



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



(11) BR 112018008877-3 B1

(22) Data do Depósito: 01/11/2016

(45) Data de Concessão: 24/01/2023

(54) Título: COMPOSTOS INIBIDORES DE RET, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USOS DOS REFERIDOS COMPOSTOS

(51) Int.Cl.: C07D 401/14; C07D 403/14; A61P 35/00; A61K 31/53; A61K 31/506; (...).

(30) Prioridade Unionista: 02/11/2015 US 62/249,784; 28/07/2016 US 62/367,960.

(73) Titular(es): BLUEPRINT MEDICINES CORPORATION.

(72) Inventor(es): JASON D. BRUBAKER; JOSEPH L. KIM; KEVIN J. WILSON; DOUGLAS WILSON; LUCIAN V. DIPIETRO.

(86) Pedido PCT: PCT US2016059879 de 01/11/2016

(87) Publicação PCT: WO 2017/079140 de 11/05/2017

(85) Data do Início da Fase Nacional: 02/05/2018

(57) Resumo: INIBIDORES DE RET. Trata-se de inibidores de RET do tipo selvagem e seus mutantes resultantes, composições farmacêuticas que incluem tais compostos e métodos para usar tais compostos e composições.

COMPOSTOS INIBIDORES DE RET, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USOS DOS REFERIDOS COMPOSTOS

[001] Esta invenção se refere a inibidores de RET que são ativos contra RET do tipo selvagem e seus mutantes resistentes.

REIVINDICAÇÃO DA PRIORIDADE

[002] Este pedido reivindica prioridade do documento U.S.S.N. 62/249.784 depositado em 2 de novembro de 2015 e do documento U.S.S.N. 62/367.960, depositado em 28 de julho de 2016, cada um dos quais está incorporado em sua totalidade.

FUNDAMENTOS

[003] RET (reorganizado durante a transfecção) é uma tirosina quinase receptora que ativa múltiplas trajetórias a jusante envolvidas na proliferação celular e sobrevivência. As fusões de RET estão implicadas em diversos cânceres, incluindo carcinoma papilar da tireoide e câncer de pulmão de células não pequenas. Uma análise genômica no panorama de fusões de quinase identificou fusões de RET em amostras de paciente com câncer de mama e cólon, fornecendo justificativa terapêutica para o uso de inibidores de RET em múltiplas subpopulações de pacientes.

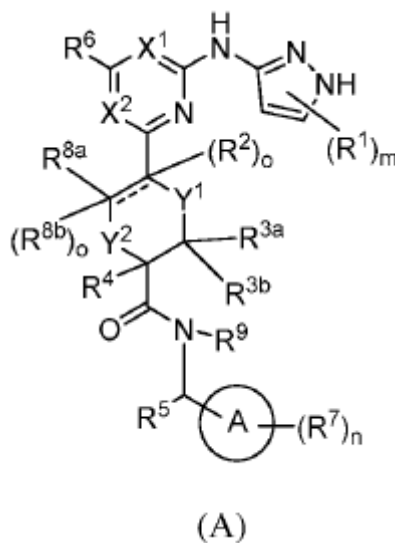
[004] A identificação de fusões de RET como acionadores em alguns cânceres estimulou o uso de inibidores de múltiplas quinases aprovados com atividade inibitória de RET para tratar pacientes cujos tumores expressam uma proteína de fusão de RET. Entretanto, estes fármacos não podem sempre ser dosados nos níveis necessários para inibir suficientemente RET devido às toxicidades que resultam da inibição de alvos diferentes de RET. Ademais, um dos maiores desafios para tratar câncer é a capacidade de células tumorais se tornarem resistentes à terapia. A reativação da quinase por meio de mutação é um mecanismo de resistência comum. Quando a resistência ocorre, as opções de tratamento do paciente são frequentemente muito limitadas, e o câncer progride, não controlado, na maioria dos casos. Há, assim, uma necessidade de compostos que inibam RET, assim como seus mutantes resistentes.

SUMÁRIO

[005] A presente invenção fornece inibidores de RET e mutantes de RET,

por exemplo, mutantes resistentes a RET (conforme definido no presente documento), por exemplo, inibidores de fórmula estrutural (I) e sais farmaceuticamente aceitáveis e composições dos mesmos. A presente invenção fornece, ainda, métodos para usar os compostos da invenção e sais farmaceuticamente aceitáveis e composições dos mesmos para inibir a atividade de RET ou mutantes de RET numa célula ou num paciente. A presente invenção fornece, ainda, métodos para usar os compostos da invenção e sais farmaceuticamente aceitáveis e composições dos mesmos para tratar um indivíduo que sofre de uma afecção mediada por atividade de RET anormal, por exemplo, câncer.

[006] Num aspecto, a invenção apresenta um composto de fórmula estrutural (A) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo:



[007] em que cada um dentre anel A, X¹, X², Y¹, Y², R¹, R², R^{3a}, R^{3b}, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R^{8a}, R^{8b}, R⁹, m, n, o e

[008] “==” é definido conforme descrito no presente documento.

[009] Em outro aspecto, a presente invenção fornece composições farmacêuticas que compreendem um composto de fórmula estrutural (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo e um carreador farmaceuticamente aceitável.

[010] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método para inibir a atividade de RET numa célula ou num paciente. Em algumas modalidades, o referido método compreende a etapa de colocar a célula em contato com ou

administrar ao paciente um composto de fórmula estrutural (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável ou composição do mesmo.

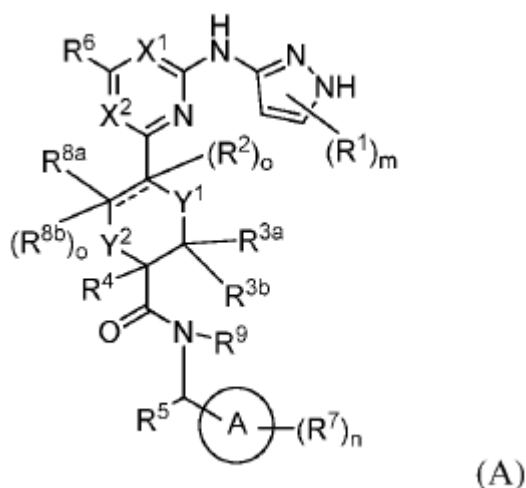
[011] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método para tratar um indivíduo que sofre de uma afecção mediada por atividade de RET anormal. Em algumas modalidades, o referido método compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula estrutural (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável ou composição do mesmo.

[012] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método para tratar um indivíduo que desenvolveu resistência a um tratamento de câncer. Em algumas modalidades, o referido método compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula estrutural (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável ou composição do mesmo.

MODALIDADES DA INVENÇÃO

COMPOSTOS

[013] Num aspecto, a presente invenção apresenta um composto que tem a fórmula estrutural (A):



[014] ,

[015] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

[016] o anel A é um anel de arila ou heteroarila;

[017] cada um dentre X^1 e X^2 é independentemente selecionado de N e $C(R^6)$;

[018] cada um dentre Y^1 e Y^2 é independentemente selecionado de $-CH_2-$ e $-O-$, em que não mais de um dentre Y^1 ou Y^2 é $-O-$;

[019] cada R^1 e cada R^7 é independentemente selecionado de C_1 - C_6 alquila, C_2 - C_6 alquenila, C_2 - C_6 alquinila, C_1 - C_6 alcóxi, halo, C_1 - C_6 heteroalquila, cicloalquila, arila, heteroarila, arilóxi, aralquila, heterociclila, heterociclilalquila, nitro, ciano, -C(O)R, -OC(O)R, -C(O)OR, (C_1 - C_6 alquilenos)-C(O)R, -SR, -S(O)₂R, -S(O)₂-N(R)(R), (C_1 - C_6 alquilenos)-S(O)₂R, (C_1 - C_6 alquilenos)-S(O)₂-N(R)(R), -N(R)(R), -C(O)-N(R)(R), -N(R)-C(O)R, -N(R)-C(O)OR, -(C_1 - C_6 alquilenos)N(R)-C(O)R, -N(R)S(O)₂R e -P(O)(R)(R); em que cada um dentre alquila, alquenila, alquinila, alcóxi, heteroalquila, cicloalquila, arila, heteroarila, arilóxi, aralquila, heterociclila e heterociclilalquila é independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R^a ; ou dois R^1 ou dois R^7 são tomados em conjunto com os átomos de carbono, aos quais são fixados, formam um anel de cicloalquila ou heterociclila independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R^b ;

[020] cada um dentre R^2 , quando presente, R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^{8a} e R^{8b} , quando presente, é independentemente selecionado de hidrogênio, C_1 - C_6 alquila, C_1 - C_6 alcóxi, halo, hidroxila, C_1 - C_6 heteroalquila e -N(R)(R); em que cada alquila, alcóxi e heteroalquila é opcional e independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R^a ;

[021] cada um dentre R^5 e R^9 é independentemente selecionado de hidrogênio, C_1 - C_6 alquila e C_1 - C_6 heteroalquila; em que cada alquila e heteroalquila é opcional e independentemente substituída por 0 a 5 ocorrências de R^a ;

[022] cada R^6 é independentemente selecionado de hidrogênio, C_1 - C_6 alquila, C_1 - C_6 alcóxi, halo, C_1 - C_6 heteroalquila e -N(R)(R); em que cada alquila, alcóxi e heteroalquila é opcional e independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R^a ;

[023] cada R é independentemente selecionado de hidrogênio, hidroxila, halo, tiol, C_1 - C_6 alquila, C_1 - C_6 tioalquila, C_1 - C_6 alcóxi, C_1 - C_6 heteroalquila, cicloalquila, cicloalquilalquila, heteroarilalquila, heterociclila e heterociclilalquila, em que cada um dentre alquila, tioalquila, alcóxi, heteroalquila, cicloalquila, cicloalquilalquila, heteroarilalquila, heterociclila e heterociclilalquila é independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R^a , ou 2 R^1 , em conjunto com o átomo (ou átomos) ao qual são fixados, formam um anel de cicloalquila ou heterociclila independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R^b ;

[024] cada R^a e cada R^b é independentemente selecionado de C_1 - C_6 alquila, halo, hidroxila, C_1 - C_6 heteroalquila, C_1 - C_6 alcóxi, cicloalquila, heterociclila ou ciano, em que cada um dentre alquila, heteroalquila, alcóxi, cicloalquila e heterociclila é independentemente substituído por 0 a 5 ocorrências de R' ;

[025] cada R' é independentemente selecionado de C_1 - C_6 alquila, C_1 - C_6 heteroalquila, halo, hidroxila, cicloalquila ou ciano; ou 2 R' , em conjunto com o átomo (ou átomos) ao qual são fixados, formam um anel de cicloalquila ou heterociclila;

[026] m é 0, 1 ou 2;

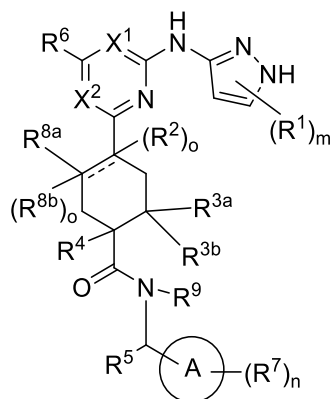
[027] n é 0, 1, 2 ou 3;

[028] $==$ representa uma ligação simples ou dupla;

[029] cada o é 0 quando $==$ for uma ligação dupla; e

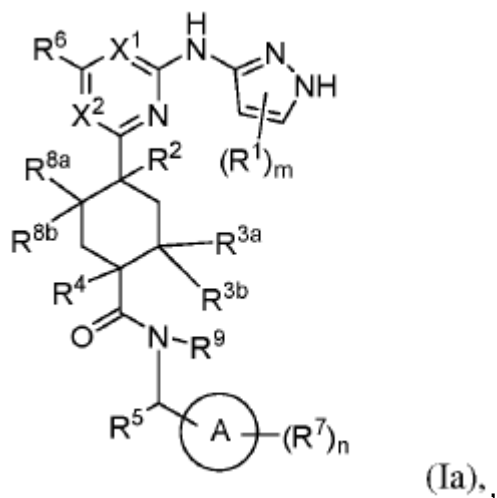
[030] cada o é 1 quando $==$ foi uma ligação simples.

[031] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula (I):



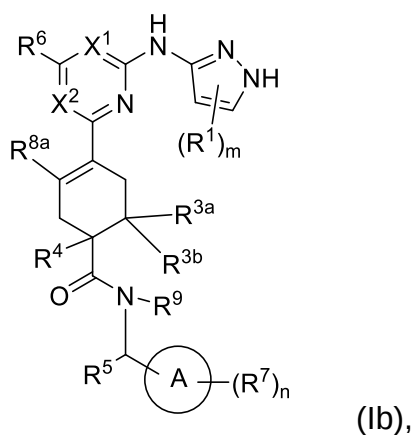
[032] (I), ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^2 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R^{10} , R^a , R^b , R' , m e n é conforme descrito para um composto de Fórmula A.

[033] Em algumas modalidades, $==$ representa uma ligação simples, e o composto tem a fórmula Ia:



[034] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre anel A, X¹, X², R¹, R², R^{3a}, R^{3b}, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R^{8a}, R^{8b}, R⁹, R, R^a, R^b, R', m e n é conforme descrito para um composto de Fórmula A.

[035] Em algumas modalidades, == representa uma ligação dupla, e o composto tem a fórmula Ib:



[036] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre anel A, X¹, X², R¹, R^{3a}, R^{3b}, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R^{8a}, R⁹, R, R^a, R^b, R', m e n é conforme descrito para um composto de Fórmula A.

[037] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, R¹ está situado na posição 5. Em algumas modalidades, R¹ está situado na posição 4. Em algumas modalidades, R¹ é C₁-C₄ alquila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a. Em algumas modalidades, m é 1 ou 2. Em algumas modalidades, m é 1. Em algumas modalidades, m é 1; R¹ está situado na posição 5; e R¹ é C₁-C₄ alquila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a. Em algumas modalidades, R¹ é CH₃.

[038] Em algumas modalidades de Fórmulas I ou Ia, R^2 é selecionado de hidrogênio, hidroxila, halo e O-C₁-C₄ alquila. Em algumas modalidades, R^2 é selecionado de hidrogênio, hidroxila, fluoro e OCH₃.

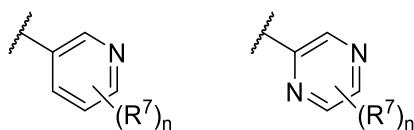
[039] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, cada um dentre R^{3a} , R^{3b} , R^{8a} e R^{8b} (que está apenas presente nas Fórmulas I ou Ia) é independentemente selecionado de hidrogênio e C₁-C₄ alquila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a . Em algumas modalidades, cada um dentre R^{3a} , R^{3b} , R^{8a} e R^{8b} é independentemente selecionado de hidrogênio e CH₃. Em algumas modalidades, pelo menos um par de R^{3a} e R^{3b} ou R^{8a} e R^{8b} é simultaneamente hidrogênio.

[040] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, R^4 é selecionado de hidrogênio, C₁-C₄ alquila e O-C₁-C₄ alquila, em que cada porção de alquila de R^4 é opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a . Em algumas modalidades, R^4 é selecionado de hidrogênio, CH₃, CH₂CH₃, OCH₃ e OCH₂CH₃.

[041] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, R^5 é selecionado de hidrogênio e C₁-C₄ alquila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a . Em algumas modalidades, R^5 é selecionado de hidrogênio e CH₃.

[042] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, cada R^6 é independentemente selecionado de hidrogênio, halo e C₁-C₄ alquila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a . Em algumas modalidades, cada R^6 é independentemente selecionado de hidrogênio, cloro e CH₃. Em algumas modalidades, não mais de um R^6 é diferente de hidrogênio.

[043] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, o anel A é uma heteroarila monocíclica de 6 membros que compreende pelo menos um átomo de anel de nitrogênio. Em algumas modalidades, o anel A é



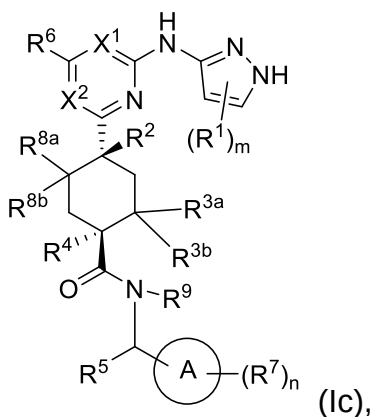
selecionado de e .

[044] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, R^7 é heteroarila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^b . Em

algumas modalidades, R^7 é selecionado de 4-fluoropirazol-1-ila, 4-cloropirazol-1-ila, pirazol-1-ila e 3,5-dimetilpirazol-1-ila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^b . Em algumas modalidades, R^7 é pirazol-1-ila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^b . Em algumas modalidades, n é 1. Em algumas modalidades, n é 1; e R^7 é pirazol-1-ila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^b .

[045] Em algumas modalidades de qualquer uma das Fórmulas A, I, Ia ou Ib, R^9 é selecionado de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila opcionalmente substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a . Em algumas modalidades, R^9 é hidrogênio. Em algumas modalidades, R^9 é C_1 - C_4 alquila. Em algumas modalidades, R^5 e R^9 são ambos hidrogênios.

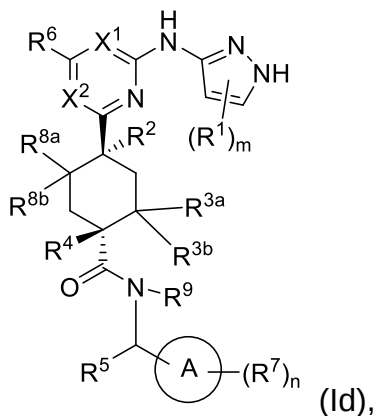
[046] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula estrutural (Ic):



[047] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

[048] em que o anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^2 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , m e n são conforme definidos para a Fórmula (A).

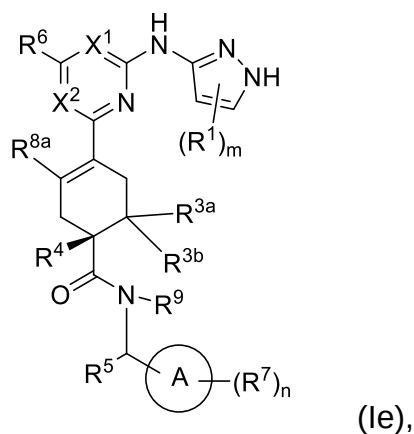
[049] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula estrutural (Id):



[050] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

[051] em que o anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^2 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , m e n são conforme definidos para a Fórmula (A).

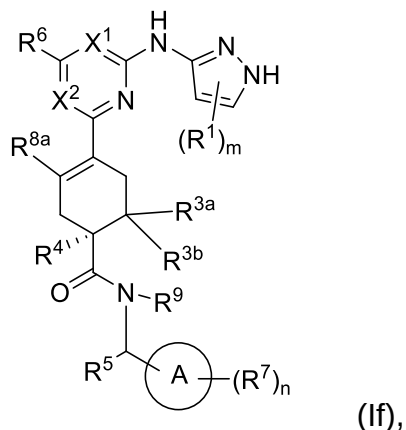
[052] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula estrutural le:



[053] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

[054] em que o anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^9 , m e n são conforme definido para a Fórmula (A).

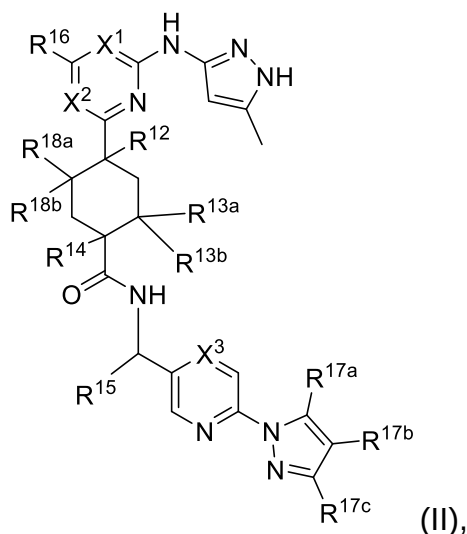
[055] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula estrutural (If):



[056] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

[057] em que o anel A, X¹, X², R¹, R^{3a}, R^{3b}, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R^{8a}, R⁹, m e n são conforme definido para a Fórmula (A).

[058] Em outro aspecto, a presente invenção apresenta um composto que tem a fórmula estrutural (II):



[059] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

[060] X¹ é selecionado de N, CH e C(halo);

[061] X² é selecionado de N e CH;

[062] X³ é selecionado de N e CH;

[063] R¹² é selecionado de hidrogênio, hidroxila, halo e O-C₁-C₄ alquila;

[064] cada um dentre R^{13a}, R^{13b}, R^{18a} e R^{18b} é independentemente selecionado de hidrogênio e C₁-C₄ alquila;

[065] R¹⁴ é selecionado de hidrogênio, C₁-C₄ alquila e OC₁-C₄ alquila;

[066] R¹⁵ é selecionado de hidrogênio e C₁-C₄ alquila;

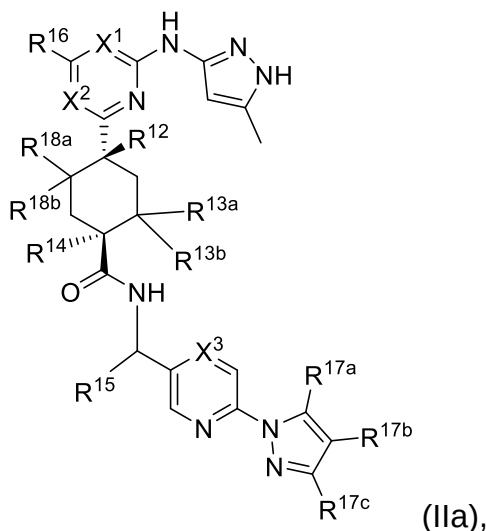
[067] R^{16} é selecionado de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila;

[068] R^{17b} é selecionado de hidrogênio e halo; e

[069] R^{17a} e R^{17c} são independentemente selecionados de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila.

[070] Em algumas modalidades, X^1 é selecionado de N, CH e C(Cl); X^2 é selecionado de N e CH; X^3 é selecionado de N e CH; R^{12} é selecionado de hidrogênio, hidroxila, fluoro e O- CH_3 ; cada um dentre R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} e R^{18b} é independentemente selecionado de hidrogênio, metila e etila; e em que pelo menos um par de R^{13a} e R^{13b} ou R^{18a} e R^{18b} é simultaneamente hidrogênio; R^{14} é selecionado de hidrogênio, CH_3 , CH_2CH_3 , O CH_3 e O CH_2CH_3 ; R^{15} é selecionado de hidrogênio e CH_3 ; R^{16} é selecionado de hidrogênio e CH_3 ; R^{17b} é selecionado de hidrogênio, cloro e fluoro; R^{17a} e R^{17c} são simultaneamente hidrogênio ou CH_3 , em que, quando R^{17a} e R^{17c} são simultaneamente CH_3 , R^{17b} é hidrogênio.

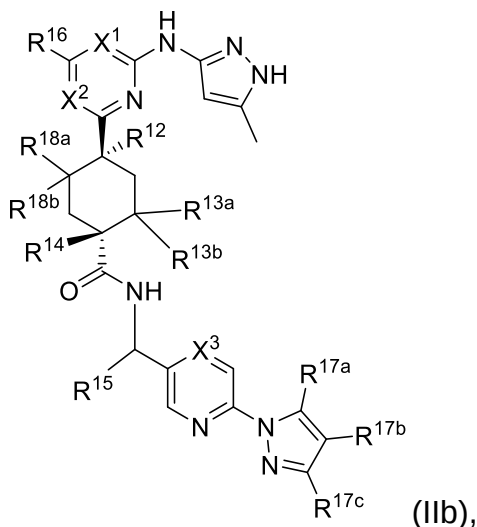
[071] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula estrutural (IIa):



[072] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

[073] em que X^1 , X^2 , X^3 , R^{12} , R^{13a} , R^{13b} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17a} , R^{17b} , R^{17c} , R^{18a} e R^{18b} são conforme definidos para a Fórmula (II).

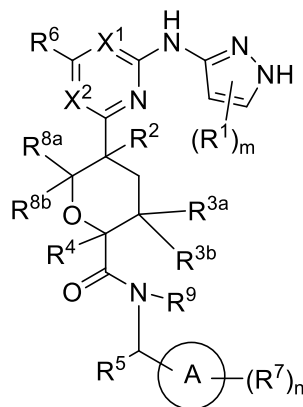
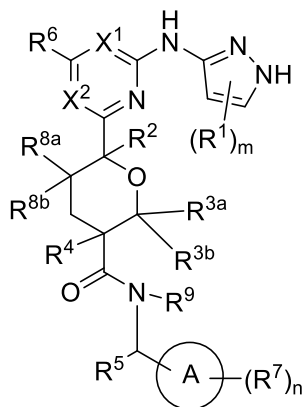
[074] Em algumas modalidades, o composto é um composto que tem a fórmula estrutural (IIb):



[075] ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

[076] em que X^1 , X^2 , X^3 , R^{12} , R^{13a} , R^{13b} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17a} , R^{17b} , R^{17c} , R^{18a} e R^{18b} são conforme definidos para a Fórmula (II).

[077] Em algumas modalidades, a invenção fornece um composto de Fórmula IIIa ou Fórmula IIIb:

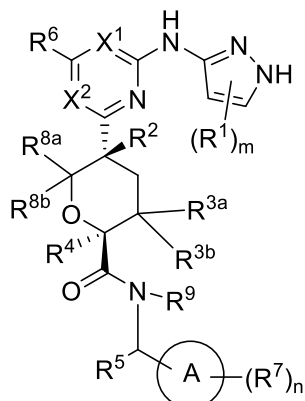


[078]

(IIIb), ou um

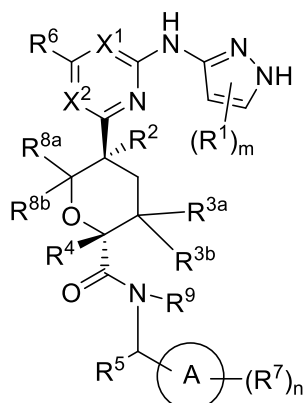
sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^2 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R , R^a , R^b , R' , m e n é conforme descrito para um composto de Fórmula A, incluindo as modalidades e os aspectos mais específicos de cada uma das variáveis acima.

[079] Em algumas modalidades de Fórmula IIIb, o composto tem a Fórmula



IIIb-1: (IIIb-1), ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^2 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R , R^a , R^b , R' , m e n é conforme descrito para um composto de Fórmula A, incluindo as modalidades e os aspectos mais específicos de cada uma das variáveis acima.

