tiofenilo não substituído ou substituído com R^4 , furanilo não

substituído ou substituído com R^4 , indolilo não substituído ou substituído com R^4 , benzoxadiazolilo não substituído ou substituído com R^4 , benzodioxolilo não substituído ou substituído com R^4 , benzodioxanilo não substituído ou substituído com R^4 , tianaftanilo não substituído ou substituído com R^4 , pirrolopiridinilo não substituído ou substituído com R^4 , indazolilo não substituído ou substituído com R^4 , tetra-hidronaftalenilo não substituído ou substituído com R^4 , quinolinilo não substituído ou substituído com R^4 , quinoxalinilo não substituído ou substituído com R^4 , piridopirazinilo não substituído ou substituído com R^4 , quinazolinonilo não substituído ou substituído com R^4 , cromenonilo não substituído ou não substituído com R^4 , benzoisoxazolilo não substituído ou substituído com R^4 , imidazopiridinilo não substituído ou substituído com R^4 , benzofuranilo não substituído ou substituído com R^4 , di-hidrobenzofuranilo não substituído ou substituído com R^4 , di-hidrobenzodioxinilo substituído ou não substituído com R^4 , benzoimidazonilo substituído ou não substituído com R^4 , ou benzotiofenilo substituído ou não substituído com R^4 .

R² pode ser fenilo substituído com R⁴, pirrolepiridinilo não substituído ou substituído com R⁴, quinolinilo não substituído ou substituído com R⁴, indazolilo não substituído ou substituído com R⁴, quinolinilindolilo não substituído ou substituído com R⁴, naftilo não substituído ou substituído com R⁴. R⁴ pode ser um halogéneo, -CN, -OR²⁰, ou -NR²²R²³. R⁴ também pode ser simplesmente um halogéneo ou -OR²⁰.

R^2 pode ter a fórmula:



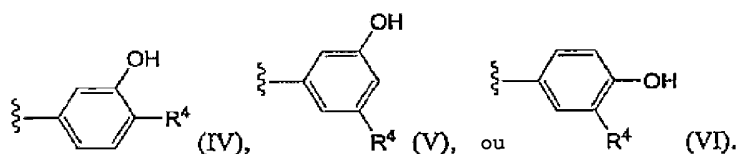
(III).

Na Fórmula (III), W^1 , W^2 , W^3 , e W^4 são independentemente =CH-, =CR⁴-, ou =N-. Cada R⁴ é como definido atrás, na descrição das Fórmulas (I) e (II). O anel A é um heteroarilo substituído ou não substituído ou um heterocicloalquilo substituído ou não substituído. O anel A pode ser um heterocicloalquilo de 6 a 7 membros, ou um heteroarilo de 6 a

7 membros. Assim, o anel A pode ser um anel de 6 ou 7 membros parcial ou totalmente insaturado.

R^{20} pode ser hidrogénio ou alquilo C_1-C_{10} não substituído. R^{20} pode ser hidrogénio ou alquilo C_1-C_4 não substituído. R^{20} pode também simplesmente ser hidrogénio ou metilo.

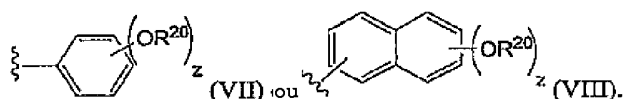
R^2 pode ter a fórmula:



Nas Fórmulas (IV), (V) e (VI), R^4 está ausente, ou é um halogéneo, alquilo C_1-C_4 não substituído ou $-OR^{20}$. O halogéneo pode ser F, Cl ou Br. Em algumas concretizações, o halogéneo é F ou Cl. Em outras formas de realização, o halogéneo é F. R^{20} pode ser hidrogénio ou alquilo C_1-C_4 não substituído.

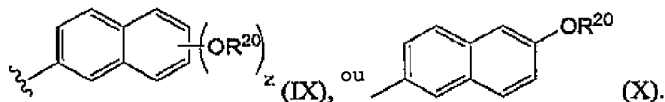
R^2 pode ser 6-hidroxinaftilo, 7-azaindol não substituído, indolilo não substituído, indazolilo não substituído ou quinolinilo não substituído.

R^2 pode ter a fórmula:



Nas Fórmulas (VII) e (VIII), R^{20} é como definido atrás. Note-se que de acordo com a descrição anterior de R^{20} , cada R^{20} é opcionalmente diferente. O símbolo z é um número inteiro de 1 a 5 (por exemplo, 1 ou 2). R^{20} pode ser hidrogénio ou alquilo C_1-C_{10} não substituído (por exemplo, alquilo C_1-C_5 , tal como metilo ou etilo).

R^2 pode ter a fórmula:



Nas fórmulas gerais (IX) e (X), R^{20} é como definido anteriormente, por exemplo, na descrição das Fórmulas (I), (II), (VI) e (VII) atrás.

Cada grupo substituído descrito atrás para os compostos da invenção é substituído com pelo menos um grupo substituinte. Mais especificamente, cada alquilo substituído, heteroalquilo substituído, cicloalquilo substituído, heterocicloalquilo substituído, arilo substituído, heteroarilo substituído, arilalquilo (C_1-C_6) e heteroarilalquilo (C_1-C_6) descrito atrás pode ser substituído com pelo menos um grupo substituinte. Opcionalmente, pelo menos um ou todos estes grupos estão substituídos com pelo menos um grupo substituinte de tamanho limitado. Alternativamente, pelo menos um ou todos estes grupos estão substituídos com pelo menos um grupo substituinte inferior.

Nos compostos atrás descritos, cada alquilo substituído ou não substituído é um alquilo C_1-C_{20} substituído ou não substituído, cada heteroalquilo substituído ou não substituído é um heteroalquilo de 2 a 20 membros substituído ou não substituído, cada cicloalquilo substituído ou não substituído é um cicloalquilo C_4-C_8 substituído ou não substituído, cada heterocicloalquilo substituído ou não substituído é um heterocicloalquilo de 4 a 8 membros substituído ou não substituído.

Alternativamente, cada grupo alquilo substituído ou não substituído é um alquilo C_1-C_8 substituído ou não substituído, cada heteroalquilo substituído ou não substituído é um heteroalquilo de 2 a 8 membros substituído ou não substituído, cada cicloalquilo substituído ou não substituído é um cicloalquilo C_5-C_7 substituído ou não substituído e cada heterocicloalquilo substituído ou não substituído é um heterocicloalquilo de 5 a 7 membros substituído ou não substituído.

Os compostos da Fórmula (I) como aqui descritos incluem qualquer um ou todos os compostos listados na Tabela 1 adiante.

III. A cavidade de afinidade da PI3-Quinase

O termo "cavidade de afinidade da PI3-quinase" conforme aqui empregue refere-se a uma cavidade no interior de p110 α , p100 β , p110 γ , e p110 δ , correspondente à região levemente sombreada que se mostra nas Figuras 2A, 2C, 2D e identificada como "Cavidade de afinidade". As Figuras 2A, 2C e 2D ilustram um modelo de computador da estrutura cristalina de p110 γ . Na p110 γ , a superfície da cavidade de afinidade da PI3-quinase está ligada, pelo menos em parte, pela cadeia lateral de K833, D964, I879, e D841 (numeração da p110 γ , ver Figura 8). A superfície da cavidade correspondente na p110 δ está ligada, pelo menos em parte, pela cadeia lateral de K779, D911, I825, e D787 (numeração da p110 δ , ver Figura 7). A cavidade correspondente no interior da p110 α está ligada, pelo menos em parte, pelas cadeias laterais de K802, D933, I848 e D810 (numeração da p110 α , ver Figura 9). A cavidade correspondente no interior da p110 β está ligada, pelo menos em parte, pelas cadeias laterais de K805, D937, I851 e D813 (numeração da p110 β , ver Figura 10). A cavidade de afinidade da PI3-quinase não é acedida pelo ATP.

A cavidade de afinidade da PI3-quinase da p110 δ pode ser aqui referida como a cavidade de afinidade p110 δ . Do mesmo modo, a cavidade de afinidade da PI3-quinase da p110 γ pode ser aqui referida como a cavidade de afinidade p110 γ . A cavidade de afinidade da PI3-quinase inclui lisina 779, a qual, de acordo com modelos informáticos, forma uma ponte de hidrogénio com o azoto da piridina do PIK-90 e com o oxigénio do fenol da PI 103 (Figura 2D), sendo ambos inibidores da p110 δ . Com base nestes resultados de modelação informática, foi concebido um novo antagonista baseado na estrutura química de PKI-39 e IC87114, como se descreve a seguir em pormenor.

Como se mostra na Figura 2C, o PIK-39 não dispõe de uma molécula para a cavidade de ligação da PI3-quinase. Como se mostra na Figura 3A, IC87114 mantém contato com E880 e V882 na região de ligação do ATP de p110 δ , mas também lhe falta uma molécula para a cavidade de ligação da PI3-quinase. Ao inserir m-fenol (uma molécula para a cavidade de ligação de PI3-quinase) em C3 da pirazolopirimidina de IC87114, a

cavidade de afinidade da PI3-quinase é acedida (FIG 3A), resultando num aumento de 60 vezes na potência inibidora de p110 δ .

Como se descreve atrás, uma molécula para a cavidade de afinidade da PI3-quinase é um substituinte que, ao entrar em contato com p110 α , p100 β , p110 γ , ou p110 δ , preenche o espaço dentro da cavidade de afinidade da respetiva PI3-quinase. Por exemplo, uma molécula para a cavidade de afinidade da PI3-quinase é um substituinte que, ao entrar em contato com p110 δ , preenche o espaço dentro da cavidade de afinidade da p110 δ . Do mesmo modo, uma molécula para a cavidade de afinidade da p110 α é um substituinte que, ao entrar em contato com p110 α , preenche o espaço dentro da cavidade de afinidade da p110 α .

A molécula destinada à cavidade de afinidade da PI3-quinase pode além disso interagir (por exemplo, uma ligação) com um aminoácido constituinte da cavidade de afinidade da PI3-quinase. Por exemplo, a interação pode ser do tipo de pontes de hidrogénio, forças de van der Waals, ligação iónica, ligação covalente (por exemplo, uma ligação dissulfídica) ou hidrófoba.

IV. Determinação do Espaço a Preencher na Cavidade de Afinidade da PI3-Quinase

A fim de determinar se a molécula para a cavidade de afinidade da PI3-quinase preenche o espaço dentro da cavidade de afinidade da PI3-quinase, técnicas de modelação por computador são utilizadas. Um antagonista sob teste que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase (ou seja, o composto de teste) é encaixado na imagem de computador da p110 γ . A imagem de computador da p110 γ é derivada da estrutura de co-cristal resolvida de p110 γ humana ligada a PIK-39. O PyMol Molecular Graphics System pode ser utilizado para gerar a imagem. Apresenta-se um exemplo na Figura 3A, em que IC87114 e PIK-294 são incorporados na imagem de computador da quinase p110 γ derivada do co-cristal p110 γ -PIK39. Ver Knight et al, Cell 125:733-745 (2006).

Normalmente, os modelos de computador são analisados a fim de prevenir confrontos estereoquímicos óbvios e de satisfazer as pontes de hidrogénio entre o testado antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase e a proteína de p110 γ (por exemplo, V882 e M804). Em algumas concretizações, a fim de otimizar a energia de ligação, são realizados cálculos baseados em minimização. Utilizando estas técnicas, um perito na especialidade pode facilmente determinar se um determinado antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase dispõe de uma molécula que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase e que preenche o espaço dentro da cavidade de afinidade da PI3-quinase.

O antagonista em questão que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase é analisado para determinar se pelo menos uma ligação (por exemplo, uma ponte de hidrogénio) é formada entre o antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase e um aminoácido que constitui a cavidade de afinidade da PI3-quinase. Por meio de uma técnica de modelação computacional como atrás descrita, é determinada a distância entre um ou mais aminoácidos que constituem a cavidade de afinidade da PI3-quinase e um possível ponto de contato na molécula que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase. Com base nesta distância, um perito na especialidade pode determinar se pelo menos uma ligação é formada entre um ou mais aminoácidos que constituem a cavidade de afinidade da PI3-quinase e uma molécula de ligação da cavidade de afinidade da PI3-quinase.

V. Sínteses Gerais

Os compostos da invenção são sintetizados mediante uma combinação adequada de métodos de síntese bem conhecidos em geral. Técnicas úteis para a síntese dos compostos da invenção são muito óbvias e acessíveis aos peritos na especialidade em causa. A análise que segue serve para ilustrar alguns dos vários métodos disponíveis de preparação dos compostos da invenção. No entanto, esta análise não se destina a definir o âmbito das reações ou das sequências de reação úteis na preparação dos compostos da presente invenção.

Esquema I



No Esquema I anterior, a iodação da pirazolpirimidina ou da pirrolpirimidina é alcançada com um reagente de iodação apropriado, tal como N-iodossuccinamida. A conversão da posição 1 pode ser conseguida através da substituição com um halogéneo de um substituinte bromado (por exemplo, um brometo de alquilo substituído ou não substituído). Acoplamento cruzado, catalisado por paládio, entre o ácido organoborónico e o halogeneto de iodo (ou seja, o acoplamento de Suzuki), é então levado a cabo para conversão da posição 3. Recentes desenvolvimentos em matéria de catalisadores e de métodos aumentaram tremendamente as possíveis aplicações do acoplamento de Suzuki, de modo que o âmbito dos elementos de reação não está restringido a arilos. Trifluoroboratos de potássio e organoboranos ou ésteres boronato podem ser utilizados em lugar dos ácidos borónicos. Alguns pseudo-halogenetos (por exemplo, triflatos) também podem ser utilizados como elementos de acoplamento. Mais informações relacionadas com o acoplamento de Suzuki podem ser encontradas em, por exemplo, Kudo et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 45: 1282-1284 (2006); Kirchhoff et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 124: 13662-13663 (2002); Wu et al., *J. Org. Chem.*, 68: 670-673 (2003); and Molander et al., *J. Org. Chem.*, 67: 8424-8429 (2002).

VI. Métodos

São aqui descritos métodos para diminuir a atividade catalítica de uma PI3-quinase (por exemplo, de uma quinase p110 α). O método inclui a etapa de contatar a PI3-quinase com uma quantidade decrescente de atividade de um composto como aqui descrito (isto é, um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou o composto da Fórmula (I)). Em algumas concretizações, o antagonista é capaz de diminuir a atividade catalítica de uma tirosina-quinase. Por exemplo, o antagonista é um antagonista de pirazolopirimidina que se

liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou um antagonista de pirrolpirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase.

O antagonista pode ser específico para a p110 α relativamente a p110 δ , p110 β , e/ou p110 γ . A CI₅₀ para a p110 α pode ser pelo menos de 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, ou 1000 vezes inferior à CI₅₀ para a p110 δ , p110 β , e/ou p110 γ . A CI₅₀ do antagonista em relação a p110 α pode ser inferior a 100 μ M, 50 μ M, 40 μ M, 30 μ M, 20 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 0,5 μ M, 0,1 μ M, 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM ou 1 pM.

O antagonista pode ser específico para a p110 α relativamente à tirosina-quinase do recetor de insulina. A CI₅₀ para p110 α pode ser pelo menos 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, ou 1000 vezes inferior à CI₅₀ para a tirosina-quinase do recetor de insulina. A CI₅₀ do antagonista para a p110 α pode ser inferior a 100 μ M, 50 μ M, 40 μ M, 30 μ M, 20 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 0,5 μ M, 0,1 μ M, 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM ou 1 pM.

O antagonista pode reduzir, ou ser capaz de reduzir a atividade catalítica de uma tirosina-quinase. A CI₅₀ do antagonista relativamente a tirosina-quinase pode ser inferior a 100 μ M, 50 μ M, 40 μ M, 30 μ M, 20 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 0,5 μ M, 0,1 μ M, 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM ou 1 pM. Entre as tirosina-quinases constam, por exemplo, a proteína-quinase ADN-dependente (número de registo de proteína no PubMed (PLAN) AAA779184), a tirosina-quinase Abl (CAA52387), a Bcr-Abl, a quinase de células hematopoiéticas (PPAN CAI19695), a SRC (PPAN CAA24495), o recetor 2 do fator de crescimento do endotélio vascular (PPAN ABB82619), o recetor do fator de crescimento epidérmico (PPAN AG43241), o recetor B4 da epinefrina (PPAN EAL23820), o recetor do fator das células-tronco (PPAN AAF22141), o recetor da proteína-tirosina-quinase TIE-2 (PPAN Q02858), a tirosina-quinase 3 semelhante à fms (PPAN NP_004110), o recetor α do fator de crescimento derivado de plaquetas (PPAN NP_990080), RET (PPAN CAA73131), e seus mutantes funcionais. Em algumas concretizações, a tirosina-quinase é Abl, Bcr-Abl,

EGFR, ou Flt-3.

O antagonista pode reduzir, ou ser capaz de reduzir a atividade catalítica da mTOR (PPAN AAI17167). A CI_{50} do antagonista da mTOR pode ser inferior a 100 μM , 50 μM , 40 μM , 30 μM , 20 μM , 10 μM , 5 μM , 1 μM , 0,5 μM , 0,1 μM , 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM ou 1 pM.

O antagonista pode reduzir, ou ser capaz de reduzir a atividade catalítica de mTOR e de p110 α a uma CI_{50} inferior a 100 μM , 50 μM , 40 μM , 30 μM , 20 μM , 10 μM , 5 μM , 1 μM , 0,5 μM , 0,1 μM , 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM ou 1 pM. O antagonista pode reduzir, ou ser capaz de reduzir a atividade catalítica de uma tirosina-quinase e de p110 α a uma CI_{50} inferior a 100 μM , 50 μM , 40 μM , 30 μM , 20 μM , 10 μM , 5 μM , 1 μM , 0,5 μM , 0,1 μM , 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM, ou 1 pM. O antagonista pode reduzir, ou ser capaz de reduzir a atividade catalítica de uma tirosina-quinase, uma mTOR, e uma p110 α a uma CI_{50} inferior 100 μM , 50 μM , 40 μM , 30 μM , 20 μM , 10 μM , 5 μM , 1 μM , 0,5 μM , 0,1 μM , 50 nM, 10 nM, 1 nM, 0,5 nM, 0,1 nM, 50 pM, 10 pM, ou 1 pM.

Descreve-se também aqui um método de tratamento de uma doença ou estado clínico mediado pela atividade da PI3-quinase, atividade da PI3-quinase e atividade da tirosina-quinase, atividade da PI3-quinase e atividade da mTOR, ou pela atividade da PI3-quinase, atividade da mTOR e atividade da tirosina-quinase, num indivíduo com necessidade de tal tratamento. O método inclui a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um antagonista. O antagonista é um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou o composto de Fórmula (I). Em algumas concretizações, o antagonista é um antagonista de pirazolopirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase, ou um antagonista de pirrolpirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase.

A doença pode ser igualmente um distúrbio de reabsorção óssea, leucemia mielóide crónica, inflamação anormal, doença autoimune, trombose, ou asma. A doença também pode ser um tipo de cancro ou de metástase de cancro, incluindo, por exemplo, leucemia, carcinomas e sarcomas, tais como cancro do

cérebro, mama, colo do útero, cólon, cabeça e pescoço, fígado, rim, pulmão, pulmão de não-pequenas células, melanoma, mesotelioma, ovário, sarcoma, estômago, útero e meduloblastoma. Outros exemplos são: doença de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo, neuroblastoma, cancro do ovário, rabdomiossarcoma, trombocitose primária, macroglobulinemia primária, tumores cerebrais primários, cancro, insulanoma pancreático maligno, carcinoide maligno, cancro da bexiga, lesões cutâneas pré-malignas, cancro testicular, linfomas, cancro da tireoide, neuroblastoma, cancro do esófago, cancro do trato geniturinário, hipercalcemia maligna, cancro do endométrio, cancro do córtex super-renal, neoplasias do pâncreas endócrino e exócrino, e cancro da próstata. Em algumas formas de realização, a doença é selecionada entre o cancro do fígado, cancro do cólon, cancro da mama, melanoma, leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crónica, ou cancro do pulmão de não-pequenas células.

São também aqui descritos métodos de supressão da função de um leucócito ou supressão da função de um osteoclasto. O método inclui o contato do leucócito ou do osteoclasto com uma quantidade de antagonista suficiente para interromper a respetiva função. O antagonista é um antagonista que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou o composto de Fórmula (I). O antagonista pode ser um antagonista de pirazolopirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase ou um antagonista de pirrolpirimidina que se liga à cavidade de afinidade da PI3-quinase.

VII. Formulações Farmacêuticas

Descreve-se também aqui uma composição farmacêutica que inclui um antagonista em mistura com um excipiente farmacêuticamente aceitável. Um perito na especialidade reconhecerá que as composições farmacêuticas incluem os sais farmacêuticamente aceitáveis dos antagonistas da PI3-quinase atrás descritos.

Em aplicações terapêuticas e/ou de diagnóstico, os compostos da invenção podem ser formulados para uma variedade de modos de administração, incluindo administração sistémica

e tópica ou administração localizada. As técnicas e formulações podem ser geralmente encontradas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy (ed. 20) Lippincott, Williams & Wilkins (2000).

Os compostos de acordo com a invenção são eficazes numa larga gama de administração. Por exemplo, no tratamento de adultos humanos, doses de 0,01 a 1000 mg, de 0,5 a 100 mg, de 1 a 50 mg por dia, e de 5 a 40 mg por dia, são exemplos de doses que podem ser utilizadas. Uma dose preferida é de 10 a 30 mg por dia. A dose exata dependerá da via de administração, da forma sob a qual o composto é administrado, do indivíduo a ser tratado, do peso corporal do indivíduo a ser tratado, e da preferência e experiência do médico assistente.

