

(11) Número de Publicação: **PT 2408758 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 38/55 (2014.01) **C07K 5/08** (2014.01)
C07D 417/12 (2014.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

| | | |
|--|---|------------------------|
| (22) Data de pedido: 2010.03.22 | (73) Titular(es): ONYX THERAPEUTICS, INC. 249 EAST GRAND AVENUE SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080 | US |
| (30) Prioridade(s): 2009.03.20 US 162196 P 2009.05.22 US 180561 P | | |
| (43) Data de publicação do pedido: 2012.01.25 | (72) Inventor(es): PASIT PHIASIVONGSA LOUIS C. SEHL | US US |
| (45) Data e BPI da concessão: 2014.10.22 212/2014 | (74) Mandatário: NUNO MIGUEL OLIVEIRA LOURENÇO RUA CASTILHO, Nº 50 - 9º 1269-163 LISBOA | PT |

(54) Epígrafe: **INIBIDORES CRISTALINOS DE TRIPEPTÍDEO-EPOXICETONA-PROTEASE**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO REFERE-SE A COMPOSTOS CRISTALINOS DE TRIPEPTÍDEO-CETOEPÓXIDOS, AOS PROCESSOS PARA A SUA PREPARAÇÃO, E A COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS RELACIONADAS.

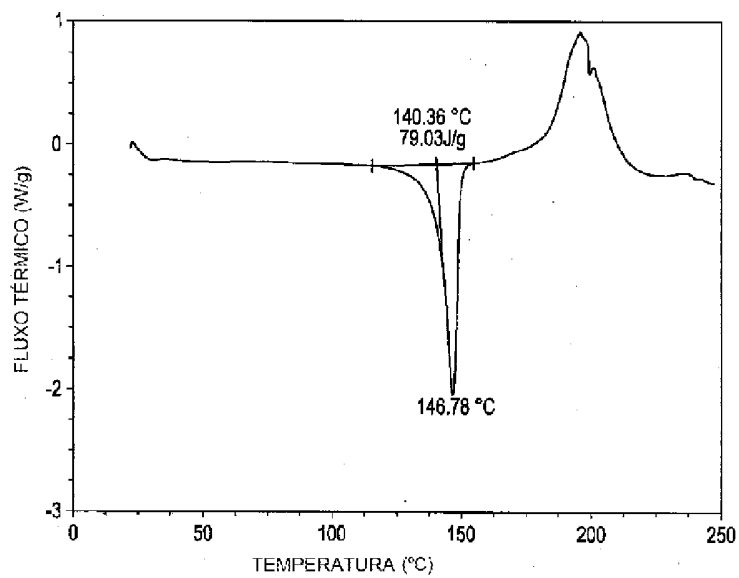
RESUMO**"INIBIDORES CRISTALINOS DE TRIPEPTÍDEO-EPOXICETONA-
PROTEASE"**

FIGURA 1

A invenção refere-se a compostos cristalinos de tripeptídeo-cetoepóxidos, aos processos para a sua preparação, e a composições farmacêuticas relacionadas.

DESCRIÇÃO

"INIBIDORES CRISTALINOS DE TRIPEPTÍDEO-EPOXICETONA- PROTEASE"

Antecedentes da invenção

Em eucariotes, a degradação da proteína é mediada predominantemente através da via da ubiquitina, em que as proteínas que são alvo para a destruição estão ligadas ao polipeptídeo ubiquitina, de 76 aminoácidos. Uma vez atingidas, as proteínas ligadas à ubiquitina servem então como substratos para o proteasoma 26S, uma protease multicatalítica que fragmenta as proteínas em pequenos peptídeos, através da ação das suas três atividades proteolíticas principais. Embora tenham uma função geral na modificação da proteína intracelular, a degradação mediada pelo proteasoma também desempenha um papel chave em muitos processos, tais como a apresentação do antígeno de classe I do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), a apoptose, a regulação do crescimento celular, a ativação NF- κ B, o processamento de antígenos, e a transdução de sinais pró-inflamatórios.