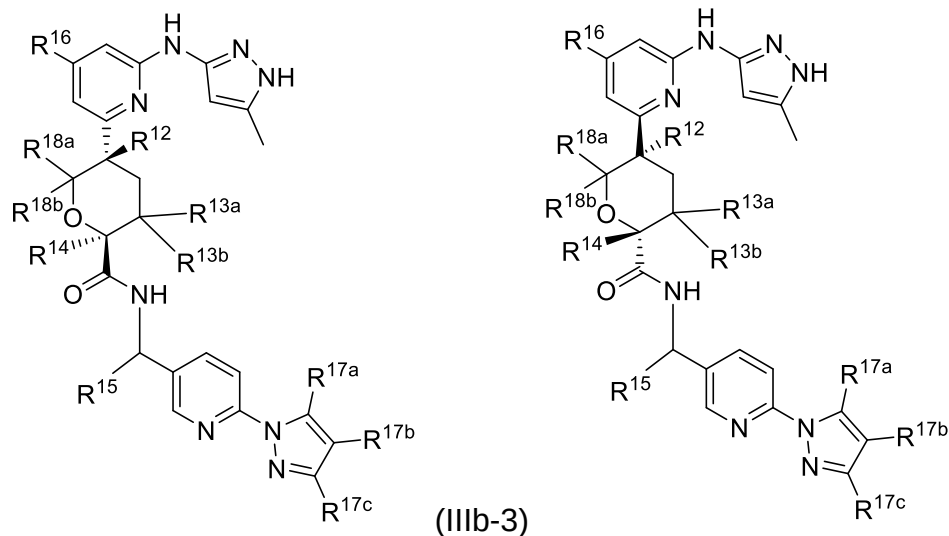
[080] Em algumas modalidades de Fórmula IIIb, o composto tem a Fórmula



IIIb-2: (IIIb-2), ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre anel A, X^1 , X^2 , R^1 , R^2 , R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{8a} , R^{8b} , R^9 , R , R^a , R^b , R' , m e n é conforme descrito para um composto de Fórmula A, incluindo as modalidades e os aspectos mais específicos de cada uma das variáveis acima.

[081] Em algumas modalidades de Fórmulas IIIa, IIIb, IIIb-1 e IIIb-2, cada um dentre X^1 e X^2 é $C(R^6)$. Num aspecto destas modalidades, cada um dentre X^1 e X^2 é CH.

[082] Em algumas modalidades de Fórmula IIIb, o composto tem a Fórmula



(IIIb-4), ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que cada um dentre R^{12} , R^{13a} , R^{13b} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17a} , R^{17b} , R^{17c} , R^{18a} e R^{18b} é conforme definido para a Fórmula II, incluindo as modalidades e os aspectos mais específicos de cada uma das variáveis acima.

[083] Em algumas modalidades, a presente invenção apresenta um composto selecionado de qualquer composto na Tabela 1.

[084] Em outro aspecto, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende um composto de Fórmula A, I, Ia, Ib, Ic, Id, II, IIa, IIb, IIIa, IIIb, IIIb-1, IIIb-2, IIIb-3 ou IIIb-4 descrito no presente documento (por exemplo, um composto na Tabela 1) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo e um carreador farmaceuticamente aceitável.

[085] Em outro aspecto, a presente invenção apresenta um método para inibir a atividade de RET numa célula ou num paciente que compreende a etapa de colocar a célula em contato com ou administrar ao paciente um composto descrito no presente documento (por exemplo, um composto na Tabela 1) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica do mesmo.

[086] Em outro aspecto, a presente invenção apresenta um método para tratar um indivíduo que sofre de uma afecção mediada por atividade de RET anormal que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto descrito no presente documento (por exemplo, um composto na Tabela 1) ou um sal farmaceuticamente aceitável do

mesmo ou uma composição farmacêutica do mesmo.

[087] Em outro aspecto, a presente invenção apresenta um método para tratar um indivíduo que desenvolveu resistência a um tratamento de câncer que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto descrito no presente documento (por exemplo, um composto na Tabela 1) ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica do mesmo.

DEFINIÇÕES

[088] Conforme usado no presente documento, os termos “paciente”, “sujeito”, “indivíduo” e “hospedeiro” referem-se a um ser humano ou um animal não humano que sofre ou que se suspeita que sofra de uma doença ou um distúrbio associado à expressão de RET anormal (isto é, atividade de RET aumentada causada por sinalização através de RET) ou atividade biológica.

[089] “Tratar” e “que trata” tal doença ou distúrbio se refere a aliviar pelo menos um sintoma da doença ou do distúrbio. Estes termos, quando usados em conjunto com uma afecção, tal como câncer, se referem a um ou mais dentre: impedir o crescimento do câncer, fazer com que o câncer diminua em peso ou volume, estender o tempo de sobrevida esperado do paciente, inibir o crescimento do tumor, reduzir a massa do tumor, reduzir o tamanho ou o número de lesões metastáticas, inibir o desenvolvimento de novas lesões metastáticas, prolongar a sobrevida, prolongar a sobrevida sem progressão, prolongar o tempo até progressão e/ou melhorar a qualidade de vida.

[090] O termo “efeito terapêutico” se refere a um efeito local ou sistêmico benéfico em animais, particularmente mamíferos e mais particularmente seres humanos, causado pela administração de um composto ou composição da invenção. O sintagma “quantidade terapeuticamente eficaz” significa que a quantidade de um composto ou uma composição da invenção é eficaz para tratar uma doença ou uma afecção causada por superexpressão de RET ou atividade biológica de RET anormal a uma razão benefício/risco razoável. A quantidade terapeuticamente eficaz de tal substância variará dependendo do indivíduo e do estado doentio que é tratada, do peso e da idade do indivíduo, da gravidade do estado doentio, da maneira de administração e similares, que podem ser

prontamente determinados por um versado na técnica.

[091] Conforme usado no presente documento, “desenvolver resistência” significa que quando um fármaco é administrado pela primeira vez ao paciente, os sintomas do paciente melhoram, seja medido por diminuição em volume de tumor, uma diminuição no número de novas lesões ou algum outros meio que um médico use para julgar a progressão da doença; entretanto, estes sintomas param de melhorar ou até mesmo pioram em algum ponto. Neste momento, se diz que o paciente desenvolveu resistência ao fármaco.

[092] “Grupo alifático” significa um grupo hidrocarboneto de cadeia reta, cadeia ramificada ou cíclico e inclui grupos saturados e insaturados, tal como um grupo alquila, um grupo alquenila e um grupo alquinila.

[093] “Alquilenos” se refere a um radical bivalente de um grupo alquila, por exemplo, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

[094] “Alquenila” significa um grupo alifático contendo pelo menos uma ligação dupla.

[095] “Alcoxila” ou “alcóxi” significa um grupo alquila tendo um radical oxigênio ligado ao mesmo. Os grupos alcoxila representativos incluem metóxi, etóxi, propilóxi, terc-butóxi e similares. O termo “haloalcóxi” se refere a um alcóxi em que um ou mais átomos de hidrogênio são substituídos por halo e inclui porções químicas alcóxi em que todos os hidrogênios foram substituídos por halo (por exemplo, perfluoroalcóxi).

[096] “Alquila” se refere a um radical monovalente de um hidrocarboneto reto ou ramificado saturado, tal como um grupo reto ou ramificado de 1 a 12, 1 a 10 ou 1 a 6 átomos de carbono, denominado no presente documento $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alquila, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ alquila e $\text{C}_1\text{-C}_6$ alquila, respectivamente. Os grupos alquila exemplificativos incluem, porém sem limitação, metila, etila, propila, isopropila, 2-metil-1-propila, 2-metil-2-propila, 2-metil-1-butila, 3-metil-1-butila, 2-metil-3-butila, 2,2-dimetil-1-propila, 2-metil-1-pentila, 3-metil-1-pentila, 4-metil-1-pentila, 2-metil-2-pentila, 3-metil-2-pentila, 4-metil-2-pentila, 2,2-dimetil-1-butila, 3,3-dimetil-1-butila, 2-etil-1-butila, butila, isobutila, t-butila, pentila, isopentila, neopentila, hexila, heptila, octila, etc.

[097] “Alquenileno” se refere a um grupo alquenila que tem dois pontos de

conexão. Por exemplo, “etenileno” representa o grupo $-\text{CH}=\text{CH}-$. Os grupos alquenileno podem estar também numa forma não substituída ou uma forma substituída com um ou mais substituintes.

[098] “Alquinila” se refere a uma cadeia de hidrocarboneto reta ou ramificada contendo 2 a 12 átomos de carbono e caracterizada por ter uma ou mais ligações triplas. Os exemplos de grupos alquinila incluem, porém sem limitação, etinila, propargila e 3-hexinila. Um dos carbonos da ligação tripla pode opcionalmente ser o ponto de ligação do substituinte alquinila.

[099] “Alquinileno” se refere a uma alquinila que tem dois pontos de conexão. Por exemplo, “etinileno” representa o grupo $-\text{C}\equiv\text{C}-$. Os grupos alquinileno podem estar também numa forma não substituída ou uma forma substituída com um ou mais substituintes.

[0100] “Sistema de anel aromático” é reconhecido na técnica e se refere a um sistema de anel de hidrocarboneto monocíclico, bicíclico ou policíclico, em que pelo menos um anel é aromático.

[0101] “Arila” se refere a um radical monovalente de um sistema de anel aromático. Os grupos arila representativos incluem sistemas de anel completamente aromáticos, tal como fenila, naftila e antracenila, e sistemas de anel em que um anel de carbono aromático é fundido a um ou mais anéis de carbono não aromáticos, tal como indanila, ftalimidila, naftimidila ou tetra-hidronaftila e similares.

[0102] “Arilalquila” ou “aralquila” se refere a um porção química alquila em que um átomo de hidrogênio da alquila é substituído por um grupo arila. Aralquila inclui grupos em que mais de um átomo de hidrogênio foi substituído por um grupo arila. Os exemplos de “arilalquila” ou “aralquila” incluem grupos benzila, 2-feniletila, 3-fenilpropila, 9-fluorenila, benzidrila e tritila.

[0103] “Arilóxi” se refere a $-\text{O}-(\text{aril})$, em que a porção química heteroarila é conforme definido no presente documento.

[0104] “Halo” se refere a um radical de qualquer halogênio, por exemplo, F, Cl, Br ou I.

[0105] “Heteroalquila” se refere a uma alquila opcionalmente substituída que tem um ou mais átomos de cadeia esquelética selecionados de um átomo diferente

de carbono, por exemplo, oxigênio, nitrogênio, enxofre, fósforo ou combinações dos mesmos. Uma faixa numérica pode ser dada, por exemplo, C₁-C₆ heteroalquila, que se refere ao número de carbonos na cadeia, que, neste caso, inclui 1 a 6 átomos de carbono. Por exemplo, um radical $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ é denominado uma “C₃” heteroalquila. A conexão ao restante da molécula pode ser através de um heteroátomo ou um carbono na cadeia de heteroalquila. “Heteroalquilenos” se refere a uma alquila opcionalmente substituída bivalente que tem um ou mais átomos de cadeia esquelética selecionados de um átomo diferente de carbono, por exemplo, oxigênio, nitrogênio, enxofre, fósforo ou combinações dos mesmos.

[0106] “Sistema de anel carbocíclico” se refere a um sistema de anel de hidrocarboneto monocíclico, bicíclico ou policíclico, em que cada anel é completamente saturado ou contém uma ou mais unidades de insaturação, mas em que nenhum anel é aromático.

[0107] “Carbociclila” se refere a um radical monovalente de um sistema de anel carbocíclico. Os grupos carbociclila representativos incluem grupos cicloalquila (por exemplo, ciclopentila, ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila e similares) e grupos cicloalquenila (por exemplo, ciclopentenila, ciclo-hexenila, ciclopentadienila e similares).

[0108] “Cicloalquila” se refere a um grupo hidrocarboneto cíclico, bicíclico, tricíclico ou policíclico que tem 3 a 12 carbonos. Qualquer átomo de anel substituível pode ser substituído (por exemplo, por um ou mais substituintes). Os grupos cicloalquila podem conter anéis fundidos ou espiro. Os anéis fundidos são anéis que compartilham um átomo de carbono comum. Os exemplos de porções químicas cicloalquila incluem, porém sem limitação, ciclopropila, ciclo-hexila, metilciclo-hexila, adamantila e norbornila.

[0109] “Cicloalquilalquila” se refere a um radical $-(\text{cicloalquil})\text{-alquila}$ em que cicloalquila e alquila são conforme divulgados no presente documento. A “cicloalquilalquila” está ligada à estrutura molecular original através do grupo cicloalquila.

[0110] “Sistema de anel heteroaromático” é reconhecido na técnica e se refere a um sistema de anel monocíclico, bicíclico ou policíclico em que pelo menos um anel é tanto aromático quanto compreende pelo menos um heteroátomo (por

exemplo, N, O ou S); e em que nenhum outro anel é heterocíclico (conforme definido abaixo). Em certos casos, um anel que é aromático e compreende um heteroátomo contém 1, 2, 3 ou 4 heteroátomos de anel em tal anel.

[0111] “Heteroarila” se refere a um radical monovalente de um sistema de anel heteroaromático. Os grupos heteroarila representativos incluem sistemas de anel em que (i) cada anel compreende um heteromátomo e é aromático, por exemplo, imidazolila, oxazolila, tiazolila, triazolila, pirrolila, furanila, tiofenila, pirazolila, piridinila, pirazinila, piridazinila, pirimidinila, indolizinila, purinila, naftiridinila e pteridinila; (ii) cada anel é aromático ou carbocíclico, pelo menos um anel aromático compreende um heteroátomo e pelo menos um outro anel é um anel de hidrocarboneto ou, por exemplo, indolila, isoindolila, benzotienila, benzofuranila, dibenzofuranila, indazolila, benzimidazolila, benzotiazolila, quinolila, isoquinolila, cinolinila, ftalazinila, quinazolinila, quinoxalinila, carbazolila, acridinila, fenazinila, fenotiazinila, fenoxazinila, pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3-(4H)ona, 5,6,7,8-tetra-hidroquinolinila e 5,6,7,8-tetra-hidroisoquinolinila; e (iii) cada anel é aromático ou carbocíclico e pelo menos um anel aromático compartilha um heteroátomo ligado em ponte com outro anel aromático, por exemplo, 4H-quinolizinila.

[0112] “Sistema de anel heterocíclico” se refere a sistemas de anel monocíclicos, bicíclicos e policíclicos em que pelo menos um anel é saturado ou parcialmente insaturado (mas não aromático) e que o anel compreende pelo menos um heteroátomo. Um sistema de anel heterocíclico pode estar ligado a seu grupo pendente em qualquer heteroátomo ou átomo de carbono que resulte numa estrutura estável, e qualquer um dos átomos de anel pode ser opcionalmente substituído.

[0113] “Heterocíclica” se refere a um radical monovalente de um sistema de anel heterocíclico. As heterocíclicas representativas incluem sistemas de anel em que (i) cada anel é não aromático e pelo menos um anel compreende um heteroátomo, por exemplo, tetra-hidrofuranila, tetra-hidropiranila, tetra-hidrotienila, pirrolidinila, pirrolidonila, piperidinila, pirrolinila, deca-hidroquinolinila, oxazolidinila, piperazinila, dioxanila, dioxolanila, diazepinila, oxazepinila, tiazepinila, morfolinila e quinuclidinila; (ii) pelo menos um anel é não aromático e compreende um heteroátomo e pelo menos um outro anel é um anel de carbono aromático, por

exemplo, 1,2,3,4-tetra-hidroquinolinila, 1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolinila; e (iii) pelo menos um anel é não aromático e compreende um heteroátomo e pelo menos um outro anel é aromático e compreende um heteroátomo, por exemplo, 3,4-di-hidro-1H-pirano[4,3-c]piridina e 1,2,3,4-tetra-hidro-2,6-naftiridina.

[0114] “Heterociclilalquila” se refere a um grupo alquila substituído por um grupo heterociclila.

[0115] “Ciano” se refere a um radical –CN.

[0116] “Nitro” se refere a –NO₂.

[0117] “Hidróxi” ou “hidroxila” se refere a –OH.

[0118] Conforme usado no presente documento, a definição de cada expressão, por exemplo, alquila, m, n, etc., quando ocorre mais de uma vez em qualquer estrutura, deve ser independente de sua definição em outra parte na mesma estrutura.

[0119] Certos compostos da presente invenção podem existir em formas geométricas ou estereoisoméricas particulares. A presente invenção contempla todos tais compostos, incluindo cis- e transisômeros, enantiômeros R e S, diastereoisômeros, (D)-isômeros, (L)-isômeros, as misturas racêmicas dos mesmos, e outras misturas dos mesmos, conforme se encontra dentro do escopo da invenção. Os átomos de carbono assimétricos adicionais podem estar presentes num substituinte, tal como um grupo alquila. Todos tais isômeros, assim como misturas dos mesmos, são concebidos como estando incluídos nesta invenção.

[0120] Se, por exemplo, um enantiômero particular de um composto da presente invenção for desejado, o mesmo pode ser preparado por síntese assimétrica, ou por derivação com um auxiliar quiral, quando a mistura diastereomérica resultante é separada, e o grupo auxiliar clivado para fornecer os enantiômeros desejados puros. Alternativamente, quando a molécula contém um grupo funcional básico, tal como amino, ou um grupo funcional ácido, tal como uma carboxila, sais diastereoméricos são formados com um ácido ou base opticamente ativa adequada, seguido por resolução dos diastereômeros assim formados por cristalização fracionária ou meios cromatográficos bem conhecidos na técnica, e recuperação subsequente dos enantiômeros puros.

[0121] A não ser que indicado de outro modo, quando um composto

divulgado é denominado e representado por uma estrutura sem especificar a estereoquímica e tem um ou mais centros quirais, se estende que represente todos os estereoisômeros possíveis do composto, assim como misturas enantioméricas dos mesmos.

[0122] O “excesso enantiomérico” ou “% de excesso enantiomérico” de uma composição pode ser calculado usando a equação mostrada abaixo. No exemplo mostrado abaixo, uma composição contém 90% de um enantiômero, por exemplo, o enantiômero S e 10% do outro enantiômero, isto é, o enantiômero R.

$$ee = (90-10)/100 = 80\%.$$

[0123] Assim, uma composição contendo 90% de um enantiômero e 10% do outro enantiômero referida como tendo um excesso enantiomérico de 80%.

[0124] Os compostos ou as composições descritos no presente documento podem conter um excesso enantiomérico de pelo menos 50%, 75%, 90%, 95% ou 99% de uma forma do composto, por exemplo, o enantiômero S. Em outras palavras, tais compostos ou composições contêm um excesso enantiomérico do enantiômero S em relação ao enantiômero R.

[0125] Os compostos descritos no presente documento podem também conter proporções não naturais de isótopos atômicos num ou mais dos átomos que constituem tais compostos. Por exemplo, os compostos podem ser radiomarcados com isótopos radioativos, tais como, por exemplo, deutério (^2H), trítio (^3H), carbono-13 (^{13}C) ou carbono-14 (^{14}C). Todas as variações isotópicas dos compostos divulgados no presente documento, sejam radioativas ou não, devem ser abrangidas pelo escopo da presente invenção. Adicionalmente, todas as formas tautoméricas dos compostos descritos no presente documento são concebidas como estando dentro do escopo da invenção.

[0126] O composto pode ser útil como a base livre ou como um sal. Os sais representativos incluem os sais bromidrato, cloridrato, sulfato, bissulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naptilato, mesilato, gluco-heptonato, lactobionato e laurilsulfonato e similares. (Consultar, por exemplo, Berge et al. (1977) “Pharmaceutical Salts”, *J. Pharm. Sci.* 66:1-19).

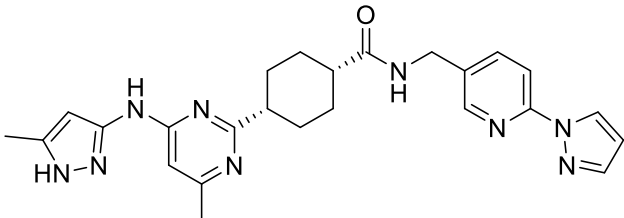
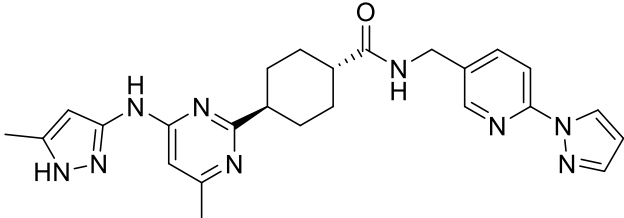
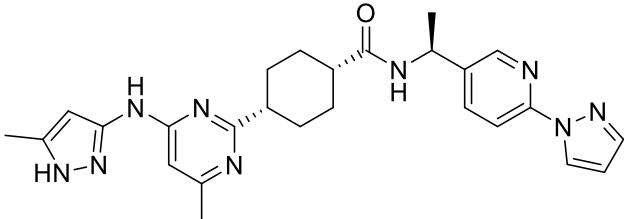
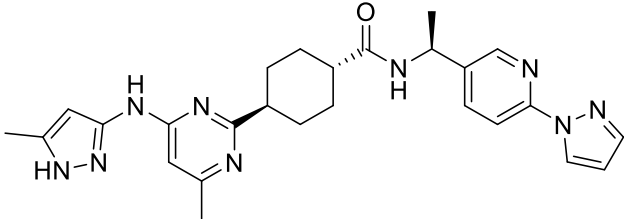
[0127] Conforme descrito no presente documento, os compostos da

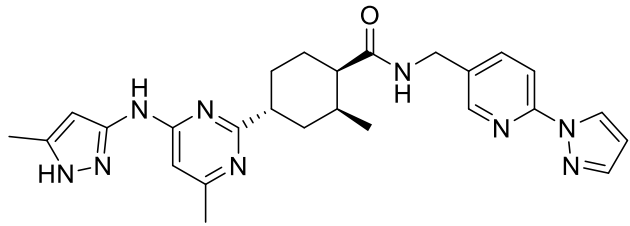
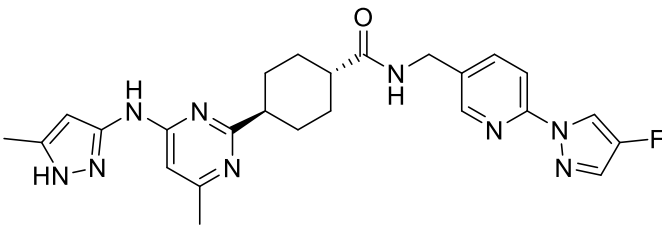
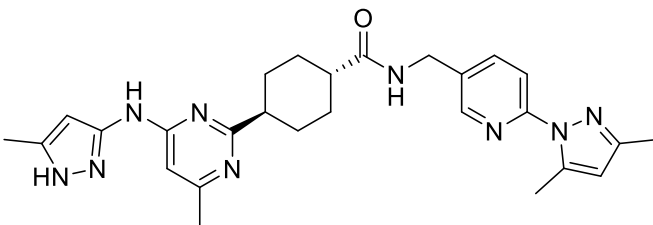
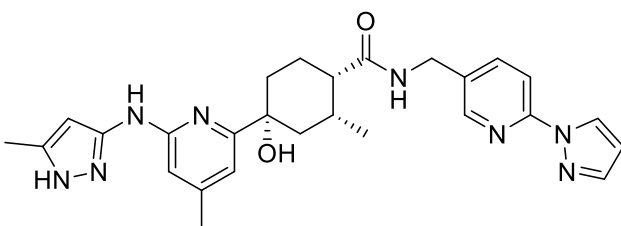
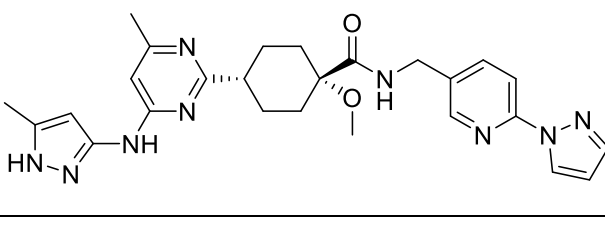
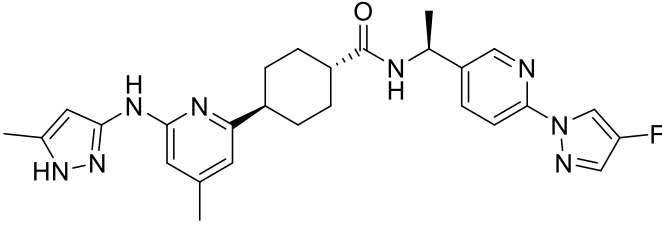
invenção podem conter porções químicas “opcionalmente substituídas”. Em geral, o termo “substituído”, seja precedido pelo termo “opcionalmente” ou não, significa que um ou mais hidrogênios da porção química designada são substituídos por um substituinte adequado. A não ser que indicado de outro modo, um grupo “opcionalmente substituído” pode ter um substituinte adequado em cada posição substituível do grupo e, quando mais de uma posição em qualquer dada estrutura pode ser substituída por mais de um substituinte selecionado de um grupo específico, o substituinte pode ser igual ou diferente em cada posição. As combinações dos substituintes previstos por esta invenção são de preferência aquelas que resultem na formação de compostos estáveis ou quimicamente exequíveis. O termo "estável", conforme usado no presente documento, se refere aos compostos que não são substancialmente alterados quando submetidos às condições que permitem sua produção, detecção e, em certas modalidades, sua recuperação, purificação e uso para um ou mais dos propósitos divulgados no presente documento.

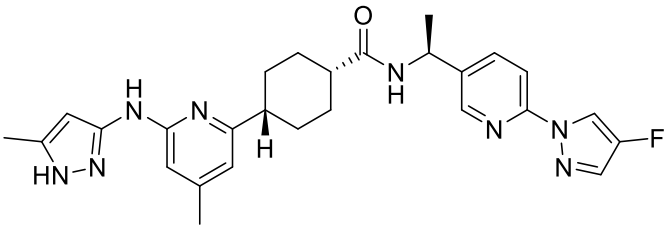
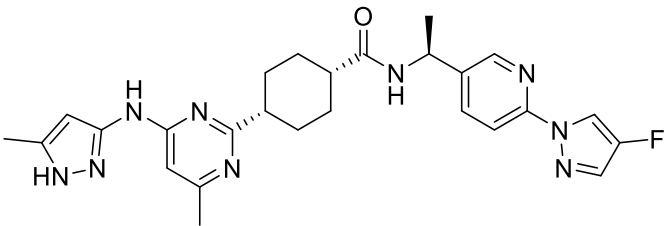
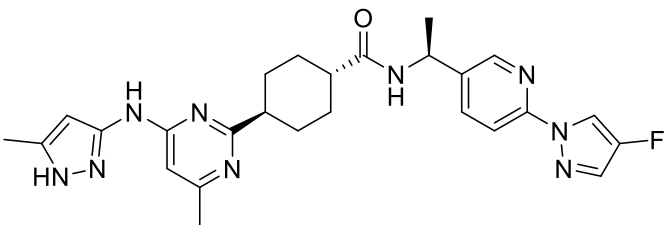
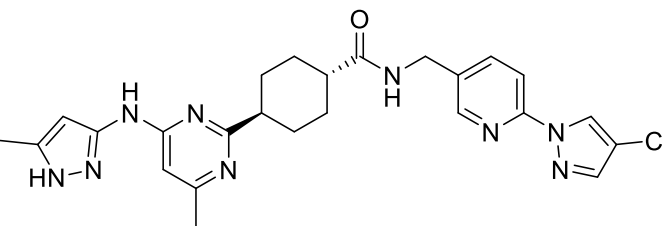
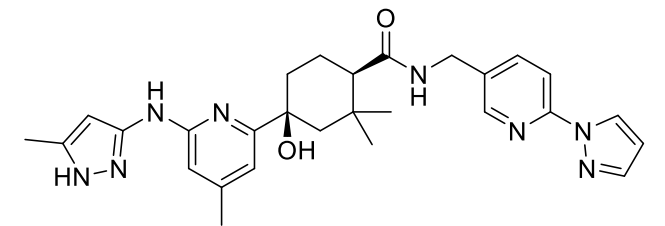
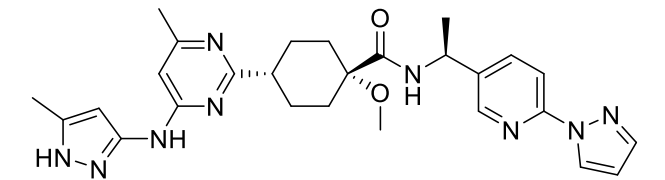
[0128] Os substituintes adequados para uma alquila opcionalmente substituída, alquilenos, heteroalquila, heteroalquilenos, carbociclila, heterociclila, grupo arila e grupo heteroarila incluem halogênio, =O, -CN, OR^c, NR^dR^e, S(O)_kR^c, NR^cS(O)₂R^c, S(O)₂NR^dR^e, C(=O)OR^c, OC(=O)OR^c, -OC(=O)R^c, -OC(=S)OR^c, C(=S)OR^c, O(C=S)R^c, C(=O)NR^dR^e, NR^cC(=O)R^c, C(=S)NR^dR^e, NR^cC(=S)R^c, NR^c(C=O)OR^c, O(C=O)NR^dR^e, NR^c(C=S)OR^c, O(C=S)NR^dR^e, NR^c(C=O)NR^dR^e, NR^c(C=S)NR^dR^e, C(=S)R^c, C(=O)R^c, C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ haloalquila, C₁-C₆ heteroalquila, carbociclila, (C₁-C₆-alquilenos)-carbociclila, (C₁-C₆-heteroalquilenos)-carbociclila, heterociclila, (C₁-C₆-alquilenos)-heterociclila, (C₁-C₆-heteroalquilenos)-heterociclila, arila, (C₁-C₆-alquilenos)-arila, (C₁-C₆-heteroalquilenos)-arila, heteroarila, (C₁-C₆-alquilenos)-heteroarila, ou (C₁-C₆-heteroalquilenos)-heteroarila, em que cada um dentre a referida alquila, alquilenos, heteroalquila, heteroalquilenos, carbociclila, heterociclila, arila e heteroarila é opcionalmente substituído por um ou mais de halogênio, OR^c, NO₂, CN, NR^cC(=O)R^c, NR^dR^e, S(O)_kR^c, C(=O)OR^c, C(=O)NR^dR^e, C(=O)R^c, C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ haloalquila, ou C₁-C₆ heteroalquila e em que R^c é hidrogênio, hidróxi, C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ heteroalquila, carbociclila, (C₁-C₆-alquilenos)-carbociclila, (C₁-C₆-heteroalquilenos)-carbociclila, heterociclila, (C₁-C₆-

alquilenos)-heterociclila, (C₁-C₆-heteroalquilenos)-heterociclila, arila, (C₁-C₆-alquilenos)-arila, (C₁-C₆-heteroalquilenos)-arila, heteroarila, (C₁-C₆-alquilenos)-heteroarila, ou (C₁-C₆-heteroalquilenos)-heteroarila, cada um dos quais é opcionalmente substituído por um ou mais dentre halogênio, hidróxi, C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ haloalquila, C₁-C₆ heteroalquila, carbociclila, heterociclila, arila ou heteroarila; R^d e R^e são, cada um, independentemente selecionados de hidrogênio, C₁-C₆ alquila ou C₁-C₆ heteroalquila; e k é 0, 1 ou 2. A invenção não deve ser limitada de qualquer maneira pela listagem exemplificativa acima de substituintes.