Sais farmacologicamente aceitáveis são geralmente bem conhecidos das pessoas competentes na especialidade e podem incluir, a título de exemplo não limitativo, acetato, benzenossulfonato, besilato, benzoato, bicarbonato, bitartarato, brometo, edetato de cálcio, carnsilato, carbonato, citrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromidrato, cloridrato, hidroxinaftoato, iodeto, isetionato, latato, latobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, mucato, napsilato, nitrato, pamoato (embonato), pantotenato, fosfato/difosfato, poligalaturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartarato, ou teoclato. Outros sais farmacologicamente aceitáveis podem ser encontrados em, por exemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (ed. 20) Lippincott, Williams & Wilkins (2000). Os sais farmacologicamente aceitáveis incluem, por exemplo, acetato, benzoato, brometo, carbonato, citrato, gluconato, bromidrato, cloridrato, maleato, mesilato, napsilato, pamoato (embonato), fosfato, salicilato, succinato, sulfato ou tartarato.

Dependendo das condições específicas a serem tratadas, tais agentes podem ser formulados em formas farmacêuticas líquidas ou sólidas e administrados sistêmica ou localmente. Os agentes podem ser fornecidos, por exemplo, numa forma de

libertação programada ou sustentada como é conhecido pelos peritos na especialidade. As técnicas de formulação e administração podem ser encontradas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy (ed. 20) Lippincott, Williams & Wilkins (2000). As vias de administração adequadas podem incluir a via oral, via bucal, pulverizador de inalação, administração sublingual, retal, transdérmica, vaginal, transmucosa, nasal ou intestinal; administração parentérica, incluindo injeções intramuscular, subcutânea, intramedular, bem como intratecal, intraventricular direta, intravenosa, intra-articular, intraesternal, intrassinovial, intra-hepática, intralesional, intracraniana, intraperitoneal, intranasal ou intraocular, ou outros modos de administração.

Para injeção, os agentes da invenção podem ser formulados e diluídos em soluções aquosas, tais como tampões fisiologicamente compatíveis do tipo de solução de Hank, solução de Ringer ou tampão de solução salina fisiológica. Para administração transmucosa, penetrantes apropriados para a barreira a ser permeada são usados na formulação. Tais penetrantes são geralmente conhecidos na arte.

A utilização de veículos inertes farmacologicamente aceitáveis na formulação dos compostos revelados aqui para a prática da invenção, em doses adequadas para administração sistêmica, está abrangida pelo âmbito da invenção. Com a escolha apropriada de veículo e de prática de fabrico, as composições da presente invenção, em especial aquelas formuladas como soluções, podem ser administradas parentericamente, tal como por injeção intravenosa. Os compostos podem ser facilmente formulados utilizando veículos farmacologicamente aceitáveis bem conhecidos na arte, em doses adequadas para administração oral. Tais transportadores permitem que os compostos da invenção sejam formulados como comprimidos, pílulas, cápsulas, líquidos, géis, xaropes, pastas, suspensões e semelhantes, para ingestão oral por um indivíduo (por exemplo, paciente) a ser tratado.

Para administração nasal ou inalação, os agentes da invenção podem também ser formulados por métodos conhecidos dos peritos na especialidade e podem incluir, por exemplo, mas não lhes estando limitado, solubilização, diluição ou

dispersão de substâncias tais como, solução salina, conservantes como álcool benzílico, promotores de absorção e fluorocarbonetos.

As composições farmacêuticas adequadas para utilização na presente invenção incluem composições em que os princípios ativos estão contidos numa quantidade eficaz para se atingir a sua finalidade pretendida. A determinação das quantidades eficazes está bem dentro das capacidades dos peritos na especialidade, especialmente à luz dos pormenores aqui revelados.

Para além dos princípios ativos, estas composições farmacêuticas poderão conter transportadores farmacêuticamente aceitáveis adequados, os quais compreendam excipientes e adjuvantes que facilitem o processamento dos compostos ativos em preparações que possam ser utilizadas farmacêuticamente. As preparações formuladas para administração oral podem estar na forma de comprimidos, drageias, cápsulas ou soluções.

As preparações farmacêuticas para uso oral podem ser obtidas através da combinação dos compostos ativos com excipientes sólidos, opcionalmente triturando a mistura resultante e processando a mistura de grânulos após adição de adjuvantes adequados, se desejado, para obter comprimidos ou núcleos de drageias. Os excipientes adequados são, especialmente, cargas do tipo açúcares, incluindo lactose, sacarose, manitol, ou sorbitol; preparações de celulose, por exemplo, amido de milho, amido de trigo, amido de arroz, amido de batata, gelatina, goma adragante, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose de sódio (CMC), e/ou polivinilpirrolidona (PVP: povidona). Se desejado, agentes desintegrantes podem ser adicionados, tais como polivinilpirrolidona reticulada, ágar, ou ácido algínico ou um seu sal, tal como alginato de sódio.

Os núcleos de drageias são fornecidos com revestimentos adequados. Para esta finalidade, podem ser utilizadas soluções concentradas de açúcar, que podem conter opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenoglicol (PEG), e/ou dióxido de

titânio, soluções de laca e solventes orgânicos adequados ou misturas de solventes. Matérias corantes ou pigmentos podem ser adicionados aos revestimentos dos comprimidos ou drageias para identificação ou para caracterizar diferentes combinações de doses de compostos ativos.

As preparações farmacêuticas que podem ser utilizadas oralmente incluem cápsulas de encaixe feitas de gelatina, bem como cápsulas moles e seladas feitas de gelatina e um plastificante, tal como glicerol ou sorbitol. As cápsulas de encaixe podem conter os ingredientes ativos em mistura com enchimentos como lactose, ligantes como amidos, e/ou lubrificantes como talco ou estearato de magnésio e, opcionalmente, estabilizantes. Nas cápsulas moles, os compostos ativos podem ser dissolvidos ou suspensos em líquidos adequados, tais como óleos gordos, parafina líquida, ou polietilenoglicóis líquidos (PEGs). Além disso, podem ser adicionados estabilizantes.

Dependendo do específico estado clínico ou doença a serem tratados ou prevenidos, agentes terapêuticos adicionais, que são normalmente administrados para tratar ou prevenir esse estado, podem ser administrados em conjunto com os inibidores desta invenção. Por exemplo, agentes quimioterapêuticos ou outros agentes antiproliferativos podem ser combinados com os inibidores da presente invenção para tratar doenças proliferativas e cancro. Exemplos de agentes quimioterapêuticos conhecidos incluem, mas não lhes estando limitados, adriamicina, dexametasona, vincristina, ciclofosfamida, fluorouracilo, topotecano, taxol, interferões e derivados de platina.

Outros exemplos de agentes dos inibidores da presente invenção que também podem ser combinados incluem, sem lhes estar limitado, agentes anti-inflamatórios tais como corticosteroides, bloqueadores do TNF, IL-1 RA, azatioprina, ciclofosfamida e sulfassalazina; imunomoduladores e imunossupressores tais como ciclosporina, tacrolimus, rapamicina, micofenolato de mofetil, interferões, corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina e sulfassalazina; fatores neurotróficos tais como inibidores da acetilcolinesterase, inibidores da MAO, interferões,

anticonvulsivos, bloqueadores de canais de iões, o riluzol e agentes anti-parkinsonianos; agentes para o tratamento de doenças cardiovasculares tais como betabloqueadores, inibidores da ACE, diuréticos, nitratos, bloqueadores do canal de cálcio e estatinas; agentes para o tratamento de doenças hepáticas, tais como corticosteroides, colestiramina, interferões e agentes antivirais; agentes para o tratamento de distúrbios do sangue, tais como corticosteroides, agentes antileucémicos e fatores de crescimento; agentes para o tratamento de diabetes, tais como insulina, análogos da insulina, inibidores da alfa-glucosidase, higuánidas e sensibilizadores da insulina; e agentes para o tratamento de distúrbios de imunodeficiência, tais como a gamaglobulina.

Estes agentes adicionais podem ser administrados separadamente da composição, como parte de um regime de doses múltiplas. Alternativamente, estes agentes podem fazer parte de uma única forma de dose, estando misturados com o inibidor numa única composição.

VIII. Exemplos

Os exemplos seguintes destinam-se a ilustrar determinadas concretizações da invenção.

Métodos Gerais. Todos os produtos químicos, reagentes e solventes utilizados foram adquiridos comercialmente e utilizados tal como recebidos. dH₂O refere-se a água desionizada. A evaporação de solventes foi realizada num evaporador rotativo, sob pressão reduzida. Os compostos foram purificados por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), eluindo-se com dH₂O-MeCN-ácido trifluoroacético, 50:50:0,1, salvo indicação em contrário. Os produtos foram analisados por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LCMS), utilizando MeCN-ácido fórmico a 0,1% (várias proporções) como eluente.

A. Procedimentos de Reação Seleccionados.

Síntese de 1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA18**). Uma solução de 250 mL de formamida e 3-amino-4-pirazolecarbonitrilo (25 g, 0,231 mole) foi aquecida a 180 °C

durante a noite, sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi arrefecida e adicionou-se 400 ml de dH₂O. O sólido resultante foi filtrado e enxaguado com dH₂O fria. O sólido branco precipitado foi recolhido e seco sob vácuo durante a noite, obtendo-se BA18 (39 g, 100% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 136,1, encontrado: 136,1.

Síntese de 3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA19**). Uma solução de 3H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (10 g, 0,074 mole) e N-iodo-succinamida (25 g, 0,111 mole) em DMF (80 mL) foi aquecida a 80 °C durante a noite, sob atmosfera de árgon. O sólido resultante foi filtrado e lavado com EtOH frio. O produto foi seco sob vácuo durante a noite, obtendo-se BA19 (24 g, 100% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 262,0, encontrado: 262,0.

Síntese de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA12**). Uma solução de 3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (2 g, 0,0077 mole) e K₂CO₃ (4,2 g, 0,031 mole) em DMF (50 mL) foi levada a 80 °C sob atmosfera de árgon. Brometo de isopropilo (1,0 g, 0,0084 mole) foi adicionado com uma seringa. A mistura reacional foi submetida a refluxo sob atmosfera de árgon, durante 2 horas. K₂CO₃ sólido foi removido por filtração. O solvente foi parcialmente removido sob vácuo. Citrato de sódio (50 mL) foi adicionado e a mistura reacional foi extraída com EtOAc. As fases orgânicas foram concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica [MeOH-CH₂Cl₂, 5:95], obtendo-se BA12 (1,68 g, 72% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 304,0, encontrado: 304,1.

Acoplamento de Suzuki geral. Preparação dos produtos finais (ver Tabela 1 quanto a nomes e estruturas do produto final).

3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole, 1 equivalente) foi dissolvido em DME (12 ml). Ácido borónico (1,1 equivalente) foi dissolvido em EtOH (3,3 ml) e adicionado à mistura reacional. Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,026 mmole, 0,2 equivalentes) e Na₂CO₃ (1,9 ml) saturado foram adicionados à mistura reacional, aqueceu-se a 80 °C sob atmosfera de árgon e submeteu-se a refluxo durante 8 horas.

Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas e o solvente foi removido. O sólido resultante (ou óleo) foi dissolvido em dH₂O-MeCN-ácido trifluoroacético 50:50:0,1, e purificado por HPLC. Produto purificado (rendimento variado) como confirmado por LCMS.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-benzenossulfonamida (**BA14**). Uma solução de éster pinacólico do ácido benzenossulfonamida-4-borónico (23 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA14 (2,2 mg, 10% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 333,1, encontrado: 333,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(3-metoxi-4-metilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA15**). Uma solução de 2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3-di-2-dioxaborolan-2-il)fenol (19 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA15 (4,3 mg, 20% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 300,1, encontrado: 300,2.

Síntese de 6-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)naftaleno-2-ol (**BA17**). Uma solução de ácido 6-hidroxi-naftalen-2-il-2-borónico (15 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado

(1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%) obtendo-se BA15 (4,8 mg, 23% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 320,1, encontrado: 320,1.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-2-metoxifenilcarbamato de terc-butilo (**BA20**). Uma solução de ácido 4-N-Boc-amino-3-metoxi-benzenoborónico (48 mg, 0,18 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,18 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (40 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%) obtendo-se BA20. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 399,2, encontrado: 399,1.

Síntese de 3-(4-amino-3-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA20d**). Uma solução de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-metoxifenilcarbamato de terc-butilo (BA20) (20 mg, 0,05 mmole) em CH₂Cl₂, TFA, S(CH₂)₂, H₂O (45:45:5:5) (1 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos. Acrescentou-se NaHCO₃ (2 mL) até a mistura ficar básica. A mistura reacional foi então extraída com H₂O e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA20d.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)piridina-2-carbonitrilo (**BA21**). Uma solução de éster pinacólico do ácido 2-cianopiridina-5-borónico (18 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de

árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA21 (2,5 mg, rendimento de 14%). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 280,1, encontrado: 280,1.

Síntese de 3-(3-(benziloxi)-5-fluorofenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina. Uma solução de ácido (3-benziloxi-5-fluorofenil)borónico (29 mg, 5,80 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (16 mg, 0,014 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA22 (15,6 mg, rendimento de 60%). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 378,1, encontrado: 378,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-5-fluorofenol (**BA22**). Uma solução de -(3-(benziloxi)-5-fluorofenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (15 mg, 0,04 mmole) em MeOH (0,9 mL) foi purgada com árgon. Pd sobre carvão ativado (10 mL) foi cuidadosamente adicionado, mantendo-se a reação sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi purgada com gás de H_2 e deixada durante a noite sob atmosfera de H_2 e à temperatura ambiente. A mistura reacional foi filtrada através de celite e lavada com MeOH, obtendo-se BA22 (15 mg, 100% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 288,1, encontrado: 288,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(3,4-dimetoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA23**). Uma solução de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico (24 mg, 0,13 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (16 mg, 0,014 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As

fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%) obtendo-se BA23 (13,1 mg, rendimento de 60%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 314,0, encontrado: 314,1.

Síntese de (3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)metanol (**BA26**). Uma solução de ácido (3-hidroxiacetilfenil)borônico (24 mg, 0,13 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argônio, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA26 (8,4 mg, 42% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 283,1, encontrado: 284,2.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-N-(4,5-dihidrotiazol-2-il)-benzamida (**BA30**). Uma solução de ácido [3-((4,5-dihidrotiazol-2-il)-carbamóil)fenil]borônico (19 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argônio, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%) obtendo-se BA30 (17,8 mg, 67% de rendimento).

Síntese de 1-(4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)etanona (**BA31**). Uma solução de ácido 4-acetilfenilborônico (12,7 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argônio, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As

fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA31 (12,9 mg, 62% de rendimento).

Síntese de (3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)metanol (**BA32**). Uma solução de ácido (4-aminocarbonil-3-clorofenil)borônico (16 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA32 (9,7 mg, 42% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 331,1, encontrado: 331,1.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-3-metiltiofeno-2-carbaldeído (**BA34**). Uma solução de ácido 5-formil-3-metiltiofeno-2-borônico (26 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA34 (14,7 mg, 38% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 302,1, encontrado: 302,0.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-furano-3-carbaldeído (**BA35**). Uma solução de ácido 4-formilfuran-2-borônico (20 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As

fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA35 (13,5 mg, 39% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 272,1, encontrado: 272,1.

Síntese de N-[3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-fenil]-metanossulfonamida (**AB38**). Uma solução de ácido 3-metanossulfonilaminofenilborónico (32 mg, 0,15 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se AB38 (24,3 mg, 54% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 347,1, encontrado: 347,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)benzonitrilo (**BA39**). Uma solução de ácido 3-cianofenilborónico (23 mg, 0,15 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA39 (14,9 mg, 41% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 279,1, encontrado: 279,0.

Síntese de N-[4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil]metanossulfonamida (**BA40**). Uma solução de ácido 4-metanossulfonilaminofenilborónico (24 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon,

durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA40 (0,9 mg, 3% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 347,1, encontrado: 347,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)benzenossulfonamida (**BA41**). Uma solução de éster pinacólico do ácido benzenossulfonamida-3-borónico (31 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA41 (9,2 mg, 28% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 333,1, encontrado: 333,0.

Síntese de 2-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)benzo[b]tiofeno-5-carbaldeído (**BA42**). Uma solução de éster pinacólico do ácido 5-formilbenzo[b]tiofeno-2-borónico (31 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA42 (15,2 mg, 45% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 338,1, encontrado: 338,0.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-1H-indol-3-carbaldeído (**BA43**). Uma solução de éster pinacólico do ácido N-Boc-3-formil-5-indoleborónico (40 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30

mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). O TFA da purificação hidrolisou o Boc, obtendo-se BA43. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 321,1, encontrado: 321,0.

Síntese de 3-(benzo[c][1,2,5]oxadiazol-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA44**). Uma solução de ácido benzo[c][1,2,5]oxadiazole-5-borónico (18 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA44. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 296,1, encontrado: 296,1.

Síntese de 2-(4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenil)acetonitrilo (**BA45**). Uma solução de ácido (4-cianometilfenil)borónico (18 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA45. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 293,1, encontrado: 293,1.

Síntese de 2-(3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenil)acetonitrilo (**BA46**). Uma solução de ácido (3-cianometilfenil)borónico (18 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em

DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA45. ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 293,1, encontrado: 293,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(4-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA48**). Uma solução de ácido (4-metoxifenil)borónico (17 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA48 (4,5 mg, 16% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 284,1, encontrado: 284,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(3-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA49**). Uma solução de ácido 3-metoxifenilborónico (17 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA49. ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 284,1, encontrado: 284,0.

Síntese de 1-isopropil-3-(piridin-3-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA52**). Uma solução de ácido 3-piridinilborónico (15 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (15 mg, 0,015 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a

80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA52. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 255,1, encontrado: 255,0.

Síntese de 1-isopropil-3-(pirimidin-5-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA53**). Uma solução de ácido 5-pirimidilborónico (15 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (15 mg, 0,015 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA53. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 256,1, encontrado: 256,1.

Síntese de 3-(2,3-di-hidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA54**). Uma solução de ácido 2,3-di-hidro-1,4-benzodioxin-6-ilborónico (26 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA54 (6 mg, 15% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 312,1, encontrado: 312,0.

Síntese de 1-(3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenil)etanona (**BA55**). Uma solução de ácido 3-acetilfenilborónico (23 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após

arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA55 (7 mg, 18% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 296,1, encontrado: 296,1.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenol (**BA56**). Uma solução de ácido 4-hidroxifenilborónico (30 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA56 (12 mg, 32% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 270,1, encontrado: 270,1.

Síntese de Inibidores Duplos de PI3-Quinase/Tirosina-Quinase

Síntese de 1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA18**). Uma solução de 250 mL de formamida e de 3-amino-4-pirazolecarbonitrilo (25 g, 0,231 mole) foi aquecida a 180 °C durante a noite, sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi arrefecida e adicionou-se 400 mL de dH_2O . O sólido resultante foi filtrado e lavado com dH_2O fria. O sólido branco precipitado foi recolhido e seco sob vácuo durante a noite, obtendo-se BA18 (39g, 100% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 136,1, encontrado: 136,1.

Síntese de 3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA19**). Uma solução de 3H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (10 g, 0,074 mole) e N-iodo-succinamida (25 g, 0,111 mole) em DMF (80 mL) foi aquecida a 80 °C, durante a noite, sob atmosfera de árgon. O sólido resultante foi filtrado e lavado com EtOH frio. O produto foi seco sob vácuo durante a noite, obtendo-se BA19 (24g, 100% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 262,0, encontrado: 262,0.

Síntese de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-4-amina (**BA12**). Uma solução de 3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (2 g, 0,0077 mole) e K_2CO_3 (4,2 g, 0,031 mole) em DMF (50 ml) foi levada a 80 °C sob atmosfera de árgon. Brometo de isopropilo (1,0 g, 0,0084 mole) foi adicionado com uma seringa. A mistura reacional foi submetida a refluxo sob atmosfera de árgon, durante 2 horas. K_2CO_3 sólido foi removido por filtração. O solvente foi parcialmente removido sob vácuo. Acrescentou-se citrato de sódio (50 mL) e a mistura reacional foi extraída com EtOAc. A fase orgânica foi concentrada sob vácuo e purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica [MeOH- CH_2Cl_2 , 5:95], obtendo-se BA12 (1,68 g, 72% de rendimento). ESI-MS ($M+H$)⁺ m/z calculado: 304,0, encontrado: 304,1.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-benzenossulfonamida (**BA14**). Uma solução de éster pinacólico do ácido benzenossulfonamida-4-borónico (23 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). $Pd(PPh_3)_4$ (16 mg, 0,014 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA14 (2,2 mg, 10% de rendimento). ESI-MS ($M+H$)⁺ m/z calculado: 333,1, encontrado: 333,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(3-metoxi-4-metilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA15**). Uma solução de 2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3-di-2-dioxaborolan-2-il)fenol (19 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). $Pd(PPh_3)_4$ (16 mg, 0,014 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA15 (4,3 mg, 20% de

rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 300,1, encontrado: 300,2.

Síntese de 6-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)naftaleno-2-ol (**BA17**). Uma solução de ácido 6-hidroxi-naftaleno-2-il-2-borônico (15 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argônio, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA15 (4,8 mg, 23% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 320,1, encontrado: 320,1.

Síntese de terc-butil-4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-metoxifenilcarbamato (**BA20**). Uma solução de ácido 4-N-Boc-amino-3-metoxibenzenoborônico (48 mg, 0,18 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,18 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argônio, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA20. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 399,2, encontrado: 399,1.

Síntese de 3-(4-amino-3-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA20d**). Uma solução de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-metoxifenilcarbamato de terc-butilo (BA20) (20 mg, 0,05 mmole) em CH₂Cl₂, TFA, S(CH₂)₂, H₂O (45:45:5:5) (1 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos. Adicionou-se NaHCO₃ (2 mL) até a mistura reacional ficar básica e extraiu-se com H₂O e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA20d.

Síntese de 2-amino-5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenol (**BA20dd**). Dissolveu-se BA20 (terc-butil-4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-metoxifenilcarbamato, 7 mg, 0,018 mmole) em CH₂Cl₂ (2,5 mL) e agitou-se sob atmosfera de árgon, à temperatura ambiente. Acrescentou-se BBr₃ (0,500 ml) lentamente, com uma seringa. A mistura reacional foi agitada durante a noite, sob árgon, à temperatura ambiente. Removeu-se o BBr₃ sob vácuo e o sólido remanescente foi purificado por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA20d.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)piridina-2-carbonitrilo (**BA21**). Uma solução de éster pinacólico do ácido 2-cianopiridina-5-borónico (18 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA21 (2,5 mg, rendimento de 14%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 280,1, encontrado: 280,1.