O proteasoma 20S é um complexo multicatalítico de protease, de forma cilíndrica, de 700 kDa, constituído por 28 subunidades organizadas em quatro anéis. Nas leveduras e outros eucariotes, 7 subunidades α diferentes formam os anéis exteriores, e 7 subunidades β diferentes compreendem os anéis interiores. As subunidades α servem de pontos de ligação para os complexos reguladores 19S (PA700) e 11S (PA28), assim como como barreira física para a câmara proteolítica interior, formada pelos dois anéis de

subunidades β . Deste modo, crê-se que, *in vivo*, o proteasoma existe como uma partícula 26S (o "proteasoma 26S"). As experiências *in vivo* mostraram que a inibição da forma 20S do proteasoma pode ser rapidamente correlacionada com a inibição do proteasoma 26S. A clivagem de pró-sequências amino-terminais de subunidades β durante a formação da partícula expõe resíduos amino-terminais de treonina, que servem como os nucleófilos catalíticos. As subunidades responsáveis pela atividade catalítica nos proteasomas possuem assim um resíduo nucleofílico amino-terminal, e estas subunidades pertencem à família das hidrolases nucleófilas N-terminais (Ntn) (em que o resíduo nucleofílico N-terminal é, por exemplo, Cys, Ser, Thr, e outras metades nucleofílicas). Esta família inclui, por exemplo, penicilina G acilase (PGA), penicilina V acilase (PVA), glutamina PRPP amidotransferase (GAT), e glicosil-asparaginase bacteriana. Para além das subunidades β expressas de forma ubíqua, os vertebrados superiores também possuem três subunidades β que se podem induzir por interferona γ (LMP7, LMP2 e MECL1), que substituem as suas contrapartes normais β_5 , β_1 e β_7 , respetivamente, alterando assim as atividades catalíticas do proteasoma. Através da utilização de diferentes substratos peptídicos, foram definidas as três principais atividades proteolíticas para o proteasoma eucariote 20S: atividade de tipo quimiotripsina (CT-L), que produz clivagem depois de grandes resíduos hidrófobos; atividade de tipo tripsina (T-L), que produz clivagem depois de resíduos básicos; e atividade hidrolisante de peptídeo peptidilglutamilo (PGPH), que produz clivagem depois de resíduos ácidos. Foram também atribuídas ao proteasoma duas atividades adicionais menos caracterizadas: atividade BrAAP, que produz clivagem depois de aminoácidos de cadeia ramificada; e

atividade SNAAP, que produz clivagem depois de pequenos aminoácidos neutros. As principais atividades proteolíticas do proteasoma parecem ter a contribuição de vários sítios catalíticos diferentes, uma vez que estas atividades são alteradas em vários graus por inibidores, mutações pontuais em subunidades β e pela permuta de subunidades β que induzem a interferona γ .

O documento WO 2008/140782 revela inibidores de proteasomas.

O artigo por Caira et al, Topics in Current Chemistry, Vol. 198, páginas 163-208, 1998, discute o polimorfismo cristalino em compostos orgânicos.

O Manual de Química Orgânica Prática, de Vogel, Vol. 5, páginas 135-141, divulga técnicas de cristalização.

São necessárias composições e processos aperfeiçoados para a preparação e a formulação de inibidores de proteasoma.

Sumário da Invenção

Um aspeto da invenção refere-se a compostos cristalinos, tal como são definidos nas reivindicações.

Breve descrição das figuras

A Figura 1 mostra um termograma DSC (calorimetria de varrimento diferencial) do composto cristalino **1**.

A Figura 2 mostra um diagrama XRPD (difração de raios X do pó) do composto cristalino **1**.

A Figura 3 mostra um termograma TG do composto cristalino **1**.

A Figura 4 mostra termogramas modulados do composto cristalino **1** amorfo, de fluxo térmico com reversão (em baixo) e de fluxo térmico sem reversão (em cima).