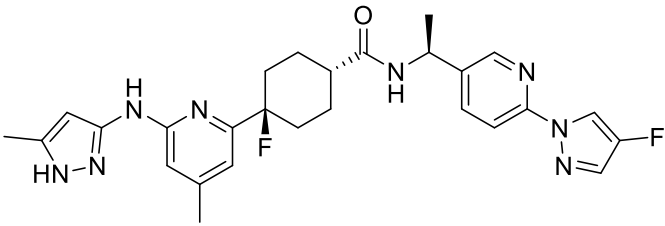
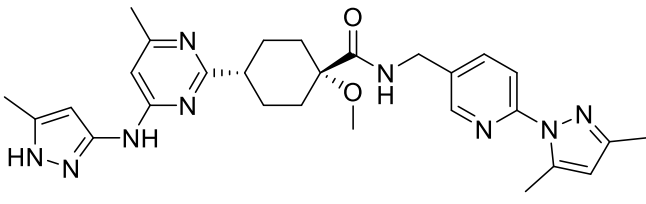
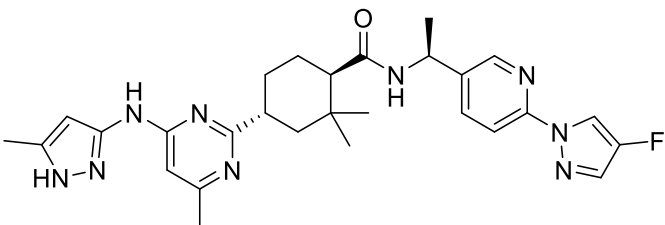
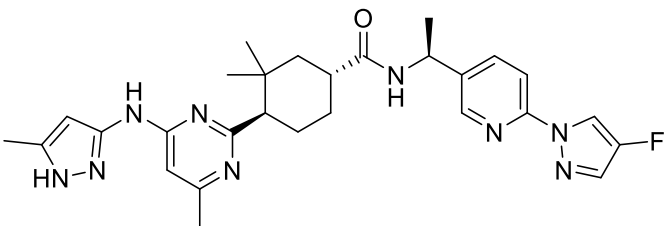
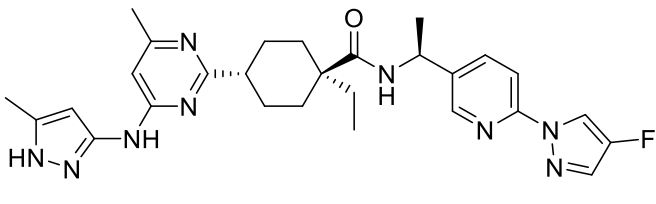
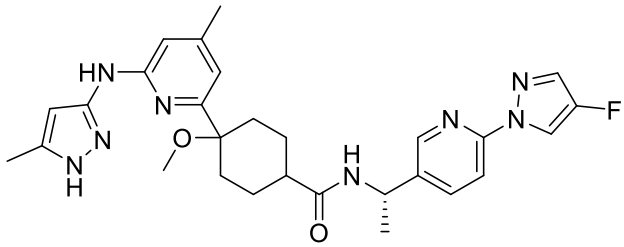
[0129] Tabela 1. Compostos Exemplificativos da Invenção

Composto	Estrutura
100	
101	
102	
103	

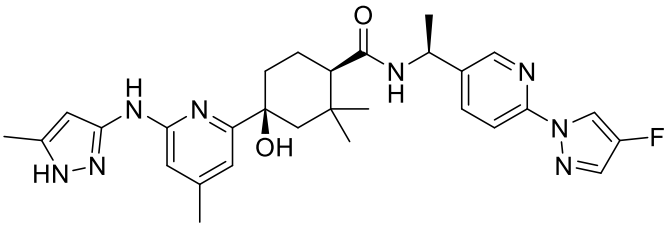
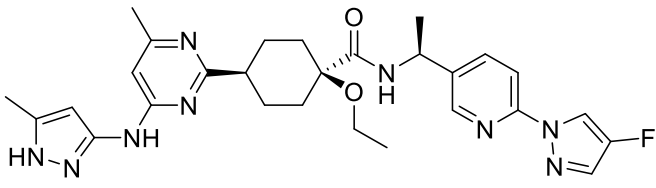
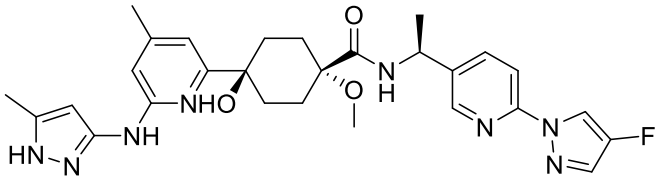
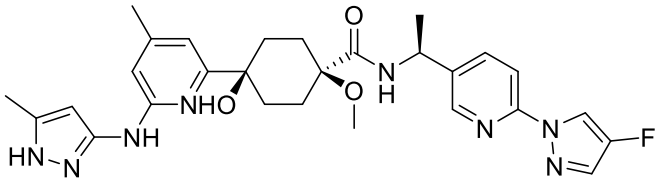
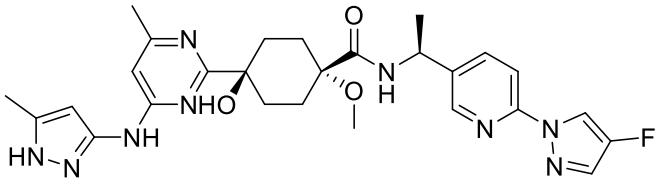
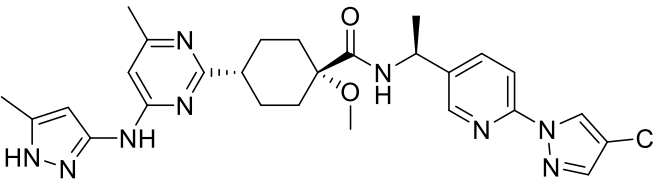
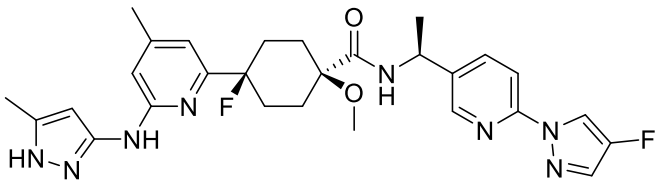
104	
105	
106	
107	
108	
109	

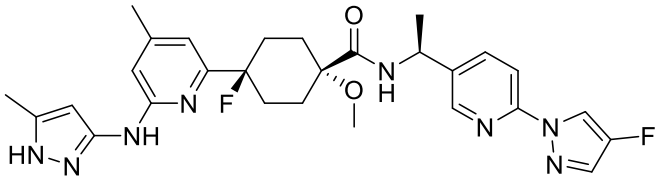
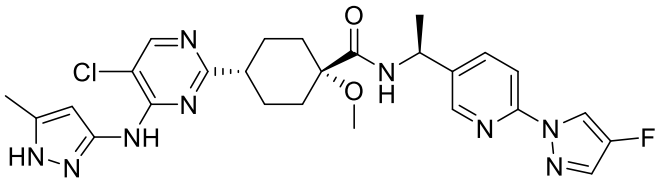
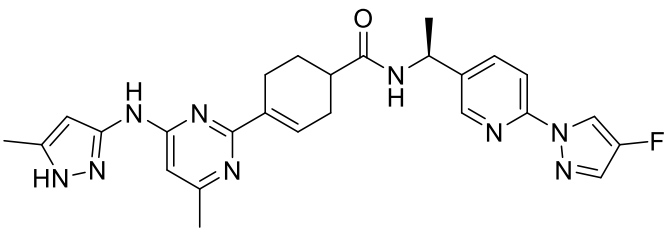
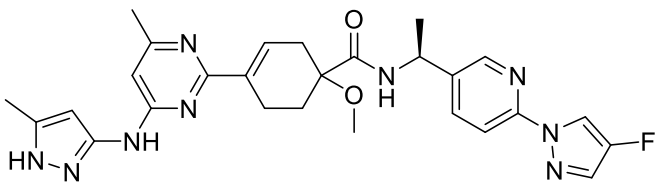
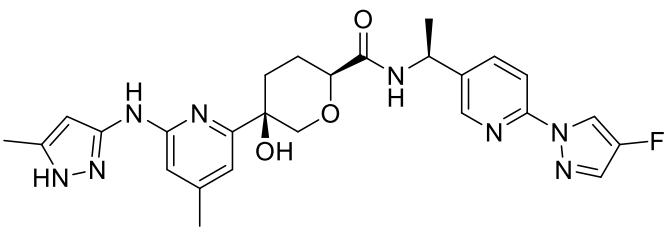
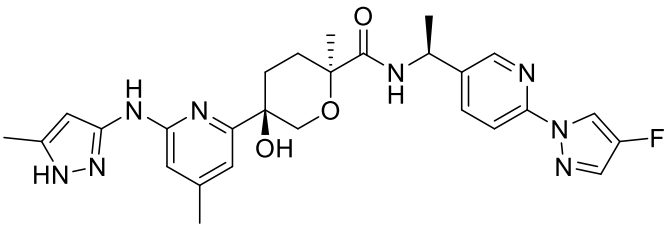
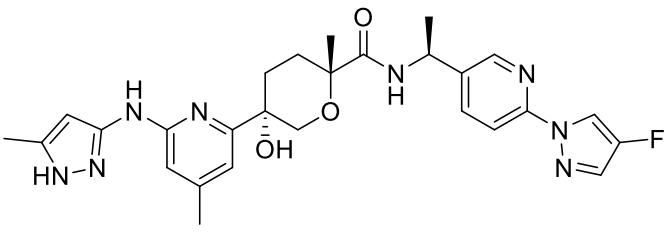
110	
111	
112	
113	
114	
115	

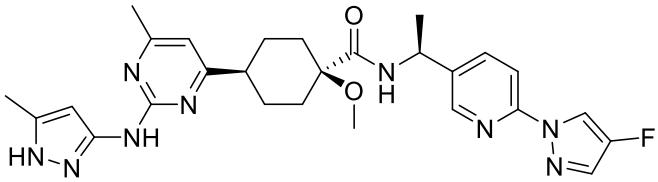
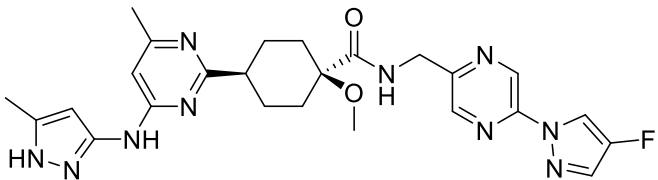
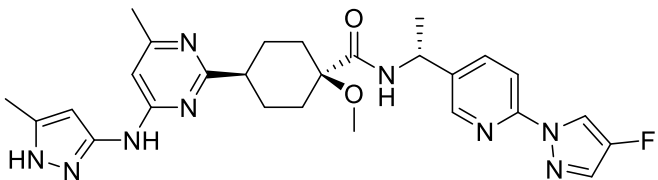
116	
117	
118	
119	
120	
121	

122	
123	
124	
125	
126	
127	

128	
129	
130	
131	
132	
133	
134	

135	
136	
137	
138	
139	
140	
141	

142	
143	
144	
145	
146	
147	
148	

149	
150	
151	

[0130] Os sais farmacêuticamente aceitáveis destes compostos também são contemplados para os usos descritos no presente documento.

[0131] “Sal farmacêuticamente aceitável” se refere a qualquer sal de um composto da invenção que mantém suas propriedades biológicas e que não é tóxico ou de outro modo indesejável para uso farmacêutico. Os sais farmacêuticamente aceitáveis podem ser derivados de uma variedade de contraíons orgânicos e inorgânicos bem conhecidos na técnica. Tais sais incluem: (1) sais de adição ácidos formados com ácidos orgânicos ou inorgânicos, tais como ácido clorídrico, bromídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, sulfâmico, acético, trifluoroacético, tricloroacético, propiônico, hexanoico, ciclopentilpropiônico, glicólico, glutárico, pirúvico, láctico, malônico, succínico, sórbico, ascórbico, málico, maleico, fumárico, tartárico, cítrico, benzoico, 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, pícrico, cinâmico, mandélico, ftálico, láurico, metanossulfônico, etanossulfônico, 1,2-etano-dissulfônico, 2-hidroxietanossulfônico, benzenossulfônico, 4-clorobenzenossulfônico, 2-naftalenossulfônico, 4-toluenossulfônico, canfórico, canforsulfônico, 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, glucoeptônico, 3-fenilpropiônico, trimetilacético, terc-butilacético, lauril sulfúrico, glucônico, benzoico, glutâmico, hidroxinaftoico, salicílico, esteárico, cicloexilsulfâmico, quínico, mucônico e ácidos similares; ou (2) sais formados quando um próton ácido presente

no composto progenitor ou (a) é substituído por um íon de metal, por exemplo, um íon de metal alcalino, um íon alcalino terroso ou um íon de alumínio, ou hidróxidos de metal alcalino ou metal alcalino terroso, tal como hidróxido de sódio, potássio, cálcio, magnésio, alumínio, lítio, zinco e bário, amônia, ou (b) se coordena com uma base orgânica, tal como aminas orgânicas alifáticas, alicíclicas ou aromáticas, tal como amônia, metilamina, dimetilamina, dietilamina picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, etilenodiamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N'-dibenziletileno-diamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N-benzilfenotilamina, N-metilglucamina piperazina, tris(hidroximetil)-aminometano, hidróxido de tetrametilamônio e similares. Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, ainda, a título de exemplo apenas, sódio, potássio, cálcio, magnésio, amônio, tetra-alquilamônio e similares; e, quando o composto contém uma funcionalidade básica, sais de ácidos orgânicos ou inorgânicos não tóxicos, tais como cloridrato, bromidrato, tartrato, mesilato, besilato, acetato, maleato, oxalato e similares.

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

[0132] As composições farmacêuticas da invenção compreendem um ou mais compostos da invenção e um ou mais carreadores fisiológica ou farmaceuticamente aceitáveis. O termo “carreador farmaceuticamente aceitável” se refere a um material, composição ou veículo farmaceuticamente aceitável, tal como uma carga, diluente, excipiente, solvente ou material de encapsulação líquido ou sólido, envolvido no carregamento ou transporte de qualquer composição em questão ou componente da mesma. Cada carreador precisa ser “aceitável” no sentido de ser compatível com a composição e questão e seus componentes e não prejudicial ao paciente. Alguns exemplos de materiais que podem servir como carreadores farmaceuticamente aceitáveis incluem: (1) açúcares, como lactose, glicose e sacarose; (2) amidos, como amido de milho e amido de batata; (3) celulose, e seus derivados, como carboximetilcelulose de sódio, etilcelulose e acetato de celulose; (4) tragacanto em pó; (5) malte; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, como manteiga de coco e ceras de supositório; (9) óleos, como óleo de amendoim, óleo de semente de algodão, óleo de cártamo, óleo de sésamo, óleo de oliva, óleo de milho e óleo de soja; (10) glicóis, como propileno glicol; (11) polióis,

como glicerina, sorbitol, manitol e polietileno glicol; (12) ésteres, como oleato de etila e laurato de etila; (13) ágar; (14) agentes de tamponamento, como hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; (15) ácido algínico; (16) água sem pirogênios; (17) solução salina isotônica; (18) solução de Ringer; (19) álcool etílico; (20) soluções tampão de fosfato; e (21) outras substâncias compatíveis não tóxicas empregadas em formulações farmacêuticas.

[0133] As composições da invenção podem ser administradas por via oral, por via parenteral, por aspersão de inalação, por via tópica, por via retal, por via nasal, por via bucal, por via vaginal ou por meio de um reservatório implantado. O termo "parenteral", conforme usado no presente documento, inclui técnicas de injeção ou infusão subcutânea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intrassinovial, intrasternal, intratecal, intra-hepática, intralesional e intracraniana. Em algumas modalidades, as composições da invenção são administradas por via oral, por via intraperitoneal ou por via intravenosa. As formas injetáveis estéreis das composições desta invenção podem ser suspensão aquosa ou oleaginosa. Estas suspensões podem ser formuladas de acordo com as técnicas conhecidas na arte usando agentes dispersantes ou umectantes e agentes de suspensão adequados. A preparação injetável estéril também pode ser uma solução ou uma suspensão injetável estéril num diluente ou um solvente parenteralmente aceitável não tóxico, por exemplo, como uma solução em 1,3-butanodiol. Entre os veículos e os solventes aceitáveis que podem ser empregados estão a água, a solução de Ringer e a solução de cloreto de sódio isotônica. Além disto, óleos fixos e estéreis são convencionalmente empregados como um solvente ou um meio de suspensão.

[0134] Para este propósito, qualquer óleo fixo brando pode ser empregado, incluindo mono ou diglicerídeos sintéticos. Ácidos graxos, tal como ácido oleico e seus derivados glicerídicos, são úteis na preparação de injetáveis, assim como óleos farmaceuticamente aceitáveis naturais, tais como óleo de oliva ou óleo de rícino, especialmente em suas versões polioxietiladas. Estas soluções ou suspensões oleosas podem conter, também, um diluente ou dispersante de álcool de cadeia longa, tal como carboximetil celulose ou agentes dispersantes similares, que são comumente usados na formulação de formas de dosagem farmaceuticamente aceitáveis, incluindo emulsões e suspensões. Outros

tensoativos comumente usados, tal como Tween, Spans e outros agentes emulsificantes ou intensificadores de biodisponibilidade que são comumente usados na fabricação de formas de dosagem sólidas, líquidas ou outras farmaceuticamente aceitáveis apoderm ser também usados para os propósitos de formulação.

[0135] As composições farmaceuticamente aceitáveis desta invenção podem ser administradas por via oral em qualquer forma de dosagem oralmente aceitável, incluindo, porém, sem limitação, cápsulas, tabletes, suspensões aquosas ou soluções. No caso de tabletes para uso oral, os carreadores comumente usados incluem lactose e amido de milho. Agentes lubrificantes, tal como estearato de magnésio, são também tipicamente adicionados. Para administração oral numa forma de cápsula, os diluentes úteis incluem lactose e amido de milho seco. Quando suspensões aquosas são exigidas para uso oral, o ingrediente ativo é combinado com agentes emulsificantes e suspensores. Se for desejado, certos agentes adoçantes, saborizantes ou corantes podem ser também adicionados.

[0136] Alternativamente, as composições farmaceuticamente aceitáveis desta invenção podem ser também administradas na forma de supositórios para administração retal. As mesmas podem ser preparadas por mistura do agente com um excipiente não irritante adequado que é sólido à temperatura ambiente, mas líquido na temperatura retal e será fundido, portanto, no reto para liberar o fármaco. Tais materiais incluem manteiga de cacau, cera de abelha e polietileno glicóis.

[0137] As composições farmaceuticamente aceitáveis desta invenção podem ser também administradas por via tópica, especialmente quando o alvo de tratamento inclui áreas ou órgãos facilmente acessíveis por aplicação tópica, incluindo doenças dos olhos, da pele ou do trato intestinal inferior. As formulações tópicas adequadas são facilmente preparadas para cada uma destas áreas ou órgãos. A aplicação tópica para o trato intestinal inferior pode ser efetuada numa formulação de supositório retal (consultar acima) ou numa formulação de enema adequada. Os emplastros topicamente transdérmicos podem ser também usados.

[0138] Para aplicações tópicas, as composições farmaceuticamente aceitáveis podem ser formuladas numa pomada adequada contendo o componente ativo suspenso ou dissolvido num ou mais carreadores. Os carreadores para

administração tópica dos compostos desta invenção incluem, porém sem limitação, óleo mineral, petrolato líquido, petrolato branco, propilenoglicol, polioxietileno, composto de polioxipropileno, cera emulsificante e água. Alternativamente, as composições farmacêuticamente aceitáveis podem ser formuladas numa loção ou creme adequado contendo os componentes ativos suspensos ou dissolvidos num ou mais carreadores farmacêuticamente aceitáveis. Os carreadores adequados incluem, porém sem limitação, óleo mineral, monoestearato de sorbitano, polissorbato 60, cera de ésteres cetílicos, álcool cetearílico, 2-octildodecanol, álcool benzílico e água.

[0139] As composições farmacêuticamente aceitáveis desta invenção podem ser administradas também por inalação ou aerossol nasal. Tais composições são preparadas de acordo com técnicas conhecidas no campo de formulação farmacêutica e podem ser preparadas como soluções em solução salina, empregando álcool benzílico ou outros conservantes adequados, promotores de absorção para intensificar a biodisponibilidade, fluorocarbonos e/ou outros agentes solubilizantes ou dispersantes convencionais.

[0140] A quantidade dos compostos da presente invenção que pode ser combinada com os materiais carreadores para produzir uma composição numa forma de dosagem única variará dependendo do hospedeiro tratado e do modo de administração particular.

DOSAGENS

[0141] A toxicidade e a eficácia terapêutica de compostos da invenção, incluindo sais farmacêuticamente aceitáveis e variantes deuteradas, podem ser determinados por procedimentos farmacêuticos padrão em culturas celulares ou animais experimentais. O LD₅₀ é a dose letal para 50% da população. O ED₅₀ é a dose terapeuticamente eficaz em 50% da população. A razão de dose entre efeitos tóxicos e terapêuticos (LD₅₀/ ED₅₀) é o índice terapêutico. Os compostos que exibem grandes índices terapêuticos são preferenciais. Embora compostos que exibem efeitos colaterais tóxicos possam ser usados, deve-se tomar cuidado de projetar um sistema de entrega que direcione tais compostos ao sítio de tecido afetado a fim de minimizar dano potencial às células não infectadas e, assim, reduza os efeitos colaterais.

[0142] Os dados obtidos a partir dos ensaios de cultura celular e dos estudos em animais podem ser usados na formulação de uma faixa de dosagem para uso em humanos. A dosagem de tais compostos pode se encontrar dentro de uma faixa de concentrações circulantes que incluem a ED₅₀ com pouca ou nenhuma toxicidade. A dosagem pode variar dentro desta faixa dependendo da forma de dosagem empregada e da via de administração utilizada. Para qualquer composto, a dose terapeuticamente eficaz pode ser estimada inicialmente a partir de ensaios de cultura celular. Uma dose pode ser formulada em modelos de animal para atingir uma faixa de concentração plasmática em circulação que inclui a IC₅₀ (isto é, a concentração do composto de teste que atinge metade da inibição máxima de sintomas) conforme determinado em cultura celular. Tais informações podem ser usadas para determinar mais precisamente doses úteis em seres humanos. Os níveis em plasma podem ser medidos, por exemplo, por cromatografia líquida de alto desempenho.

[0143] Deve também ser entendido que um regime de dosagem e tratamento específico para qualquer paciente particular dependerá de uma variedade de fatores, incluindo a atividade do composto específico empregado, da idade, do peso corporal, da saúde geral, do sexo, da dieta, do tempo de administração, da taxa de excreção, da combinação de fármacos e do julgamento do médico responsável pelo tratamento e da gravidade da doença particular que é tratada. A quantidade de um composto da presente invenção na composição também dependerá do composto particular na composição.

TRATAMENTO

[0144] As fusões de RET foram implicadas em diversos tipos de cânceres. De modo geral, estas fusões de RET têm um domínio de quinase RET que é igual no RET do tipo selvagem; portanto, conforme usado no presente documento, qualquer proteína RET com o mesmo domínio de quinase que o RET do tipo selvagem será denominada “RET do tipo selvagem”. Podem ocorrer mutações no domínio de quinase RET, levando a mutantes resistente de RET.

[0145] A atividade de compostos exemplificativos que estão aprovados ou em desenvolvimento para afecções relacionadas a RET é mostrada abaixo. Conforme mostrado, os compostos são ativos contra o RET do tipo selvagem, mas

são muito ativos contra as formas com mutação.

Composto	peso de RET Bioquímica IC ₅₀ (nM)	RET V804L Bioquímica IC ₅₀ (nM)
Cabozantinib	11	45
Vandetanib	4	3597
Sorafenib	7,9	95,2
Regorafenib	12	53

[0146] A invenção fornece compostos que inibem tanto RET do tipo selvagem quanto mutantes de RET, por exemplo, mutantes de RET que são resistentes ao padrão atual de tratamentos de cuidado (“mutantes resistentes de RET”). Adicionalmente, os compostos da invenção podem ser seletivos para RET do tipo selvagem, em relação a outras quinases, levando, assim, a toxicidades reduzidas associadas à inibição de outras quinases.

[0147] As mutações podem ser previstas usando biologia estrutural e análises computacionais, assim como examinando-se sequências de códon em que uma alteração de sequência gera um códon para um aminoácido diferente. Usando tais métodos, é previsto que os mutantes resistentes de RET têm mutações pontuais no resíduo gatekeeper 804 na proteína RET e/ou em resíduos em ou próximos ao resíduo gatekeeper. Em algumas modalidades, a mutação pode estar num ou mais dos resíduos 804, 806, 810, 865, 870, 891 e 918. Os exemplos específicos de mutantes resistentes de RET incluem: mutantes V804L, V804M, V804E, Y806C, Y806S, Y806H, Y806N, G810R, G810S, L865V, L870F, S891A e M918T.