Síntese de 3-(3-(benziloxi)-5-fluorofenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina. Uma solução de ácido (3-benziloxi-5-fluorofenil)borónico (29 mg, 5,80 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA22 (15,6 mg, rendimento de 60%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 378,1, encontrado: 378,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-5-fluorofenol (**BA22**). Uma solução de -(3-(benziloxi)-5-fluorofenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-

pirimidin-4-amina (15 mg, 0,04 mmole) em MeOH (0,9 ml) foi purgada com árgon. Pd sobre carvão ativado (10 ml) foi cuidadosamente adicionado, mantendo-se a reação sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi purgada com gás de H₂ e deixada sob atmosfera de H₂ durante a noite e à temperatura ambiente. A mistura reacional foi filtrada através de celite e lavada com MeOH, obtendo-se BA22 (15 mg, 100% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 288,1, encontrado: 288,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(3,4-dimetoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA23**). Uma solução de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico (24 mg, 0,13 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA23 (13,1 mg, 60% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 314,0, encontrado: 314,1.

Síntese de 2-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-5-benziloxi)-1H-indole-1-carboxilato de terc-butilo (**BA24**). Uma solução de ácido 5-benziloxi-1-BOC-indol-2-borónico (303 mg, 0,83 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (100 mg, 0,33 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica (EtOAc-hexana 5:95), obtendo-se BA24. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 499,2, encontrado: 499,2.

Síntese de 2-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-1H-indol-5-ol (**BA24dd**). BA24 (3-(4-fluoro-3-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-

amina, 30 mg, 0,10 mmole) foi dissolvido numa solução de ácido fórmico (4,5 ml, 10 equivalentes) e HCl (0,45 mL, 1 equivalente). A mistura reacional foi aquecida e agitada durante uma hora sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi então concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA24dd. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 309,1, encontrado: 309,1.

Síntese de (3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)metanol (**BA26**). Uma solução de ácido (3-hidroxi-4-metilfenil)borónico (24 mg, 0,13 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA26 (8,4 mg, 42% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 283,1, encontrado: 284,2.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-N-(4,5-dihidrotiazol-2-il)-benzamida (**BA30**). Uma solução de ácido [3-((4,5-dihidrotiazol-2-il)-carbamoil)fenil]borónico (19 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA30 (17,8 mg, 67% de rendimento).

Síntese de 1-(4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)etanona (**BA31**). Uma solução de ácido 4-acetilfenilborónico (12,7 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9

mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA31 (12,9 mg, 62% de rendimento).

Síntese de (3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)metanol (**BA32**). Uma solução de ácido (4-aminocarbonil-3-clorofenil)borónico (16 mg, 0,08 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (20 mg, 0,07 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA32 (9,7 mg, 42% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 331,1, encontrado: 331,1.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-3-metiltiofeno-2-carbaldeído (**BA34**). Uma solução de ácido 5-formil-3-metiltiofeno-2-borónico (26 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA34 (14,7 mg, 38% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 302,1, encontrado: 302,0.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-furano-3-carbaldeído (**BA35**). Uma solução de ácido 4-formilfuran-2-borónico (20 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado

(1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA35 (13,5 mg, 39% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 272,1, encontrado: 272,1.

Síntese de N-[3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-fenil]-metanossulfonamida (**BA38**). Uma solução de ácido 3-metanossulfonilaminofenilborónico (32 mg, 0,15 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0,014 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA38 (24,3 mg, 54% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 347,1, encontrado: 347,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)benzonitrilo (**BA39**). Uma solução de ácido 3-cianofenilborónico (23 mg, 0,15 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA39 (14,9 mg, 41% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado 279,1, encontrado 279,0.

Síntese de N-[4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil]metanossulfonamida (**BA40**). Uma solução de ácido 4-metanossulfonilaminofenilborónico (24 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg,

0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA40 (0,9 mg, 3% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 347,1, encontrado: 347,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-benzenossulfonamida (**BA41**). Uma solução de éster pinacólico do ácido benzenossulfonamida-3-borónico (31 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA41 (9,2 mg, 28% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 333,1, encontrado: 333,0.

Síntese de 2-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)benzo[b]tiofeno-5-carbaldeído (**BA42**). Uma solução de éster pinacólico do ácido 5-formilbenzo[b]tiofeno-2-borónico (31 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA42 (15,2 mg, 45% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 338,1, encontrado: 338,0.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-1H-indol-3-carbaldeído (**BA43**). Uma solução de

éster pinacólico do ácido N-Boc-3-formil-5-indoleborónico (40 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). O TFA da purificação hidrolisou o Boc, obtendo-se BA43. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado 321,1, encontrado 321,0.

Síntese de 3-(benzo[c][1,2,5]oxadiazol-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA44**). Uma solução de ácido benzo[c][1,2,5]oxadiazole-5-borónico (18 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA44. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 296,1, encontrado: 296,1.

Síntese de 2-(4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenil)acetonitrilo (**BA45**). Uma solução de ácido (4-cianometilfenil)borónico (18 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA45. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado 293,1, encontrado 293,1.

Síntese de 2-(3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenil)acetonitrilo (**BA46**). Uma solução

de ácido (3-cianometilfenil)borónico (18 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA45. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 293,1, encontrado: 293,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(4-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA48**). Uma solução de ácido 4-metoxifenilborónico (17 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA48 (4,5 mg, 16% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 284,1, encontrado: 284,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(3-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA49**). Uma solução de ácido 3-metoxifenilborónico (17 mg, 0,11 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,10 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA49. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 284,1, encontrado: 284,0.

Síntese de 1-isopropil-3-(piridin-3-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA52**). Uma solução de ácido 3-piridinilborónico (15 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-

pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (15 mg, 0,015 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA52. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 255,1, encontrado: 255,0.

Síntese de 1-isopropil-3-(pirimidin-5-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA53**). Uma solução de ácido 5-pirimidilborónico (15 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (15 mg, 0,015 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA53. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 256,1, encontrado: 256,1.

Síntese de 3-(2,3-di-hidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA54**). Uma solução de ácido 2,3-di-hidro-1,4-benzodioxin-6-ilborónico (26 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA54 (6 mg, 15% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 312,1, encontrado: 312,0.

Síntese de 1-(3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenil)etanona (**BA55**). Uma solução de ácido 3-acetilfenilborónico (23 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME

(12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA55 (7 mg, 18% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 296,1, encontrado: 296,1.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenol (**BA56**). Uma solução de ácido 4-hidroxifenilborónico (30 mg, 0,14 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (40 mg, 0,13 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA56 (12 mg, 32% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 270,1, encontrado: 270,1.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-2-fluorofenol (**BA59**). Uma solução de ácido 3-fluoro-4-hidroxifenilborónico (103 mg, 0,66 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (100 mg, 0,33 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP, utilizando cromatografia em coluna de gel de sílica ($\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2:98), obtendo-se BA59 (26 mg, 27% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 288, encontrado: 288.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-3-metilfenol (**BA60**). Uma solução de ácido 4-hidroxi-2-metilfenilborónico (110 mg, 0,66 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-

1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (100 mg, 0,33 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica (MeOH-CH₂Cl₂ 2:98), obtendo-se BA60 (42 mg, 22% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado 284, encontrado 284.

Síntese de 3-(4-fluoro-3-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA62**). Uma solução de ácido 4-fluoro-3-metoxifenilborónico (61 mg, 0,36 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (90 mg, 0,30 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica (MeOH-CH₂Cl₂ 2:98) obtendo-se BA62 (40 mg, 44% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 302, encontrado: 302.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-fluorofenol (**BA62d**). Uma solução de BA62 (3-(4-fluoro-3-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina, 30 mg, 0,10 mmole) foi dissolvida em CH₂Cl₂ (5 ml) e agitou-se sob atmosfera de árgon. BBr₃ (500 µL, 0,5 mole) foi adicionado lentamente com uma seringa, sob agitação. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 3 horas e foi depois concentrada sob vácuo e purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica (MeOH-CH₂Cl₂ 2:98), obtendo-se BA62d (23 mg, 44% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado 288,1, encontrado 288,1.

Síntese de 3-(2,5-difluoro-4-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA63**). Uma solução de ácido 2,5-difluoro-4-metoxifenilborónico (84 mg, 0,45 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-

isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (54 mg, 0,18 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica ($\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 2:98), obtendo-se BA63 (50 mg, 17% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 320,1, encontrado: 320,0.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2,5-difluorofenol (**BA93**). Dissolveu-se 3-(2,5-difluoro-4-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA63) (20 mg, 0,06 mmole) em CH_2Cl_2 (2 mL) e adicionou-se BBr_3 (0,630 mL, 0,63 mmole) lentamente, com uma seringa e sob agitação. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante a noite e foi depois concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%) obtendo-se BA93 (6,7 mg, 35% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 306,1, encontrado: 306,0.

Síntese de 1-isopropil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA64**). Uma solução de ácido 3,4,5-trimetoxifenilborónico (123 mg, 0,58 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (70 mg, 0,23 mmole) em DME (12 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica ($\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2:98), obtendo-se BA64 (70 mg, 89% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 344,1, encontrado: 344,0.

Síntese de 1-isopropil-3-(2,3-dimetoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA65**). Uma solução de ácido 2,3-dimetoxifenilborónico (105 mg, 0,58 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (70 mg, 0,23 mmole) em DME

(12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica ($\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2:98), obtendo-se BA65 (63 mg, 88% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 314,1, encontrado: 314,1.

Síntese de 1-isopropil-3-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA66**). Uma solução de ácido 2,4-dimetoxipirimidin-5-il-5-borónico (106 mg, 0,58 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (70 mg, 0,23 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica ($\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2:98), obtendo-se BA66. ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 316,1, encontrado: 316,0.

Síntese de 1-ciclopentil-3-(3-fluoro-5-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA79**). Agitou-se ácido 3-fluoro-5-metoxibenzóico (5 g, 0,029 mole) em CH_2Cl_2 (50 mL), a 0 °C e sob atmosfera de árgon. DMF (9 gotas, catalítico) foi adicionado, seguido por cloreto de oxalilo (12,7 ml, 0,147 mole). A mistura reacional foi aquecida até à temperatura ambiente e agitada sob atmosfera de árgon durante uma hora. Foi depois concentrada sob vácuo, obtendo-se cloreto de 3-fluoro-5-metoxibenzoílo (BA67).

Uma solução de malononitrilo (2,87 g, 0,044 mole) em THF seco (50 ml) foi agitada a 0 °C sob atmosfera de árgon. NaH em óleo de parafina (4,64 g, 0,116 mole) foi adicionado aos pedaços à solução. Cloreto de 3-fluoro-5-metoxibenzoílo (BA67, 0,029 mole) foi dissolvido em 50 ml de THF seco e adicionado lentamente à mistura reacional. A mistura foi aquecida até à temperatura ambiente e agitada sob árgon durante 24 horas. HCl 1 N (200 mL) foi lentamente adicionado

e, em seguida, a mistura reacional foi extraída com EtOAc. As fases orgânicas foram combinadas, secas com sulfato de magnésio e concentradas sob vácuo, obtendo-se 2-((3-fluoro-5-metoxifenil)(metoxi)metileno)malononitrilo (BA69).

Agitou-se 2-((3-fluoro-5-metoxifenil)(metoxi)metileno)-malononitrilo (BA69, 0,029 mole) em EtOH (20 mL), à temperatura ambiente e sob atmosfera de árgon. Hidrazina (1,4 mL, 29 mmole) foi adicionada e a mistura reacional foi deixada sob agitação durante 90 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e seca com uma bomba de vácuo durante a noite, obtendo-se o intermediário 5-amino-3-(3-fluoro-5-metoxifenil)-1H-pirazole-4-carbonitrilo (BA73). Formamida (20 ml) foi adicionada e a mistura reacional foi aquecida a 180 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Arrefeceu-se a mistura reacional e acrescentou-se dH₂O (40ml), forçando um precipitado branco. O precipitado foi recolhido e lavado com dH₂O. O sólido foi seco e purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica (MeOH-CH₂Cl₂ 10:90), obtendo-se 3-(3-fluoro-5-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA75).

3-(3-fluoro-5-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA75, 100 mg, 0,386 mmole) foi dissolvido em DMF (10 ml). K₂CO₃ (250 mg, 1,54 mmole) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente sob atmosfera de árgon. Iodociclopentano (0,134 ml, 1,16 mmole) foi adicionado com uma seringa e a mistura reacional foi agitada durante 2 horas. K₂CO₃ sólido foi removido por filtração e o solvente foi parcialmente removido sob vácuo. Citrato de sódio (50 mL) foi adicionado e a mistura reacional foi extraída com EtOAc. A fase orgânica foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA79.

Síntese de 1-ciclopentil-3-(3-fluoro-5-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA79d**). 1-Ciclopentil-3-(3-fluoro-5-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA79, 0,386 mmole) foi dissolvido em CH₂Cl₂ (2 mL). BBr₃ (4 mL, 4 mole) foi adicionado lentamente com uma seringa, sob agitação. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas e foi depois concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA79

(69 mg, 57% de rendimento).

Síntese de 1-ciclopentil-3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-4-amina (**BA80**). Uma solução de 3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (400 mg, 1,53 mmole) e K_2CO_3 (1 g, 6 mmole) em DMF (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente sob atmosfera de argon. Iodociclopentano (1,0 g, 0,0084 mole) foi adicionado com uma seringa. A mistura reacional foi submetida a refluxo sob atmosfera de argon, durante 2 horas. K_2CO_3 sólido foi removido por filtração e o solvente foi parcialmente removido sob vácuo. Adicionou-se citrato de sódio (50 mL) e a mistura reacional foi extraída com EtOAc. A fase orgânica foi concentrada sob vácuo e purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica (MeOH- CH_2Cl_2 5:95), obtendo-se BA80 (300 mg, rendimento de 60%). ESI-MS $(M+H)^+$ m/z calculado: 330,0, encontrado: 330,0.

Síntese de 1-(3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)fenil)etanona (**BA81**, **BA81d** & **BA81dd**). Uma solução de 2-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de terc-butilo (200 mg, 0,76 mmole) em EtOH (3,3 mL) foi adicionada a uma solução de 1-ciclopentil-3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA80, 100 mg, 0,30 mmole) em DME (12 mL). $Pd(PPh_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica (MeOH- CH_2Cl_2 5:95), obtendo-se BA81. BA81 foi dissolvido em CH_2Cl_2 :TFA 50:50 e agitou-se durante uma hora à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA81d. BA81d foi dissolvido em CH_2Cl_2 (2 mL) e BBr_3 (4 mL, 4 mole) foi adicionado lentamente com uma seringa, sob agitação. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas e foi depois concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA81dd.

Síntese de 3-(3-bromo-5-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA85**). Uma solução de 2-(3-

bromo-5-metoxifenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (137 mg, 0,43 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (65 mg, 0,216 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA85 (28mg, 36% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 362,1, encontrado: 362,0.

Síntese de 3-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-5-bromofenol (**BA87**). 3-(3-bromo-5-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA85, 0,1 mmole) foi dissolvida em CH₂Cl₂ (1 mL) e BBr₃ (1 mL, 1 mole) foi adicionado lentamente com uma seringa, sob agitação. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 35 minutos e foi depois concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA87 (10,7 mg, 31% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 348,0, encontrado: 348,0.

Síntese de 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-1H-indole-1-carboxilato de terc-butilo (**BA86**). Uma solução de 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indole-1-carboxilato de terc-butilo (212 mg, 0,61 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (75 mg, 0,25 mmole) em DME (12 ml). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O), obtendo-se BA86 (9,3 mg, 9% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 362,1, encontrado: 362,0.

Síntese de 3-(1H-indol-5-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA89**). 5-(4-Amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-1H-indole-1-

carboxilato de terc-butilo (BA86, 9 mg, 0,022 mmole) foi dissolvido em CH_2Cl_2 :TFA 50:50 e agitou-se durante uma hora à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA89 (4,8 mg, 75% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 293,1, encontrado: 293,0.

Síntese de 5-(4-amino-1-ciclopentil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-1H-indole-1-carboxilato de terc-butilo (**BA88**). Uma solução de 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indole-1-carboxilato de terc-butilo (130 mg, 0,38 mmole) em EtOH (3,3 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,15 mmole) em DME (12 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$), obtendo-se BA88. ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 419,2, encontrado: 419,1.

Síntese de 3-(1H-indol-5-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA94**). 5-(4-Amino-1-ciclopentil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-1H-indole-1-carboxilato de terc-butilo (BA88) foi dissolvido em CH_2Cl_2 :TFA 50:50 e agitou-se durante uma hora à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA89 (6,3 mg). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 319,1, encontrado: 319,2.

Síntese de 1-ciclopentil-3-(3,4-dimetoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA90**). Uma solução de ácido 3,4-dimetoxifenilborónico (41 mg, 0,23 mmole) em EtOH (1,65 ml)) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,09 mmole) em DME (6 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 mg, 0,03 mmole) e Na_2CO_3 saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e

purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O), obtendo-se BA90 (8,4 mg, 28% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 340,2, encontrado: 340,1.

Síntese de 3-(1H-indol-4-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA91**). Uma solução de ácido 1H-indol-4-il-4-borónico (40 mg, 0,25 mmole) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,1 mmole) em DME (6 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA91 (14,6 mg, 50% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 293,1, encontrado: 293,1.

Síntese de 1-ciclopentil-3-(1H-indol-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA92**). Uma solução de ácido 1H-indol-4-il-4-borónico (30 mg, 0,19 mmole) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (25 mg, 0,076 mmole) em DME (6 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA92 (23 mg, 95% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 319,2, encontrado: 319,1.

Síntese de 3-(2,3-di-hidrobenzofuran-5-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA95**). Uma solução de ácido 2,3-di-hidro-1-benzofuran-5-ilborónico (38 mg, 0,23 mmole) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,1 mmole) em DME (6 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (1,9 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas,

concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA95 (15,7 mg, 59% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 296,1, encontrado: 296,1.

Síntese de 3-(benzofuran-5-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA96**). Uma solução de 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1-benzofurano (56 mg, 0,23 mmole) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (30 mg, 0,1 mmole) em DME (6 mL). Pd(PPh₃)₄ (30 mg, 0,03 mmole) e Na₂CO₃ saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 80 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH₂Cl₂. As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA96 (19 mg, 72% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 296,1, encontrado: 296,1.

Síntese de 5-(4-amino-1-ciclopentil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-etoxifenol (**BA98**). Dissolveu-se 1-ciclopentil-3-(4-etoxi-3-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (ZK359, 25 mg, 0,071 mmole) em CH₂Cl₂ (5 ml) e agitou-se a -10 °C sob atmosfera de árgon. Após 30 minutos, a mistura reacional foi levada a 0 °C e agitada durante 2,5 horas. Agitou-se outras 4 horas à temperatura ambiente, concentrou-se sob vácuo e purificou-se por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA98 (3 mg, 13% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 340,1, encontrado: 340,1.

Síntese de 2-(4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-metoxifenilamino)-propan-1-ol (**BA99**). Dissolveu-se 3-(4-amino-3-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA20d) (30 mg, 0,10 mmole) em DMF (0,400 ml). Acrescentou-se K₂CO₃ (55 mg, 0,4 mmole) e a mistura reacional foi agitada a 70 °C. 3-Bromo-1-propanol (0,050 ml, 0,6 mmole) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada durante a noite. K₂CO₃ sólido foi removido por filtração e o solvente foi parcialmente removido sob vácuo. Adicionou-se citrato de sódio (50 mL) e a mistura reacional

foi extraída com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . A fase orgânica foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%) obtendo-se BA99 (8,4 mg, 24% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 357,2, encontrado: 357,1.

Síntese de 3-iodo-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA109**). Uma solução de 3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (2 g, 7,69 mmole) e K_2CO_3 (4,25 g, 30,8 mmole) em DMF (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente sob atmosfera de árgon. Adicionou-se iodometano (1,17 mL, 7,69 mmole) com uma seringa. A mistura reacional foi agitada sob atmosfera de árgon à temperatura ambiente, durante 2 horas. K_2CO_3 sólido foi removido por filtração e o solvente foi parcialmente removido sob vácuo. Acrescentou-se citrato de sódio (50 mL) e a mistura reacional foi extraída com EtOAc. A fase orgânica foi concentrada sob vácuo e purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica [$\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 5:95], obtendo-se BA109 (212 mg, 10% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 275,9, encontrado: 275,9

Esquema sintético geral para BA102, BA105-108, BA110, BA118, BA128-BA135, BA137, BA139-140, BA143, BA147, BA149-BA152, BA156, BA158, BA160-BA162. Uma solução de ácido borónico (2,5 equivalentes) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA12, 1 equivalente) em DME (6 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (15 mg, 0,15 mmole) e Na_2CO_3 saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 90 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se os produtos desejados. Os produtos foram analisados por LC-MS.

Esquema sintético geral para BA112, BA115, BA121, BA122, BA124, BA136, BA138. BA141 e BA144. Uma solução do ácido borónico (2,5 equivalentes) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 1-ciclopentil-3-iodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA80, 1 equivalente) em DME (6 mL). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (15 mg, 0,15 mmole) e Na_2CO_3 saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 90 °C sob atmosfera de árgon, durante a noite. Após

arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se os produtos desejados. Os produtos foram analisados por LC-MS.

Esquema sintético geral para BA111, BA114, BA116, BA117, BA119 e BA120. Uma solução de ácido borónico (2,5 equivalentes) em EtOH (1,65 ml) foi adicionada a uma solução de 3-iodo-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA109, 1 equivalente) em DME (6 ml). $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (15 mg, 0,15 mmole) e Na_2CO_3 saturado (0,95 mL) foram adicionados e a mistura reacional foi aquecida a 90 °C sob atmosfera de argon, durante a noite. Após arrefecimento, extraiu-se com NaCl saturado e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se os produtos desejados. Os produtos foram analisados por LC-MS.