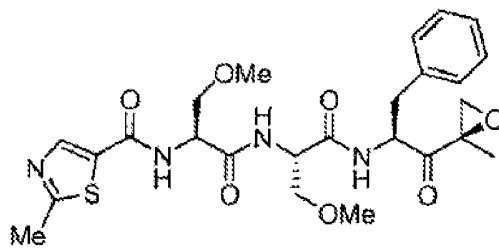
A Figura 5 mostra uma comparação de termogramas DSC do composto cristalino **1**, preparado de acordo com o exemplo 2 (ao centro), com o exemplo 3 (em cima) e com o exemplo 4 (em baixo).

A Figura 6 mostra um diagrama XRPD do composto **1** amorfo, preparado de acordo com o exemplo 1 (em baixo), em comparação com diagramas XRPD do composto **1** cristalino, preparado de acordo com o exemplo 2 (em cima), com o exemplo 3 (2° a contar de baixo) e com o exemplo 4 (2° a contar de cima).

A Figura 7 mostra um termograma TG do composto **1** amorfo.

Descrição Pormenorizada da Invenção

Em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um composto cristalino de fórmula (II)



(II)

Os referidos compostos podem ser preparados por um processo para a preparação de um composto cristalino de fórmula (II), compreendendo um ou vários dos passos: (i) a preparação do composto amorfo, por exemplo, de acordo com o pedido de patente U.S. nº 11/595,804; (ii) a dissolução do composto amorfo num solvente orgânico; (iii) levar-se a solução à sobressaturação; (iv) o isolamento dos cristais, por exemplo, por filtração dos cristais, por decantação do líquido dos cristais, ou por qualquer outra técnica de separação apropriada; e (v) a lavagem dos cristais. Em algumas variantes de realização, a preparação compreende ainda a indução da cristalização. Em algumas variantes de realização, a preparação compreende ainda a secagem, de preferência a pressão reduzida, tal como sob vácuo.

Em algumas variantes de realização, o composto amorfo pode ser dissolvido num solvente escolhido entre acetonitrilo, acetato de etilo, heptanos, hexanos, acetato de isopropilo, metanol, metiletilcetona, tetrahydrofurano, tolueno e água, ou qualquer combinação dos mesmos. Em algumas variantes de realização, o composto amorfo de fórmula (II) pode ser dissolvido num solvente orgânico escolhido entre acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahydrofurano e tolueno, ou qualquer combinação dos mesmos. Em algumas variantes de realização preferidas, o solvente orgânico é tolueno, tetrahydrofurano ou acetonitrilo, de preferência acetonitrilo ou tolueno.

Em algumas variantes de realização, levar a solução à sobressaturação compreende a adição lenta de um antissolvente, tal como água, heptanos, hexanos ou outros líquidos polares ou não polares miscíveis com o solvente orgânico, permitir que a solução arrefeça (com ou sem

inoculação da solução), reduzir o volume da solução, ou qualquer combinação dos mesmos. Em algumas variantes de realização, levar a solução à sobressaturação compreende a adição de um antissolvente, o arrefecimento da solução até à temperatura ambiente ou inferior, e a redução do volume da solução, por exemplo, por evaporação do solvente da solução. Em algumas variantes de realização, permitir que a solução arrefeça pode ser passivo (por exemplo, deixar a solução em repouso à temperatura ambiente) ou ativo (por exemplo, arrefecendo a solução num banho de gelo ou em frigorífico).

Em algumas variantes de realização, o processo compreende ainda a indução da precipitação ou cristalização. Em algumas variantes de realização, a indução da precipitação ou cristalização compreende um nucleação secundária, em que a nucleação ocorre na presença de cristais semente ou por interações com o ambiente (paredes cristalizadoras, hélices de agitação, ação de ultrassons, etc.).

Em algumas variantes de realização, a lavagem dos cristais compreende a lavagem com um líquido escolhido entre um antissolvente, acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano, tolueno, água, ou uma combinação dos mesmos. Em algumas variantes de realização, os cristais são lavados com uma combinação do antissolvente e do solvente orgânico. Em algumas variantes de realização, o antissolvente é a água, enquanto noutras variantes de realização é um solvente de alcanos, tal como hexano ou pentano, ou um solvente de hidrocarboneto aromático, tal como benzeno, tolueno ou xileno.