[0148] As mutações que ocorrem a partir da administração de um inibidor particular (por exemplo, um inibidor do tipo selvagem de RET conhecido) podem ser determinadas experimentalmente expondo-se as células a um agente promotor de mutação, tal como ENU. As células são lavadas, então, colocadas em placas com concentrações crescentes (IC₅₀ de proliferação de 2 a 100X) do composto de escolha. As cavidades com excrescência celular são, então, coletadas após 3 a 4

semanas. O domínio de quinase RET é, então, sequenciado para identificar as mutações de resistência (isto é, formas alteradas da proteína RET que mantêm a atividade enzimática). A resistência pode ser confirmada expondo-se estas células com o composto de escolha. Os mutantes resistentes que foram identificados experimentalmente incluem os mutantes V804L, V804E, V804M e Y806H.

[0149] Devido à sua atividade contra RET do tipo selvagem e RET mutante, os compostos descritos no presente documento podem ser usados para tratar um paciente com uma afecção associada à atividade de RET anormal. Os mesmos podem ser também usados para tratar vários cânceres. Em algumas modalidades, o câncer é selecionado de carcinoma papilar da tireoide (PTC), câncer medular da tireoide (MTC), feocromocitoma (PC), adenocarcinoma do duto pancreático, neoplasia endócrina múltipla (MEN2A e MEN2B), câncer de mama metastático, câncer testicular, câncer de pulmão de células pequenas, câncer de pulmão de células não pequenas, leucemia mielomonocítica crônica, câncer colorretal, câncer de ovário e cânceres da glândula salivar.

[0150] Os compostos podem ser também usados para tratar um paciente que desenvolveu resistência a um inibidor de RET do tipo selvagem ou um paciente com um mutante de RET particular. O método inclui a etapa de administrar um composto ou uma composição da invenção que é ativo contra um ou mais mutante resistentes de RET. Em certas modalidades, o mutante resistente de RET é selecionado de V804L, V804M, V804E, Y806C, Y806S, Y806N, Y806H, G810R, G810S, L865V, L870F, S891A e M918T. “Ativo” significa que um composto tem um IC₅₀ menor que 1 µM, 500 nM, 250 nM, 100 nM, 75 nM, 50 nM, 25 nM, 10 nM ou 5 nM quando medido num ensaio bioquímico contra pelo menos um mutante resistente.

[0151] Os compostos e as composições descritos no presente documento podem ser administrados sozinhos ou em combinação com outros compostos, incluindo outros compostos moduladores de RET ou outros agentes. Em algumas modalidades, o composto ou a composição da invenção pode ser administrado em combinação com um ou mais compostos selecionados de Cabozantinib (COMETRIQ), Vandetanib (CALPRESA), Sorafenib (NEXAVAR), Sunitinib (SUTENT), Regorafenib (STAVARGA), Ponatinib (ICLUSIG), Bevacizumab

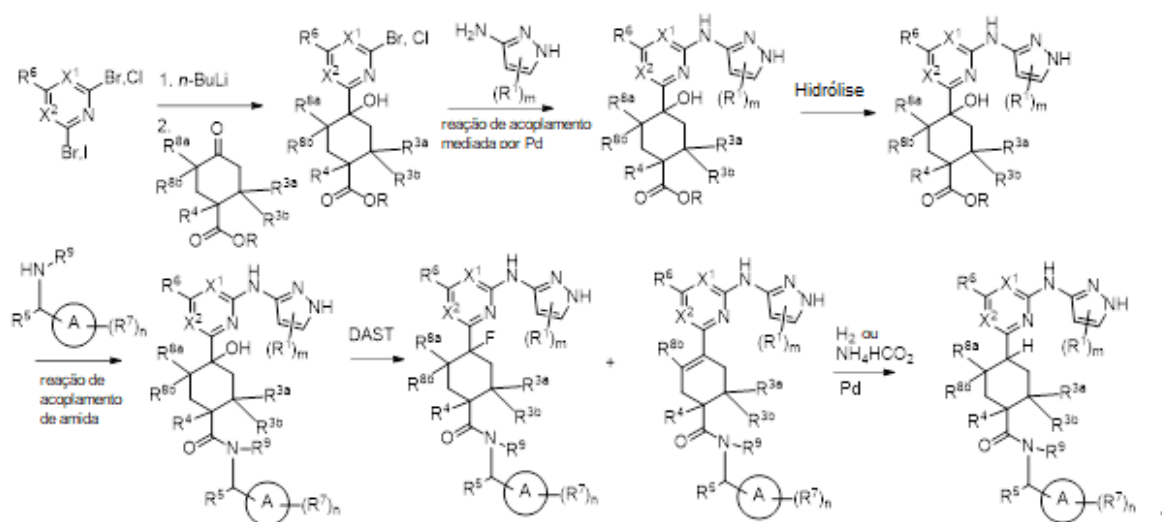
(AVASTIN), Crizotinib (XALKORI) ou Gefitinib (IRESSA). O composto ou a composição da invenção pode ser administrado simultânea ou sequencialmente com outro agente terapêutico por vias de administração iguais ou diferentes. O composto da invenção pode estar incluído numa única formulação com o outro agente terapêutico ou em formulações separadas.

EXEMPLOS:

[0152] Os exemplos a seguir se destinam a ilustrar e não se destinam a limitar de qualquer forma.

[0153] Os compostos da invenção, incluindo sais e N-óxidos dos mesmos, podem ser preparados usando técnicas de síntese orgânica conhecidas e podem ser sintetizados de acordo com qualquer uma dentre inúmeras vias sintéticas possíveis, tais como aquelas nos Protocolos Sintéticos abaixo e nos Exemplos. Os Esquemas abaixo se destinam a fornecer orientação geral em conjunto com a preparação dos compostos da invenção. Uma pessoa versada na técnica poderia entender que as preparações mostradas nos Esquemas podem ser modificadas ou otimizadas usando o conhecimento geral de química orgânica para preparar vários compostos da invenção.

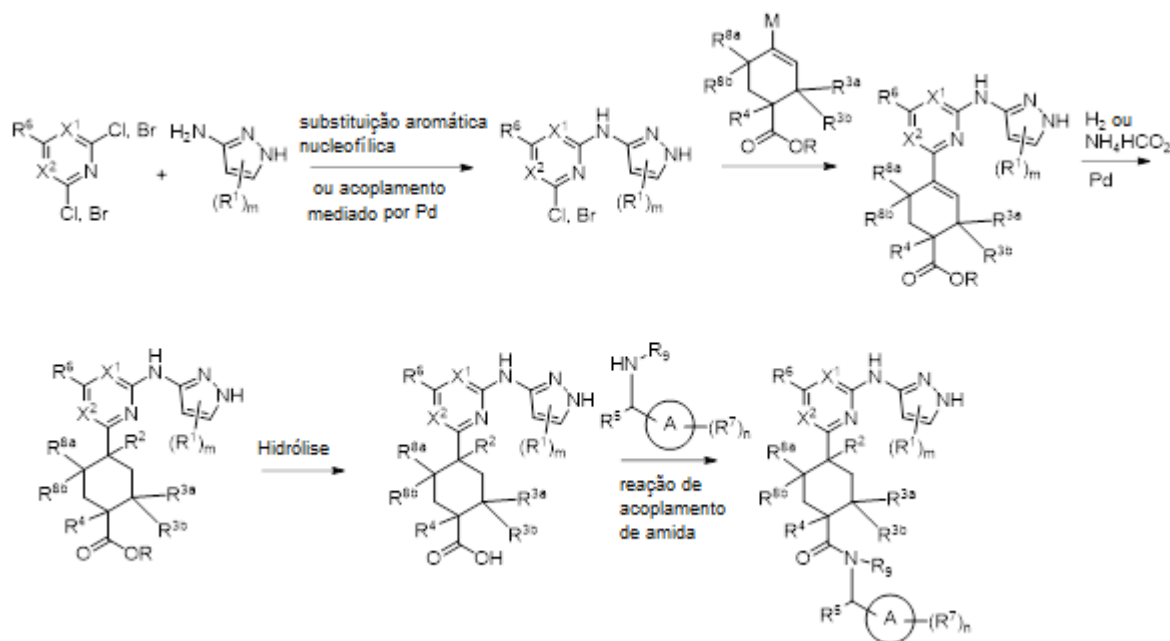
PROTOCOLO SINTÉTICO 1:



[0154] Um di-haleto de arila pode ser tratado com um reagente de haleto de organolítio ou organomagnésio, tal como *n*-BuLi ou *i*-PrMgCl, e o reagente de arilmetal pode, então, sofrer adição a uma ciclo-hexanona substituída por éster (comercialmente disponível ou preparada conforme descrito em “Síntese de

Intermediários de Cetona e Boronato”). O haleto restante pode, então, sofrer uma reação de acoplamento com uma arilamina sob condições de S_NAr ou condições de acoplamento catalisadas por metal para gerar um intermediário de éster tricíclico. O éster pode ser, então, hidrolisado sob condições básicas para gerar um ácido, que pode, então, sofrer uma reação de acoplamento de amida com uma amina (comercialmente disponível ou preparada conforme descrito em “Síntese de Intermediários de Amina”). As amidas são exemplos de inibidores de RET descritos no presente documento, mas podem ser também adicionalmente modificados. Por exemplo, o álcool terciário pode ser tratado com um reagente de fluoração, tal como DAST, para gerar uma mistura de produtos de desoxifluoradas e produtos desidratados. Os produtos desidratados podem ser reduzidos sob condições de hidrogenação típicas, tal como Pd e H_2 ou Pd e formato de amônio, para gerar os produtos reduzidos que são também exemplos de inibidores de RET.

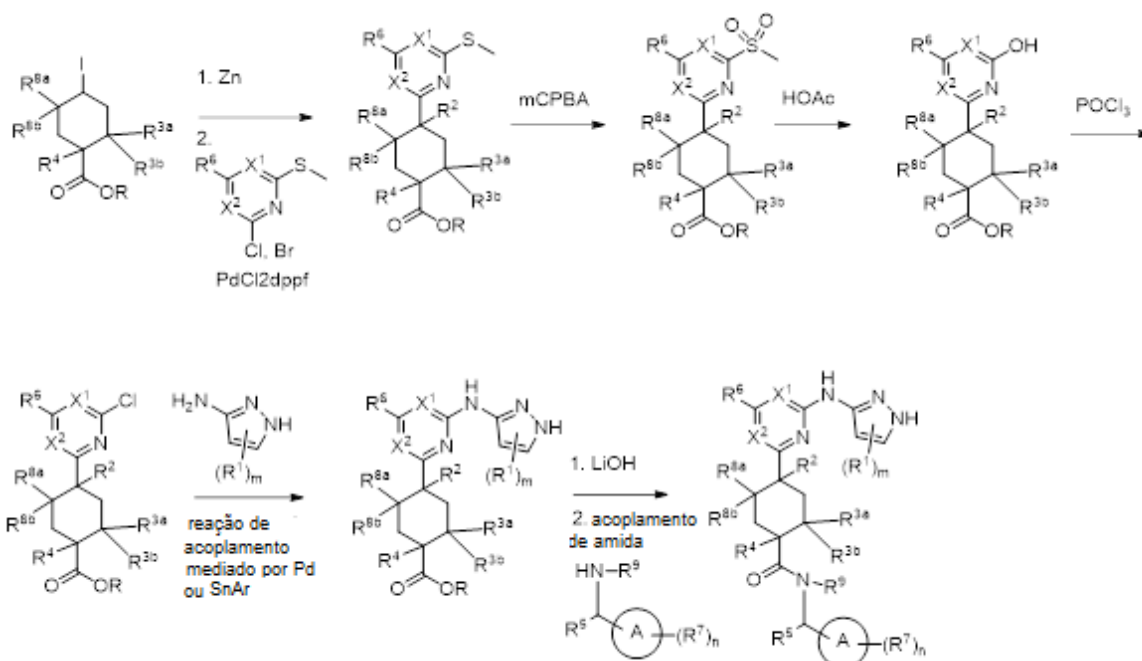
PROTOCOLO SINTÉTICO 2:



[0155] O di-haleto de heteroarila pode ser acoplado a um amino pirazol sob condições de reação de substituição aromática nucleogílica usando uma base, tal como di-isopropiletilamina (DIPEA) ou trietilamina (TEA), num solvente polar para fornecer o sistema de anel bicíclico. O haleto de heteroarila bicíclico pode, então, ser acoplado a um reagente de alquenila ou alquila de boro, estanho ou zinco via uma reação de acoplamento mediada por paládio, por exemplo, acoplamento de

Suzuki, Stille, Negishi, para fornecer o sistema de anel tricíclico. Por exemplo, no Protocolo Sintético 2, o haleto de heteroarila bicíclica pode ser acoplado a uma variedade de ésteres borônicos ciclo-hexenílicos substituídos (comercialmente disponíveis ou aqueles descritos sob o cabeçalho “Síntese de Boronatos de Vinila”) sob condições de reação de acoplamento de Suzuki (X = halo, por exemplo, cloro; e M = B(OR)₂) para fornecer o intermediário de éster carboxílico tricíclico. O éster carboxílico pode ser, então, hidrolisado sob condições ácidas ou básicas para fornecer um intermediário de ácido carboxílico. O intermediário de ácido carboxílico pode ser, então, acoplado a uma variedade de intermediários de amina, tais como aqueles descritos no Exemplo 9, para fornecer o produto final de amida.

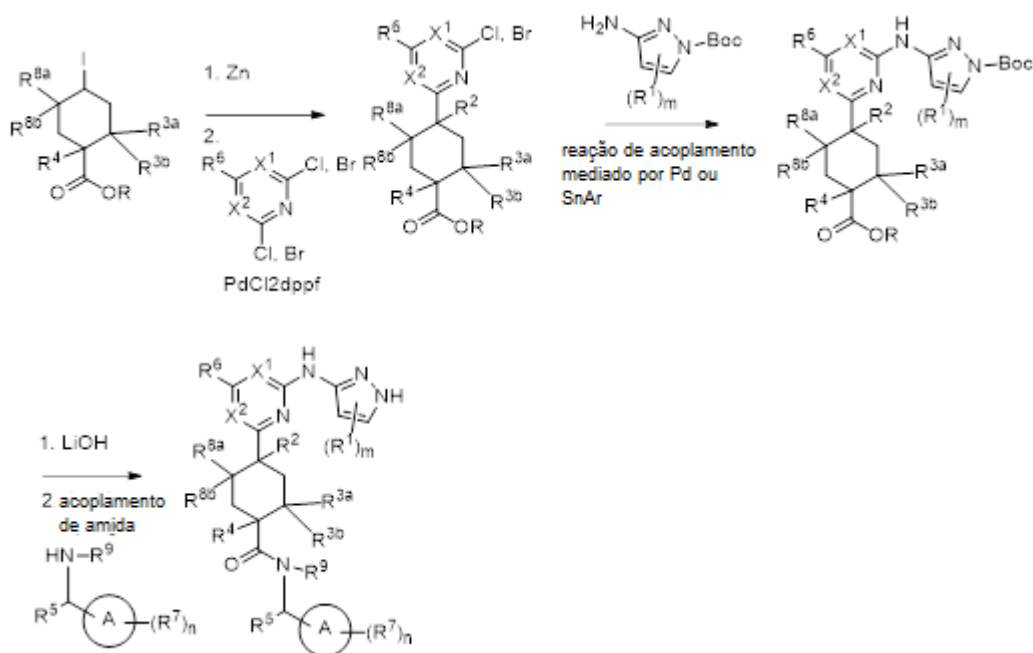
PROTOCOLO SINTÉTICO 3:



[0156] Um iodeto de cicloalquila substituído (comercialmente disponível ou preparado conforme descrito em “Síntese de Intermediários de Iodeto”) foi tratado com zinco ativado. O zinco foi, então, ativado por uma variedade de métodos, incluindo, porém sem limitação, o método de Reike ou tratamento com TMS-Cl e 1,2-dibromoetano. O reagente de cicloalquil zinco pode ser, então, acoplado a um haleto de heteroarila com catálise de paládio sob condições de acoplamento de Negishi. O grupo tiometila do produto resultante pode ser, então, convertido num cloreto via oxidação à sulfona, hidrólise sob condições ácidas e cloração com POCl₃ ou cloreto de oxalila. O cloreto de heteroarila pode, então, sofrer deslocamento com

uma aril amina sob condições de SnAr ou condições de acoplamento mediado por paládio. O éster carboxílico tricíclico pode ser, então, hidrolisado sob condições ácidas ou básicas para fornecer um intermediário de ácido carboxílico. O intermediário de ácido carboxílico pode ser, então, acoplado a uma variedade de intermediários de aminas, tais como aqueles descritos no Exemplo 9, para fornecer o produto final de amida.

PROTOCOLO SINTÉTICO 4:



[0157] Um iodeto de cicloalquila substituído (comercialmente disponível ou preparado conforme descrito em “Síntese de Intermediários de Iodeto”) foi tratado com zinco ativado. O zinco poderia ser ativado por uma variedade de métodos, incluindo, porém sem limitação, o método de Reike ou tratamento com TMS-Cl e 1,2-dibromoetano. O reagente de cicloalquil zinco pode ser, então, acoplado a um di-haleto de heteroarila com catálise de paládio sob condições de acoplamento de Negishi. O grupo haleto restante do produto resultante pode, então, sofrer deslocamento com uma aril amina sob condições de SnAr ou condições de acoplamento mediado por paládio. A aril amina pode ser desprotegida ou o pirazol N-H pode ser protegido com uma variedade de grupos, tal como Boc. O éster carboxílico tricíclico pode ser, então, hidrolisado sob condições ácidas ou básicas para fornecer um intermediário de ácido carboxílico, que também remove o grupo protetor do pirazol. O intermediário de ácido carboxílico pode ser, então, acoplado

a uma variedade de intermediários de aminas, tais como aqueles descritos em “Síntese de Intermediários de Amina”, para fornecer o produto final de amida.

[0158] As reações para preparar os compostos da invenção podem ser executadas em solventes adequados que podem ser prontamente selecionados por um versado na técnica de síntese orgânica. Os solventes adequados podem ser substancialmente não reativos com os materiais de partida (reagentes), os intermediários ou produtos a temperaturas nas quais as reações são executadas, por exemplo, temperaturas que podem estar na faixa da temperatura de congelamento do solvente até a temperatura de ebulição do solvente. Uma dada reação pode ser executada num solvente ou uma mistura de mais de um solvente. Dependendo da etapa de reação particular, os solventes adequados para uma etapa de reação particular podem ser selecionados pelo versado na técnica.

[0159] A preparação de compostos da invenção pode envolver a proteção e a desproteção de vários grupos químicos. A necessidade de proteção e desproteção, e a seleção de grupos de proteção apropriados, podem ser prontamente determinadas por um versado na técnica. A química dos grupos de proteção pode ser encontrada, por exemplo, Wuts em Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 5ª edição, John Wiley & Sons: New Jersey, (2014), que está incorporado ao presente documento a título de referência em sua totalidade.

[0160] As reações podem ser monitoradas de acordo com qualquer método adequado conhecido na técnica. Por exemplo, a formação de produto pode ser monitorada por meios espectroscópicos, tais como espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) (por exemplo, ^1H ou ^{13}C), espectroscopia infravermelha (IR), espectrofotometria (por exemplo, UV visível), ou espectrometria de massa (MS), ou por métodos cromatográficos, tal como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ou cromatografia de camada fina (TLC). Instrumentos e métodos analíticos para caracterização de composto:

[0161] LC-MS: A não ser que indicado de outro modo, todos os dados de espectrometria de massa acoplada à cromatografia líquida (LC-MS) (amostra analisada quanto à pureza e identidade) foram obtidos com um sistema Agilent modelo-1260 LC usando um espectrômetro de massa Agilent modelo 6120 utilizando ionização ES-API ajustada com uma coluna de fase reversa Agilent

Poroshel 120 (EC-C18, 2,7 um de tamanho de partícula, dimensões de 3,0 x 50 mm) a 22,4 graus Celsius. A fase móvel consistiu numa mistura de solvente ácido a 0,1% em água e ácido fórmico a 0,1% em acetonitrila. Um gradiente constante de fase móvel 95% aquosa /5% orgânica a 5% aquosa/95% orgânica durante o curso de 4 minutos foi utilizado. A taxa de vazão foi constante a 1 ml/min.

[0162] LC-MS Prep: A HPLC preparatória foi realizada num sistema preparatório Shimadzu Discovery VP® ajustado com uma coluna de fase reversa Luna 5u C18(2) 100A, AXIA embalada, 250 x 21,2 mm a 22,4 graus Celsius. A fase móvel consistiu numa mistura de solvente ácido a 0,1% em água e ácido fórmico a 0,1% em acetonitrila. Um gradiente constante de fase móvel 95% aquosa /5% orgânica a 5% aquosa/95% orgânica durante o curso de 25 minutos foi utilizado. A taxa de vazão foi constante a 20 ml/min. As reações executadas num micro-ondas foram realizadas numa unidade de micro-ondas Biotage Initiator.

[0163] Cromatografia em gel de sílica: A cromatografia em gel de sílica foi realizada numa unidade Teledyne Isco CombiFlash® Rf ou uma unidade Biotage® Isolera Four.

[0164] RMN de Prótons: A não ser que indicado de outro modo, todos os espectros de RMN de ^1H foram obtidos com um instrumento de RMN Varian 400MHz Unity Inova 400 MHz (tempo de aquisição = 3,5 segundos com um atraso de 1 segundo; 16 a 64 varreduras). Quando caracterizados, todos os prótons foram relatados em solvente DMSO- d_6 como partes por milhão (ppm) em relação ao DMSO residual (2,50 ppm).

EXEMPLO 1. SÍNTESE DE COMPOSTOS 109 E 110.

[0165] *Etapa 1: Síntese de (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (Composto 109) e (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (Composto 110).*

[0166] N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)piridin-2-il)ciclo-hex-3-enocarboxamida (50 mg, 0,10 mmol) e 10% de Pd/C (20 mg) em MeOH (5 ml) foram agitados à temperatura do meio ambiente sob uma atmosfera de H_2 (1 atm) por 1 hora. A mistura foi, então,

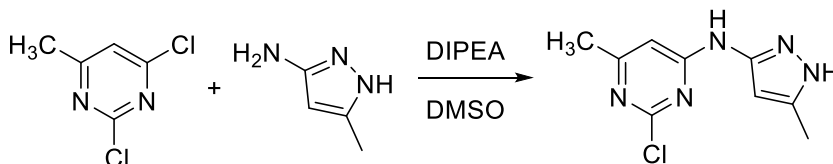
filtrada através de um filtro de celite, e a solução filtrada foi concentrada e purificada por HPLC preparatória para gerar ambos os compostos título (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 109; 10,0 mg, 19,9%) e (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 110; 24,8 mg, 49,5%) como um sólido branco. MS (ES+) $C_{27}H_{31}FN_8O$ exige: 502, encontrado: 503 $[M+H]^+$.

[0167] (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 109): RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,66 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 8,39 (s, 1H), 8,35 (d, 1H, $J = 6,8$ Hz), 7,92-7,86 (m, 3H), 6,89 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,00-4,97 (m, 1H), 2,50-2,44 (m, 1H), 2,40-2,15 (m, 7H), 1,90-1,85 (m, 4H), 1,55-1,45 (m, 4H), 1,40 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz).

[0168] (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 110): RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,62 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,66 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 8,38 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 8,23 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,93-7,84 (m, 3H), 6,83 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,03-5,00 (m, 1H), 2,59-2,50 (m, 1H), 2,50-2,46 (m, 1H), 2,14-2,02 (m, 6H), 2,02-1,84 (m, 4H), 1,63-1,55 (m, 4H), 1,40 (d, 3H, $J = 7,6$ Hz).

EXEMPLO 2. SÍNTESE DE COMPOSTO 112.

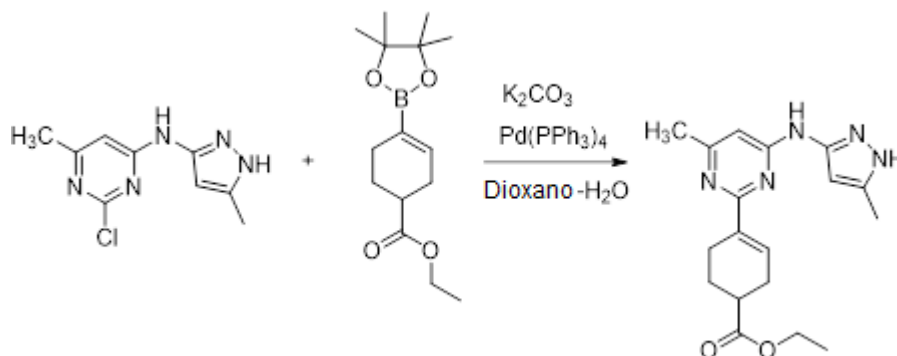
[0169] *Etapa 1: Síntese de 2-cloro-6-metil-N-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-4-amina.*



[0170] Uma suspensão de 2,4-dicloro-6-metilpirimidina (120,00 g, 736,2 mmol, 1,00 equivalente), 5-metil-1H-pirazol-3-amina (78,65 g, 0,81 mol, 1,10 equivalente) e DIPEA (142,72 g, 1,10 mol, 1,50 eq) em DMSO (400,00 ml) foi aquecida a 60°C por 16 horas, em cujo ponto, a análise por TLC (PE/EA, 5:1, 1:1) mostrou que a reação estava completa. A mistura de reação foi resfriada a 30°C,

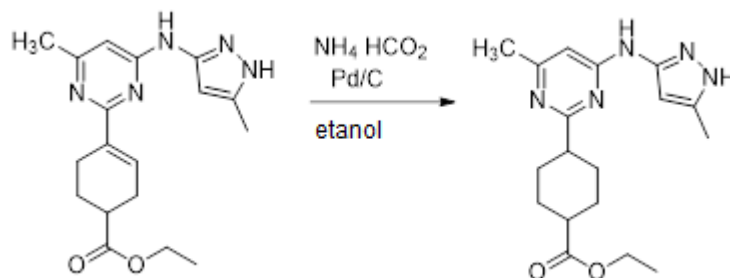
vertida em água gelada (800 ml), e a mistura resultante foi extraída com MTBE (800 ml x 10). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (400 ml x 3), salmoura (400 ml x 3) e secas sobre Na₂SO₄. Após a filtração, o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, e o resíduo foi recristalizado a partir de DCM (10 ml/g) para proporcionar 2-cloro-6-metil-N-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-4-amina (105,60 g, 472,14 mmol, 64%) como um sólido amarelo. A estrutura foi confirmada por LC-MS e RMN.