Síntese de 6-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-quinolin-2-amina (**BA146**). 3-(2-Cloroquinolin-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA130, 50 mg, 0,15 mmole), acetamida (174 mg, 3,0 mmole) e K_2CO_3 (104 mg, 0,75 mmole) foram combinados e aquecidos a 200 °C sob atmosfera de argon durante uma hora. A mistura reacional foi arrefecida, em seguida, extraiu-se com H_2O e CH_2Cl_2 . As fases orgânicas foram combinadas, concentradas sob vácuo e purificadas por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA146 (22 mg, 46% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 320,2, encontrado: 320,4.

Síntese de 3-(3-amino-1H-indazol-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**BA154**). Dissolveu-se 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-fluorobenzonitrilo (BA150, 20 mg, 0,07 mmole) em n-BuOH (2 mL). Mono-hidrato de hidrazina (0,400 ml) foi adicionado e a mistura reacional foi aquecida a 110 °C sob atmosfera de argon e deixada sob agitação durante a noite. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se BA154 (15 mg, 70% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 309,2, encontrado: 309,4.

Síntese de 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-3-il)-2-hidroxibenzonitrilo (**BA155_2**). Dissolveu-se 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-fluorobenzonitrilo (BA150, 25 mg, 0,1 mmole) em DMF (1 mL). Acrescentou-se t-BuOK (24 mg, 0,21 mmole) e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. A mistura reacional foi então aquecida a 150 °C durante 24 horas, concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN: H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA155_2 (21 mg, 89% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 295,1, encontrado: 295,4.

Síntese de 3-(3-aminobenzo[d]isoxazol-5-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA157_2) & 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-hidroxi-benzonitrilo (**BA157_3**). Dissolveu-se 5-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2-fluorobenzonitrilo (BA151, 20 mg, 0,07 mmole) em DMF (1 mL). Acrescentou-se t-BuOK (24 mg, 0,21 mmole) e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. A mistura reacional foi então aquecida a 150 °C durante 24 horas, concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN: H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA157_2 (7 mg). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 295,1, encontrado: 295,4, e BA157_3 (8 mg), ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 310,1, encontrado: 310,4.

Síntese de 3-(3-amino-1H-indazol-6-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (BA159). Dissolveu-se 4-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-2,6-difluorobenzaldeído (BA149, 20 mg, 0,063 mmole) em n-BuOH (1 ml). Acrescentou-se mono-hidrato de hidrazina (0,400 ml) e a mistura reacional foi aquecida até 100 °C sob atmosfera de árgon e deixada sob agitação durante 2,5 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%), obtendo-se BA159 (15 mg, 77% de rendimento). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 312,1, encontrado: 312,4.

Síntese de 4-cloro-7-metil-5-(naftalen-2-il)-7H-pirrólo-[2,3-d]pirimidina (**ZK102**). Uma solução de 4-cloro-5-iodo-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidina (19 mg, 0,065 mmole), ácido naftaleno-2-il-2-borónico (12,2 mg, 0,071 mmole), Na₂CO₃

(68,9 mg, 0,65 mmole) e PdCl_2 (dppf) (26,5 mg, 0,00325 mmole) em THF (3 mL) foi aquecida durante a noite sob refluxo e atmosfera de árgon. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se ZK102 (5 mg, 26% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 294,1, encontrado: 294,3.

Síntese de 4-cloro-7-metil-5-(3-bifenil)-7H-pirrolo-[2,3-d]pirimidina (**ZK103**). Uma solução de 4-cloro-5-iodo-7-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (10 mg, 0,034 mmole), ácido 3-bifenilborónico (7,4 mg, 0,038 mmole), Na_2CO_3 (36,1 mg, 0,34 mmole) e PdCl_2 (dppf) (1,4 mg, 0,0017 mmole) em THF (10 mL) foi aquecida durante a noite sob refluxo e atmosfera de árgon. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%), obtendo-se ZK103 (3 mg, 28% de rendimento). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 320,1, encontrado: 320,0.

Síntese de 3-(4-terc-butilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK125**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(4-terc-butilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina numa solução de ácido fórmico (1 mL) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%) obtendo-se ZK125 (quant.). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 268,2, encontrado: 268,4.

Síntese de 3-(3-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK126**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(3-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,16 mmole) numa solução de ácido fórmico (5 mL) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 2,5 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$ a 0,1%). ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+$ m/z calculado: 304,1, encontrado: 304,3.

Síntese de 3-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK127**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (23 mg, 0,1 mmole) em solução de ácido fórmico (1 mL) e HCl concentrado (0,3 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 2,5 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA}$

a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 226,1, encontrado: 226,3.

Síntese de 3-(3-nitrofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK128**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(3-nitrofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (23 mg, 0,055 mmole) em solução de ácido fórmico (5 ml) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 257,1, encontrado: 257,3.

Síntese de 3-(benzo[d][1,3]dioxol-6-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK129**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(benzo[d][1,3]dioxol-6-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (21 mg, 0,082 mmole) em solução de ácido fórmico (1 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 256,1, encontrado: 256,3.

Síntese de 3-(4-nitrofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK130**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(4-nitrofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (21 mg, 0,082 mmole) em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 257,1, encontrado: 257,3.

Síntese de 3-(3-(2,6-diclorobenziloxi)-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK131**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(3-(2,6-diclorobenziloxi)-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (19,5 mg, 0,05 mmole) em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 386,1, encontrado: 386,2.

Síntese de 3-(2,3-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK132**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(2,3-

dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (34 mg, 0,14 mmole) em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 240,1, encontrado: 240,4.

Síntese de 2-(4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-fenol (**ZK133**). Dissolveu-se 1-terc-butil-2-(4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-fenol (5 mg, 0,014 mmole) em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 228,1, encontrado: 228,3.

Síntese de 3-o-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK134**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-o-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 226,1, encontrado: 226,3.

Síntese de 3-(3-aminofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK135**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(3-aminofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 227,1, encontrado: 227,3.

Síntese de 3-(3-(benziloxi)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK136**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(3-(benziloxi)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (19 mg, 0,052 mmole) em solução de ácido fórmico (1 ml) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo durante 30 min. A mistura reacional produziu uma mistura de **ZK136** e de 3-(4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)fenol (**ZK138**). A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e os produtos foram purificados por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ZK136:

ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 318,1, encontrado: 318,3. ZK138:
ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 228,1, encontrado: 228,3.

Síntese de 3-(4-aminofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK137**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(4-aminofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (9 mg, 0,032 mmole) em solução de ácido fórmico (2 ml) e HCl concentrado (0,2 mL) e aqueceu-se sob refluxo. Deixou-se a reação prosseguir por 30 minutos, concentrou-se sob vácuo e os produtos foram purificados por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 227,1, encontrado: 227,3.

Síntese de 3-(1,2,3,4-tetra-hidronaftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK139**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(1,2,3,4-tetra-hidronaftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (9 mg, 0,029 mmole) em solução de ácido fórmico (1 ml) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo. Deixou-se a reação prosseguir durante 30 minutos, concentrou-se sob vácuo e os produtos foram purificados por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 266,1, encontrado: 266,4.

Síntese de 5-iodo-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-amina (**ZK140**). Adicionou-se 4-cloro-5-iodo-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidina (90 mg, 0,31 mmole) em NH₃ 7N/MeOH e aqueceu-se num tubo fechado a 110 °C, durante a noite. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo, obtendo-se um sólido castanho/esbranquiçado.

Síntese de 3-p-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK141**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-p-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina em solução de ácido fórmico (1 ml) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo. Deixou-se a reação prosseguir durante 30 minutos, concentrou-se sob vácuo e os produtos foram purificados por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 226,1, encontrado: 226,3.

Síntese de 3-(4-bifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK142**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(4-bifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (22 mg, 0,066 mmole) em solução de ácido fórmico (1 ml) e HCl concentrado (0,1 mL) e

aqueceu-se sob refluxo. Deixou-se a reação prosseguir durante 30 minutos, concentrou-se sob vácuo e os produtos foram purificados por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 288,1, encontrado: 288,3.

Síntese de 3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]-pirimidin-4-amina (**ZK143**). Dissolveu-se 1-terc-butil-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (19 mg, 54,1 mmole) em solução de ácido fórmico (1 ml) e HCl concentrado (0,1 mL) e aqueceu-se sob refluxo. Deixou-se a reação prosseguir durante 30 minutos, concentrou-se sob vácuo e os produtos foram purificados por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 304,1, encontrado: 304,3.

Síntese de 1-benzil-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK147**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (110 mg, 0,42 mmole) em DMF (2 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (220 mg, 1,6 mmole) e brometo de benzilo (71,8 mg, 0,42 mmole). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, depois foi arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração e, em seguida, foi purificado adicionalmente por cromatografia em gel de sílica (5% de MeOH/ CH₂Cl₂), obtendo-se um sólido branco.

Síntese de 5-(4-(benziloxi)fenil)-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-amina (**ZK150**). Uma solução de 5-iodo-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-amina (5 mg, 0,018 mmole), ácido 4-(benziloxi)fenilborónico (21 mg, 0,091 mmole), K₃PO₄ (19,3 mg, 0,091 mmole) e Pd(PPh₃)₄ (12,5 mg, 0,011 mmole) em DMF (3 mL) foi aquecida a 60 °C sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 331,1, encontrado: 331,3.

Síntese de 5-(3-bifenil)-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-amina (**ZK151**). Uma solução de 5-iodo-7-metil-7H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-amina (5 mg, 0,018 mmole), ácido 3-bifenilborónico (18 mg, 0,091 mmole), K₃PO₄ (19,3 mg, 0,091 mmole) e Pd(PPh₃)₄ (12,5 mg, 0,011 mmole) em DMF (3 mL) foi aquecida a 60 °C sob atmosfera de árgon. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC

(MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 301,1, encontrado: 301,3.

Síntese de 5-(benzo[b]tiofen-2-il)-7-metil-7H-pirrólo [2,3-d]pirimidin-4-amina (**ZK152**). Uma solução de 5-iodo-7-metil-7H-pirrólo [2,3-d]pirimidin-4-amina (5 mg, 0,018 mmole), ácido benzo[b]tiofen-2-il-2-borónico (16 mg, 0,091 mmole), K₃PO₄ (19,3 mg, 0,091 mmole) e Pd(PPh₃)₄ (12,5 mg, 0,011 mmole) em DMF (3 mL) foi aquecida a 60 °C sob atmosfera de argon. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e purificada por RP-HPLC (MeCN:H₂O:TFA a 0,1%). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 281,1, encontrado: 281,3.

Síntese de 3-(naftalen-2-il)-1-fenetil-1H-pirazolo-[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK155**). Dissolveu-se 2-(metoxi-(naftalen-6-il)metileno), malononitrilo (100 mg, 0,43 mmole) e cloreto de hidrogénio de fenetil-hidrazina (58,5 mg, 0,43 mmole) em EtOH (3 mL) e TEA (60 µL, 0,43 mmole) e aqueceu-se ao refluxo durante uma hora. O produto foi extraído com éter dietílico e concentrado sob vácuo. Este concentrado foi em seguida dissolvido em formamida (10 mL) e aquecido a 160-180 °C durante a noite. No dia seguinte, a mistura reacional foi arrefecida, vertida em água e o produto precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 366,2, encontrado: 366,2.

Síntese de 1-isopropil-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK156**). Dissolveu-se 2-(metoxi(naftalen-6-il)metileno)malononitrilo (100 mg, 0,43 mmole) e isopropil-hidrazina HCl (47,3 mg, 0,43 mmole) em EtOH (3 mL) e TEA (1 eq.) e aqueceu-se ao refluxo durante uma hora. O produto foi extraído com éter dietílico e concentrado sob vácuo. Este concentrado foi em seguida dissolvido em formamida (10 mL) e aquecido a 160-180 °C durante a noite. No dia seguinte, a mistura reacional foi arrefecida, vertida em água e o produto precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 304,2, encontrado: 304,2.

Síntese de 1-etil-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK157**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (100 mg, 0,42 mmole) em DMF (3 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (220 mg, 1,6 mmole) e iodeto de

etilo (37 μ l, 0,46 mmole). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 290,1, encontrado: 290,2.

Síntese de 1-ciclopentil-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK158**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (100 mg, 0,42 mmole) em DMF (3 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (220 mg, 1,6 mmole) e brometo de ciclopentilo (49,5 μ l, 0,46 mmole). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 330,2, encontrado: 330,2.

Síntese de 1-alil-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK159**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,21 mmole) em DMF (1,5 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (110 mg, 0,8 mmole) e iodeto de alilo (23 μ l, 0,25 mmole). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 302,1, encontrado: 302,2.

Síntese de 2-(4-amino-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)acetamida (**ZK162**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,21 mmole) em DMF (1,5 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (110 mg, 0,8 mmole) e iodoacetamida (46 mg, 0,25 mmole). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 319,1, encontrado: 319,2.

Síntese de 1-(ciclopropilmetil)-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK165**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,21 mmole) em DMF (1,5 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (110 mg, 0,8 mmole) e brometo de ciclopropilmetilo (22 μ l, 0,25 mmole). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi

depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 316,2, encontrado: 316,2.

Síntese de 1-isopentil-3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK161**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,21 mmole) em DMF (1,5 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (110 mg, 0,8 mmole) e brometo de isobutilo. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 332,2, encontrado: 332,3.

Síntese de 3-(naftalen-2-il)-1-((E)-3-fenil-prop-1-enil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK167**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,21 mmole) em DMF (1,5 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (110 mg, 0,8 mmole) e 1-(E)-3-bromoprop-1-enil)benzeno. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 378,2, encontrado: 378,2.

Síntese de 3-(naftalen-2-il)-1-(prop-2-inil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK168**). Dissolveu-se 3-(naftalen-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 0,21 mmole) em DMF (1,5 mL) e adicionou-se K₂CO₃ (110 mg, 0,8 mmole) e brometo de propargilo. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C durante a noite, foi depois arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em água (30 ml). O precipitado foi recolhido por filtração. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 300,1, encontrado: 300,2.

Síntese de cloreto de 3-etoxi-4-metoxibenzoílo (**ZK299**). Ácido 3-etoxi-4-metoxibenzóico (5 g, 25,5 mmole) foi adicionado a uma solução de CH₂Cl₂ (40 mL) e benzeno (20 mL) num balão seco à chama de fundo redondo e 150 mL. DMF anidro (9 gotas) foi adicionado e a solução foi arrefecida em gelo. Acrescentou-se cloreto de oxalilo (11 mL, 128 mmole) gota a gota e deixou-se a mistura reacional aquecer até à temperatura ambiente. A mistura reacional foi agitada à

temperatura ambiente durante 90 minutos, foi depois concentrada sob vácuo, obtendo-se um sólido esbranquiçado. O sólido foi colocado numa linha de alto vácuo durante 2 horas, e foi levado para a etapa seguinte sem caracterização adicional.

Síntese de 2-((3-etoxi-4-metoxifenil)(hidroxi)metileno)malononitrilo (**ZK301**). Adicionou-se NaH (2,2 g, 56 mmole, dispersão a 60% em óleo de parafina) a uma solução de malononitrilo (1,85 g, 28 mmole) em THF (30 ml) e em gelo. Cloreto de 3-etoxi-4-metoxibenzoílo (25,5 mmole) foi dissolvido em THF (50 mL) e adicionado gota a gota à primeira solução, por meio de uma seringa e a 0 ° C. O gelo foi então removido e a mistura reacional foi deixada prosseguir à temperatura ambiente durante 60 min. HCl 1 N (100 mL) foi adicionado e a solução foi extraída três vezes com EtOAc. A fase orgânica foi seca com MgSO₄, Filtrou-se e concentrou-se sob vácuo, obtendo-se um sólido laranja que foi usado na etapa seguinte sem caracterização adicional.

Síntese de 2-((3-etoxi-4-metoxifenil)(metoxi)metileno)malononitrilo (**ZK302**). 2-((3-Etoxi-4-metoxifenil)(hidroxi)metileno)malononitrilo (25,5 mmole) e bicarbonato de sódio (17 g, 204 mmole) foram combinados numa solução de 1,4-dioxano (48 mL) e água (8 ml). Dimetilsulfato (17 ml, 178 mmole) foi lentamente adicionado e a mistura reacional foi aquecida a 80-90 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, adicionou-se água e a fase aquosa foi extraída três vezes com EtOAc (200 mL). As fases orgânicas foram combinadas, secas com MgSO₄ e filtradas, obtendo-se um óleo vermelho. O óleo foi purificado por cromatografia em gel de sílica (EtOAc a 10%/Hexana, R_f~0,1), obtendo-se um sólido branco (3,59 g, 54,5% de rendimento ao longo de três passos). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 259,1, encontrado: 259,0.

Síntese de 5-amino-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazole-4-carbonitrilo (**ZK303**). 2-((3-Etoxi-4-metoxifenil)(metoxi)metileno)malononitrilo (200 mg, 0,78 mmole), isopropil-hidrazina HCl (86 mg, 0,78 mmole), e trietilamina (0,10 mL, 0,78 mmole) foram combinados em etanol (5 mL) e aqueceu-se ao refluxo durante 90 minutos. A mistura

reacional foi então arrefecida até à temperatura ambiente, adicionou-se água e a fase aquosa foi extraída três vezes com EtOAc. A fase orgânica foi concentrada e levada para a etapa seguinte sem mais caracterização. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 301,1, encontrado: 301,0

Síntese de 3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (**ZK305**). Dissolveu-se 5-amino-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1-isopropil-1H-pirazole-4-carbonitrilo em formamida (20 mL) e aqueceu-se a 180 °C durante a noite. No dia seguinte, a mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, acrescentou-se água e o precipitado foi recolhido por filtração. O precipitado foi dissolvido em CH₂Cl₂/MeOH e passado através de um tampão de sílica. O produto foi então liofilizado em benzeno, obtendo-se um sólido esbranquiçado (48 mg, 19% para os dois passos). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 328,2, encontrado: 328,0.

Síntese de 5-amino-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1-(2-hidroxietil)-1H-pirazole-4-carbonitrilo (**ZK304**). Combinou-se 2-((3-etoxi-4-metoxifenil)(metoxi)metileno)malononitrilo (200 mg, 0,78 mmole), 2-hidroxietil-hidrazina (0,056 mL, 0,78 mmole) e trietilamina (0,10 mL, 0,78 mmole) em etanol (5 mL) e aqueceu-se ao refluxo durante 90 minutos. A mistura reacional foi então arrefecida até à temperatura ambiente, acrescentou-se água e a fase aquosa foi extraída três vezes com EtOAc, CH₂Cl₂ e CHCl₃. A fase orgânica foi concentrada e levada para a etapa seguinte sem mais caracterização. ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 303,1, encontrado: 303,0.

Síntese de 2-(4-amino-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il)etanol (**ZK306**). Dissolveu-se 5-amino-3-(3-etoxi-4-metoxifenil)-1-(2-hidroxietil)-1H-pirazole-4-carbonitrilo em formamida (20 mL) e aqueceu-se a 180 °C durante a noite. No dia seguinte, a mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, acrescentou-se água, e o precipitado foi recolhido por filtração. O precipitado foi dissolvido em CH₂Cl₂/MeOH e passado através de um tampão de sílica. O produto foi então liofilizado em benzeno, obtendo-se um sólido castanho (6,4 mg, 2,5% para os dois passos). ESI-MS (M+H)⁺ m/z calculado: 330,1, encontrado: 330,0.

B. Estudos Estruturais

Foram divulgadas estruturas cristalinas da p110 γ tanto na sua forma isolada como em complexo com ATP ou com inibidores de especificidade geral, tais como LY294002 e wortmanina (Walker et al, 2000; Walker et al, 1999). A fim de investigar a seletividade e a potência de ligação dos inibidores, foram determinadas, com uma resolução de 2,5-2,6 Å, as estruturas cristalinas de três quimiotipos de inibidores da PI3-K ligados a p110 γ humana: o PIK-39 de quinazolina-purina, o PIK-90 de imidazopiridina e o PIK-93 de feniltiazol (Figura 2).

Com base nestas estruturas de co-cristal e um modelo farmacofórico estabelecido de arilmorfolina, modelos estruturais foram gerados para três quimiotipos adicionais ligados a p110 γ : o PI-103 de piridinilfuranopirimidina, o PIK-108 de morfolinocromona e o KU-55933 de morfolinopiranona (Figura 2). A construção de modelos para estes inibidores foi orientada pela observação de que cada composto contém o farmacóforo principal de arilmorfolina encontrado em LY294002.

O PIK-39 é uma isoquinolina-purina que inibe a p110 δ a concentrações médias nanomolares e a p110 γ e a p110 β a concentrações ~100 vezes superior. Além disso, não apresenta atividade contra qualquer outro membro da família PI3-K, inclusive contra a p110 α , em concentrações de até 100 μ M (Figura 5). A seletividade bioquímica deste composto é alcançada através de um modo de ligação invulgar, o qual se revela na sua estrutura de co-cristal com p110 γ (Figura 2C). Apenas a porção de mercaptopurina do PIK-39 estabelece contatos no interior da cavidade de ligação do ATP, e este sistema de anel está rodado ~110 ° e torcido ~35 ° para fora do plano em relação à adenina do ATP. Nesta orientação, satisfaz as pontes de hidrogénio com as amidas da estrutura principal de Val 882 e de Glu 880 (reforçando assim as pontes de hidrogénio feitas por N1 e N6 da adenina).

Em contraste com outras estruturas inibidoras da PI3-quinase, o PIK-39 não acede à cavidade mais profunda no

interior do local ativo (Figura 2C, área levemente sombreada identificada como "Cavidade de afinidade"). Em vez disso, a porção aril-isoquinolina do PIK-39 prolonga-se para a entrada da cavidade de ligação do ATP (Figura 2B). Nesta região, a quinase acomoda o inibidor mediante um rearranjo conformacional, em que Met 804 muda de uma posição "em cima", na qual forma o teto da cavidade de ligação do ATP, para uma posição "em baixo", em que se comprime contra o fragmento de isoquinolina. O efeito deste movimento, que é único à estrutura do 39 PIK (Figura 2B), é o de criar uma nova cavidade hidrofóbica entre Met 804 e Trp 812 à entrada do local de ligação do ATP. Esta cavidade de ajuste induzido oclui $\sim 180 \text{ \AA}^2$ de área superficial do inibidor acessível ao solvente, permitindo o PIK-39 alcançar afinidade a nível nanomolar apesar do contato limitado no interior do núcleo do sítio ativo.