[0171] *Etapa 2: Síntese de 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila.*



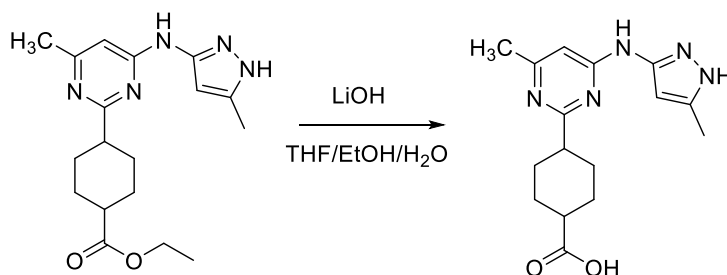
[0172] Uma mistura de 2-cloro-6-metil-N-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-4-amina (0,530 g, 2,37 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-enocarboxilato de etila (0,664 g, 2,37 mmol) e carbonato de potássio (0,819 g, 5,92 mmol) em dioxano (8,89 ml) e água (2,96 ml) foi espargida com gás nitrogênio por 10 minutos, então, Pd(PPh₃)₄ (0,137 g, 0,118 mmol) foi adicionado, e o vaso de reação foi vedado. A mistura de reação foi aquecida num reator de micro-ondas a 125°C por 80 min, então, resfriada à temperatura do meio ambiente e particionada entre 5:1 de DCM/IPA e água. A camada aquosa foi, ainda, extraída com 5:1 de DCM/IPA. As camadas orgânicas foram combinadas e secas sobre sulfato de sódio. A solução seca foi filtrada, concentrada e purificada por cromatografia em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 10% de metanol-DCM) para gerar 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila (646 mg, 80%) como um sólido amarelo. MS (ES⁺) C₁₈H₂₃N₅O₂ exige: 341, encontrado: 342 [M+H]⁺.

[0173] *Etapa 3: Síntese de 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxilato de etila.*



[0174] Paládio em carbono (10% em peso, 0,125 g, 0,117 mmol) e formato de amônio (0,296 g, 4,69 mmol) foram adicionados a uma solução de 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hex-3-enocarboxilato de etila (0,40 g, 1,2 mmol) em etanol (11,7 ml), e a mistura resultante foi aquecida a 70°C por 30 minutos. A mistura de reação foi resfriada à temperatura do meio ambiente e filtrada através de celite, enxaguando-se o celite com metanol. A solução filtrada foi, então, concentrada em gel de sílica e purificada por cromatografia em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 10% de metanol-DCM) para gerar 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxilato de etila como uma mistura a 3:1 de cis:trans. MS (ES+) $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$ exige: 343, encontrado: 344 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

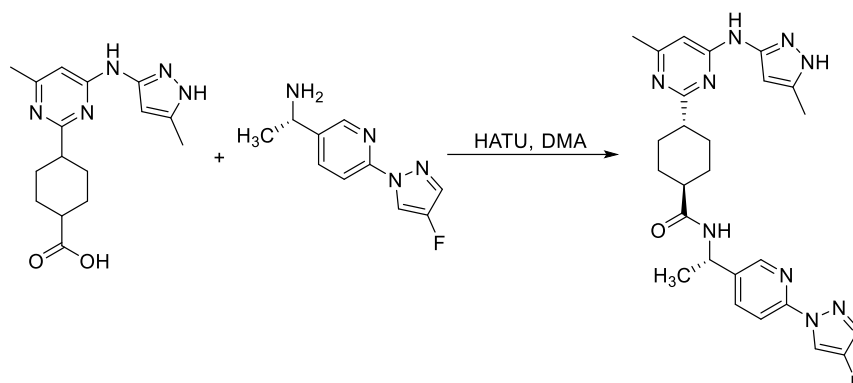
[0175] *Etapa 4: Síntese de ácido 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxílico.*



[0176] Hidróxido de lítio mono-hidratado (0,029 g, 0,70 mmol) foi adicionado a uma solução de 4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de etila (0,12 g, 0,35 mmol) em THF (2,8 ml), EtOH (2,8 ml) e água à temperatura do meio ambiente. A mistura de reação foi agitada por 6 horas, então, HCl aquoso concentrado (37%, 0,072 ml, 0,87 mmol) foi adicionado. A mistura de reação foi concentrada e prosseguiu na etapa seguinte.

[0177] *Etapa 5: Síntese de (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-*

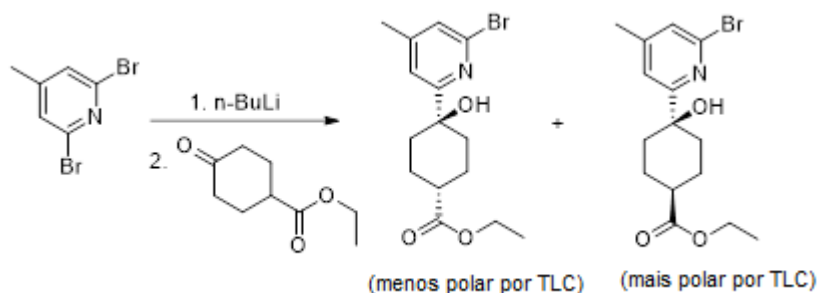
hexano-1-carboxamida (Composto 112).



[0178] HATU (162 mg, 0,427 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido 4-(4-metil-6-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxílico bruto (72 mg, 0,23 mmol), sal cloridrato de (*S*)-1-(6-(4-fluoro-1*H*-pirazol-1-il)piridin-3-il)etanamina (97 mg, 0,40 mmol) e DIEA (0,34 ml, 1,9 mmol) em DMF (3,8 ml) à temperatura do meio ambiente. A mistura de reação foi agitada por 10 minutos, então, foi particionada entre EtOAc e H₂O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de NaCl, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em gel de sílica (elução gradiente 0 a 10% de metanol-diclorometano com 2% de trietilamina adicionados) para gerar (1*R*,4*S*)-*N*-((*S*)-1-(6-(4-fluoro-1*H*-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-((5-metil-1*H*-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxamida (Composto 112; 26 mg, 13% de rendimento) como um sólido branco. MS (ES+) C₂₆H₃₀FN₉O exige: 503, encontrado: 504 [M+H]⁺. RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,88 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 8,66 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 8,38 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 8,30 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,94 – 7,81 (m, 3H), 6,83 (s, 1H), 6,16 (s, 1H) 5,02 – 4,93 (m, 1H), 2,57-2,49 (m, 1H), 2,26-2,16 (m, 7H), 1,99-1,92 (m, 2H), 1,88-1,80 (m, 2H), 1,58-1,36 (m, 7H).

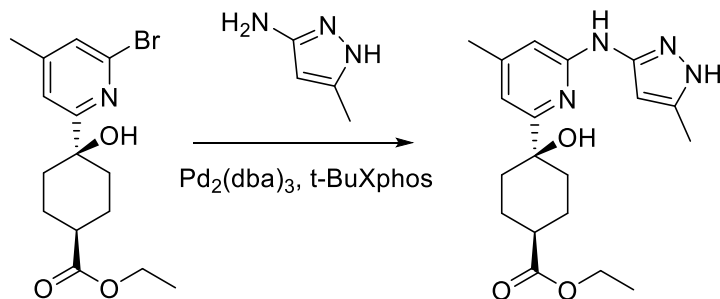
EXEMPLO 3. SÍNTESE DE COMPOSTO 120.

[0179] *Etapa 1: Síntese de 4-(6-bromo-4-metilpiridin-2-il)-4-hidroxiciclohexano-carboxilato de (1*S*,4*S*)-etila e 4-(6-bromo-4-metilpiridin-2-il)-4-hidroxiciclohexano-carboxilato de (1*R*,4*R*)-etila.*



[0180] Uma solução de 2,6-dibromo-4-metilpiridina (1,00 g, 3,98 mmol) em DCM (30 ml) foi resfriada a -78°C e *n*-BuLi (2,5 M, 1,74 ml, 4,37 mmol) foi adicionada por gotejamento à solução acima a -78°C . A solução foi agitada a -78°C por 15 minutos, seguido por adição de 4-oxociclo-hexanocarboxilato de etila (811 mg, 4,77 mmol), e a mistura resultante foi agitada a -78°C por 30 minutos. A mistura foi, então, bruscamente arrefecida por adição de solução aquosa saturada de NH_4Cl e extraída com DCM. As camadas orgânicas foram combinadas, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por coluna de gel de sílica (PE:EA = 2:1) para gerar 4-(6-bromo-4-metilpiridin-2-il)-4-hidroxíciclo-hexanocarboxilato de (1R,4R)-etila (menos polar por TLC, 500 mg, 36,7%) como um sólido branco, MS (ES+) $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrNO}_3$ exige: 341, encontrado: 342 $[\text{M}+\text{H}]^+$ e 4-(6-bromo-4-metilpiridin-2-il)-4-hidroxíciclo-hexanocarboxilato de (1S,4S)-etila (mais polar por TLC, 500 mg, 36,7%) como um sólido branco. MS (ES+) $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrNO}_3$ exige: 341, encontrado: 342 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

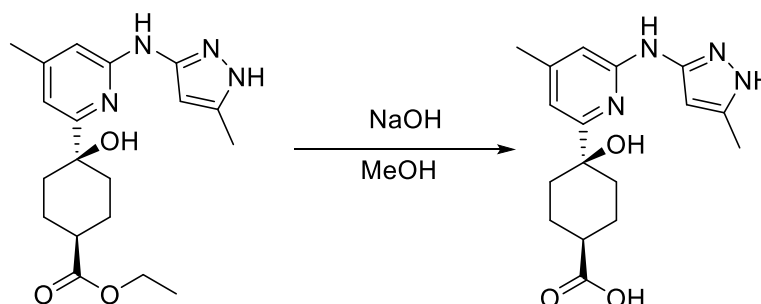
[0181] *Etapa 2: Síntese de 4-hidroxi-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de (1S,4S)-etila.*



[0182] Uma mistura de 4-(6-bromo-4-metilpiridin-2-il)-4-hidroxíciclo-hexanocarboxilato de (1s, 4s)-etila (500 mg, 1,46 mmol), 5-metil-1H-pirazol-3-amina (283 mg, 2,92 mmol), t-BuXPhos (185 mg, 0,438 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (200 mg, 0,219 mmol) e KOAc (429 mg, 4,38 mmol) em DMF (2 ml) e tolueno (10 ml) foi aquecida

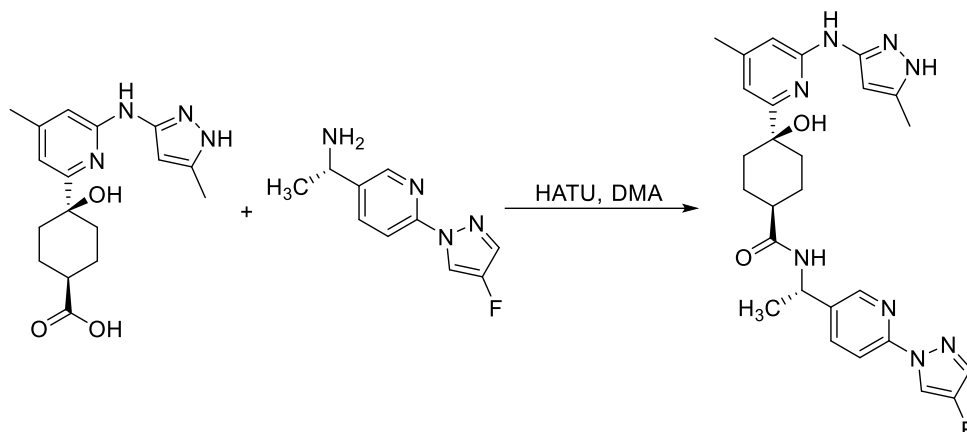
a 140°C por 2 h sob irradiação de micro-ondas. Após o resfriamento à temperatura do meio ambiente, a mistura foi concentrada e purificada por coluna de gel de sílica (PE:EA = 1:2) para gerar 4-hidroxi-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de (1s,4s)-etila (80 mg, 15%) como um sólido branco. MS (ES+) $C_{19}H_{26}N_4O_3$ exige: 358, encontrado: 359 $[M+H]^+$.

[0183] *Etapa 3: Síntese de ácido (1S,4S)-4-hidroxi-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxílico.*



[0184] A uma solução de 4-hidroxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de (1S,4S)-etila (80 mg, 0,2231 mmol) em MeOH (3 ml), foi adicionado NaOH aquoso 2 M (0,5 ml, 1 mmol) a 25°C. A solução foi agitada a 25°C por 15 horas e, então, concentrada para remover MeOH. A solução aquosa foi acidificada com HCl 2 M para chegar ao pH de 6, que resultou em formação de um precipitado. O sólido precipitado foi coletado e seco para gerar ácido (1S,4S)-4-hidroxi-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxílico (60 mg, 81%) como um sólido amarelo. MS (ES+) $C_{17}H_{22}N_4O_3$ exige: 330, encontrado: 331 $[M+H]^+$.

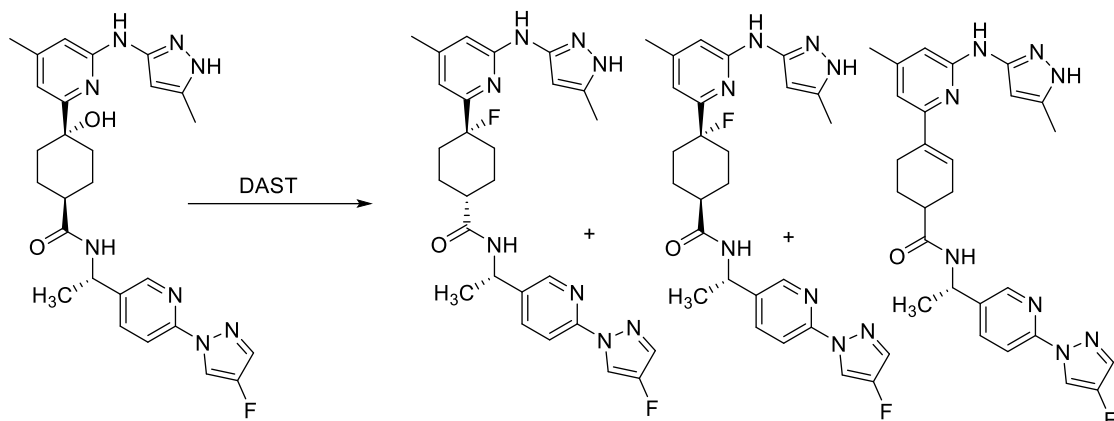
[0185] *Etapa 4: Síntese de (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-hidroxi-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 120).*



[0186] Uma mistura de ácido (1S,4S)-4-hidroxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxílico (60 mg, 0,18 mmol), cloridrato de (S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etanamina (44,0 mg, 0,1816 mmol), HATU (69,0 mg, 0,1816 mmol) e DIEA (70,4 mg, 0,545 mmol) em DMA (2 ml) foi agitada a 25°C por 2 hora. A solução foi concentrada e purificada por HPLC preparatória para gerar o produto título (40 mg, 43%) como um sólido branco. MS (ES+) $C_{27}H_{31}FN_8O_2$ exige: 518, encontrado: 519 $[M + H]^+$. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,71 (br, s., 1H), 8,92 (br, s., 1H), 8,69 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 8,39 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 8,31 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,95-7,87 (m, 3H), 6,83 (br, s., 1H), 6,79 (s, 1H), 6,09 (br, s., 1H), 5,01-4,98 (m, 1H), 4,89 (s, 1H), 2,50-2,48 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,00-1,75 (m, 4H), 1,65-1,50 (m, 4H), 1,41 (d, 3H, $J = 7,2$ Hz).

EXEMPLO 4. SÍNTESE DE COMPOSTOS 121 E 122.

[0187] *Etapa 1: Síntese de (1s,4R)-4-fluoro-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 121), (1R,4S)-4-fluoro-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 122) e N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclo-hex-3-enocarboxamida.*



[0188] Uma mistura de (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-hidroxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (120 mg, 0,23 mmol) em DCM (6 ml) foi resfriada a 0°C. DAST (111 mg, 0,69 mmol) foi adicionado à mistura a 0°C e a mistura resultante foi agitada a 25°C por 2 horas. A mistura foi concentrada e purificada por HPLC preparatória para gerar os compostos título (1S,4R)-4-fluoro-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (Composto 121; 6,1 mg, 5,08%) e (1R,4S)-4-fluoro-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (Composto 122; 13,2mg, 11,0%) como sólidos brancos. MS (ES+) $C_{27}H_{30}F_2N_8O$ exige: 520, encontrado: 521 $[M+H]^+$. Também gerou N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohex-3-enocarboxamida (50 mg, 43,4%) como um sólido branco. MS (ES+) $C_{27}H_{29}FN_8O$ exige: 500, encontrado: 501 $[M+H]^+$.

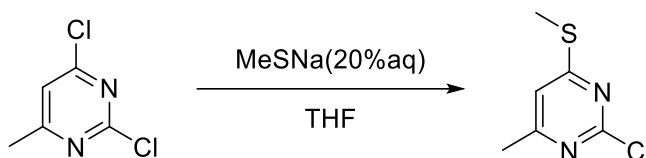
[0189] (1S,4R)-4-fluoro-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (Composto 121): RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,73 (s, 1H), 9,01 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz), 8,69 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 8,41-8,38 (m, 2H), 7,95-7,87 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,14 (s, 1H), 5,00 (q, 1H, $J = 7,2$ Hz), 2,50-2,31 (m, 1H), 2,21-2,21 (m, 6H), 2,21-1,74 (m, 8H), 1,41 (d, 3H, $J = 7,2$ Hz).

[0190] (1R,4S)-4-fluoro-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-4-(4-metil-6-(5-metil-1H-pirazol-3-ilamino)piridin-2-il)ciclohexanocarboxamida (Composto 122): RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,65 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,65 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 8,38-8,33 (m, 2H), 7,92-7,84 (m, 3H), 6,83 (s, 1H),

6,67 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 5,04 (q, 1H, $J = 7,2$ Hz), 2,70-2,50 (m, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,21-1,70 (m, 6H), 1,40 (d, 3H, $J = 7,2$ Hz).

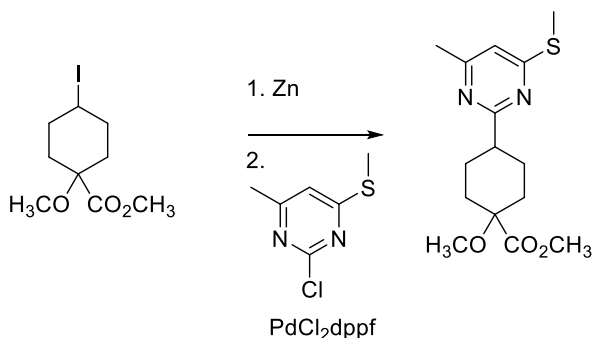
EXEMPLO 5: SÍNTESE DE COMPOSTOS 129 E 130.

[0191] *Etapa 1: Síntese de 2-cloro-4-metil-6-(metiltio)pirimidina.*



[0192] 2,4-Dicloro-6-metilpirimidina (20,0 g, 0,123 mol) foi dissolvida em THF (200 ml). MeSNa (20% aquoso, 43 g, 0,129 mol) foi adicionado por gotejamento a -5°C , e a mistura resultante foi agitada de um dia para o outro à temperatura ambiente. H_2O (100 ml) e EtOAc (100 ml) foram adicionados, e as camadas foram separadas. A camada orgânica foi lavada com salmoura (2x), seca sobre sulfato de sódio e concentrada para proporcionar um sólido amarelo. O sólido foi lavado por PE (100 ml) para proporcionar o composto-alvo (9,1g). MS (ES+) $\text{C}_6\text{H}_7\text{ClN}_2\text{S}$ exige: 174, encontrado: 175 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

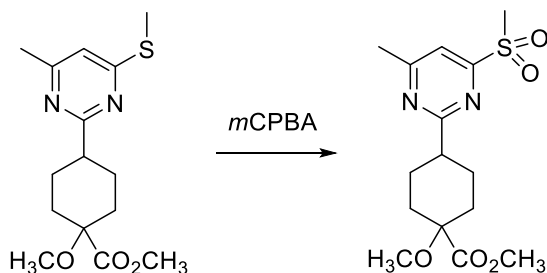
[0193] *Etapa 2: Síntese de 1-metoxi-4-(4-metil-6-(metiltio)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



[0194] 4-iodo-1-metoxiciclo-hexanocarboxilato de metila (1,35 g, 4,53 mmol) foi dissolvido em dimetilacetamida (10 ml) num vaso de pressão sob uma corrente de N_2 . Zinco Rieke (5,7 ml de uma suspensão a 50 mg/ml em THF, 4,34 mmol) foi adicionado rapidamente por meio de seringa, e o vaso foi tampado e agitado à temperatura do meio ambiente por 15 minutos. O vaso foi aberto sob uma corrente de N_2 e 2-cloro-4-metil-6-(metiltio)pirimidina (659 mg, 3,8 mmol) foi adicionada seguida por PdCl_2dppf (138 mg, 0,19 mmol). O vaso foi tampado e aquecido a 80°C por uma hora, então, resfriado à temperatura ambiente. A mistura de reação foi

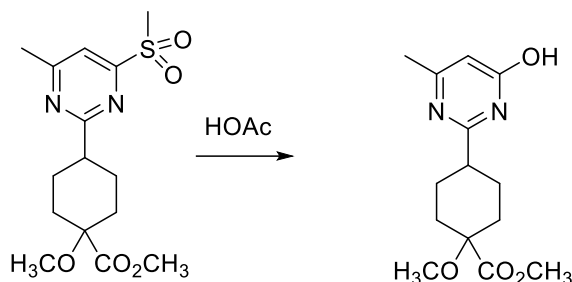
diluída com EtOAc, filtrada através de celite, e o filtrado foi lavado com H₂O (3x), salmoura, seco sobre sulfato de sódio, filtrado e concentrado. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 30% de EtOAc-hexanos) para gerar 1-metoxi-4-(4-metil-6-(metiltio)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de metila (828 mg, 70%) como um óleo incolor. Determinou-se que o produto era uma mistura a ~3:2 de isômeros por integração dos picos de UV no LC/MS e integração de RMN. MS (ES+) C₁₅H₂₂N₂O₃S exige: 310, encontrado: 311 [M+H]⁺.

[0195] *Etapa 3: Síntese de 1-metoxi-4-(4-metil-6-(metilsulfonil)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



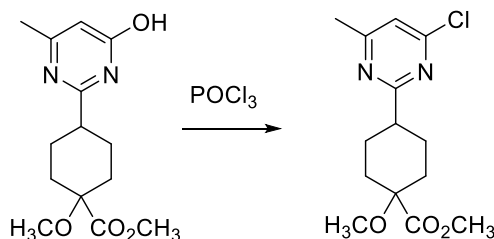
[0196] 1-metoxi-4-(4-metil-6-(metiltio)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de metila (825 mg, 2,66 mmol) foi dissolvido em DCM (12 ml) seguido pela adição de mCPBA (1,10 g, 6,38 mmol) à temperatura do meio ambiente. A mistura de reação foi agitada por 16 horas, então, uma porção adicional de mCPBA foi adicionada (200 mg). Após agitação por mais 4 horas, a mistura de reação foi diluída com DCM e, então, lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio. A solução lavada foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada, concentrada, e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 60% de acetato de etila-hexano) para proporcionar 1-metoxi-4-(4-metil-6-(metilsulfonil)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de metila (808 mg, 89%) como um óleo incolor. MS (ES+) C₁₅H₂₂N₂O₅S exige: 342, encontrado: 343 [M+H]⁺.

[0197] *Etapa 4: Síntese de 4-(4-hidroxi-6-metilpirimidin-2-il)-1-metoxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



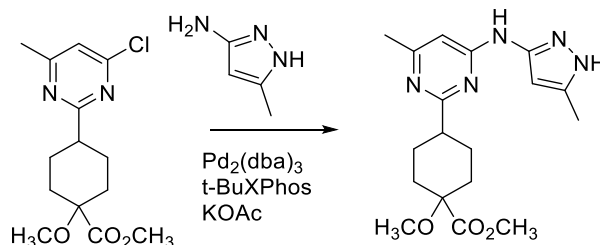
[0198] 1-metoxi-4-(4-metil-6-(metilsulfonil)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-carboxilato de metila (600 mg, 1,75 mmol) foi dissolvido em ácido acético (5 ml) e aquecido a 80°C por 1 h. A mistura de reação foi, então, resfriada à temperatura do meio ambiente, concentrada sob pressão reduzida, titulada com H₂O e filtrada. Os sólidos foram lavados com H₂O adicional e, então, secos sob pressão reduzida para proporcionar o composto título, 4-(4-hidroxi-6-metilpirimidin-2-il)-1-metoxiciclo-hexanocarboxilato de metila (390 mg, 79%), como um sólido amarelo pálido. MS (ES⁺) C₁₄H₂₀N₂O₄ exige: 280, encontrado: 281 [M+H]⁺.

[0199] *Etapa 5: Síntese de 4-(4-cloro-6-metilpirimidin-2-il)-1-metoxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



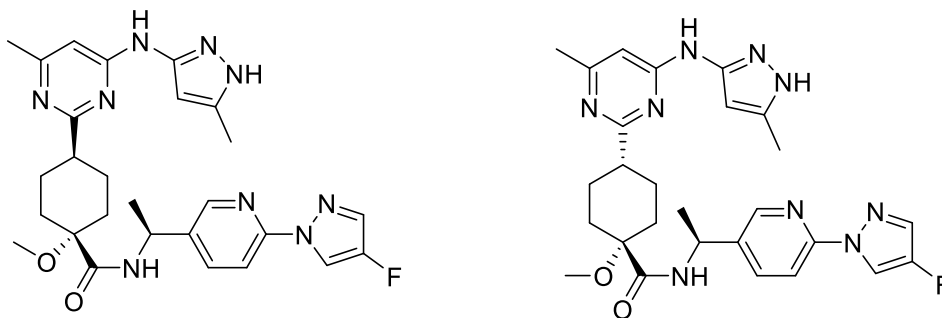
[0200] 4-(4-hidroxi-6-metilpirimidin-2-il)-1-metoxiciclo-hexanocarboxilato de metila (380 mg, 1,36 mmol) foi suspenso em POCl₃ (3,2 ml, 33,9 mmol) e aquecido a 100°C por 2 h. A mistura de reação foi, então, resfriada à temperatura do meio ambiente, concentrada, e o resíduo foi tratado com gelo triturado. A suspensão resultante foi particionada com DCM, e a camada orgânica foi extraída com solução saturada de bicarbonato de sódio e seca sobre sulfato de sódio. A solução seca foi filtrada, concentrada, e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 30% de acetato de etila-hexanos) para gerar 4-(4-cloro-6-metilpirimidin-2-il)-1-metoxiciclo-hexanocarboxilato de metila (344 mg, 85%) como um óleo laranja pálido que solidificou em repouso. MS (ES⁺) C₁₄H₁₉ClN₂O₃ exige: 298, encontrado: 299 [M+H]⁺.

[0201] *Etapa 6: Síntese de 1-metoxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



[0202] 4-(4-cloro-6-metilpirimidin-2-il)-1-metoxiciclo-hexanocarboxilato de metila (300 mg, 1,00 mmol), 3-metil-1-pirazol-5-amina (146 mg, 1,51 mmol), di-terc-butil(2',4',6'-triisopropil-[1,1'-bifenil]-2-il)fosfina (85 mg, 0,2 equivalente), Pd₂(dba)₃ (92 mg, 0,1 equivalente) e acetato de potássio (394 mg, 4,02 mmol) foram combinados num frasco sob nitrogênio, e 4 ml de dioxano foram adicionados. A mistura de reação foi aquecida a 100°C por 1 hora, então, resfriada à temperatura do meio ambiente. A mistura de reação foi diluída com EtOAc, filtrada através de celite, concentrada, e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 10% de metanol-diclorometano) para gerar 1-metoxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de metila (192 mg, 53%) como uma espuma com cor castanho-amarelada. MS (ES+) C₁₈H₂₅N₅O₃ exige: 359, encontrado: 360 [M+H]⁺.