Foram determinadas as estruturas de co-cristal dos compostos de PIK-90 e PIK-93 ligados a p110 γ . Tanto PIK-90 como PIK-93 estabelecem uma ponte de hidrogénio com o azoto da amida da estrutura principal de Val 882 (Figura 2D), que é uma interação conservada entre todos os conhecidos inibidores da PI3-K (Walker et al., 2000). Além desta ponte de hidrogénio, o PIK-93 faz uma segunda ponte de hidrogénio com o carbonilo da estrutura principal de Val 882 e uma terceira entre o seu fragmento de sulfonamida e a cadeia lateral de Asp 964. O PIK-93 é um dos inibidores mais polares do nosso painel (clogP = 1,69), e estas interações polares alongadas podem compensar a sua limitada área de superfície hidrofóbica.

O PIK-90 liga-se de modo semelhante ao PIK-93, embora este composto de maior dimensão estabeleça interações hidrofóbicas mais extensas, ocluindo 327 \AA^2 da área superficial acessível ao solvente. Para conseguir isso, o PIK-90 projeta o seu anel de piridina para uma cavidade mais profunda, que é parcialmente acedida pelo PIK-93 mas que não está ocupada por ATP (Figura 2D, círculo levemente sombreado). Nesta região, o anel de piridina do PIK-90 está pronto para fazer uma ponte de hidrogénio com a Lys 833, e nós constatámos que a substituição deste azoto da piridina por carbono resulta numa perda de afinidade de 100 vezes

(PIK-95, Figura 4). O PI-103, um terceiro inibidor multialvos da PI3-quinase, projeta um fenol para a mesma cavidade de acordo com um modelo farmacofórico de arilmorfolina (Figura 2D).

Duas características estruturais distinguem estes potentes inibidores multialvos dos compostos mais seletivos do nosso painel. Em primeiro lugar, estes compostos adotam uma conformação plana na cavidade de ligação do ATP, enquanto os inibidores altamente seletivos projetam-se para fora do plano ocupado pelo ATP (Figura 2). Em segundo lugar, os inibidores mais potentes projetam-se para uma cavidade de ligação mais profunda, que não é acedida pelo ATP (Figura 2A). Grande parte da superfície desta cavidade de afinidade é devida à cadeia lateral da Ile 879.

A mercaptopurina na estrutura do PIK-39 foi substituída por adenina, obtendo-se um modelo de IC87114 (Figura 3A). Esta substituição proporcionou à adenina de IC87114 a orientação correta para estabelecer as mesmas pontes de hidrogénio que a mercaptopurina do PIK-39, apesar de estes dois sistemas de anéis terem uma rotação de 110 ° em relação um ao outro.

Ao contrário de outros quimiotipos de inibidores, o PIK-39 não explora a cavidade de afinidade da PI3-quinase (Figura 2C). O análogo de pirazolopirimidina de IC87114, PIK-293, bem como um novo análogo constituído por um m-fenol, PIK-294 (Figura 3A) foram então testados quanto à inibição da classe I das PI3-quinases. O PIK-294 era até 60 vezes mais potente do que o PIK-293 (Figura 3A).

A estrutura do PIK-39 ligado a p110 γ revela um rearranjo conformacional de Met 804 em que é criada uma cavidade induzida, e nós pensamos que esse rearranjo conformacional é responsável pela seletividade de PIK-39 por p110 δ . Este modelo prevê que a mutação do Met 804 romperá a ligação dos inibidores seletivos da p110 δ (que têm acesso a esta cavidade), mas não afeta as outras classes de inibidores (que não acedem a esta cavidade). A modelação sugere que a mutação de Met 804 para um aminoácido ramificado em β (tal como valina ou isoleucina) deve restringir a cavidade formada

pelo rearranjo desse resíduo (Figura 3B, à direita). Por essa razão, o correspondente resíduo da p110 δ (Met 752) foi mutado para valina ou isoleucina e estas quinases foram expressadas, purificadas e testadas quanto à sua sensibilidade para inibidores da PI3-quinase (Figura 3B). Foi constatado que as p110 δ de M752I e M752V são resistentes aos inibidores PIK-39 e IC87114 seletivos para a p110 δ , mas retêm a sensibilidade aos inibidores multialvos PIK-90, PIK-93, e PI-103 da p110 α . Esta resistência específica para quimiotipos substantia o papel único de Met 752 em "gating" uma cavidade de seletividade induzida.

A modelação antagonista foi realizada com o PyMOL Molecular Graphics System. Todas as estruturas de cristal da p110 γ (códigos PDB em parênteses), incluindo Apo (1E8Y), ATP (1E8X), wortmanina (1E7U), LY294002 (1E7V), quercetina (1E8W), miricetina (1E90) e estaurosporina (1E8Z), as formas ligadas a PIK-90, PIK-39 e PIK-93 foram estruturalmente alinhadas com a função de alinhamento do PyMOL. Os modelos para os inibidores PIK-108, KU-55933 e PI-103 foram desenvolvidos a partir da estrutura principal de arilmorfolina do LY294002 (1E7V), utilizando a função de construção de fragmentos do PyMOL. Um modelo para o inibidor IC87114 foi construído de forma semelhante, a partir da estrutura principal de aril-isoquinolina do PIK-39.

O modelo para o PI-103 foi desenvolvido para a estrutura proteica de p110 γ ligada a PIK-90, porque a estrutura do PIK-90 contém a cavidade de afinidade alargada que é necessária para acomodar o fragmento fenólico do PIK-103 (a estrutura da p110 γ ligada ao PIK-90, pelo contrário, não apresenta quaisquer diferenças conformacionais na região de ligação a arilmorfolina em comparação com a estrutura da p110 γ ligada a LY294002). Os modelos de PIK-108, KU-55933, e IC87114 foram desenvolvidos para a estrutura proteica da p110 γ ligada ao PIK-39, porque estes inibidores possuem grupos volumosos que se projetam para o exterior do plano da adenina e têm condições para explorar a especial cavidade de ajuste induzido "Met 804 em baixo". Em todos os modelos de inibidores, a escolha da estrutura proteica e o modo de ligação ao inibidor baseia-se em extensos estudos bioquímicos de SAR, bem como na geometria do inibidor. As estruturas

proteicas e os modelos de inibidores não foram minimizados a fim de otimizar a energia de ligação, mas tomou-se cuidado para evitar confrontos estereoquímicos óbvios e para satisfazer as principais pontes de hidrogénio.

C. Teste com p110 α /p85 α , p110 β /p85 α , p110 δ /p85 α e p110 γ

A classe I das PI3-quinases foi adquirida (p110 α /p85 α , p110 β /p85 α , p110 δ /p85 α da Upstate e p110 γ da Sigma) ou expressa como anteriormente descrito (Knight et al., 2004). Os valores de CI₅₀ foram determinados ou por cromatografia de camada fina (TLC) para a atividade da lípido-quinase (descrito a seguir), ou por uma análise de captura de membrana de alto rendimento. As reações da quinase foram levadas a cabo com uma mistura reacional preparada com quinase, inibidor (concentração final de DMSO de 2%), tampão (HEPES 25 mM, pH 7,4, MgCl₂ 10 mM), e fosfatidilinositol submetido recentemente a sonicação (100 μ g/ml). As reações foram iniciadas pela adição de ATP contendo 10 μ Ci de γ -³²P-ATP até uma concentração final de 10 ou 100 μ M, tal como indicado na Figura 5, e foram deixadas prosseguir durante 5 minutos à temperatura ambiente. Para a análise de TLC, as reações foram então terminadas pela adição de 105 μ l de HCl 1N, seguido de 160 μ l de CHCl₃:MeOH (1:1). A mistura bifásica foi agitada em vórtice, centrifugada por curto tempo, e a fase orgânica foi transferida para um tubo novo com a ponta de uma pipeta de transferência para gel pré-revestida com CHCl₃. Este extrato foi transferido por pontos para placas de TLC e deixado a desenvolver durante 3 a 4 horas numa solução 65:35 de n-propanol:ácido acético 1M. As placas de TLC foram então secas, expostas a uma tela de Phosphorimager (Storm, Amersham) e contadas. Para cada composto, a atividade da quinase foi medida a 10-12 concentrações de inibidor, representando diluições de duas vezes, desde a concentração mais elevada testada (normalmente, de 200 μ M). Para os compostos que apresentavam uma atividade significativa, as determinações de CI₅₀ foram repetidas entre duas e quatro vezes, sendo o valor registado a média destas medições independentes.

Os resultados estão apresentados a seguir na Tabela 2.

D. Teste com Abl

Os inibidores (concentração final: 10 μ M) foram testados em triplicado relativamente a Abl recombinante de comprimento inteiro ou Abl (T315I) (Upstate) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, ATP 200 μ M (2,5 μ Ci de γ - ^{32}P -ATP) e 0,5 mg/mL de BSA. O substrato peptídico otimizado para Abl, EAIYAAPFAKKK, foi utilizado como local de fosforilação (200 μ M). Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de fosfocelulose, as quais foram lavadas com ácido fosfórico a 0,5% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 3 adiante.

E. Teste com Hck

Hck: Os inibidores (concentração final: 10 μ M) foram testados em triplicado relativamente a Hck recombinante de comprimento inteiro numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, ATP 200 μ M (2,5 μ Ci de γ - ^{32}P -ATP) e 0,5 mg/mL de BSA. O otimizado substrato peptídico da quinase da família Src, EIYGEFKKK, foi utilizado como local de fosforilação (200 μ M). Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de fosfocelulose, as quais foram lavadas com ácido fosfórico a 0,5% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 3 adiante.

F. Teste com o recetor de insulina (RI)

Os inibidores (concentração final: 10 μ M) foram analisados em triplicado relativamente ao domínio quinase do recetor de insulina recombinante (Upstate) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, $MnCl_2$ 10 mM, ATP 200 μ M (2,5 μ Ci de γ - ^{32}P -ATP), e 0,5 mg/mL de BSA. Poli E-Y (Sigma, 2 mg/mL) foi utilizado como substrato. Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de

nitrocelulose, as quais foram lavadas com NaCl 1M/ácido fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante.

G. Teste com Src

Src, Src (T338I): Os inibidores (concentração final: 10 μ M) foram testados em triplicado relativamente a Src recombinante de comprimento inteiro ou Src (T338I) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, ATP 200 μ M (2,5 μ Ci de γ - ^{32}P -ATP) e 0,5 mg/mL de BSA. O otimizado substrato peptídico da quinase da família Src, EIYGEFKKK, foi utilizado como local de fosforilação (200 μ M). Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de fosfocelulose, as quais foram lavadas com ácido fosfórico a 0,5% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 3 adiante.

H. Teste com DNA-PK (DNAK)

DNA-PK foi adquirido de Promega e analisado com o DNA-PK Assay System (Promega) de acordo com as instruções do fabricante.

Os resultados apresentam-se na Tabela 2.

I. Teste com mTOR

Os inibidores (concentração final de 50 μ M-0,003 μ M) foram testados relativamente a mTOR recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 50 mM, pH 7,5, EGTA 1 mM, $MgCl_2$ 10 mM, 2,5 mM, Tween a 0,01%, ATP 10 μ M (2,5 μ Ci de μ - ^{32}P -ATP), e 3 μ g/mL de BSA. PHAS-1/4EBP1 (Calbiochem, 2 mg/mL) recombinante de rato foi utilizado como substrato. Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de nitrocelulose, as quais foram lavadas com NaCl 1M/ácido

fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante.

J. Teste com o recetor do fator de crescimento do endotélio vascular

Receptor do fator de crescimento do endotélio vascular 2(KDR): Os inibidores (concentração final de 50 μ M a 0,003 μ M) foram testados relativamente ao domínio quinase do recetor KDR recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, BME a 0,1%, ATP 10 μ M (2,5 μ Ci de μ -32P-ATP), e 3 μ g/mL de BSA. Poli E-Y (Sigma, 2 mg/mL) foi utilizado como substrato. Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de nitrocelulose, as quais foram lavadas com NaCl 1M/ácido fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 3 adiante.

K. Teste com o recetor B4 da epinefrina (EphB4)

Os inibidores (concentração final de 50 μ M a 0,003 μ M) foram testados relativamente ao domínio quinase do recetor B4 da epinefrina (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, BME a 0,1%, ATP 10 μ M (2,5 μ Ci de μ -32P-ATP), e 3 μ g/mL de BSA. Poli E-Y (Sigma, 2 mg / mL) foi utilizado como substrato. Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas nitrocelulose, que foram lavadas com NaCl 1M/ácido fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 3 adiante.

L. Teste com o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR)

Os inibidores (concentração final de 50 μM a 0,003 μM) foram testados relativamente ao domínio quinase do recetor EGF recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, MgCl_2 10 mM, BME a 0,1%, ATP 10 μM (2,5 μCi de $\mu\text{-}^{32}\text{P}$ -ATP), e 3 $\mu\text{g/mL}$ de BSA. Poli E-Y (Sigma, 2 mg/mL) foi utilizado como substrato. Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de nitrocelulose, que foram lavadas com NaCl 1M/ácido fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 3 adiante.

M. Teste com KIT

Os inibidores (concentração final de 50 μM a 0,003 μM) foram testados relativamente ao domínio quinase de KIT recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, MgCl_2 10 mM, DTT 1mM, MnCl_2 10 mM, ATP 10 μM (2,5 μCi de $\mu\text{-}^{32}\text{P}$ -ATP), e 3 $\mu\text{g/mL}$ de BSA. Poli E-Y (Sigma, 2 mg/L) foi utilizado como substrato. Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de nitrocelulose, que foram lavadas com NaCl 1M/ácido fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5-10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante.

N. Teste com RET

Os inibidores (concentração final de 50 μM a 0,003 μM) foram testados relativamente ao domínio quinase de RET recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, MgCl_2 10 mM, DTT 2,5 mM, ATP 10 μM (2,5 μCi de $\mu\text{-}^{32}\text{P}$ -ATP), e 3 $\mu\text{g/mL}$ de BSA. O substrato peptídico otimizado para Abl, EAIYAAPFAKKK, foi utilizado como local de fosforilação (200 μM). Terminou-se a reação transferindo por

pontos para folhas de fosfocelulose, as quais foram lavadas com ácido fosfórico a 0,5% (cerca de 6 vezes, cada 5-10 minutos). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante.

O. Teste com o recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR)

Os inibidores (concentração final de 50 μ M a 0,003 μ M) foram testados relativamente ao domínio quinase do recetor PDG recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, DTT 2,5 mM, ATP 10 μ M (2,5 μ Ci de μ -32P-ATP), e 3 μ g/mL de BSA. O substrato peptídico otimizado para Abl, EAIYAAPFAKKK, foi utilizado como local de fosforilação (200 μ M). Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de fosfocelulose, as quais foram lavadas com ácido fosfórico a 0,5% (cerca de 6 vezes, cada 5-10 minutos). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante.

P. Teste com tirosina-quinase 3 (FLT-3) semelhante a FMS

Os inibidores (concentração final de 50 μ M a 0,003 μ M) foram testados relativamente ao domínio quinase da FLT-3 recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM, DTT 2,5 mM, ATP 10 μ M (2,5 μ Ci de μ -32P-ATP), e 3 μ g/mL de BSA. O substrato peptídico otimizado para Abl, EAIYAAPFAKKK, foi utilizado como local de fosforilação (200 μ M). Terminou-se a reação transferindo por pontos para folhas de fosfocelulose, as quais foram lavadas com ácido fosfórico a 0,5% (cerca de 6 vezes, 5 a 10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioatividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante

Q. Teste da tirosina-quinase do recetor TEK (TIE2)

Os inibidores (concentração final de 50 μM a 0,003 μM) foram testados relativamente ao domínio quinase de TIE2 recombinante (Invitrogen) numa solução de ensaio contendo HEPES 25 mM, pH 7,4, MgCl_2 10 mM, DTT 2mM, MnCl_2 10 mM, ATP 10 μM (2,5 μCi de $\mu\text{-}^{32}\text{P}$ -ATP), e 3 $\mu\text{g/mL}$ de BSA. Poli E-Y (Sigma, 2 mg/mL) foi utilizado como substrato. Terminou-se a reacção transferindo por pontos para folhas de nitrocelulose, que foram lavadas com NaCl 1M/ácido fosfórico a 1% (cerca de 6 vezes, 5 a 10 minutos de cada vez). As folhas foram secas e a radioactividade transferida foi quantificada por imagiologia com fósforo.

Os resultados apresentam-se na Tabela 4 adiante.

R. Resultados

Na Tabela 1, os compostos possuem a fórmula:



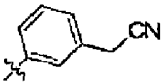


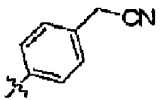



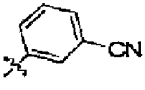
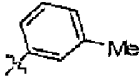

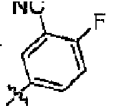
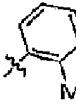

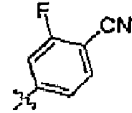
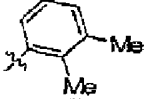

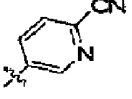
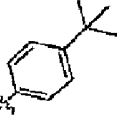



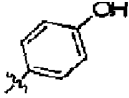

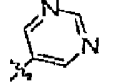
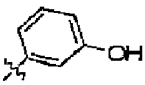

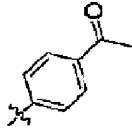

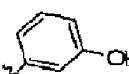

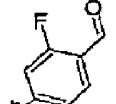

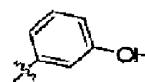

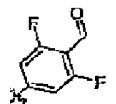

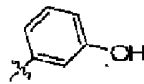

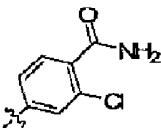

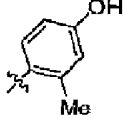

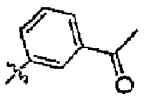


(I).

R^1 e R^2 são como definidos na Tabela 1, X é =N- salvo indicação em contrário e R^{36} é $-\text{NH}_2$ salvo indicação em contrário.

Os exemplos de referência que não se situam no âmbito de aplicação da invenção, estão indicados por *.

Tabela 1


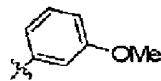

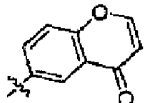

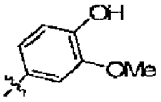

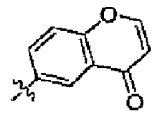
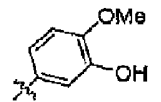

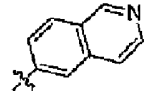
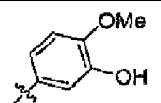

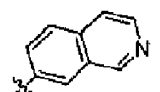

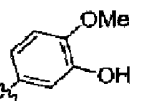

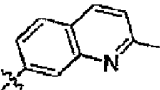

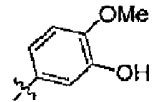
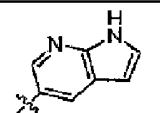

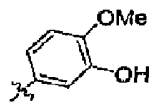

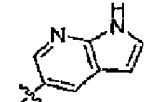

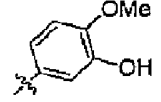

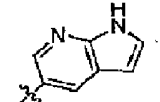

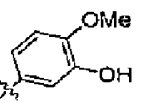

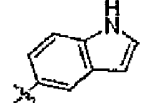

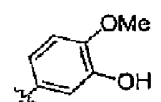

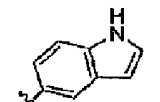

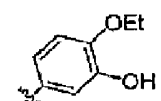

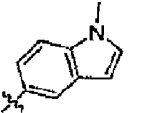

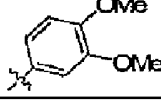

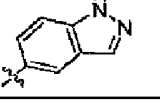

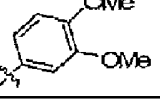

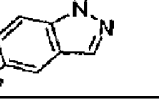
Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* KS167	-H		* BA46		
* ZK141	-H		* BA45		
* KS84			* BA39		
* ZK127	-H		* BA150		
* ZK134	-H		* BA151		
* ZK132	-H		BA21		
* ZK125	-H		* BA52		
BA56			BAS3		
* ZK138	-H		* BA31		
* KS287	 X = CH		* BA152		
* KS288	 R ³⁸ is N-Methyl		* BA149		
* KS284			* BA32		
* BA60			* BA55		

Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* ZK318	-H		* BA35		
* ZK320	-H		* BA34		
* ZK333	-Me		* BA38		
* ZK323			* BA40		
* ZK327			* BA41		
* BA77d			* BA14		
* BA78d			* BA12		-I
* BA22			* BA30		
* BA79d			* ZK149	-H	
* BA85			* ZK126	-H	
* BA87			* ZK143	-H	
* ZK502			* ZK150	-Me	
				X=CH	

Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* ZK489	-Me		* ZK136	-H	
* ZK487			* ZK131	-H	
* Zk491			* ZK151	-Me	
				X=CH	
* Zk493			* ZK142	-H	
* BA62d			* ZK139	-H	
* ZK450			* KS207	-H	
* ZK454			* KS208	-Me	
* ZK469			* ZK102	-Me	
				(R ³⁸ ≠ Cl)	
* ZK471			* ZK167		
* ZK461			* ZK159		
* ZK413			* ZK156		
* ZK379			* KS63		
* ZK421			* ZK158		
* ZK403			* ZK147		

Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* ZK405			* ZK155		
* ZK432			* ZK162		
* ZK434			* ZK165		
* ZK465			* ZK161		
* ZK377			* ZK167		
* ZK399			* ZK168		
* ZK401			* BA116	-Me	
* BA62			* BA17		
* ZK358			BA134		
* ZK452			* BA105		
* ZK456			* BA122		
* ZK463			* BA111	-Me	
* ZK371			* BA102		
* ZK409			* BA112		

Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* ZK428			* BA118		
* ZK430			BA130		
* ZK387			* BA132		
* ZK389			* BA139		
* ZK369			BA158		
* ZK385			BA140		
* ZK391			BA141		
BA155 2			BA146		
* BA157 2			* BA142		
* BA59			* BA145		
BA63			BA147		
* BA93			BA148	-Me	

Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
BA49			BA143		
* BA15			BA144		
* ZK321	-H		* BA129		
* ZK337	-Me		* BA131		
* ZK347			* BA133		
* ZK325			* BA120	-Me	
* ZK349			* BA108		
* ZK423		 BA121	* BA121		
* ZK411			* BA89		
* ZK407			* BA94		
* BA98			* BA135		
* BA23			* BA137		
* ZK485			* BA138		

Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* ZK495			BA160		
* ZK486			BA157 3		
* ZK494			BA154		
* BA90			* BA110		
* ZK341	-H		* BA115		
* ZK343			BA159		
ZK361			* BA119	-Me	
* ZK359			* BA107		
* ZK362			* BA124		
* BA64			* BA161		
* BA65			* BA162		
* ZK305			BA24dd		
* ZK306			* BA43		
BA66			* BA91		


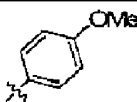

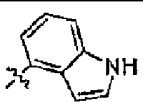
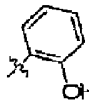

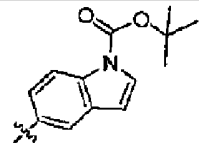

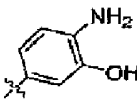

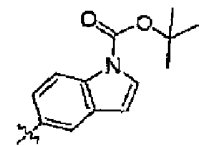

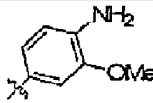

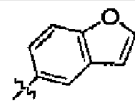

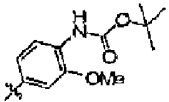

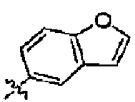

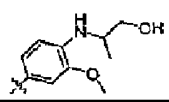

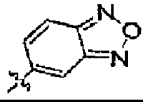

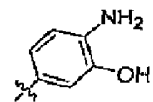

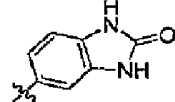

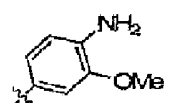

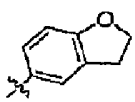
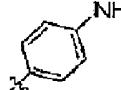
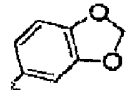
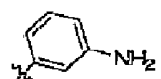

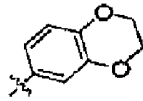
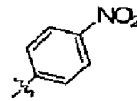
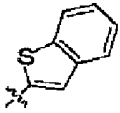
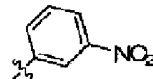

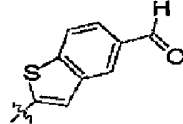

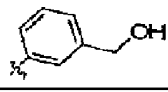
Cpd	R1	R2	Cpd	R1	R2
* BA48			* BA92		
* ZK133	-H		* BA86		
* BA20dd			* BA88		
* BA20d			* BA96		
* BA20			* BA97		
* BA99			* BA44		
* BA81dd			BA156		
* BA81d			* BA95		
* ZK137	-H		* ZK129	-Me X= CH	
* ZK135	-H		* BA54		
* ZK130	-H		* ZK152	-Me	
				X=CH	
* ZK128	-H		* BA42		
* BA26					

Tabela 2

Cpd	110 α	110 β	110 δ	110 γ	DPK	Cpd	110 α	110 β	110 δ	110 γ	DPK
KS167	++	+	++	++	++	BA46	++	++	+++	++	+++
ZK141	++	++	++	++	+++	BA45	++	+	++	++	++
KS84	++	+	++	+	+++	BA39	++		+++	++	++
ZK127	++	++	++	++	+++	BA150	++	+	++	++	++
ZK134	++	+	++	++	+++	BA151	++	+	++	++	++
ZK132	++	++	++	++	+++	BA21	++	++	++		++
ZK125	++	+	++	++	+++	BA52	++	++	++	++	++
BA56	+++	+++	+++	+++	+++	BA53	++	+	+	+	++
ZK138	++	++	++	++	+++	BA31	++	++	+++	+++	++
KS287	++	++	++	++	++	BA152	++	++	+++	++	+++
KS288		+	+	+	+++	BA149	++	++	++	++	+
KS284	+++	++	+++	++	+++	BA32	++	++	+++		+++
BA60	++	++	+++	++	+++	BA55	++	++	+++	++	++
ZK318	++	+	++	++	++	BA35	++		+++	+++	+++
ZK320	++	++	+++	+++	++	BA34	++	++	+++	++	+++
ZK333	+++	++	+++	+++	+++	BA38	++		+++	+++	+++
ZK323	+++	++	+++	+++	+++	BA40	++		++	++	+++
ZK327	+++	++	+++	+++	+++	BA41	++	++	+++	+++	+++
BA77d	++	++	+++	++	++	BA14	++	++	+++	++	+++
BA78d	++	++	+++	++	+++	BA12	++	++	+++	++	++
BA22	+++	+++	+++	+++	+++	BA30	++	++	+++	+++	+++
BA79d	+++	+++	+++	+++	+++	ZK149	+	++	++	++	+
BA85	++	++	++	++	+++	ZK126	++	+	++	+	++
BA87	+++	+++	+++	+++	+++	ZK143	+	+	+	+	+
ZK502	++	++	+++	++	+++	ZK150	++	+	+	+	++
ZK489	+++	+++	+++	+++	+++	ZK136	++	+	+	++	+++
ZK487	+++	+++	+++	+++	+++	ZK131	+	+	+	+	+
Zk491	+++	+++	+++	+++	++	ZK151	+	+	+	+	+++
Zk493	+++	+++	+++	+++	+++	ZK142	+	+	+	+	+
BA62d	+++	+++	+++	+++	++	ZK139	+	+	+	++	++
ZK450	++	++	++	+++	+	KS207	++	+	+++	+++	+++
ZK454	++	++	++	+++	+++	KS208	++	++	++	+++	+++
ZK469	+++	+++	++	+++	+++	ZK102	+	+	+	+	+++
ZK471	+++	+++	+++	+++	++	ZK157			+++		+++
ZK461	+++	++	+++	++	++	ZK159	++	++	++	++	+++
ZK413	++	+++	+++	+++	+++	ZK156	++	++	++	++	+++
ZK379	+++	++	+++	+++	+++	KS63	+	+	+	+	+++
ZK421	+++	++	+++	+++	+++	ZK158	++	++	++	++	+++
ZK403	++	+++	+++	+++	++	ZK147	+	++	++	++	++

Cpd	110 α	110 β	110 δ	110 γ	DPK	Cpd	110 α	110 β	110 δ	110 γ	DPK
ZK405	++	++	+++	++	+++	ZK155	++	++	++	++	+++
ZK432	+++	++	+++	+++	+++	ZK162	++	+	++	++	+++
ZK434	+++	+++	+++	+++	+++	ZK165	++	+	++	++	+++
ZK465	+++	+	+++	+++	+++	ZK161	++	+	++	++	++
ZK377	++	++	++	++	+++	ZK167			++		++
ZK399	++	++	+++	++	+++	ZK168			++		+++
ZK401	++	+	++	+	+++	BA116	+	++	++	++	+++
BA62	+++	++	+++	+++	+++	BA17	+++	++	+++	++	+++
ZK358	+++	++	+++	+++	+++	BA134	++	+	++	+	++
ZK452	++	++	++	+++	+++	BA105	++	++	+++	++	+++
ZK456	+++	++	++	+++	+++	BA122	++	++	+++	++	+++
ZK463	+++	++	+++	+++	+++	BA111	+++	++	+++	+++	+++
ZK371	+++	+++	+++	+++	+++	BA102	+++	+++	+++	+++	+++
ZK409	+++	+++	+++	+++	+++	BA112	+++	++	+++	+++	+++
ZK428	+++	+++	+++	+++	+++	BA118	+++	++	+++	+++	+++
ZK430	+++	+++	+++	+++	+++	BA130	+++	++	+++	+++	+++
ZK387	++	++	++	++	+++	BA132	+++	+++	+++	+++	+++
ZK389	++	+++	+++	++	+++	BA139	++	++	+++	+	++
ZK369	++	+	++	++	++	BA158	+++	+++	+++	+++	+++
ZK385	++	++	+++	++	+++	BA140	+	++	+	+	++
ZK391	++	++	+++	++	+++	BA141	+	+	+	+	+
BA155_2	+++	+++	+++	+++	+++	BA146	+++	+++	+++	+++	+++
BA157_8	+++	+++	+++	+++	+++	BA142	+++	++	++	+++	+++
BA59	++	++	+++	+++	+++	BA145	++	++	++	++	++
BA63		++		+++	+++	BA147	++	++	++	++	++
BA93	+++	++	+++	+++	+++	BA148	++	++	++	++	+++
BA49	++	+	++	++	++	BA143	++	++	++	++	+++
BA15	+++	++	+++	+++	+++	BA144	+++	++	+++	+++	+++
ZK321	+++	++	+++	+++	+++	BA129	++	+	++	+	++
ZK337	+++	+++	+++	+++	+++	BA131	+++	++	+++	+++	+++
ZK347	+++	+++	+++	+++	+++	BA133	+++	+++	+++	+++	+++
ZK325	+++	+++	+++	+++	+++	BA120	+++	++	+++	+++	+++
ZK349	+++	+++	+++	+++	+++	BA108	+++	++	+++	++	+++
ZK423	+++	+++	+++	+++	+++	BA121	+++	++	+++	++	+++
ZK411	++	+++	+++	+++	+++	BA89	+++	++	+++	+++	+++
ZK407	++	+++	+++	++	++	BA94	+++	++	+++	+++	+++
BA98	+++	+++	+++	+++	+++	BA135	+++	+++	+++	+++	+++
S1	++	+	++	+	+	BA136	+++	++	+++	++	+++
BA23	+++	+++	+++	+++	+++	BA137	+++	+++	+++	+++	+++
ZK485	+++	+++	+++	++	++	BA138	+++	++	+++	+++	+++

Cpd	110 α	110 β	110 δ	110 γ	DPK	Cpd	110 α	110 β	110 δ	110 γ	DPK
ZK495	+++	++	+++	++	+++	BA160	++	++	+++	+++	+++
ZK496	++	++	+++	++	+++	BA157_3	++	++	+++	+++	+++
ZK494	+++	+++	+++	+++	+++	BA154	+++	+++	+++	+++	+++
BA90	+++	+++	+++	+++	+++	BA110	+++	++	+++	+++	+++
ZK341	++	++	+++	+++	++	BA115	+++	++	+++	+++	+++
ZK343	+++	++	+++	++	+++	BA159	+++	+++	+++	+++	++
ZK361	++	++	+++	+++	+++	BA119	++	++	+++	++	+++
ZK359	+++	+++	+++	+++	+++	BA107	++	++	+++	++	+++
ZK362	+++	+++	+++	+++	++	BA124	++	++	+++	++	+++
BA64	+	+	++	+	++	BA161	+	+	+	+	+++
BA65	+	+	++	+	++	BA162	++	++	++	++	+++
ZK305	+++	+++	+++	+++	+++	BA24dd	++	++	+++	++	+++
ZK306	++	+	++	++	++	BA43	+++		+++	+++	+++
BA66	++	++	+++	++	+++	BA91	++	++	++	++	+++
BA48	++	++	+++	++	+++	BA92	++	++	+++	++	+++
ZK133	+	+	+	++	++	BA86	++	++	++	+++	+++
BA20dd	++	++	++	++	+++	BA88	+	+	++	+++	+++
BA20d	++	++	+++	+++	+++	BA96	++	+	+++	+++	+++
BA20	++		++	++	++	BA97	++	++	+++	+++	+++
BA99	++	+	++	+	++	BA44	++	+++	++	++	++
BA81dd	+++	++	+++	+++	+	BA156	++	++	++	++	+++
BA81d	+++	++	+++	+++	+++	BA95	++	++	+++	+++	+++
ZK137	++	+	++	++	+++	ZK129	++	++	++	++	+++
ZK135	++	+	+	++	++	BA54	++	++	++	++	+++
ZK130	+	+	+	+	+	ZK152	++	++	++	++	+++
ZK128	++	+	++	++	++	BA42	++	++	++	++	+++
BA26	++	++	+++	+++	++	PIK294	++	+++	+++	+++	++
SU11248	++	+	++	++	+	Iressa	+	+	+	+	+
BAY43-9006	++	+	+	+	+	PIK103	+++	+++	+++	+++	+++
Dasatinib	++	+	++	+	++	PIK90	+++	+++	+++	+++	+++

Tabela 3

Cpd	Abl	Hck	Src	Src (T/I)	VEGFR	EGFR	EphB4
KS84	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA56	++	+++	+++	++	++	+++	++
KS284	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA60	++	+++	+++	+++	++	+	++
ZK318	++	++	+++	++	+		++
ZK320	+++	+++	+++	++	+++	++	++
ZK333	+++	+++	+++	++	+++	++	++
ZK323	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ZK327	+++	+++	+++	++	+++	++	++
BA77d	+++	+++	+++	++	++	++	+++
BA78d	+++	+++	+++	++	+++	++	++
BA22	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA79d	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA85	++	+++	+++	++	++	++	++
BA87	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ZK502	+++	+++	+++	++	++	++	+
ZK489	+++	+++	+++	+	++	+	++
ZK487	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Zk491	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Zk493	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA62d	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
ZK450	+++	+++	+++	+	++	+	++
ZK454	+++	++	+++	+	++	++	+
ZK469	+++	+++	+++	+	++	++	++
ZK471	+++	+++	+++	+	++	++	+
ZK461	+++	+++	+++	+	+++	++	++
ZK413	+++	+++	+++	+	++	++	
ZK379	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
ZK421	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ZK403	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK405	+++	+++	+++	++	++	++	+
ZK432	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK434	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK465	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
ZK377	++	++	+++	+	++	+	+
ZK399	+++	+++	+++	+	+	+	++
ZK401	+++	+++	+++	+	+	+	+
BA62	+++	+++	+++	+	+	++	+++
ZK358	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++

Cpd	Abl	Hck	Src	Src (T/I)	VEGFR	EGFR	EphB4
ZK452	+++	+++	+++	++	+++	++	++
ZK456	+++	+++	+++	+	++	++	++
ZK463	+++	+++	+++	++	+++	++	++
ZK371	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
ZK409	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK428	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK430	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK387	+++	+++	+++	+	++	++	++
ZK389	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK369	++	++	+++	+	++	++	+
ZK385	++	+++	+++	+	++	+	++
ZK391	++	+++	+++	+	++	++	++
BA155_2	++	+++	+++	++	++	++	++
BA157_2	++	++	++	++	++	++	++
BA59	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
BA63	++	+++	+++	++	++	++	++
BA93	++	+++	+++	++	++	++	++
BA49	++	+++	+++	++	+	++	+++
BA15	++	+++	+++	++	+	+++	++
ZK321	+++	+++	+++	++	++	+	++
ZK337	+++	+++	+++			+	++
ZK347	+++	+++	+++	++	+++	++	++
ZK325	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
ZK349	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ZK423	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
ZK411		++	+++	+	++	++	++
ZK407	++	+++	+++	+	+++	++	+
BA98	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
S1	+++	+	++	+	+	+	+
BA23	++	++	+++	++	+	++	++
ZK485	++	+++	+++	+	+	++	++
ZK495	++	+++	++	++	+	++	++
ZK496	++	++	++	++	++	++	++
ZK494	+++	+++	+++	++	++	++	++
BA90	++	+++	+++	++	++	++	++
ZK341	++	++	+	+	+	+	+
ZK343	++	+++	+++	+	++	++	++
ZK361	++	++	++	+	+	++	+
ZK359	+++	+++	+++	++	++	++	+++
ZK362	++	+++	+++	+	+	++	+

Cpd	Abl	Hck	Src	Src (T/I)	VEGFR	EGFR	EphB4
BA64	+++	+++	+++	++	+	++	+++
BA65	++	+++	+++	++	++	++	++
ZK305	++	++	++	++	+	+	++
ZK306	+	++	++	++	++	++	+
BA66	++	++	++	+		+	++
BA48	++	+++	+++	++	++	++	++
BA20dd	+++	+++	+++	++	++	++	++
BA20d	+++	+++	+++	++	++	++	++
BA20	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
BA99	++	+++	+++	++	+++	++	++
BA81dd	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA81d	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA26	++	++	+++	++	+	+	+
BA46	++	+++	++	+	++	++	++
BA45	++	+++	+++	++	++	++	+
BA39	++	++	++	++	++	+	++
BA150	++	++	++	+	++	+	++
BA151	++	++	++	+	+	++	++
BA21	++	++	++	+	+	+	+
BA52	++	++	++	+	+	+	+
BA53	++	++	++	+	+	+	+
BA31	++	++	++	+	+	++	+
BA152	+++	+++	+++	+	++	++	++
BA149	++	+++	+++	++	++	++	++
BA32	++	++	++	+	+	+	++
BA55	++	++	++	+	+	++	++
BA35	++	++	++	++	++	++	++
BA34	++	++	++	++	++	++	++
BA38	++	++	++	++	+	+	+
BA40	++	++	++	++	++	++	+
BA41	++	++	++	++	++	+	++
BA14	++	++	++	++	+	+	++
BA12	++	++	++	++	++	++	++
BA30	++	++	++	++	++	+++	++
KS208	++	+++	++	++	++	+++	++
BA116	++	+++	++		+++	++	++
BA17	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA134	++	++	++	++	+	+	++
BA105	++	+++	++	++	++	++	++
BA122	+++	+++	+++	++	++	+++	+++

Cpd	Abl	Hck	Src	Src (T/I)	VEGFR	EGFR	EphB4
BA111	+	+	++	++	++	++	++
BA102	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
BA112	++	+++	+++	++	++	++	++
BA116	++	++	+	++	++	+	++
BA130	++	+++	++	++	+++	+	++
BA132	++	+++	++	+	++	++	++
BA139	++	++	++	+	++	++	+
BA158	+++	+++	+++	++	++	++	++
BA140	++	++	++	++	+	++	++
BA141	+	++	+	+	+	++	+
BA146	++	++	++	+	++	++	++
BA142	++	++	+++	+	++	++	++
BA145	+	++	++	+	+	+	++
BA147	++	++	++	+	++	+	++
BA148	+	++	++	+	+	++	+
BA143	++	++	++	++	+	++	++
BA144	++	++	+++	+	++	+	++
BA129	++	+	+++	+	++	++	++
BA131	++	++	11	+	++	+	++
BA133	++	++	+++	+	+	++	++
BA120	+++	+++	+++	++	+++	++	++
BA108	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA121	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA89	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA94	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA135	+++	+++	+++	++	+++	+++	+
BA136	+++	+++	+++	++	+++		++
BA137	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
BA138	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
BA160	+++	+++	+++	++	++	+++	++
BA157_3	++	+++	+++	++	+	++	++
BA154	+++	+++	+++	++	++	++	++
BA110	+++	+++	+++	++	+++	++	++
BA115	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
BA159	+++	+++	+++	++	+++	++	++
BA119	++	+++	+++	++	++	++	++
BA107	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
A124	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA161	++	+	++	+	+	++	+
BA162	++	++	++	+	+	++	++

Cpd	Abl	Hck	Src	Src (T/I)	VEGFR	EGFR	EphB4
BA24dd	++	++	++	++	++	++	++
BA43	++	+++	++	++	++	++	++
BA91	++	++	+++	++	++	++	++
BA92	++	+++	+++	++	++	++	++
BA86	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA88	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
BA96	+++	+++	+++	++	++	+++	+++
BA97	+++	+++	+++	++	++	+++	+++
BA44	++	++	++	++	+	++	+
BA156	++	++	++	++	++	+++	++
BA95	++	+++	++	+	+	++	++
BA54	++	++	+++	++	++	++	++
BA42	+	++	++	++	++	+	++
SU11248	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
BAY43-9006	+++	+++	+++	+++	+++	+	++
Dasatinib				++	+	+++	
Iressa	++	+++	+++	++	++		++
PIK103	+	+	+	+	+	+	+
PIK90	+	+	+	+	+	+	+
H2294	++	+	++	+	+	+	+

Tabela 4

Cpd	cKIT	Tie2	FLT3	PDGFR	RET	IR	mTOR
ZK358	+++	++	+++	+++	+++	++	+++
ZK487	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++
ZK349	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
ZK494	+++	++	++	+++	+++	+	+++
BA102	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++
BA121	+++	+++	+++	+++		++	+++
KS84	+++	+	+++	+++	+++	++	++
SU11248	+++	++	+++	+++	+++	++	+
BAY43-9006	+++	+++	+	+++	+++	++	+
Dasatinib	+++	++	+++	+++	++	+	+
Iressa	+	++	+++	+++	++	+	+

Nas anteriores Tabelas de 2 a 4, +++ indica uma CI_{50} inferior a 1 μM ; ++ indica uma CI_{50} entre 1 μM e 50 μM ; e + indica uma CI_{50} superior a 50 μM .

IX. Referências

Alaimo, P. J., Knight, Z. A., and Shokat, K. M. (2005). Targeting the gatekeeper residue in phosphoinositide 3-kinases. *Bioorg Med Chem* 13, 2825-2836.

Asano, T., Kanda, A., Katagiri, H., Nawano, M., Ogiwara, T., Inukai, K., Anai, M., Fukushima, Y., Yazaki, Y., Kikuchi, M., et al. (2000). p110beta is up-regulated during differentiation of 3T3-L1 cells and contributes to the highly insulin-responsive glucose transport activity. *J Biol Chem* 275, 17671-17676.

Bi, L., Okabe, I., Bernard, D. J., and Nussbaum, R. L. (2002). Early embryonic lethality in mice deficient in the p110beta catalytic subunit of PI 3-kinase. *Mamm Genome* 13, 169-172.

Bi, L., Okabe, I., Bernard, D. J., Wynshaw-Boris, A., and Nussbaum, R. L. (1999). Proliferative defect and embryonic lethality in mice homozygous for a deletion in the p110alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem* 274, 10963-10968.