[0203] *Etapa 7: Síntese de (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-1-metoxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-carboxamida (Composto 129) e (1S,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-1-metoxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (Composto 130).*

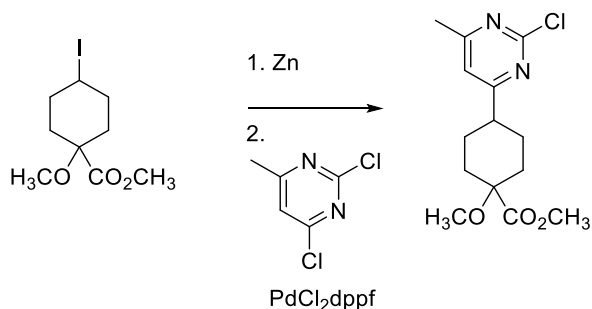


[0204] Os compostos título foram preparados a partir de 1-metoxi-4-(4-metil-

6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxilato de metila (192 mg, 0,53 mmol) usando o mesmo procedimento em duas etapas (hidrólise e acoplamento de amida) apresentado nos Protocolos Sintéticos 1 e 2, com PyBOP como o reagente de acoplamento de amida em vez de HATU. Os produtos foram inicialmente isolados como uma mistura de diastereômeros (190 mg), que foi, então, dissolvida em 6 ml de metanol e purificada por SFC (ChiralPak AD-H 21 x 250 mm, 40% de MeOH contendo 0,25% de DEA em CO₂, injeções de 2,5 ml, 70 ml/min). O pico 1 foi concentrado para gerar (1R,4S)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-1-metoxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexanocarboxamida (29 mg, 10%) como um sólido branco. O pico 2 foi concentrado para gerar (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-1-metoxi-4-(4-metil-6-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)ciclo-hexano-carboxamida (130 mg, 46%) como um sólido branco.

EXEMPLO 6. SÍNTESE DE COMPOSTO 149

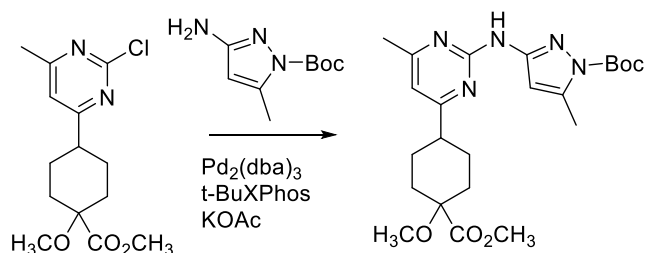
[0205] *Etapa 1: Síntese de 4-(2-cloro-6-metilpirimidin-4-il)-1-metoxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



[0206] 4-iodo-1-metoxiciclo-hexanocarboxilato de metila (3,37 g, 11,3 mmol) foi dissolvido em dimetilacetamida (38 ml) num vaso de pressão sob uma corrente de N₂. Zinco Rieke (17,7 ml de uma suspensão a 50 mg/ml em THF, 13,6 mmol) foi adicionado rapidamente por meio de seringa, e o vaso foi tampado e agitado à temperatura do meio ambiente por 15 minutos. O vaso foi aberto sob uma corrente de N₂ e 2,4-dicloro-6-metilpirimidina (1,84 g, 11,3 mmol) foi adicionada seguida por PdCl₂dppf (826 mg, 1,13 mmol). O vaso foi tampado e aquecido a 80°C por uma hora, então, resfriado à temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída com EtOAc, filtrada através de celite, e o filtrado foi lavado com H₂O (3x), salmoura, seco

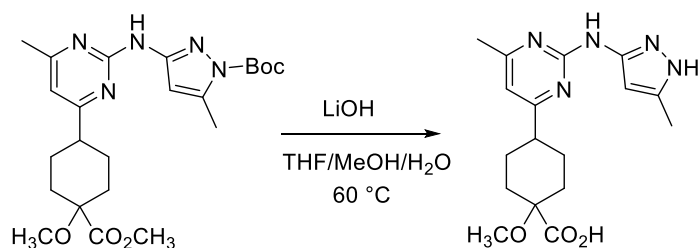
sobre sulfato de sódio, filtrado e concentrado. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 50% de EtOAc-hexanos) para gerar 4-(2-cloro-6-metilpirimidin-4-il)-1-metoxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila (74 mg, 2,2%) como um óleo incolor. MS (ES+) $C_{14}H_{19}ClN_2O_3$ exige: 298, encontrado: 299 $[M+H]^+$.

[0207] *Etapa 2: Síntese de 3-((4-(4-metoxi-4-(metoxycarbonil)ciclo-hexil)-6-metilpirimidin-2-il)amino)-5-metil-1H-pirazole-1-carboxilato de terc-butila.*



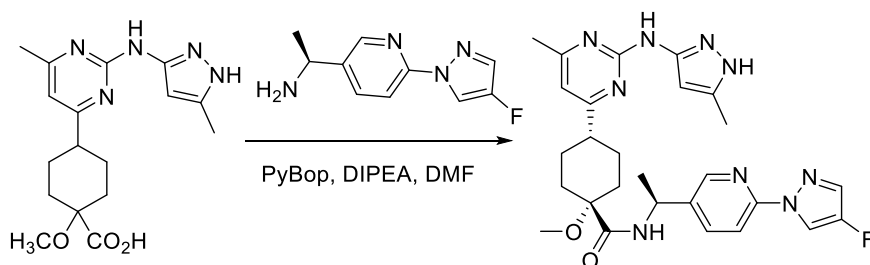
[0208] 4-(2-cloro-6-metilpirimidin-4-il)-1-metoxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila (70,5 mg, 0,236 mmol), 3-amino-5-metil-1H-pirazol-1-carboxilato de terc-butila (69,8 mg, 0,354 mmol), di-terc-butil(2',4',6'-triisopropil-[1,1'-bifenil]-2-il)fosfina (20,0 mg, 0,2 equivalente), $Pd_2(dba)_3$ (21,6 mg, 0,1 equivalente) e acetato de potássio (70 mg, 0,71 mmol) foram combinados num frasco sob nitrogênio, e 0,98 ml de dioxano foi adicionado. A mistura de reação foi aquecida a 115°C por 2 horas, então, resfriada à temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída com EtOAc, filtrada através de celite, concentrada em gel de sílica, e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 100% de acetato de etila-hexanos) para gerar 3-((4-(4-metoxi-4-(metoxycarbonil)ciclo-hexil)-6-metilpirimidin-2-il)amino)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxilato de *terc*-butila (48 mg, 44%) como um óleo amarelo. MS (ES+) $C_{23}H_{33}N_5O_5$ exige: 459, encontrado: 460 $[M+H]^+$.

[0209] *Etapa 3: Síntese de ácido 1-metoxi-4-(6-metil-2-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-4-il)ciclo-hexano-1-carboxílico.*



[0210] Hidróxido de lítio mono-hidratado (13 mg, 0,31 mmol) foi adicionado a uma solução de 3-((4-(4-metoxi-4-(metoxycarbonil)ciclo-hexil)-6-metilpirimidin-2-il)amino)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxilato de *tert*-butila (47,7 mg, 0,104 mmol) em THF/MeOH/H₂O (17:1:1, 1,8 ml). A mistura de reação foi aquecida a 60°C e agitada por 16 horas. A mistura de reação foi, então, resfriada à temperatura do meio ambiente e concentrada para gerar ácido 1-metoxi-4-(6-metil-2-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-4-il)ciclo-hexano-1-carboxílico bruto (57 mg, bruto) que foi usado no acoplamento de amida subsequente sem qualquer purificação adicional. MS (ES⁺) C₁₇H₂₃N₅O₃ exige: 345, encontrado: 346 [M+H]⁺.

[0211] *Etapa 4: Síntese de (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-1-metoxi-4-(6-metil-2-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-4-il)ciclo-hexano-1-carboxamida (Composto 149).*

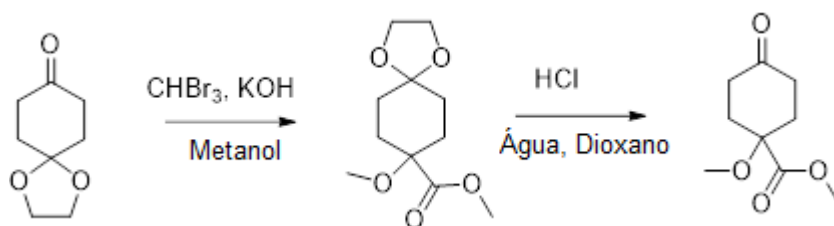


[0212] O composto título foi preparado a partir de ácido 1-metoxi-4-(6-metil-2-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-4-il)ciclo-hexano-1-carboxílico (57 mg, 0,104 mmol) usando o mesmo procedimento (acoplamento de amida) apresentado nos Protocolos Sintéticos 1 e 2, com PyBOP como o reagente de acoplamento de amida em vez de HATU. Os produtos foram inicialmente isolados como uma mistura de diastereômeros (36 mg), que foi, então, dissolvida em 6 ml de metanol-DCM (1:1) e purificada por SFC (ChiralPak IC-H 21 x 250 mm, 40% de MeOH contendo 0,25% de DEA em CO₂, injeções de 1,0 ml, 70 ml/min). O pico 1 foi um isômero indesejado, e o pico 2 foi concentrado para gerar (1s,4R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-1-metoxi-4-(6-metil-2-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-4-il)ciclo-hexano-carboxamida (13,4 mg, 24%) como um sólido branco.

SÍNTESE DE INTERMEDIÁRIOS

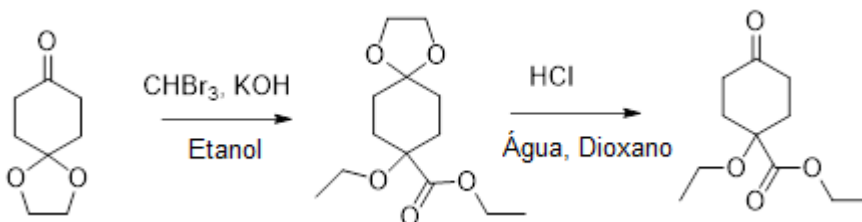
EXEMPLO 7. SÍNTESE DE INTERMEDIÁRIOS DE CETONA E BORONATO.

[0213] A. 1-Metoxi-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de metila.



[0214] O composto título foi preparado conforme descrito no documento WO 2014/130810 A1, página 86.

[0215] B. 1-Etoxi-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila.



[0216] Etapa 1: Síntese de 8-etoxi-1,4-dioxaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de etila.

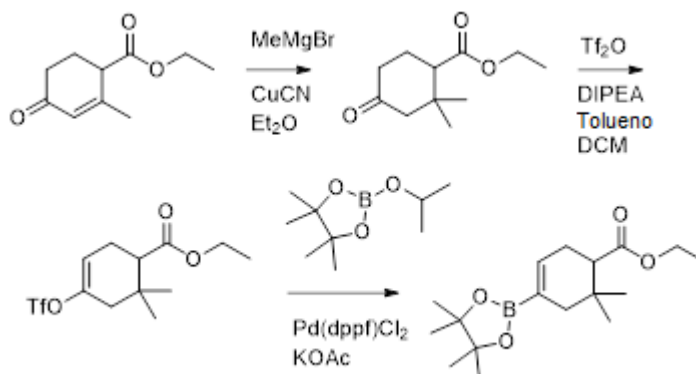
[0217] Uma solução de 1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-ona (20,0 g, 128 mmol) em CHBr_3 (3234 g, 1280 mmol) foi resfriada a 0°C e hidróxido de potássio (57,5 g, 1024 mmol) em EtOH (300 ml) foi adicionado por gotejamento durante 2,5 horas. Após agitação, a mistura por 23 horas, a mistura foi concentrada, e o resíduo foi particionado entre EtOAc e H_2O . A camada orgânica foi lavada com salmoura, seca sobre Na_2SO_4 , filtrada e concentrada sob pressão reduzida para gerar o produto bruto, que foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, PE : EA =15: 1 a 10: 1) para obter o composto título (18,0 g).

[0218] Etapa 2: Síntese de 1-etoxi-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila.

[0219] A uma solução de 8-etoxi-1,4-dioxaspiro[4,5]decano-8-carboxilato de etila (10 g, 43 mmol) em 1,4-dioxano (250 ml), foi adicionado HCl aquoso (6 M, 92,5 ml), e a mistura foi agitada por 23 horas à temperatura do meio ambiente. A mistura foi, então, diluída com H_2O e extraída com EtOAc. As camadas orgânicas foram lavadas com salmoura, secas sobre Na_2SO_4 , filtradas e concentradas sob pressão reduzida para gerar um resíduo bruto, que foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (PE : EA =15: 1) para obter o produto (8,0 g). RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 4,20 – 4,13 (m, 2H), 3,43 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 2,48 – 2,39

(m, 1H), 2,24 – 2,12 (m, 2H), 2,10 – 2,01 (m, 1H), 1,22 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,17 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H).

[0220] C. 6,6-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila.



[0221] *Etapa 1: Síntese de 2,2-dimetil-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila.*

[0222] Uma solução de brometo de metilmagnésio (3 M, 109,8 ml, 329,4 mmol) foi adicionada por gotejamento a uma suspensão de CuCN (14,75 g, 164,7 mmol) em éter dietílico (50 ml) a 0°C. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0°C e, então, resfriada a -78°C. A solução de 2-metil-4-oxociclo-hex-2-eno-1-carboxilato de etila (10 g, 54,9 mmol) em éter dietílico (10 ml) foi, então, adicionada por gotejamento. A mistura foi agitada entre -40°C a -20°C por 2 horas, então, foi amornada à temperatura do meio ambiente por 16 horas. A mistura de reação foi cuidadosamente adicionada a uma solução saturada de cloreto de amônio. A camada aquosa foi extraída duas vezes com éter dietílico, e as camadas orgânicas foram combinadas. A camada orgânica combinada foi lavada com salmoura, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (PE:EA=10:1) para gerar 2,2-dimetil-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila (1,16 g).

[0223] *Etapa 2: Síntese de 6,6-dimetil-4-(((trifluorometil)sulfonyl)oxi)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila.*

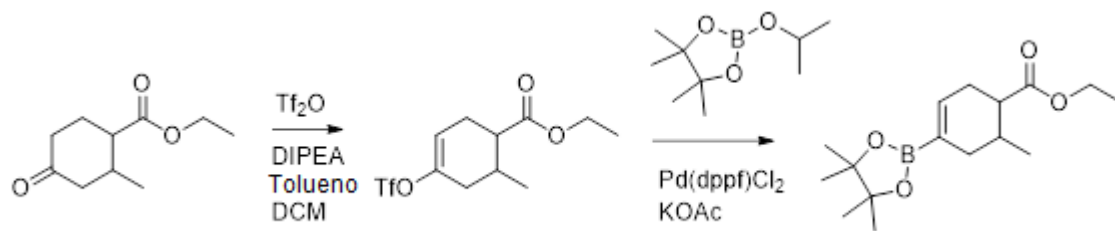
[0224] 2,2-dimetil-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila (1,16 g, 5,85 mmol) e DIPEA (3,03 g, 23,4 mmol) foram dissolvidos em tolueno seco (2 ml) e aquecidos a 45°C por 10 minutos. Anidrido trifluorometanossulfônico (6,61 g, 23,4 mmol) em DCM (20 ml) foi adicionado por gotejamento durante 10 minutos, e a

mistura foi aquecida a 45°C por 2 h. A mistura foi deixada resfriar à temperatura ambiente, concentrada, diluída com água (60 ml) e extraída com DCM (2 x 40 ml). A camada orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (20 ml) e salmoura (20 ml), seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 100% de acetato de etila-éter de petróleo) para proporcionar 6,6-dimetil-4-(((trifluorometil)sulfonyl)oxi)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila (1 g).

[0225] *Etapla 3: Síntese de 6,6-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila.*

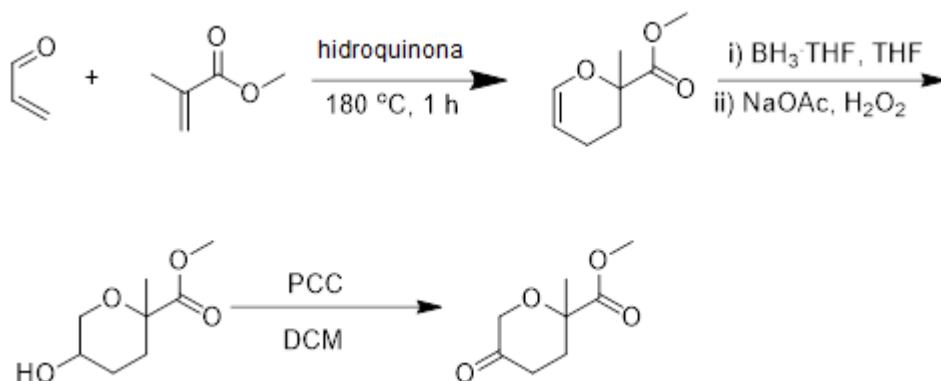
[0226] 6,6-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila (1 g, 3,03 mmol), 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (1,15 g, 4,54 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (73,5 mg, 0,09 mmol) e acetato de potássio (891 mg, 9,08 mmol) foram suspensos em 1,4-dioxano (20 ml). A mistura de reação foi enxaguada com nitrogênio, então, aquecida a 100°C por 2 horas. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, filtrada e concentrada, e o óleo marrom resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 100% de acetato de etila-éter de petróleo) para proporcionar 6,6-dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila (618 mg).

[0227] *D. 6-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila.*



[0228] 6-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclo-hex-3-eno-1-carboxilato de etila foi preparado usando o mesmo protocolo sintético conforme descrito acima usando 2-metil-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila como o material de partida.

[0229] *E. 2-metil-5-oxotetra-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila*



[0230] *Etapa 1: Síntese de 2-metil-3,4-di-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila*

[0231] Uma mistura de acraldeído (120 g, 2,14 mol), metacrilato de metila (200 g, 2,00 mol) e hidroquinona (2,2 g, 20 mmol) foi aquecida num vaso de aço vedado a 180°C por uma hora. A mistura foi, então, resfriada à temperatura do meio ambiente e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica (elução gradiente, éter de petróleo:acetato de etila= 100:1 a 80:1) para gerar 2-metil-3,4-di-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila (70 g, 22% de rendimento) como um óleo amarelo pálido. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6,38 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 4,73-4,70 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,25-2,22 (m, 1H), 1,99-1,96 (m, 2H), 1,79-1,77 (m, 1H), 1,49 (s, 3H).

[0232] *Etapa 2: Síntese de 5-hidroxi-2-metiltetra-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila*

[0233] A uma solução de 2-metil-3,4-dihidro-2H-piran-2-carboxilato de metila (20,0 g, 128 mmol) em tetra-hidrofurano anidro (200 ml), foi adicionado borano (67 ml, 1 M em tetra-hidrofurano) por gotejamento a -5°C. A mistura de reação foi agitada a 0°C por 3 horas. A reação foi monitorada por TLC. A mistura foi bruscamente arrefecida por uma solução de acetato de sódio (10,5 g, 128 mmol) em água (15 ml). Então, mistura foi tratada com 30% de solução de peróxido de hidrogênio (23,6 g, 208,2 mmol) lentamente a 0°C e agitada a 30°C por 3 horas. A mistura foi, então, particionada entre solução saturada de sulfito de sódio e tetra-hidrofurano. A camada aquosa foi, ainda, extraída com tetra-hidrofurano (2X). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura saturada, secas sobre sulfato de sódio e concentradas a vácuo. O resíduo foi purificado por uma cromatografia em coluna de gel de sílica (elução gradiente, éter de petróleo:acetato

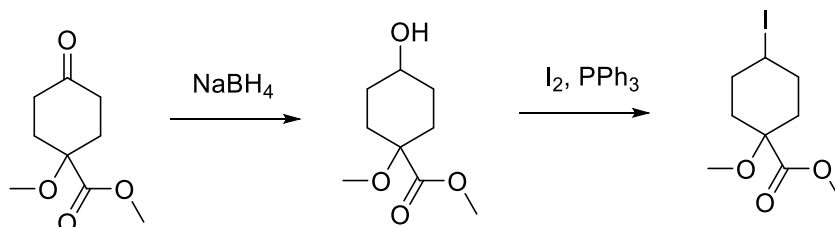
de etila = 10:1 a 1:1) para gerar 5-hidroxi-2-metiltetra-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila bruto (18 g, bruto) como um óleo amarelo pálido, que foi usado diretamente para a etapa seguinte.

[0234] *Etapa 3: Síntese de 2-metil-5-oxotetra-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila*

[0235] A uma solução de 5-hidroxi-2-metiltetra-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila (18,0 g, 103 mmol) em diclorometano anidro (200 ml), foi adicionado PCC (45,0 g, 209 mmol) em porções. A mistura de reação foi agitada à temperatura do meio ambiente até o TLC ter indicado que a reação estava completa. Éter de petróleo (500 ml) foi, então, adicionado, e a mistura foi filtrada. A torta do filtro foi lavada com éter de petróleo (100 ml), e o filtrado foi concentrado sob vácuo para gerar 2-metil-5-oxotetra-hidro-2H-piran-2-carboxilato de metila (15 g, 84% de rendimento) como um óleo amarelo pálido. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 4,25 (d, $J = 17,6$ Hz, 1H), 4,07 (d, $J = 17,6$ Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,52-2,44 (m, 3H), 2,11-2,04 (m, 1H), 1,53 (s, 3H).

EXEMPLO 8. SÍNTESE DE INTERMEDIÁRIOS DE IODETO

[0236] *A. 1-metoxi-4-iodociclo-hexano-1-carboxilato de metila.*



[0237] *Etapa 1: Síntese de 1-metoxi-4-hidroxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila.*

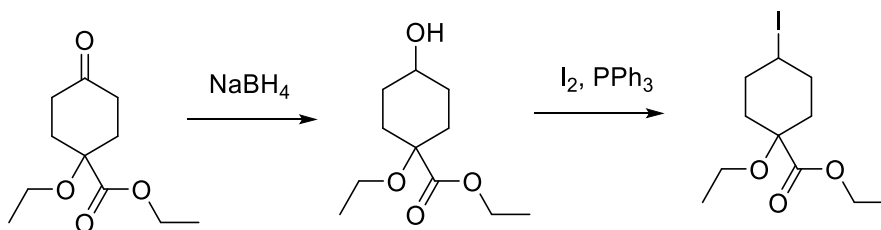
[0238] 1-metoxi-4-oxociclo-hexanocarboxilato de metila (4,00 g, 21,5 mmol) foi dissolvido em metanol (100 ml), e a solução foi resfriada a 0°C . Boroidreto de sódio (2,03 g, 53,7 mmol) foi adicionado em porções durante 20 minutos. A mistura de reação foi agitada por 30 minutos, então, foi bruscamente arrefecida por adição de solução aquosa saturada de NH_4Cl . A mistura de reação foi evaporada para remover o MeOH, então, a suspensão aquosa foi extraída com DCM (3 x). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas para produzir um resíduo que foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica (eluição gradiente, 5% a 100% de acetato de etila-hexanos)

para proporcionar 1-metoxi-4-hidroxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila (2,00 g, 49,5%) como um óleo incolor. MS (ES+) $C_9H_{16}O_4$ exige: 188, encontrado: 211 $[M+Na]^+$.

[0239] *Etapa 2: Síntese de 1-metoxi-4-iodociclo-hexano-1-carboxilato de metila.*

[0240] 1-metoxi-4-hidroxiciclo-hexano-1-carboxilato de metila (2,00 g, 10,6 mmol) foi dissolvido em THF (20 ml) e imidazol (723 mg, 10,6 mmol) e trifenilfosfina (3,34 g, 12,8 mmol) foram adicionados. A mistura foi resfriada a 0°C e, então, uma solução de iodo (3,24 g, 12,8 mmol) em THF (10 ml) foi adicionada por gotejamento durante 15 minutos. A mistura de reação foi deixada amornar à temperatura do meio ambiente e foi, então, agitada por 2 dias, após os quais foi vertida sobre solução saturada de tiosulfato de sódio e extraída com EtOAc. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada, concentrada, e o resíduo foi triturado com hexano (40 ml, agitação por 20 minutos). A mistura foi filtrada, e o filtrado foi evaporado para fornecer um resíduo que foi purificado por cromatografia em coluna rápida em gel de sílica (eluição gradiente, 0 a 30% de acetato de etila-hexanos) para gerar o composto título (2,37 g, 75%) como um óleo amarelo pálido. MS (ES+) $C_9H_{15}IO_3$ exige: 298, encontrado: 299 $[M+H]^+$.

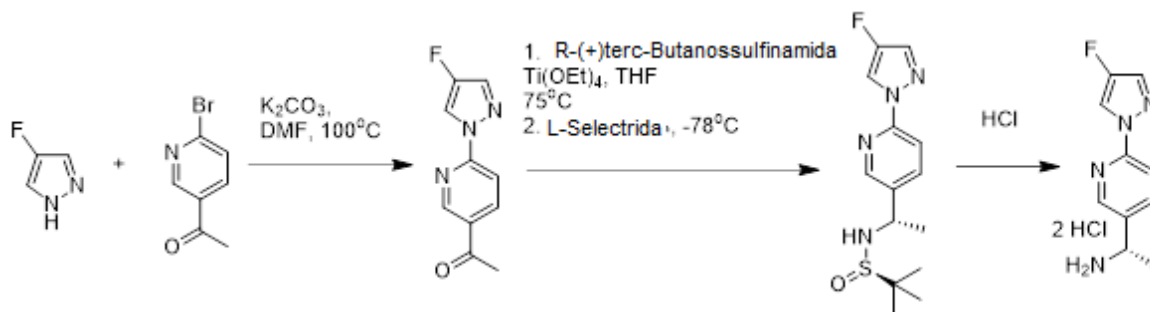
[0241] *B. 1-etoxi-4-iodociclo-hexano-1-carboxilato de etila.*



[0242] O composto título foi preparado conforme descrito acima usando 1-etoxi-4-oxociclo-hexano-1-carboxilato de etila como um material de partida. $C_{11}H_{19}IO_3$ exige: 326, encontrado: 327 $[M+H]^+$.

EXEMPLO 9. SÍNTESE DE INTERMEDIÁRIOS DE AMINA.

[0243] *A. (S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-amina.*



[0244] *Etapa 1: Síntese de 1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-ona.*

[0245] 4-Fluoro-1H-pirazol (4,73 g, 55 mmol) e carbonato de potássio (17,27 g, 125 mmol) foram combinados e agitados em N,N-dimetilformamida (41,7 ml) por 10 minutos num tubo vedado aberto antes da adição de 2-bromo-5-acetilpiridina (10 g, 50 mmol). O tubo de reação foi vedado e agitado por 20 horas a 100°C. A mistura de reação foi, então, resfriada à temperatura ambiente e vertida em água (~700 ml). A mistura foi sonicada e agitada por 20 minutos, após os quais um sólido bege foi isolado por filtração, lavado com pequenas quantidades de água e seco para produzir 1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-ona (9,81 g, 96% de rendimento). MS: M+1 = 206,0.