Brachmann, S. M., Ueki, K., Engelman, J. A., Kahn, R. C., and Cantley, L. C. (2005). Phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit deletion and regulatory subunit deletion have opposite effects on insulin sensitivity in mice. *Mol Cell Biol* 25, 1596-1607.

Camps, M., Ruckle, T., Ji, H., Ardisson, V., Rintelen, F., Shaw, J., Ferrandi, C., Chabert, C., Gillieron, C., Francon, B., et al. (2005). Blockade of PI3Kgamma suppresses joint inflammation and damage in mouse models of rheumatoid arthritis. *Nat Med*.

Cantley, L. C., and Neel, B. G. (1999). New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 4240-4245.

Condliffe, A. M., Davidson, K., Anderson, K. E., Ellson, C. D., Crabbe, T., Okkenhaug, K., Vanhaesebroeck, B., Turner, M., Webb, L., Wymann, M. P., et al. (2005). Sequential activation of class IB and class IA PI3K is important for the primed respiratory burst of human but not murine neutrophils. *Blood* 106, 1432-1440.

Domin, J., and Waterfield, M. D. (1997). Using structure to define the function of phosphoinositide 3-kinase family members. *FEBS Lett* 410, 91-95.

Feng, J., Park, J., Cron, P., Hess, D., and Hemmings, B. A. (2004). Identification of a PKB/Akt hydrophobic motif Ser-473 kinase as DNA-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 279, 41189-41196.

Fruman, D. A., Meyers, R. E., and Cantley, L. C. (1998). Phosphoinositide kinases. *Annu Rev Biochem* 67, 481-507.

Harrington, L. S., Findlay, G. M., and Lamb, R F. (2005). Restraining PI3K: mTOR signalling goes back to the membrane. *Trends Biochem Sci* 30, 35-42.

Hickson, I., Zhao, Y., Richardson, C. J., Green, S. J., Martin, N. M., Orr, A. L, Reaper, P. M., Jackson, S. P., Curtin, N. J., and Smith, G. C. (2004). Identification and characterization of a novel and specific inhibitor of the ataxia-telangiectasia mutated kinase ATM. *Cancer Res* 64, 9152-9159.

Jackson, S. P., Schoenwaelder, S. M., Goncalves, I., Nesbitt, W. S., Yap, C. L., Wright, C. E., Kenche, V., Anderson, K. E., Dopheide, S. M., Yuan, Y., et al. (2005). PI 3-kinase p110beta: a new target for antithrombotic therapy. *Nat Med* 11, 507-514.

Katso, R., Okkenhaug, K., Ahmadi, K., White, S., Timms, J., and Waterfield, M. D. (2001). Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 17, 615-675.

Knight, Z. A., Chiang, G. G., Alaimo, P. J., Kenski, D. M., Ho, C. B., Coan, K., Abraham, R. T., and Shokat, K. M. (2004). Isoform-specific phosphoinositide 3-kinase inhibitors from an arylmorpholine scaffold. *Bioorg Med Chem* 12, 4749-4759.

Knight, Z. A., and Shokat, K. M. (2005). Features of selective kinase inhibitors. *Chem Biol* 12, 621-637.

Lau, A., Swinbank, K. M., Ahmed, P. S., Taylor, D. L., Jackson, S. P., Smith, G. C., and O'Connor, M. J. (2005). Suppression of HIV-1 infection by a small molecule inhibitor of the ATM kinase. *Nat Cell Biol* 7, 493-500.

Luo, J., Field, S. J., Lee, J. Y., Engelman, J. A., and Cantley, L. C. (2005). The p85 regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase down-regulates IRS-1 signaling via the formation of a sequestration complex. *J Cell Biol* 170, 455-464.

Madhusudan, Trafny, E. A., Xuong, N. H., Adams, J. A., Teneyck, L. F., Taylor, S. S., and Sowadski, J. M. (1994). cAMP-Dependent Protein-Kinase - Crystallographic Insights Into Substrate Recognition and Phosphotransfer. *Protein Science* 3, 176-187.

Patrucco, E., Notte, A., Barberis, L., Selvetella, G., Maffei, A., Brancaccio, M., Marengo, S., Russo, G., Azzolino, O., Rybalkin, S. D., et al. (2004). PI3Kgamma modulates the cardiac response to chronic pressure overload by distinct kinase-dependent and - independent effects. *Cell* 118, 375-387.

Peng, Y., Woods, R G., Beamish, H., Ye, R., Lees-Miller, S. P., Lavin, M. F., and Bedford, J. S. (2005). Deficiency in the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase causes down-regulation of ATM. *Cancer Res* 65, 1670-1677.

Ruderman, N. B., Kapeller, R., White, M. F., and Cantley, L. C. (1990). Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by insulin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 1411-1415.

Sadhu, C., Masinovsky, B., Dick, K., Sowell, C. G., and Staunton, D. E. (2003). Essential role of phosphoinositide 3-kinase delta in neutrophil directional movement. *J Immunol* 170, 2647-2654.

Samuels, Y., Wang, Z., Bardelli, A., Silliman, N., Ptak, J., Szabo, S., Yan, H., Gazdar, A., Powell, S. M., Riggins, G. J., et al. (2004). High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 304, 554.

Schindler, T., Bornmann, W., Pellicena, P., Miller, W. T., Clarkson, B., and Kuriyan, J. (2000). Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase. *Science* 289, 1938-1942.

Schindler, T., Sicheri, F., Pico, A., Gazit, A., Levitzki, A., and Kuriyan, J. (1999). Crystal structure of Hck in complex with a Src family-selective tyrosine kinase inhibitor. *Mol Cell* 3, 639-648.

Schmid, A. C., Byrne, R. D., Vilar, R., and Woscholski, R. (2004). Bisperoxovanadium compounds are potent PTEN inhibitors. *FEBS Lett* 566, 35-38.

Ueki, K., Fruman, D. A., Yballe, C. M., Fasshauer, M., Klein, J., Asano, T., Cantley, L. C., and Kahn, C. R. (2003). Positive and negative roles of p85 alpha and p85 beta regulatory subunits of phosphoinositide 3-kinase in insulin signaling. *J Biol Chem* 278, 48453-48466.

Ueki, K., Yballe, C. M., Brachmann, S. M., Vicent, D., Watt, J. M., Kahn, C. R., and Cantley, L. C. (2002). Increased insulin sensitivity in mice lacking p85beta subunit of phosphoinositide 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 419-424.

Vanhaesebroeck, B., Ali, K., Bilancio, A., Geering, B., and Foukas, L. C. (2005). Signalling by PI3K isoforms: insights from gene-targeted mice. *Trends Biochem Sci* 30, 194-204.

Viniegra, J. G., Martinez, N., Modirassari, P., Losa, J. H., Parada Cobo, C., Lobo, V. J., Luquero, C. I., Alvarez-

Vallina, L., Ramon y Cajal, S., Rojas, J. M., and Sanchez-Prieto, R. (2005). Full activation of PKB/Akt in response to insulin or ionizing radiation is mediated through ATM. *J Biol Chem* 280, 4029-4036.

Walker, E. H., Pacold, M. E., Perisic, O., Stephens, L., Hawkins, P. T., Wymann, M. P., and Williams, R. L. (2000). Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Mol Cell* 6, 909-919.

Walker, E. H., Perisic, O., Ried, C., Stephens, L., and Williams, R. L. (1999). Structural insights into phosphoinositide 3-kinase catalysis and signalling. *Nature* 402, 313-320.

Ward, S., Sotsios, Y., Dowden, J., Bruce, I., and Finan, P. (2003). Therapeutic potential of phosphoinositide 3-kinase inhibitors. *Chem Biol* 10, 207-213.

Yart, A., Roche, S., Wetzker, R., Laffargue, M., Tonks, N., Mayeux, P., Chap, H., and Raynal, P. (2002). A function for phosphoinositide 3-kinase beta lipid products in coupling beta gamma to Ras activation in response to lysophosphatidic acid. *J Biol Chem* 277, 21167-21178.

Yu, J., Zhang, Y., McIlroy, J., Rordorf-Nikolic, T., Orr, G. A., and Backer, J. M. (1998). Regulation of the p85/p110 phosphatidylinositol 3'-kinase: stabilization and inhibition of the p110alpha catalytic subunit by the p85 regulatory subunit. *Mol Cell Biol* 18, 1379-1387.

Almirante, L., Mugnaini, A., De Toma, N., Gamba, A., and Murmann, W. (1970). Imidazole Derivatives. IV. Synthesis and Pharmacological Activity of Oxygenated Derivatives of Imidazo[1,2-a]pyridine. *Journal of Medicinal Chemistry* 13, 1048-1051.

Armstrong, V. W., N.H., C., and Ramage, R. (1975). A new brominating reagent: 2-carboxyethyltriphenylphosphonium perbromide. *Tetrahedron Letters* 6, 373-376.

Bateman, A., Birney, E., Durbin, R., Eddy, S. R., Howe, K. L., and Sonnhammer, E. L. (2000). The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Res* 28, 263-266.

Jacinto, E., Loewith, R., Schmidt, A., Lin, S., Ruegg, M. A., Hall, A., and Hall, M. N. (2004). Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nat Cell Biol* 6, 1122-1128.

Jolliffe, L T. (2002). *Principal component analysis*, 2nd edn (New York: Springer).

Knight, Z. A., Chiang, G. G., Alaimo, P. J., Kenski, D. M., Ho, C. B., Coan, K., Abraham, R. T., and Shokat, K. M. (2004). Isoform-specific phosphoinositide 3-kinase inhibitors from an arylmorpholine scaffold. *Bioorg Med Chem* 12, 4749-4759.

Lakshmanan, J., Elmendorf, J. S., and Ozcan, S. (2003). Analysis of insulin-stimulated glucose uptake in differentiated 3T3-L1 adipocytes. *Methods Mol Med* 83, 97-103.

Lombardino, J. G. (1965). Preparation and new reactions of imidazo[1,2-a]pyridines. *Journal of Organic Chemistry* 30, 2403-2407.

Mathworks (2004). *Statistics Toolbox: For use with MATLAB. User's Guide, Version 5. Chapter 7: Principal Component Analysis: Mathworks*).

Mhaske, S. B., and Argade, N. P. (2004). Regioselective quinazolinone-directed ortho lithiation of quinazolinoylquinoline: practical synthesis of naturally occurring human DNA topoisomerase I poison luotonin A and luotonins B and E. *J Org Chem* 69, 4563-4566.

Morris, J., Wishka, D. G., and Fang, Y. (1994). A cyclodehydration route to 2-aminochromones. *Synthetic Communications* 24, 849-858.

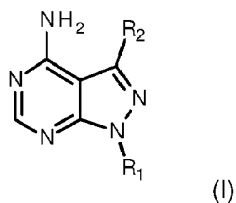
Serunian, L. A., Auger, K. R., and Cantley, L. C. (1991). Identification and quantification of polyphosphoinositides

produced in response to platelet-derived growth factor stimulation. Methods Enzymol 198, 78-87.

Lisboa, 2013-08-14

REIVINDICAÇÕES

1. Composto selecionado a partir de compostos com a fórmula:



em que:

R^1 é hidrogénio, alquilo substituído com R^3 ou não substituído, heteroalquilo substituído com R^3 ou não substituído, cicloalquilo substituído com R^3 ou não substituído, heterocicloalquilo substituído com R^3 ou não substituído, ou heteroarilo substituído com R^3 ou não substituído;

R^2 é heteroarilo substituído com R^4 ;

R^3 é um halogéneo, $-\text{CN}$, $-\text{OR}^5$, $-\text{S}(\text{O})_n\text{R}^6$, $-\text{NR}^7\text{R}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^9$, $=\text{N}-\text{NH}_2$, $-\text{NR}^{10}-\text{C}(\text{O})\text{R}^{11}$, $-\text{NR}^{12}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^{13}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{14}\text{R}^{15}$, $-\text{NR}^{16}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{17}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{18}$, alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , heteroalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , arilo não substituído ou substituído com R^{19} , heteroarilo não substituído ou substituído com R^{19} , em que n é um número inteiro de 0 a 2;

R^4 é um halogéneo, $-\text{CN}$, $-\text{OR}^{20}$, ou $-\text{NR}^{22}\text{R}^{23}$;

R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} e R^{18} são independentemente hidrogénio, alquilo não substituído ou substituído com R^{35} , heteroalquilo não substituído ou substituído com R^{35} , cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído ou substituído com R^{35} , arilo não substituído ou substituído com R^{35} , ou heteroarilo não substituído ou substituído com R^{35} ;

R^{20} , R^{22} e R^{23} são independentemente hidrogénio, alquilo não substituído ou heteroalquilo não substituído;

R^{19} , R^{34} e R^{35} são independentemente hidrogénio, halogéneo, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído ou heteroarilo não

substituído.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^2 é:



em que:

W^1 , W^2 , W^3 e W^4 são independentemente $=CH-$, $=CR^4-$ ou $=N-$; em que pelo menos um entre W^1 , W^2 , W^3 e W^4 é $=CR^4-$; e o anel A é um heteroarilo substituído ou não substituído.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^2 é:



em que:

W^1 , W^2 , W^3 e W^4 são independentemente $=CH-$, $=CR^4-$ ou $=N-$; em que pelo menos um entre W^1 , W^2 , W^3 e W^4 é $=CR^4-$; e o anel A é um anel de 6 ou 7 membros parcial ou completamente insaturado.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que:

R^2 é piridinilo substituído com R^4 , pirimidinilo substituído com R^4 , tiofenilo substituído com R^4 , furanilo substituído com R^4 , indolilo substituído com R^4 , benzoxadiazolilo substituído com R^4 , benzodioxolilo substituído com R^4 , benzodioxanilo substituído com R^4 , tianaftanilo substituído com R^4 , pirrolopiridinilo substituído com R^4 , indazolilo substituído com R^4 , quinolinilo substituído com R^4 , quinoxalinilo substituído com R^4 , piridopirazinilo substituído com R^4 , quinazolinonilo substituído com R^4 , cromenonilo substituído com R^4 , benzoisoxazolilo substituído com R^4 , imidazopiridinilo substituído com R^4 , benzofuranilo substituído com R^4 , di-hidrobenzofuranilo substituído com R^4 , di-hidrobenzodioxinilo substituído com R^4 , benzoimidazonilo substituído com R^4 , ou

benzotiofenilo substituído com R^4 .

5. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^2 é pirrolopiridinilo substituído com R^4 , quinolinilo substituído com R^4 , indazolilo substituído com R^4 , indolilo substituído com R^4 .

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, em que R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} e R^{18} são independentemente hidrogénio, alquilo não substituído, heteroalquilo não substituído, cicloalquilo não substituído, heterocicloalquilo não substituído, arilo não substituído, ou heteroarilo não substituído.

7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, em que R^1 é alquilo não substituído ou substituído com R^3 , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^3 .

8. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, em que R^1 é alquilo C_1-C_4 não substituído ou substituído com R^3 , ou cicloalquilo C_3-C_6 não substituído ou substituído com R^3 .

9. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, em que R^1 é alquilo C_1-C_4 não substituído ou substituído com R^3 , ou ciclopentilo não substituído ou substituído com R^3 .

10. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, em que R^1 é metilo ou alquilo C_3-C_6 ramificado não substituído.

11. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, em que R^1 é isopropilo.

12. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 11, em que R^3 é alquilo não substituído ou substituído com R^{19} , cicloalquilo não substituído ou substituído com R^{19} , arilo não substituído ou substituído com R^{19} .

13. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 12, em que R^{19} é alquilo não substituído ou cicloalquilo não substituído.

14. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 12, em que R^{19} é alquilo C_1-C_4 não substituído ou ciclopentilo não substituído.

15. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^1 é isopropilo e R^2 é 5-hidroxi-indol-2-ilo.

16. Composição farmacêutica que compreende um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15 e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

17. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, para utilização num método de tratamento do corpo humano ou animal.

18. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, para utilização num método de tratamento de uma doença selecionada entre um distúrbio de reabsorção óssea, leucemia mielóide crónica, inflamação anormal, doença autoimune, trombose, asma, ou cancro.

19. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, para utilização num método de tratamento de uma doença selecionada a partir de: doença de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo, neuroblastoma, cancro do ovário, rabdomiossarcoma, trombocitose primária, macroglobulinemia primária, tumores cerebrais primários, cancro, insulanoma pancreático maligno, carcinoide maligno, cancro da bexiga, lesões cutâneas pré-malignas, cancro testicular, linfomas, cancro da tiroide, neuroblastoma, cancro do esófago, cancro do trato geniturinário, hipercalcemia maligna, cancro do endométrio, cancro do córtex super-renal, neoplasias do pâncreas endócrino e exócrino, e cancro da próstata; ou uma doença selecionada entre cancro do fígado, cancro do cólon, cancro da mama, melanoma, leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crónica, ou cancro do pulmão de não-pequenas células.

20. Utilização de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15 no fabrico de um medicamento para o tratamento de uma doença selecionada entre um distúrbio de reabsorção óssea, leucemia mielóide crónica, inflamação anormal, doença autoimune, trombose, asma, ou cancro.

21. Utilização de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15 no fabrico de um medicamento para o tratamento de uma doença selecionada a partir de: doença de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo, neuroblastoma, cancro do ovário, rabdomiossarcoma, trombocitose primária, macroglobulinemia primária, tumores cerebrais primários, cancro, insulanoma pancreático maligno, carcinoide maligno, cancro da bexiga, lesões cutâneas pré-malignas, cancro testicular, linfomas, cancro da tiroide, neuroblastoma, cancro do esófago, cancro do trato geniturinário, hipercalcemia maligna, cancro do endométrio, cancro do córtex super-renal, neoplasias do pâncreas endócrino e exócrino, e cancro da próstata; ou uma doença selecionada entre cancro do fígado, cancro do cólon, cancro da mama, melanoma, leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crónica, ou cancro do pulmão de não-pequenas células.