[0246] *Etapa 2: Síntese de (R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfonamida.*

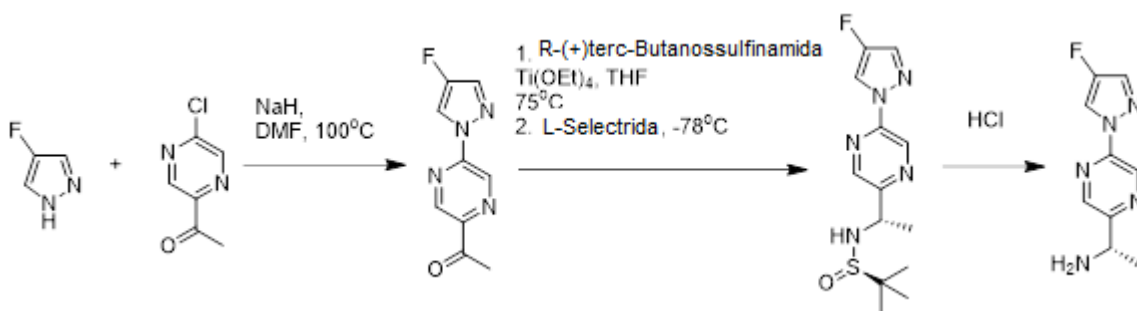
[0247] A uma solução agitada à temperatura ambiente de 1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-ona (9,806 g, 47,8 mmol) em THF (96 ml), foi adicionada (R)-(+)-t-butilsulfonamida (5,79 g, 47,8 mmol) seguida por etóxido de titânio (IV) (21,8 g, 96 mmol). A solução foi agitada a 75°C num banho de óleo por 15 horas. A solução de reação foi resfriada à temperatura ambiente e, então, a -78°C (temperatura externa) antes da etapa seguinte. À solução a -78°C, foi adicionada por gotejamento durante quase 55 minutos L-Selectrida (143 ml de 1 N em THF, 143 mmol). Durante a adição, algum borbulhamento foi observado. A reação foi, então, agitada após a adição estar completa por 15 minutos a -78°C antes do amornamento à temperatura ambiente. O LC-MS da amostra coletada durante a remoção de banho frio mostrou que a reação estava completa. A reação foi resfriada a -50°C e bruscamente arrefecida lentamente com metanol (~ 10 ml), então, vertida em água (600 ml) e agitada. Um precipitado branco-sujo foi removido

por filtração, com acetato de etila usado para as lavagens. O filtrado foi diluído com acetato de etila (800 ml), as camadas foram separadas, e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. O produto bruto foi purificado por cromatografia em gel de sílica para produzir (R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (10,5 g, 99% de pureza, 70,3% de rendimento) como um sólido amarelo. MS: $M+1 = 311,1$.

[0248] *Etapa 3: Síntese de (S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-amina.*

[0249] Uma solução de (R)-N-((S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (10,53 g, 33,9 mmol) em metanol (79 mmol) e HCl/dioxano 4 N (85 ml, 339 mmol) foi agitada por 2,5 horas, em cujo ponto o LC-MS mostrou que a reação estava completa. A solução de reação foi vertida em éter dietílico (300 ml) e um sólido pegajoso foi formado. A mistura foi tratada com acetato de etila (200 ml) e sonicada. Os solventes foram decantados, e o sólido pegajoso foi tratado com mais acetato de etila (~ 200 ml), sonicado e agitado. O volume do sólido pegajoso foi convertido numa suspensão. Um sólido amarelo claro foi isolado por filtração, lavado com quantidades menores de acetato de etila e seco para produzir (S)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-amina (7,419 g, 78% de rendimento). LC-MS confirmou o produto desejado em alta pureza. MS: $M+1 = 207,1$.

[0250] *B. (S)-1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etan-1-amina.*



[0251] *Etapa 1: Síntese de 1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etan-1-ona.*

[0252] Hidreto de sódio (60% em peso, 276 mg, 6,90 mmol) foi adicionado a uma mistura de 1-(5-cloropirazin-2-il)etanona (800 mg, 5,11 mmol) e 4-fluoro-1H-pirazol (484 mg, 5,62 mmol) em N,N-dimetilformamida (6,0 ml) à temperatura do

meio ambiente por 10 minutos. A mistura de reação foi, então, vertida em água (70 ml) e sonicada e agitada por 20 minutos. Um sólido vermelho escuro foi insolado por filtração, lavado com pequenas quantidades de água e seco em 1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etan-1-ona (919 mg, 95% de rendimento). MS: $M+1 = 207$.

[0253] *Etapa 2: Síntese de (R)-N-((S)-1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida.*

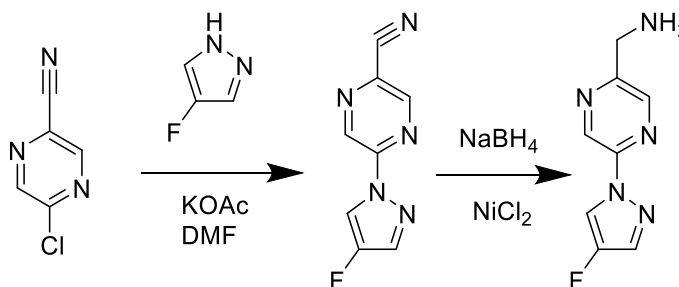
[0254] A uma solução agitada à temperatura ambiente de 1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etan-1-ona (4,67 g, 22,7 mmol) em THF (45 ml), foi adicionada (R)-(+)-t-butilsulfinamida (2,75 g, 22,7 mmol) seguida por etóxido de titânio (IV) (10,3 g, 45,3 mmol). A solução foi agitada a 75°C num banho de óleo por 20 horas. A solução de reação foi resfriada à temperatura ambiente e, então, a -78°C antes da etapa seguinte. À solução a -78°C, foi adicionada por gotejamento durante 50 minutos L-Selectrida (50,1 ml de 1 N em THF, 50,1 mmol). Durante a adição, algum borbulhamento foi observado. Após a adição estar completa, a reação foi, então, agitada por 15 minutos antes do amornamento à temperatura ambiente. O LC-MS da amostra coletada durante a remoção de banho frio mostrou que a reação estava completa. A reação foi resfriada a -60°C e bruscamente arrefecida lentamente com metanol (1 ml), então, vertida em água (100 ml) e agitada. A mistura foi filtrada, e os sólidos foram lavados adicionalmente com acetato de etila. O filtrado foi diluído com acetato de etila, e a camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada, concentrada, e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna rápida (eluição gradiente, 0 a 100% de acetato de etila-diclorometano) para gerar (R)-N-((S)-1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (1,04 g, 14%) como um sólido marrom. MS: $M+1 = 312$. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,12 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 8,73 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,59 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 8,03 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 5,69 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,62 (p, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,57 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,12 (s, 9H).

[0255] *Etapa 3: Síntese de (S)-1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etan-1-amina.*

[0256] Uma solução de (R)-N-((S)-1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (1,04 g, 3,34 mmol) em metanol (7,8 ml) e

HCl/dioxano 4 N (8,34 ml, 33,4 mmol) foi agitada por 1,5 horas à temperatura do meio ambiente. A mistura de reação foi vertida em éter dietílico (100 ml), e um sólido bege claro foi isolado por filtração para proporcionar (S)-1-(5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)etan-1-amina (689 mg, 85% de rendimento). MS: M+1 = 208.

[0257] C. (5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)metanamina.



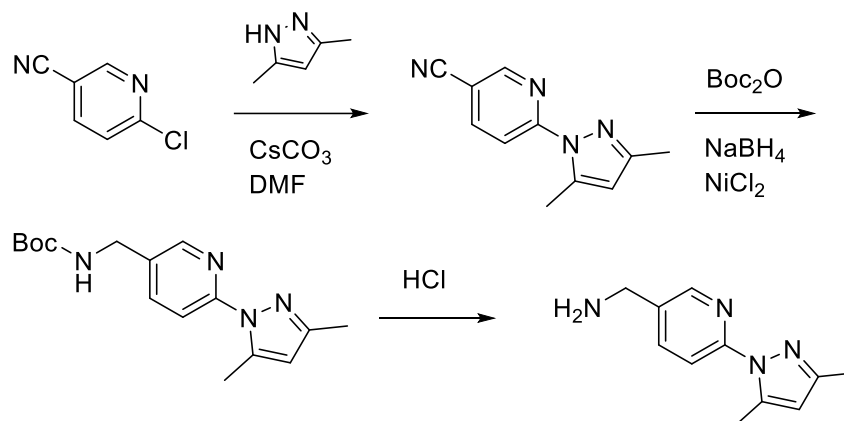
[0258] *Etapa 1: Síntese de 5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazina-2-carbonitrila.*

[0259] A uma solução de 5-cloropirazina-2-carbonitrila (280 mg, 2,0 mmol) em DMF, foi adicionado 4-fluoro-1H-pirazol (170 mg, 2,0 mmol) e acetato de potássio (395 mg, 4,0 mmol). A mistura foi agitada a 100°C por 4 horas, então, resfriada a 20°C, vertida em salmoura (25 ml) e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, concentrada e purificada por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila = 5:1) para gerar 5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazina-2-carbonitrila (310 mg, 82%). A estrutura foi confirmada por LC-MS.

[0260] *Etapa 2: Síntese de (5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)metanamina.*

[0261] Uma mistura de 5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazina-2-carbonitrila (190 mg, 1,0 mmol) e NiCl₂ (12 mg, 0,1 mmol) em MeOH (5 ml) foi adicionada a NaBH₄ (380 mg, 10 mmol) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 2 horas, bruscamente arrefecida com NH₄Cl aquoso e purificada por HPLC para gerar (5-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)pirazin-2-il)metanamina (160 mg, rendimento 82%). A estrutura foi confirmada por LC-MS.

[0262] D. (6-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metanamina.



[0263] *Etapa 1: Síntese de 6-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)nicotinonitrila.*

[0264] A uma solução de 6-cloronicotinonitrila (300 mg, 2,2 mmol) em DMF (10 ml), foi adicionado 3,5-dimetil-1H-pirazol (210 mg, 2,2 mmol) e Cs₂CO₃ (1,4 g, 4,4 mmol), e a mistura foi agitada a 90°C por 16 horas. A mistura foi, então, diluída com H₂O (25 ml) e filtrada. Os sólidos foram lavados com água e secos a vácuo para gerar 6-(3,5-Dimetil-1H-pirazol-1-il)nicotinonitrila (320 mg, 74,6%).

[0265] *Etapa 2: Síntese de ((6-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metil)carbamato de terc-butila.*

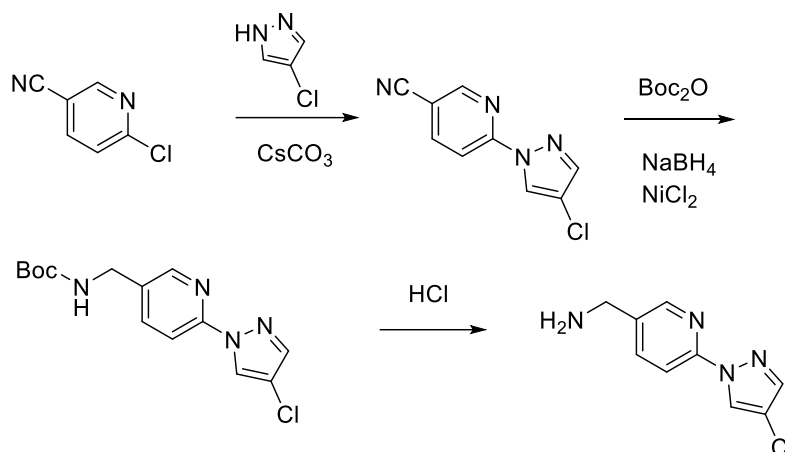
[0266] A 6-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)nicotinonitrila (300 mg, 1,5 mmol) em MeOH (10 ml), foi adicionado NiCl₂ (19 mg, 0,15 mmol), (Boc)₂O (654 mg, 3,0 mmol) e NaBH₄ (142 mg, 3,8 mmol), e a mistura foi agitada à temperatura do meio ambiente por 3 horas. Solução aquosa saturada de cloreto de amônio foi adicionada, e MeOH foi removido sob vácuo. A suspensão aquosa foi particionada com acetato de etila, e a camada orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 50 ml), seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob vácuo para gerar 450 mg de composto-alvo que foi usado na etapa seguinte sem purificação adicional.

[0267] *Etapa 3: Síntese de (6-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metanamina.*

[0268] Uma solução de HCl em dioxano (4,0 M, 10 ml) foi adicionada ao composto ((6-(3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metil)carbamato de *terc*-butila (450 mg), e a mistura foi agitada por 2 horas. A mistura foi, então, concentrada sob pressão reduzida para gerar o composto título (350 mg) como um sólido marrom claro que foi passado adiante sem purificação adicional. RMN de ¹H (400 MHz,

DMSO-*d*₆) δ 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 8,34 (s, 3H), 8,03 (dd, J = 8,5, 2,4 Hz, 1H), 7,87 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,14 (s, 1H), 4,12 (q, J = 5,7 Hz, 2H), 2,59 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).

[0269] *E. (6-(4-cloro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metanamina.*



[0270] *Etapa 1: Síntese de 6-(4-cloro-1H-pirazol-1-il)nicotinonitrila*

[0271] A uma solução de 6-cloronicotinonitrila (300 mg, 2,2 mmol) em DMF (10 ml), foi adicionado 4-cloro-1H-pirazol (227 mg, 2,2 mmol) e Cs₂CO₃ (1,4 g, 4,4 mmol), e a mistura foi agitada a 90°C por 16 horas. A mistura foi, então, diluída com H₂O (25 ml) e filtrada. Os sólidos foram lavados com H₂O e secos sob vácuo para gerar 6-(4-cloro-1H-pirazol-1-il)nicotinonitrila (380 mg, 84%), que foi usada na etapa seguinte sem purificação adicional.

[0272] *Etapa 2: Síntese de ((6-(4-cloro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metil)carbamato de terc-butila.*

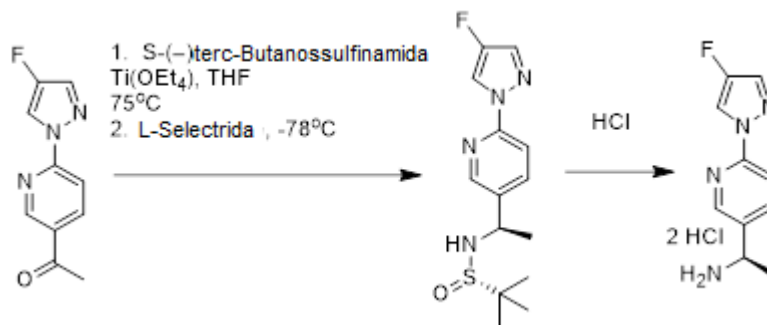
[0273] A 6-(4-cloro-1H-pirazol-1-il)nicotinonitrila (350 mg, 1,7 mmol) em MeOH (10 ml), foi adicionado NiCl₂ (19 mg, 0,17 mmol), (Boc)₂O (741 mg, 3,4 mmol) e NaBH₄ (163 mg, 4,3 mmol), e a mistura foi agitada à temperatura do meio ambiente por 3 horas. Solução aquosa saturada de cloreto de amônio foi adicionada, e MeOH foi removido sob vácuo. A suspensão aquosa foi, então, particionada com EtOAc, e a camada orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 50 ml), seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob vácuo para gerar 480 mg de composto título que foi usado na etapa seguinte sem purificação adicional.

[0274] *Etapa 3: Síntese de (6-(4-cloro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metanamina*

[0275] Uma solução de HCl em dioxano (4,0 M, 10 ml) foi adicionada a ((6-

(4-cloro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)metil)carbamato *terc*-butila (450 mg, 1,5 mmol) à temperatura do meio ambiente. A mistura foi agitada por 2 horas, então, concentrada sob pressão reduzida para gerar o composto título (290 mg) como um sólido marrom claro que foi usada sem purificação adicional. MS: $M+1 = 209$.

[0276] F. (R)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-amina



[0277] Etapas 1 a 3: (R)-1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-amina

[0278] O composto título foi preparado a partir de 1-(6-(4-fluoro-1H-pirazol-1-il)piridin-3-il)etan-1-ona usando a mesma sequência que foi descrita para preparar o enantiômero *S* deste composto, exceto pelo fato de que (R)-(-)-*t*-butilsulfinamida foi substituída por (S)-(-)-*t*-butilsulfinamida como o auxiliar quiral. MS (ES+) $C_{10}H_{11}FN_4$ exige: 206, encontrado: 207 $[M+H]^+$.

[0279] Os protocolos sintéticos que podem ser usados para preparar os compostos divulgados no presente documento são indicados abaixo. Os dados de RMN e LC MS obtidos para compostos divulgados no presente documento são também mostrados abaixo.

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
100	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,56 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,85 (s, 2H), 7,81 (s, 1H), 6,66 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,36 (s, 2H), 3,17 (s, 3H), 2,21 (d, $J = 29,3$ Hz, 3H), 2,06 (d, $J = 13,0$ Hz, 4H), 1,80 (s, 2H), 1,63 (s, 2H).	472

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
101	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 8,61 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,46 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,87 – 7,84 (m, 1H), 7,82 (s, 1H), 6,72 – 6,66 (m, 1H), 6,59 – 6,57 (m, 1H), 4,34 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 3,17 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,04 (s, 2H), 1,96 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 1,59 (dd, J = 27,2, 14,4 Hz, 4H).	472
102	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 8,56 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,83 (d, J = 15,0 Hz, 3H), 6,66 (d, J = 15,8 Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,36 (s, 1H), 3,17 (s, 3H), 2,42 (s, 2H), 2,21 (d, J = 29,3 Hz, 3H), 2,06 (d, J = 13,0 Hz, 4H), 1,78 (d, J = 16,2 Hz, 2H), 1,63 (s, 2H).	486
103	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,61 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,46 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,92 – 7,82 (m, 3H), 6,72 – 6,66 (m, 1H), 6,58 – 6,57 (m, 1H), 4,33 (s, 1H), 3,17 (s, 3H), 2,42 (s, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,06 – 1,94 (m, 4H), 1,56 (dd, J = 28,0, 12,9 Hz, 4H).	486
104	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 14,03 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 8,70 – 8,31 (m, 4H), 7,86 (d, J = 30,5 Hz, 3H), 6,57 (s, 1H), 4,34 (s, 2H), 2,82 (s, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,21 (s, 5H), 1,94 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 1,67 (dd, J = 45,4, 19,9 Hz, 5H), 1,24 (s, 1H), 0,94 (d, J = 6,4 Hz, 3H).	486

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
105	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 8,64 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,92 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 6,66 (d, J = 21,2 Hz, 1H), 4,36 (s, 2H), 2,91 (s, 1H), 2,42 (s, 2H), 2,21 (d, J = 33,5 Hz, 3H), 2,07 (dd, J = 14,5, 7,1 Hz, 4H), 1,80 (s, 2H), 1,64 (d, J = 11,5 Hz, 2H).	490
106	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,55 (s, 1H), 11,24 (s, 1H), 8,90 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,01 – 7,95 (m, 0H), 7,81 – 7,78 (m, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,10 (s, 1H), 5,93 (s, 1H), 4,35 (s, 2H), 2,91 (s, 0H), 2,54 (s, 1H), 2,44 (d, J = 20,0 Hz, 2H), 2,22 (d, J = 22,8 Hz, 5H), 2,13 – 1,96 (m, 4H), 1,79 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 1,62 (s, 2H).	500
107	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 14,57 (s, 1H), 12,87 (s, 1H), 11,57 (s, 1H), 8,61 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 8,47 – 8,35 (m, 2H), 7,94 – 7,85 (m, 2H), 7,82 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,58 (dd, J = 2,5, 1,7 Hz, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,40 – 4,29 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,31 (s, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,05 – 1,96 (m, 2H), 1,93 – 1,81 (m, 3H), 1,54 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 0,98 (d, J = 7,2 Hz, 3H).	501

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
111	2	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,85 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,35 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 8,20 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,92 – 7,81 (m, 3H), 6,79 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,02 – 4,92 (m, 1H), 2,72 (s, 1H), 2,41-2,31 (m, 1H), 2,27-2,12 (m, 8H), 1,83-1,48 (m, 6H), 1,38 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).	504
113	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,55 (s, 0H), 11,23 (s, 0H), 8,83 (d, $J = 4,8$ Hz, 0H), 8,74 (s, 0H), 8,46 (s, 0H), 8,36 (s, 0H), 7,95 (s, 0H), 7,90 – 7,81 (m, 1H), 4,63 – 4,48 (m, 0H), 4,36 (s, 1H), 2,91 (s, 0H), 2,55 (s, 0H), 2,44 (d, $J = 17,9$ Hz, 1H), 2,20 (d, $J = 32,7$ Hz, 1H), 2,12 – 1,85 (m, 1H), 1,62 (s, 1H).	506
114	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 14,60 (s, 1H), 12,88 (s, 1H), 11,53 (s, 1H), 8,61 (m, 1H), 8,36 (dd, $J = 12,9, 7,1$ Hz, 2H), 7,90 (m, 2H), 7,82 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,58 (dd, $J = 2,5, 1,7$ Hz, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,40 (dd, $J = 15,2, 5,9$ Hz, 2H), 4,30 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,17 (d, $J = 9,7$ Hz, 3H), 1,83 (d, $J = 21,1$ Hz, 2H), 1,66 (t, $J = 16,3$ Hz, 2H), 1,13 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).	515

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
116	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 13,88 (s, 1H), 12,46 (s, 1H), 11,37 (d, J = 120,9 Hz, 1H), 8,69 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,50 – 8,36 (m, 2H), 7,98 – 7,86 (m, 2H), 7,59 (s, 0,5H), 6,86 (d, J = 27,8 Hz, 1H), 6,66 (s, 0,5H), 5,91 (s, 0,5H), 5,00 (s, 1H), 2,82 (s, 1H), 2,43 (d, J = 20,6 Hz, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,11 (s, 1H), 2,04 – 1,84 (m, 2H), 1,82 – 1,57 (m, 3H), 1,54 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 1,42 (d, J = 5,1 Hz, 3H), 1,24 (s, 1H), 1,01 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 0,80 (s, 1H)	518
119	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ ppm 11,63 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,65 (d, 1H, J = 4,4 Hz), 8,36 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 8,25 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,92-7,83 (m, 3H), 6,79 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,24 (s, 1H), 5,00 (q, 1H, J = 7,2 Hz), 4,81 (s, 1H), 2,49-2,30 (m, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,85-1,53 (m, 4H), 1,50-1,34 (m, 5H).	519
124	2	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 13,84 (s, 1H), 12,40 (d, J = 48,8 Hz, 1H), 11,52 (s, 1H), 8,68 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 8,41 (t, J = 11,2 Hz, 2H), 7,93 (dd, J = 8,4, 2,1 Hz, 2H), 7,89 (dd, J = 8,3, 5,2 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 24,0 Hz, 1H), 6,65 (s, 1H), 4,98 (s, 1H), 3,00 (s, 1H), 2,40 (s, 6H), 2,22 (s, 1H), 2,12 (s, 2H), 1,85 (s, 2H), 1,67 (d, J = 15,1 Hz, 2H), 1,42 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 1,31 (m, 2H), 1,04 (m, 6H).	532

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
128	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 14,54 (s, 1H), 12,87 (s, 1H), 11,61 (s, 1H), 8,68 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,41 (dd, $J = 6,4, 2,0$ Hz, 1H), 8,31 (dd, $J = 28,8, 7,8$ Hz, 1H), 7,97 – 7,86 (m, 3H), 7,09 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 5,92 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 5,04 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,32 (s, 1H), 2,27 (d, $J = 5,1$ Hz, 3H), 2,12 – 1,77 (m, 6H), 1,49 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,42 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,03 (s, 1H), 0,84 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H).	534
129	3	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,85 (s, 1H), 9,46 (s, 1H), 8,65 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,48 - 8,35 (m, 2H), 7,96 (dd, $J = 8,5, 2,3$ Hz, 1H), 7,89 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 7,84 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,12 - 5,02 (m, 1H), 3,06 (s, 3H), 2,67 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 2,20 (s, 3H), 2,16 (s, 5H), 1,95 (dd, $J = 28,8, 9,8$ Hz, 2H), 1,87 - 1,76 (m, 2H), 1,58 - 1,38 (m, 5H).	534
130	3	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,89 (s, 1H), 9,51 (bs, 1H), 8,68 (dd, $J = 4,5, 0,7$ Hz, 1H), 8,46 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 8,44 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,99 (dd, $J = 8,5, 2,3$ Hz, 1H), 7,91 (dd, $J = 4,4, 0,8$ Hz, 1H), 7,88 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,86 (bs, 1H), 6,20 (bs, 1H), 5,06 (dq, $J = 7,8, 7,6$ Hz 1H), 3,14 (s, 3H), 2,58 (bt, $J = 12$ Hz, 1H), 2,24 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,99 (bd, $J = 12,1$ Hz, 1H), 1,93 (dd, $J = 13,8, 2,4$ Hz, 1H), 1,88-1,69 (m, 5H), 1,63 (td, $J = 14, 4$ Hz, 1H), 1,47 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).	534

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
131	3	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,88 (s, 1H), 9,51 (s, 1H), 9,12 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 8,73 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 8,51 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 8,41 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,18 - 5,07(m, 1H), 3,17 (s, 3H), 2,64 - 2,52 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,02 - 1,91 (m, 2H), 1,89 - 1,61 (m, 6H), 1,49 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).	535
135	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 14,58 (m, 1H), 12,89 (m, 2H), 11,52 (s, 1H), 8,69 (t, $J = 4,3$ Hz, 1H), 8,43 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,27 (m, 1H), 7,97 (m, 4H), 7,59 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 5,98 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,06 (dd, $J = 13,5$, 7,0 Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,17 (s, 2H), 1,83 (d, $J = 29,4$ Hz, 2H), 1,62 (s, 2H), 1,52 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,44 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,16 (s, 1H), 1,04 (s, 2H), 1,02 (s, 1H), 0,88 (s, 2H).	547
136	3	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,89 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 8,67 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 8,41 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 8,28 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,98 (dd, $J = 8,5$, 2,3 Hz, 1H), 7,93 - 7,80 (m, 2H), 6,74 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,09 - 4,95 (m, 1H), 3,28 - 3,20 (m, 2H), 2,61 - 2,51 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,02 - 1,91 (m, 2H), 1,90 - 1,78 (m, 2H), 1,71 (d, $J = 10,4$ Hz, 3H), 1,63 - 1,51 (m, 1H), 1,45 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,21 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H).	548

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
137	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,71 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,48 - 8,36 (m, 2H), 7,97 (dd, $J = 8,5, 2,3$ Hz, 1H), 7,89 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 7,83 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,70 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 5,17 - 5,08 (m, 1H), 4,88 (s, 1H), 3,08 (s, 3H), 2,25 - 2,15 (m, 7H), 2,02 - 1,73 (m, 6H), 1,59 - 1,48 (m, 2H), 1,45 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H).	549
138	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,67 (s, 1H), 8,96 (s, 1H), 8,68 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,48 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 8,43 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 7,99 (dd, $J = 8,6, 2,3$ Hz, 1H), 7,94 - 7,81 (m, 2H), 6,77 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 5,09 - 5,01 (m, 1H), 4,84 (s, 1H), 3,18 (s, 3H), 2,29 - 2,03 (m, 9H), 1,97 (td, $J = 13,7, 3,5$ Hz, 1H), 1,72 (dd, $J = 20,5, 14,9$ Hz, 2H), 1,46 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,40 - 1,26 (m, 2H).	549
141	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,64 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,55 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 8,40 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,97 (dd, $J = 8,5, 2,4$ Hz, 1H), 7,89 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 7,84 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 5,14 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,10 (s, 3H), 2,45 - 2,29 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,14 - 2,01 (m, 2H), 1,91 - 1,68 (m, 4H), 1,46 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).	551

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
142	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,71 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,67 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,56 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 8,43 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 7,99 (dd, $J = 8,5, 2,3$ Hz, 1H), 7,93 - 7,84 (m, 2H), 6,77 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 5,10 - 05,13 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,43 - 2,15 (m, 8H), 2,06 - 1,81 (m, 4H), 1,78 - 1,61 (m, 2H), 1,47 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).	551
144	2	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,89 (s, 1H), 9,48 (s, 1H), 8,67 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,49 - 8,30 (m, 2H), 7,96 - 7,77 (m, 3H), 7,09 (d, $J = 7,4$, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,19 (s, 1H), 5,01 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 3,16 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 2,75 (t, $J = 18,9$ Hz, 1H), 2,41 - 2,28 (m, 2H), 2,25 (d, $J = 1,9$ Hz, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,10 - 1,87 (m, 1H), 1,65 - 1,49 (m, 2H), 1,41 (dd, $J = 7,0, 2,0$ Hz, 3H).	502
146	1	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) δ 11,68 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,69 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 8,44 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,99 (dd, $J = 8,6, 2,4$ Hz, 1H), 7,93 - 7,87 (m, 2H), 6,90 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,22 (s, 1H), 5,08 (dt, $J = 14,5, 7,2$ Hz, 1H), 3,93 - 3,81 (m, 2H), 3,72 - 3,63 (m, 1H), 2,30 - 2,23 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,84 - 1,74 (m, 2H), 1,74 - 1,65 (m, 1H), 1,47 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H).	521

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
147	1	RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,53-8,51 (m, 2H), 8,43 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 8,04-8,02 (m, 1H), 7,95 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,18-5,15 (m, 1H), 4,19 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,60 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,38-2,29 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,18-2,13 (m, 1H), 1,81-1,78 (m, 1H), 1,59 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,59-1,51 (m, 1H), 1,51 (s, 3H).	535
148	1	RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ ppm 8,52 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,47 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,99-7,93 (m, 2H), 7,71 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,76 (s, 1H), 5,88 (s, 1H), 5,19-5,16 (m, 1H), 4,21 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,70 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,30-2,22 (m, 1H), 1,92-1,87 (m, 1H), 1,64 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,63-1,46 (m, 1H), 1,46 (s, 3H).	535
149	4	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) δ 11,74 (s, 1H), 9,13 (s, 1H), 8,67 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,47 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,42 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,98 (dd, J = 8,5, 2,3 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 5,04 (p, J = 7,6 Hz, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,95 (dd, J = 29,5, 11,6 Hz, 2H), 1,84 - 1,54 (m, 7H), 1,45 (d, J = 7,1 Hz, 3H).	534

Número do composto	Protocolo Sintético	RMN de ^1H	MS (M+1)
150	3	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 11,88 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 9,11 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 8,72 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 8,39 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,17 (s, 1H), 4,48 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,19 (s, 3H), 2,64 - 2,53 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,96 (d, J = 14,2 Hz, 2H), 1,86 - 1,67 (m, 6H).	521
151	3	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 11,88 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 8,66 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,46 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,41 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,98 (dd, J = 8,5, 2,3 Hz, 1H), 7,92 - 7,82 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,18 (s, 1H), 5,08 - 5,01 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,61 - 2,51 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,00 - 1,87 (m, 2H), 1,83 - 1,56 (m, 6H), 1,45 (d, J = 7,1 Hz, 3H).	534

EXEMPLO 10: MEDIÇÃO DE ATIVIDADE BIOQUÍMICA DE COMPOSTOS

[0280] A fim de avaliar a atividade de compostos químicos contra a quinase relevante de interesse, a plataforma de tecnologia de mudança de mobilidade eletroforética Caliper LifeSciences foi usada. O peptídeo de substrato identificado fluorescentemente foi incubado na presença de quinase e ATP de modo que uma proporção reflexiva do peptídeo tenha sido fosforilada. Ao final da reação, a mistura de peptídeos fosforilados (produto) e não fosforilados (substrato) foi passada através do sistema microfluídico do Caliper EZ Reader 2, sob uma diferença de potencial aplicada. A presença do grupo fosfato no peptídeo de produto fornece uma diferença em massa e carga entre aquelas do peptídeo de substrato, resultando numa separação dos agrupamentos de substrato e produto na amostra.