Lisboa, 2013-08-14

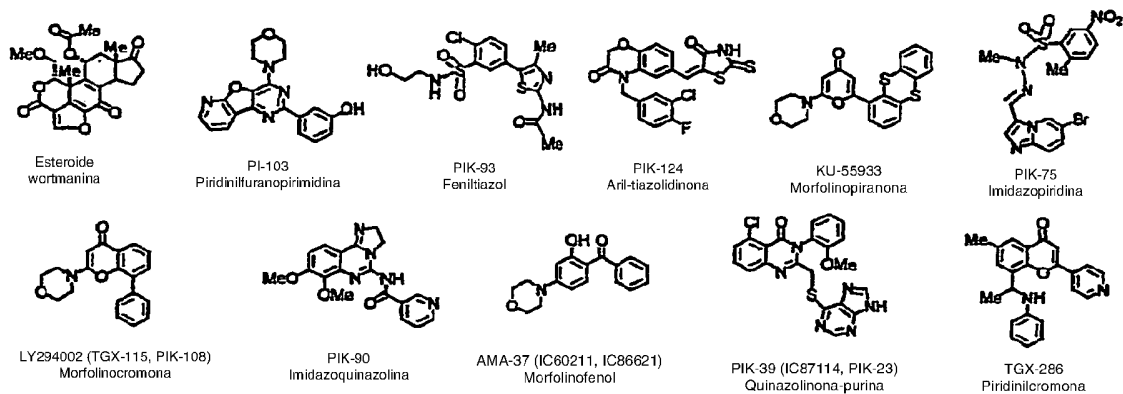


FIG. 1

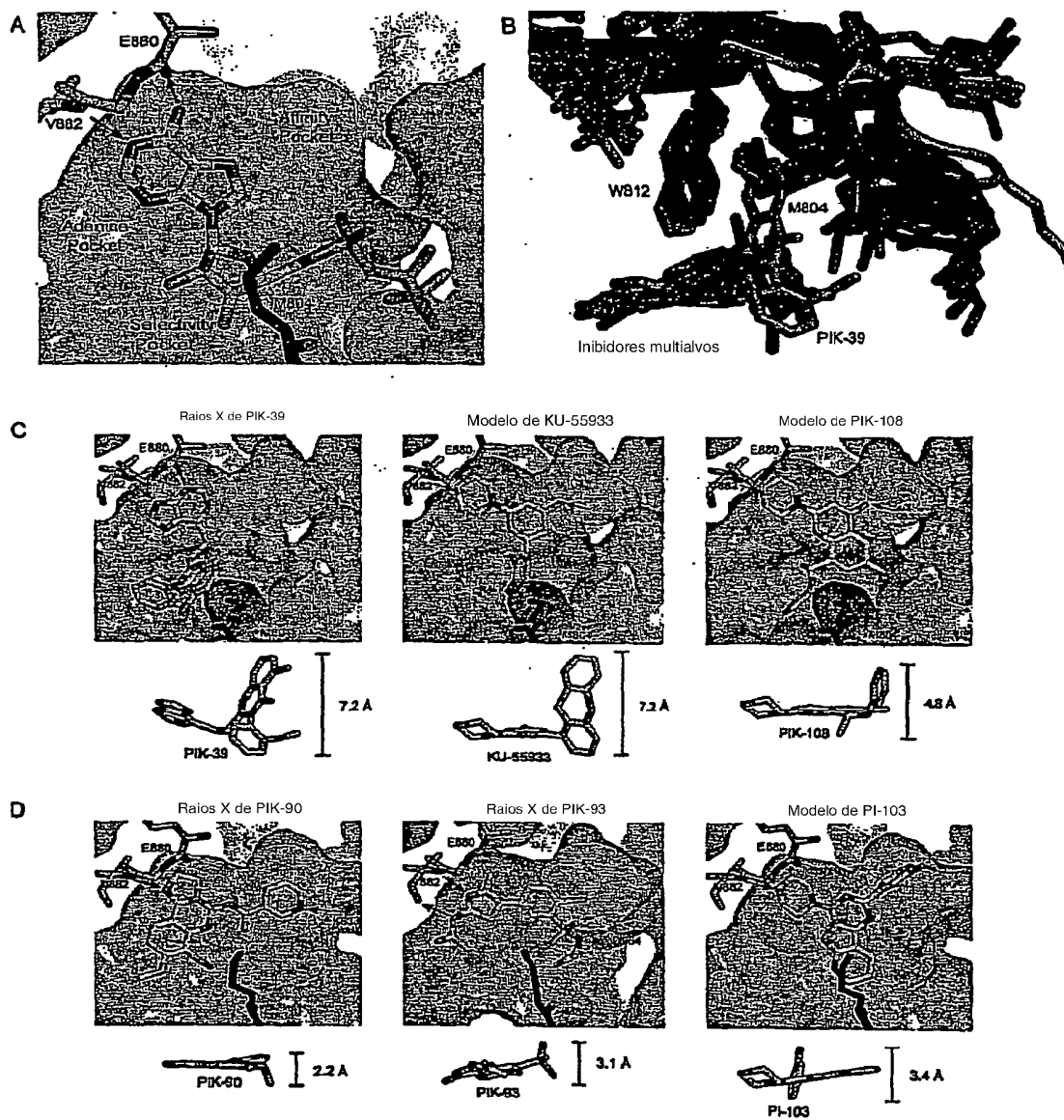


FIG. 2

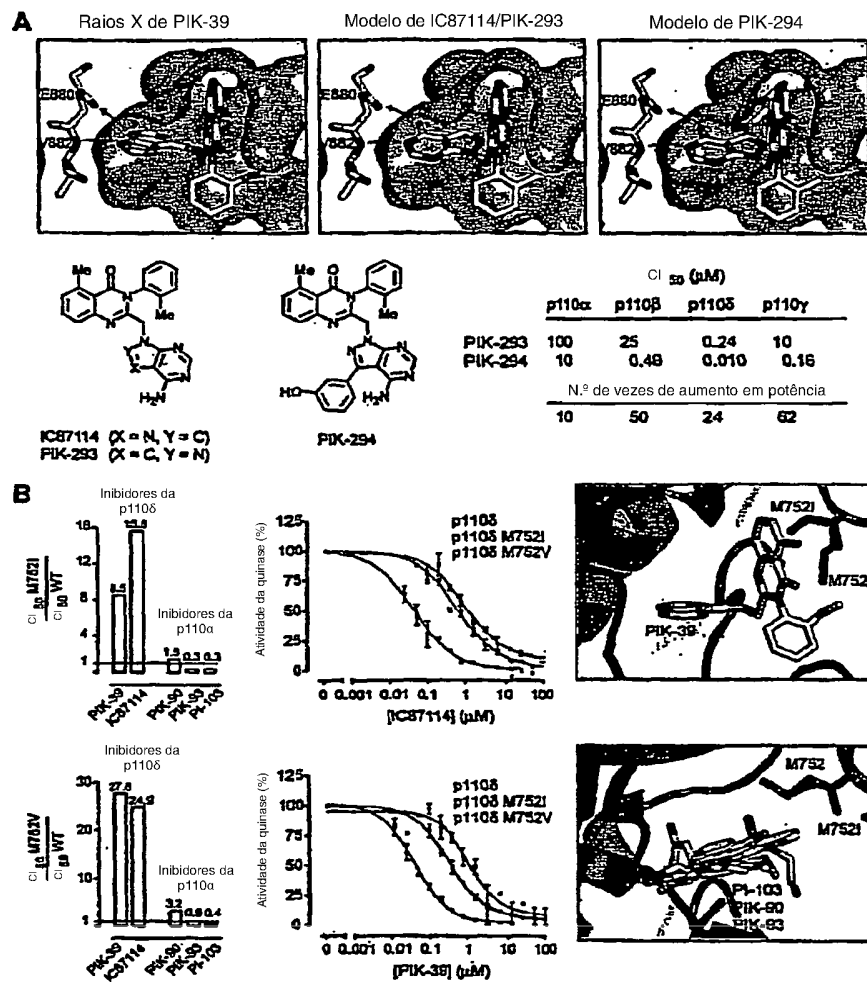
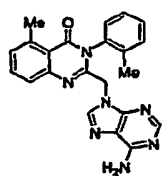


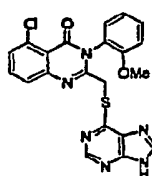
FIG. 3

Inibidor da PI3-quinase

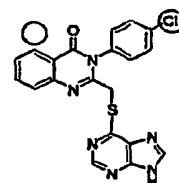
Análogo inativo



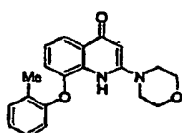
IC87114



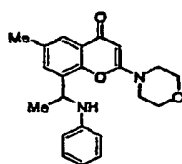
PIK-39



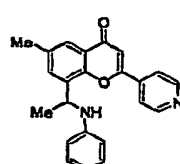
PIK-31



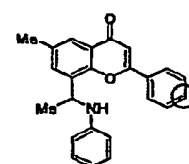
TGX-115



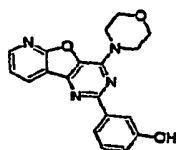
PIK-108



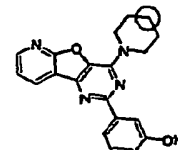
TGX-286



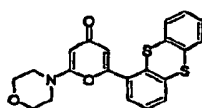
PIK-73



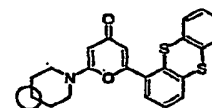
PI-103



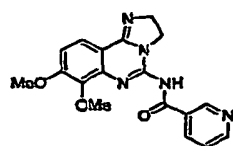
PIK-112



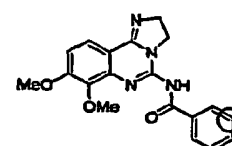
KU-55933



KU-58050



PIK-90



PIK-95

FIG. 4

	PIK23	TGX115	AMA37	PIK39	IC87114	TGX286	PIK75	PIK90	PIK93	PIK108	PI-103	PIK124	KU-63399
<u>PI3Ks</u>													
p110 α	>200	81	32	>200	>200	4.5	0.0058	0.011	0.039	2.6	0.008	0.023	3.3
p110 β	42	0.13	3.7	11	16	0.12	1.3	0.35	0.59	0.057	0.088	1.1	1.2
p110 δ	0.097	0.83	22	0.18	0.13	1	0.51	0.058	0.12	0.26	0.048	0.34	0.72
p110 γ	50	100	100	17	61	10	0.076	0.018	0.016	4.1	0.15	0.054	9.9
PI3KC2 α	>100	>100	>100	>100	>100	>100	-10	0.047	-16	-100	-1	0.14	ND
PI3KC2 β	100	50	>100	100	>100	-100	-1	0.054	0.14	-20	0.026	0.37	ND
PI3KC2 γ	>100	100	50	100	>100	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
haVPS34	-50	5.2	>100	>100	>100	3.1	2.6	0.93	0.32	-5	2.3	10	-10
<u>PI4Ks</u>													
PI4KIII α	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
PI4KIII α	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	0.83	1.1	-50	>100	>100	>100
PI4KIII β	>100	>100	>100	>100	>100	>100	-50	3.1	0.019	>100	-50	>100	>100
<u>PIKKs</u>													
ATR	>100	>100	>100	>100	>100	>100	21	15	17	>100	0.85	2	20
ATM	>100	20	ND	>100	>100	>100	2.3	0.91	0.49	35	0.92	3.9	0.005
DNA-PK	>100	1.2	0.27	>100	>100	-50	0.002	0.013	0.064	0.12	0.002	1.5	10
mTORC1	>100	>100	>100	>100	>100	>100	-1	1.05	1.38	-10	0.02	9	-20
mTORC2	>101	>100	>100	>100	>100	ND	-10	ND	ND	ND	0.083	ND	>100
<u>PIPKs</u>													
PIPK5I α	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
PIPK5I β	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
PIBP4I α	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	ND

FIG. 5

	TGX115	AMA37	PIK39	IC87114	TGX286	PIK75	PIK90	PIK93	PI103	PIK124	KU55933
Abl	121.2	128.5	99.9	103.6	100.0	97.9	103.4	99.6	100.8	108.1	100.3
Abl (T315I)	141.2	127.4	110.5	99.4	108.5	121.6	111.3	128.0	108.1	87.5	105.3
Akt1	128.6	125.7	136.4	122.2	114.0	(10)	140.2	112.6	108.5	94.8	114.0
Akt1 (ΔPH)	91.4	77.3	81.0	89.8	94.7	(10)	122.4	122.2	123.1	93.3	118.5
Akt2	98.8	115.0	110.5	118.5	109.7	80.7	119.8	117.4	114.7	114.7	98.2
Akt2 (ΔPH)	104.4	94.4	111.3	117.8	117.3	95.0	108.5	110.7	112.6	98.7	100.2
Akt3	97.6	108.6	94.2	111.0	102.9	(2.9)	113.3	98.4	103.5	93.0	95.1
CamKII	111.4	121.9	122.1	115.4	118.8	119.8	118.1	120.4	127.8	135.5	121.8
CDK1/cyc.B	103.0	114.0	115.5	118.0	120.3	61.6	126.8	124.5	142.3	110.7	101.2
CDK2/cyc.A	105.3	99.7	105.8	102.4	103.1	(1.2)	100.9	98.1	98.5	104.9	97.4
Chk1	119.9	104.0	105.2	103.0	104.1	98.4	102.9	99.7	92.3	107.9	81.4
CK1	99.7	99.2	100.1	98.1	91.3	(3.0)	97.8	100.2	84.8	104.6	94.1
CK2	103.3	108.8	99.6	111.7	111.2	82.2	103.1	113.2	108.1	78.5	105.4
Erk1	96.7	99.3	97.8	93.7	99.0	77.9	98.8	98.8	92.0	97.8	104.8
Erk2	107.7	102.5	109.2	104.7	106.9	94.3	102.0	103.2	98.8	98.0	102.1
FAK	105.5	105.5	106.4	110.1	102.8	(10)	100.0	101.8	101.8	102.8	107.3
Fyn	145.7	131.3	115.7	105.3	111.3	(10)	126.1	127.2	114.2	113.4	116.0
GRK2	113.5	117.3	112.6	118.7	118.1	115.6	120.2	110.9	110.3	87.8	108.6
GSK3β	114.0	107.3	101.5	104.7	96.1	(4.4)	85.8	104.0	105.5	97.6	102.0
Hck	104.8	102.2	101.1	93.0	84.9	(10)	94.7	94.9	84.9	87.2	104.1
Insulin R	108.4	113.4	113.6	115.7	112.1	99.5	102.8	109.8	108.0	109.9	109.7
JNK1α1	99.9	95.5	92.1	88.5	93.8	97.8	94.2	87.2	83.6	96.9	99.6
JNK2α1	104.8	104.8	116.7	107.1	88.1	88.1	90.5	88.1	81.0	85.7	85.7
JNK2α2	95.4	101.6	90.8	87.7	89.3	86.2	83.1	98.5	78.9	89.3	95.4
IRAK4	112.7	98.9	100.1	93.1	95.0	(0.9)	94.9	95.9	105.6	175.4	74.2
NEK2	125.2	99.1	98.6	114.3	126.4	108.9	103.4	110.1	120.0	118.5	108.6
PKA	105.4	94.0	108.1	108.8	107.3	(10)	103.1	105.6	102.5	104.3	104.1
PKCδ	103.9	104.9	103.9	104.6	104.9	114.3	100.7	103.7	101.2	105.5	103.7
PKCε	108.9	111.9	111.9	114.1	111.5	(10)	105.2	103.4	103.4	108.0	104.8
PDK1	111.2	101.9	97.4	113.4	114.4	111.0	110.4	118.7	107.5	109.4	130.7
PLK1	122.7	118.9	117.4	109.6	107.6	93.7	107.6	111.1	106.2	98.0	84.9
p38	101.2	102.8	108.5	104.1	100.9	100.3	98.5	102.9	99.8	102.6	101.4
Src	111.7	109.0	109.6	113.3	98.4	(10)	103.7	118.1	100.6	102.7	114.7
Src (T338I)	112.8	101.3	87.9	95.7	86.4	80.4	109.5	111.5	113.4	112.5	113.0
WNK1	107.5	108.0	109.6	109.0	118.3	101.1	108.6	110.0	104.1	108.3	104.7
Zap70	123.8	121.1	130.4	110.5	130.0	179.5	115.8	115.4	117.7	100.4	99.3

FIG. 6

```

1  MPPGVDCPME FWTKEENQSV VVDFLLPTGV YLNFPVSRNA NLSTIKQLLW HRAQYEPLFH
61  MLSGPEAYVF TCINQTAEQQ ELEDEQRRLC DVQPFLFVLR LVAREGDRVK KLINSQISLL
121 IGKGLHEFDS LCDPEVNDFR AKMCQFCEEA AARRQQLGWE AWLQYSFPLQ LEPSAQTWGP
181 GTLRRLPNRAL LVNVKPEGSE ESFTFQVSTK DVPLALMACA LRKKATVFRQ PLVEQPEDYT
241 LQVNGRHEYL YGNYPQCQFQ YICSCLHSGI TPHLTMVHSS SILAMRDEQS NPAPQVQKPR
301 AKPPPIPAKK PSSVSLWSLE QPFRIELIQG SKVNADERMK LVVQAGLFHG NEMLCCTVSS
361 SEVSVCSEPV WKQRLEFDIN ICDLPRMARL CFALYAVIEK AKKARSTKKK SKKADCPIAW
421 ANLMLFDYKD QLKGTGERCLY MWPSVPDEKG ELLNFTGTVR SNPNDSAAA LLICLPEVAP
481 HPVYYPALEK ILELGRHSEC VHVTEEEQLQ LREILERRGS GELYEHEKDL VWKLREHVQE
541 HFPEALARLL LVTKWNKHED VAQMLYLLCS WPELFVLSAL ELDDFSFPDC HVGSPFAIKSL
601 RKLTDDELFO YLLQLVQVLK YESYLDCELT KFLLDRLAN RKIGHFLFWH LRSEMHVPSV
661 ALRFGILILEA YCRGSTHHMK VLMKQGEALS KLKALNDFVK LSSQKTPKPQ TKELMHLCMR
721 QEAYLEALSH LQSPLDPSTL LAEVCVEQCT FMDSKMKPLW IMYSNEEAGS GGSVGIIIFKN
781 GDDLRLQDMLT LQMIQLMDVL WRQEGDLDRM TPGCLPTGD RTGLIEVVLR SDTIANIQLN
841 KSNMAATAAF NKDALLNWLK SKNPGEALDR AIEEFTLSA GYCVATYVLG IGDHSDNIM
901 IRESGQLFHI DFGHFLGNFK TKFGINRERV PFILTYDFVH VIQGGKTNNS EKFERFRGYC
961 ERAYTILRRH GLLFLHLFAL MRAAGLPELS CSKDIQYLKD SLALGKTTEE ALKHFRVKFN
1021 EALRESWKTK VNWLAHNVSK DNRQ

```

FIG. 7

```

1   melenykqpv vlredncrrr rrmkprsaas slssmelipi efvlptsqrk ckspetallh
61  vaghgnveqm kaqvwlrals tsvaadfyhr lgphhflily qkkgqwyey dkyqvvqtld
121 clrywkcathr spgqihlvqr hppseesqaf qrqltaligy dvtdivsnvhd deleftrrgl
181 vtprmaevas rdpklyamhp wvtskplpey lwkkiannci fivihrstts qtikvspddt
241 pgailqsfft kmakkkkslmd ipesqseqdf vlrvcgrdey lvgetpiknf qwvrhclknq
301 eeihvvldtp pdpaldevrk eewplvddct gvtgyheqlt ihgkdhsvf tvslwdcdrk
361 frvkirgidi pvlprntdlt vfveaniqhg qqvlcqrts pkpfteevlw nvwlefsiki
421 kdlpkgalln lqiycgkapa lsskasaesp sseskgkvql lyyvnlllid hrflrrgey
481 vlhmwigisgk gedqgsfnad kltsatnpdk ensmsisill dnychpialp khqptpdppeg
541 drvraempnq lrkqleaiaa tdpnlpltae dkellwhfry eslkhpkayp klfssvkwgq
601 geivaktyql larrevwdqs aldvgltmq ldcnfsdenv raiavqkles ledddvlhyl
661 lqlvgavkfe pyhdsalarf llkrglrnkr ighflfwflr seiagrsrhyq qrfavileay
721 lrgcgtamlh dftqqvqvie mlqkvtdik slsaekyds sqvisqlkqk lenlqnsqkp
781 esfrvpydpg lkagalaiek ckvmaskkkp lwlefkcadp talsnetigi ifkhgddlrq
841 dmlilqilri mesiwetesl dlcllpygci stgdkigmie ivkdattiak iqqstvgntg
901 afkdevlnhw lkekspsteek fqaaverfvy scagycvatf vlgigdrhnd nimitetgnl
961 fhidfghilg nyksflgink ervpfvltpd flfvmgtsgk ktsphfqkfq dicvkaylal
1021 rhhtnllil fsmmlmtgmp qltskediey irdaltvgkn eedakkyfld qievcrdkgw
1081 tvqfnwflhl vlgikqgekh sa

```

FIG. 8

```

1   MPPRPSSGEL WGIHLMPPRI LVECLLPNGM IVTLECLREA TLITIKHELF KEARKYPLHQ
61  LLQDESSYIF VSVTQEAERE EFFDETTRL C DLRLFQPF LK VIEPVGNREE KILNREIGFA
121 IGMPVCEFD M VKDPEVQDFR RNILNVCKEA VDLRDLNSPH SRAMYVYPPN VESSPELPKH
181 IYNKLDKGQI IVVIWVIVSP NNDKQKYTLK INHDCVPEQV IAEAIRKCTR SMLLSSEQLK
241 LCVLEYQGKY ILKVCGCDEY FLEKYPLSQY KYIRSCIMLG RMPNLMMLAK ESLYSQLPMD
301 CFTMPSYSRR ISTATPYMNG ETSTKSLWVI NSALRIKILC ATYVNVNIRD IDKIYVRTGI
361 YHGGEPLCDN VNTQRVPCSN PRWNEWLN YD IYIPDL PRAA RLCLSI CSVK GRKGAKEEHC
421 PLAWGNINLF DYTDTLVSGK MALNLWPVPH GLEDLLNPIG VTGSNPNKET PCLELEFDWF
481 SSVVKFPDMS VIEEHANWSV SREAGFSYSH AGLSNRLARD NELRENDKEQ LKAISTRDPL
541 SEITEQEKDF LWSHRHYCVT IPEILPKLLL SVKWN SRDEV AQMYCLVKDW PPIKPEQAME
601 LLDCNYPDPM VRGFAVRCL E KYLTDDKLSQ YLIQLVQVLK YEQYLDNLLV RFLKKALTN
661 QRIGHFFFWH LKSEMHNKT V SQRFGLLLES YCRACGMYLK HLN RQVEAME KLINLTDILK
721 QEKKDETQKV QMKFLVEQMR RPDFMDALQG FLSPLNPAHQ LGNLRLEECR IMSSAKRPLW
781 LNWENPDIMS ELLFQNN E I FKNGDDL RQD MLTLQIIRIM ENIWQNOGLD LRMLPYGCLS
841 IGDCVGLIEV VRNSHTIMQI QCKGGLKGAL QFNSHTLHQW LKDKNKGEIY DAAIDLFTRS
901 CAGYCVATFI LGIGDRHNSN IMVKDDGQLF HIDFGHFLDH KKKKFGYKRE RVFFVL TQDF
961 LIVISKGAQE CTKTREPERF QEMCYKAYLA IRQHANLFIN LFSMMLGSGM PELQSFDDIA
1021 YIRKTLALDK TEQEAL EYFM QMND AHHGG WTKMDWIFH TIKQHALN

```

FIG. 9

```

1    MCFSFIMPPA MADILDIWAV DSQIASDGS I PVDFLLPTGI YIQLEVPREA TISYIKQMLW
61   KQVHNYPMFN LLMDIDSYMF ACVNQTAVYE ELEDETRRLC DVRPFLPVLK LVTRSCDPGE
121  KLDISKIGVLI GKGLHEFDSL KDEVNEFRR KMRKFSEEKI LSLVGLSWMD WLKQTYPPEH
181  EPSIPENLED KLYGGKLIVA VHFENCQDVF SFQVSPNMNP IKVNELAIQK RLTIHGKEDE
241  VSPYDYVLQV SGRVEYVFGD HPLIQFQYIR NCVMNRALPH FILVECCIK KMYEQEMIAI
301  EAAINRNSSN LPLPLPPKKT RIISHVWENN NPFQIVLVKG NKLNTEETVK VHVRAGLPHG
361  TELLCKTIVS SEVSGKNDHI WNEPLEFDIN ICDLPRMARL CFAVYAVLDK VKTKKSTKTI
421  NPSKYQTIRK AGKVHYFPAW VNTMVDFDKG QLRTGDIILH SWSSFPDELE EMLNPMGTVQ
481  TNPYTENATA LHVKFPENKK QPYYPFDFK IIEKAAEIAS SDSANVSSRG GKKFLPVLKE
541  ILDRDPLSQL CENEMDLIWT LRQDCREIFP QSLPKLLLSI KWNKLEDAVQ LQALLQIWPK
601  LPPREALELL DFNYPDQYVR EYAVGCLROM SDEELSQYLL QLVQVLKYEP FLDICALSRFL
661  LERALGNRRI GQFLFWHLRS EVHIPAVSVQ FGVILEAYCR GSVGHMKVLS KQVEALNKLK
721  TLNSLIKUNA VKLNRAKGKE AMHTCLKQSA YREALSDLQS PLNPCVILSE LYVEKCKYMD
781  SKMKPLWLVI NNVVFGEDSV GVIFKNGDDL RQDMLTLQML RLMDLLWKEA GLDLRMLPYG
841  CLATGDRSGL IEVVSTSETI ADIQLNSSNV AAAAAFNKDA LLNWLKEYNS GDDLDRATIEE
901  FTLSCAGYCV ASYVLGIGDR HSDNIMVKKT GQLFHIDFGH ILGNFKSKFG IKRERVPPFIL
961  TYDFIHVIQQ GKTGNTKFG RFRQCCEDAY LILRRHGNLF ITLFAIMLTA GLPELTSVKD
1021 IQYLKDSLAL GKSEEEALKQ FKQKFDEALR ESWTTKVNMW AHTVRKDYRS

```

FIG. 10