Conforme os agrupamentos passam por um LEDS dentro do instrumento, estes agrupamentos são detectados e separados como picos separados. A razão entre estes picos, portanto, reflete a atividade da matéria química nesta concentração, nesta cavidade, sob estas condições.

A. ENSAIO DO TIPO SELVAGEM DE RET EM KM

[0281] Em cada cavidade de uma placa de 384 cavidades, 7,5 nM a 10 nM de RET do tipo selvagem (ProQinase 1090-0000-1) foram incubados num total de 12,5 µl de tampão (HEPES 100 mM pH 7,5, 0,015% de BriJ 35, MgCl₂ 10 mM, DTT 1 mM) com CSKtide 1 µM (FITC-AHA-KKKKD DIYFFFG-NH₂) e ATP 25 µM a 25°C por 120 minutos na presença ou ausência de uma série de concentrações dosadas de composto (1% de concentração final de DMSO). A reação foi interrompida pela adição de 70 µl de tampão de interrupção (HEPES 100 mM pH 7,5, 0,015% de Brij 35, EDTA 35 mM e 0,2% de Reagente de Revestimento 3 (Caliper Lifesciences)). A placa foi, então, lida num Caliper EZReader 2 (configurações de protocolo: -11,72 kPa (-1,7 psi), tensão a montante -500, tensão a jusante -3000, após amostra sip 35s). Os dados foram normalizados a 0% e 100% de controles de inibição, e o IC₅₀ calculado usando um ajuste de 4 parâmetros no CORE LIMS.

B. ENSAIO DE MUTANTE GATEKEEPER RET V804L A KM

[0282] Em cada cavidade de uma placa de 384 cavidades, 7,5 nM a 10 nM de RET mutante (ProQinase 1096-0000-1) foram incubados num total de 12,5 µl de tampão (HEPES 100 mM pH 7,5, 0,015% de BriJ 35, MgCl₂ 10 mM, DTT 1 mM) com CSKtide 1 µM (FITC-AHA-KKKKDDIYFFFG-NH₂) e ATP 10 µM a 25°C por 120 minutos na presença ou ausência de uma série de concentrações dosadas de composto (1% de concentração final de DMSO). A reação foi interrompida pela adição de 70 µl de tampão de interrupção (HEPES 100 mM pH 7,5, 0,015% de Brij 35, EDTA 35 mM e 0,2% de Reagente de Revestimento 3 (Caliper Lifesciences)). A placa foi, então, lida num Caliper EZReader 2 (configurações de protocolo: -11,72 kPa (-1,7 psi), tensão a montante -500, tensão a jusante -3000, após amostra sip 35s). Os dados foram normalizados a 0% e 100% de controles de inibição, e o IC₅₀ calculado usando um ajuste de 4 parâmetros no CORE LIMS.

[0283] Na Tabela abaixo, as seguintes designações são usadas: < 10,00 nM = A; 10,01-100,0 nM = B; e >100 nM = C.

Número do composto	RET do tipo selvagem	V804L Mutante
100	C	C
101	A	A
102	C	C
103	A	A
104	C	C
105	B	B
106	A	B
107	A	A
109	A	A
110	B	B
111	B	A
112	A	A
113	A	A
114	A	A
116	C	B
119	C	C
120	A	A
121	A	A
122	B	B
124	C	B
128	A	A
129	C	C

Número do composto	RET do tipo selvagem	V804L Mutante
130	A	A
131	A	A
135	B	B
136	A	A
137	C	C
138	A	A
141	B	B
142	A	A
144	A	A
146	A	A
147	B	B
148	A	A
149	B	B
150	A	A
151	A	A

INCORPORAÇÃO A TÍTULO DE REFERÊNCIA

[0284] Todas as publicações e patentes mencionadas no presente documento estão incorporadas ao presente documento a título de referência em sua totalidade como se cada publicação ou patente individual estivesse específica e individualmente indicada como incorporada a título de referência.

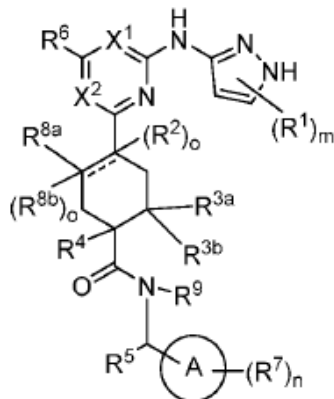
EQUIVALENTES

[0285] Aqueles versados na técnica reconhecerão, ou serão capazes de confirmar usando não mais que experimentação de rotina, muitos equivalentes às modalidades específicas da invenção descritas no presente documento. Tais

equivalentes são destinados a serem abrangidos pelas reivindicações a seguir.

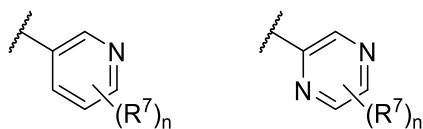
REIVINDICAÇÕES

1. Composto **caracterizado** pelo fato de que tem a fórmula (I):



(I), ou um sal farmaceuticamente aceitável do

mesmo, em que:



o anel A é ou ;

cada um dentre X¹ e X² é independentemente selecionado de N e C(R⁶);

cada R¹ é localizado na posição 5 e é C₁-C₄ alquila substituído por 0 a 3 ocorrências de R^a;

R⁷ é pirazol-1-il substituído por 0 a 3 ocorrências de R^a;

R² é selecionado de hidrogênio, halogênio, hidroxila, C₁-C₄ alcoxi ;

cada um de R^{3a}, R^{3b}, R^{8a} e R^{8b} é independentemente selecionado dentre hidrogênio e C₁-C₄ alquil substituído por 0 a 3 ocorrências de R^a;

R⁴ é selecionado de hidrogênio, C₁-C₄ alquil e C₁-C₄ alcoxi, em que cada porção de alquil de R⁴ é substituída por 0 a 3 ocorrências de R^a;

R⁵ é hidrogênio ou C₁-C₄ alquil substituído com 0 a 3 ocorrências de R^a;

R⁹ é hidrogênio

cada R⁶ é independentemente selecionado dentre hidrogênio, halogênio e C₁-C₄ alquil substituído por 0 a 3 ocorrências de R^a;

cada R^a é independentemente selecionado de C₁-C₆ alquil, halogênio, hidroxil, C₁-C₆ alcoxi e ciano;

== representa uma ligação simples ou dupla;

m é 1;

n é 1; e

cada o é 0 quando $\equiv$ for uma ligação dupla; e

cada o é 1 quando $\equiv$ for uma ligação simples.

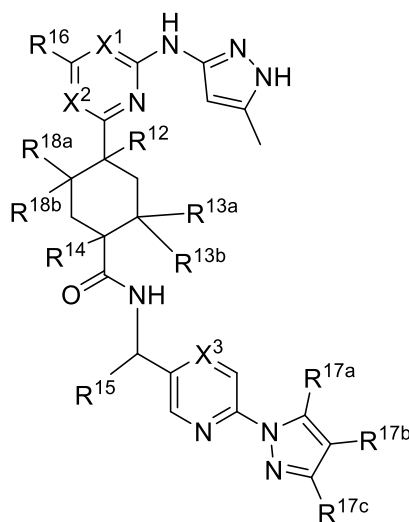
2. Composto, de acordo com a reivindicação 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, **caracterizado** pelo fato de que R^5 é hidrogênio ou $-CH_3$.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou 2 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, **caracterizado** por R^4 ser selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-OCH_3$ e $-OCH_2CH_3$.

4. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, **caracterizado** pelo fato de que R^6 é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, cloro e $-CH_3$.

5. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, ou um sal farmaceuticamente aceitável, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos um par de R^{3a} e R^{3b} ou R^{8a} e R^{8b} é simultaneamente hidrogênio.

6. Composto **caracterizado** pelo fato de que tem a fórmula (II):



(II),

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

X^1 é selecionado de N, CH e C(halogênio);

X^2 é selecionado de N e CH;

X^3 é selecionado de N e CH;

R^{12} é selecionado de hidrogênio, hidroxila, halogênio e O- C_1 - C_4 alquila;

cada um dentre R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} e R^{18b} é independentemente selecionado de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila;

R^{14} é selecionado de hidrogênio, C_1 - C_4 alquila e O- C_1 - C_4 alquila;

R^{15} é selecionado de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila;

R^{16} é selecionado de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila;

R^{17b} é selecionado de hidrogênio e halogênio; e

cada R^{17a} e R^{17c} é independentemente selecionado de hidrogênio e C_1 - C_4 alquila.

7. Composto, de acordo com a reivindicação 6 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, **caracterizado** pelo fato de que:

X^1 é selecionado de N, CH e C(Cl);

R^{12} é selecionado de hidrogênio, hidroxila, flúor e O- CH_3 ;

cada um dentre R^{13a} , R^{13b} , R^{18a} e R^{18b} é independentemente selecionado de hidrogênio, metila e etila;

em que pelo menos um par de R^{13a} e R^{13b} ou R^{18a} e R^{18b} é simultaneamente hidrogênio.;

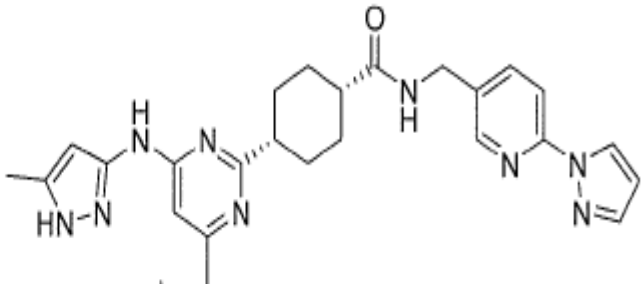
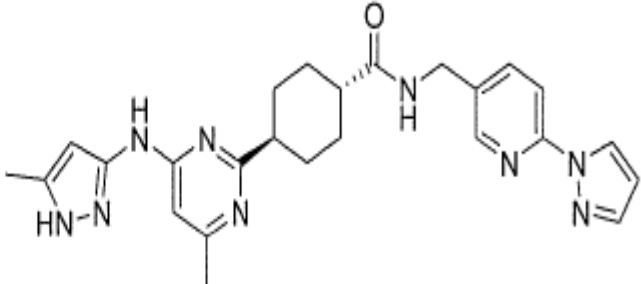
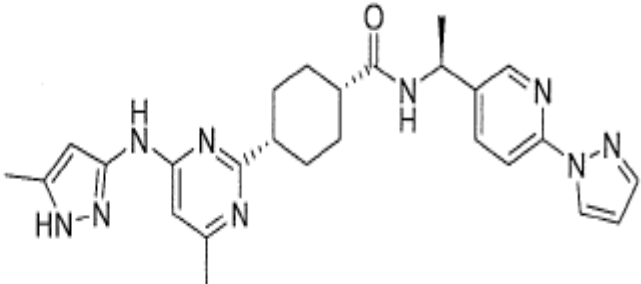
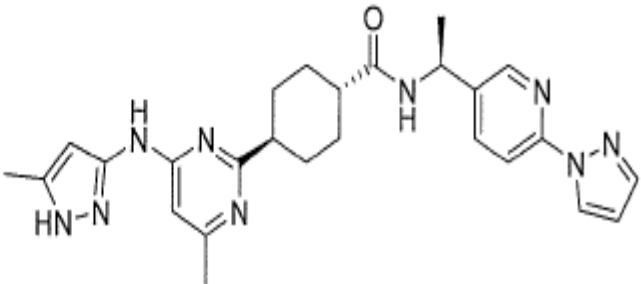
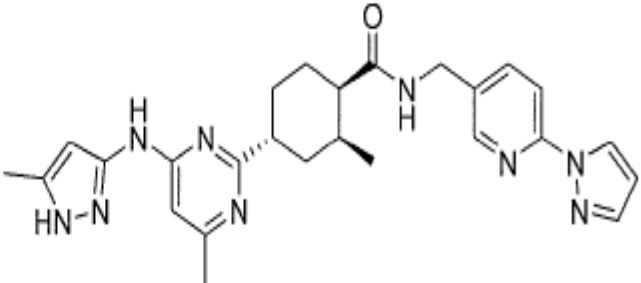
R^{14} é selecionado de hidrogênio, CH_3 , CH_2CH_3 , OCH_3 e OCH_2CH_3 ;

R^{15} é selecionado de hidrogênio e CH_3 ;

R^{16} é selecionado de hidrogênio e CH_3 ;

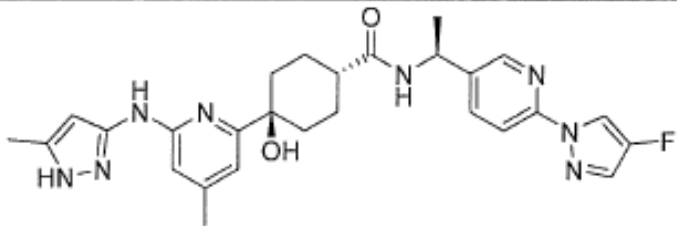
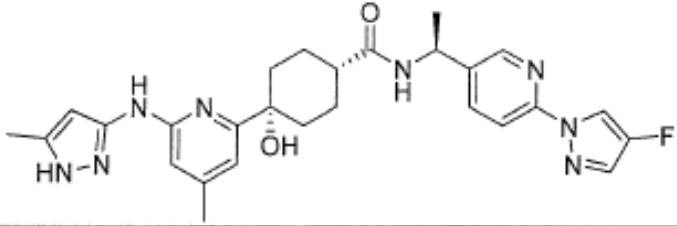
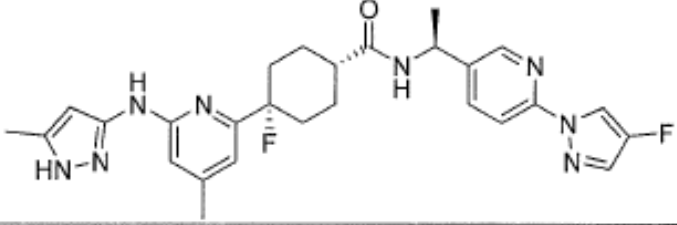
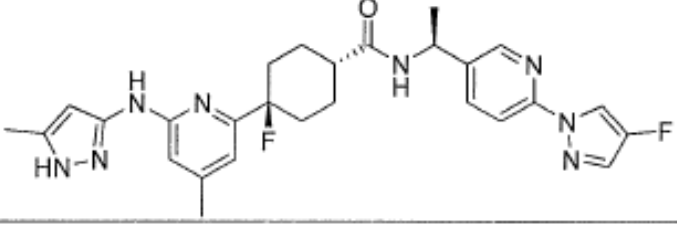
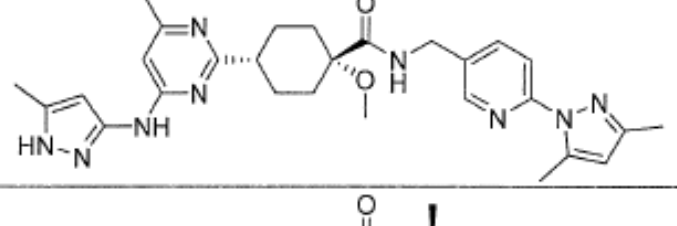
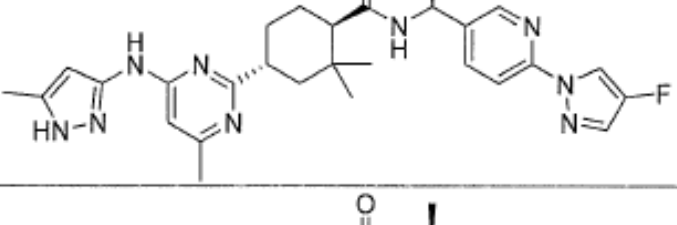
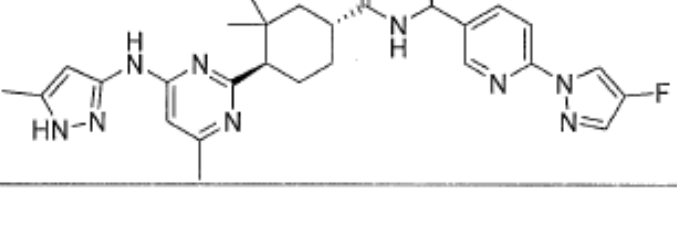
R^{17b} é selecionado de hidrogênio, cloro e flúor.

8. Composto **caracterizado** por ser selecionado a partir de:

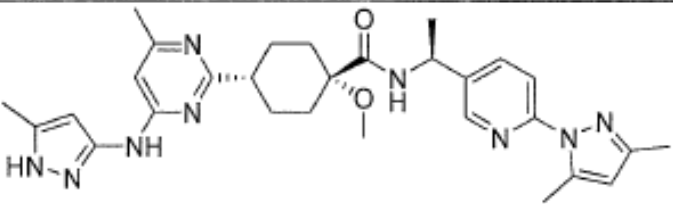
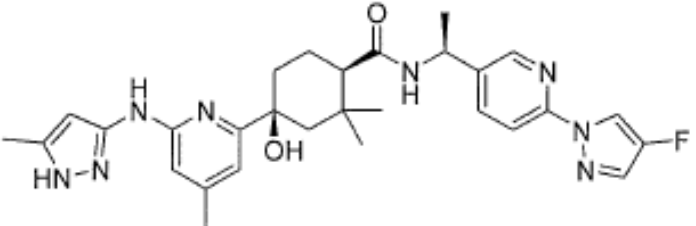
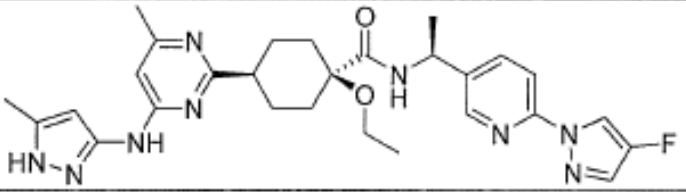
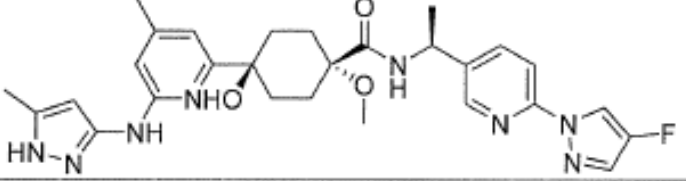
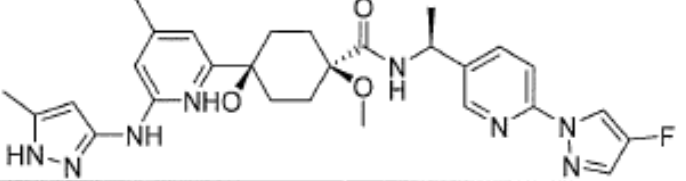
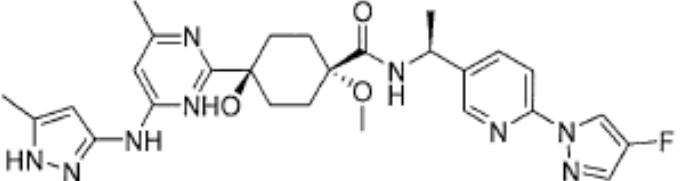
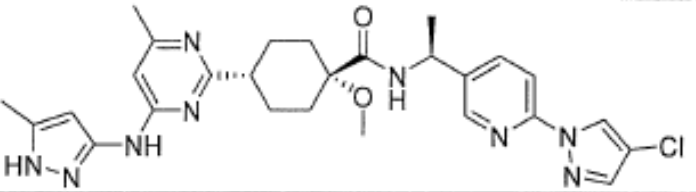
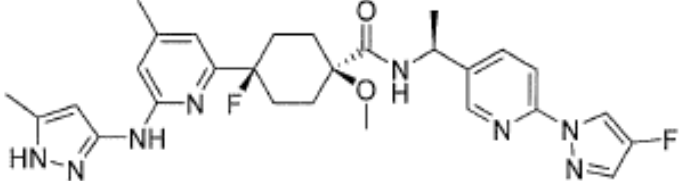
COMPOSTO	ESTRUTURA
100	
101	
102	
103	
104	

COMPOSTO	ESTRUTURA
105	
106	
107	
108	
109	
110	
111	

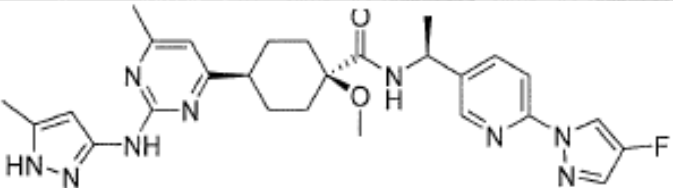
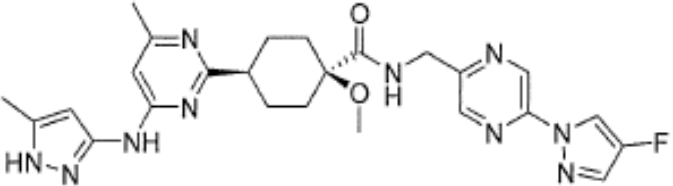
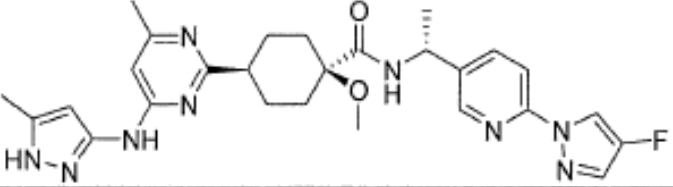
COMPOSTO	ESTRUTURA
112	
113	
114	
115	
116	
117	
118	

COMPOSTO	ESTRUTURA
119	
120	
121	
122	
123	
124	
125	

COMPOSTO	ESTRUTURA
126	
127	
128	
129	
130	
131	
132	
133	

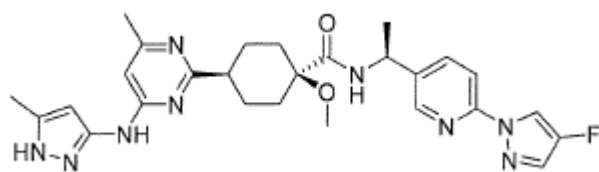
COMPOSTO	ESTRUTURA
134	
135	
136	
137	
138	
139	
140	
141	

COMPOSTO	ESTRUTURA
142	
143	
144	
145	
146	
147	
148	

COMPOSTO	ESTRUTURA
149	
150	
151	

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

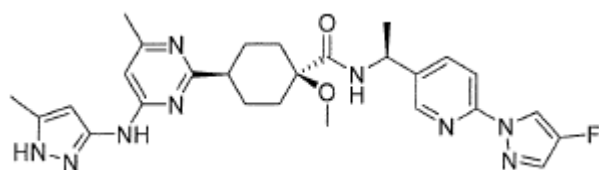
9. Composto **caracterizado** por possuir a seguinte estrutura:



, ou um sal farmaceuticamente

aceitável do mesmo.

10. Composto **caracterizado** por possuir a seguinte estrutura:



11. Composição farmacêutica **caracterizada** pelo fato de que compreende um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10; e um carreador farmaceuticamente aceitável.

12. Uso de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica, conforme definida na reivindicação 11, **caracterizado** por ser para produzir um medicamento para tratar um indivíduo que sofre de uma

condição mediada por atividade de RET anormal, em que a condição é câncer de pulmão de células não pequenas.

13. Uso de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica, conforme definida na reivindicação 11, **caracterizado** por ser para produzir um medicamento para tratar um indivíduo que sofre de uma condição mediada por atividade de RET anormal, em que a condição é câncer de tireóide papilar.

14. Uso de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica, conforme definida na reivindicação 11, **caracterizado** por ser para produzir um medicamento para tratar um indivíduo que sofre de uma condição mediada por atividade de RET anormal, em que a condição é câncer medular da tireoide.

15. Uso de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica, conforme definida na reivindicação 11, **caracterizado** por ser para produzir um medicamento para tratar um indivíduo que sofre de uma condição mediada por atividade de RET anormal, em que a condição é câncer colorretal.

16. Uso de um composto, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou de uma composição farmacêutica, conforme definida na reivindicação 11, **caracterizado** por ser para produzir um medicamento para tratar um indivíduo que sofre de uma condição mediada por atividade de RET anormal, em que a condição é neoplasia endócrina múltipla.