Em determinadas variantes de realização, a lavagem dos cristais compreende a lavagem do composto cristalino de fórmula (II) com uma mistura de tetrahidrofurano e um solvente de alcano, tal como hexanos ou heptanos, ou com uma mistura de acetonitrilo e água. Em algumas variantes de realização, a lavagem dos cristais compreende a lavagem do composto cristalino de fórmula (II) com tolueno. Nestas variantes de realização preferidas, o tolueno é arrefecido antes da lavagem.

Em algumas variantes de realização, um composto cristalino de fórmula (II) é essencialmente puro. Em algumas variantes de realização, o ponto de fusão do composto cristalino de fórmula (II) situa-se no intervalo entre cerca de 135 até cerca de 160 °C, entre cerca de 140 a cerca de 155 °C, entre cerca de 145 °C a cerca de 150 °C, ou ainda de cerca de 147 até cerca de 149 °C, por exemplo, cerca de 149 °C.

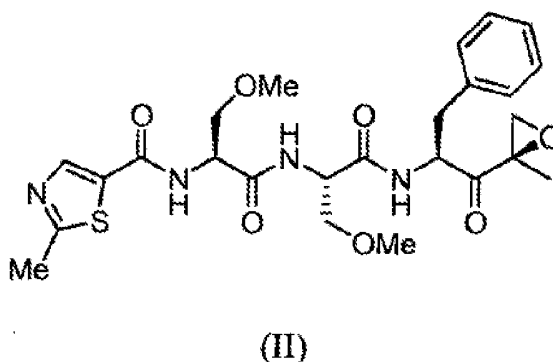
Em determinadas variantes de realização, o DSC de um composto cristalino de fórmula (II) tem um máximo nitidamente endotérmico a cerca de 147 °C, por exemplo, resultante da fusão e da decomposição da forma cristalina, como se mostra na Figura 1.

Em algumas variantes de realização, o diagrama de difração de raios X do pó de um composto cristalino de fórmula (II) é (θ - $2\theta^\circ$): 8,94; 9,39; 9,76; 10,60; 11,09; 12,74; 15,27; 17,74; 18,96; 20,58; 20,88; 21,58; 21,78; 22,25; 22,80; 24,25; 24,66; 26,04; 26,44; 28,32; 28,96; 29,65; 30,22; 30,46; 30,78; 32,17; 33,65; 34,49; 35,08; 35,33; 37,85; 38,48, como se mostra na Figura 2.

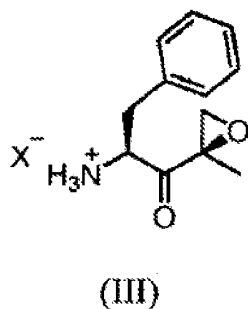
Em determinadas variantes de realização, o termograma TG de um composto cristalino de fórmula (II) exibe entre 0,0 a 0,3% de perda de peso no intervalo de temperaturas de 25 a 125 °C, como se mostra na Figura 3.

Em algumas variantes de realização, um composto cristalino de fórmula (II) não é solvatado (por exemplo, a rede cristalina não compreende moléculas de um solvente). Em algumas variantes de realização de alternativa, um composto cristalino de fórmula (II) é solvatado.

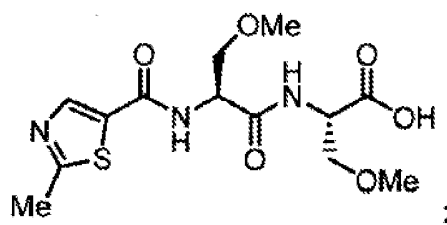
Os compostos podem ser preparados por um processo para a preparação de um composto cristalino de fórmula (II),



compreendendo (i) fazer-se reagir um composto de fórmula (III)



em que X representa qualquer contra-íão apropriado, com um composto de fórmula (IV), num solvente orgânico



(IV)

(ii) a preparação de uma solução de um composto de fórmula (II) num solvente orgânico; (iii) levar a solução à sobressaturação, para permitir a formação de cristais; e (iv) o isolamento dos cristais, para fornecer um composto cristalino de fórmula (II), por exemplo, por filtração dos cristais, por decantação, ou por qualquer outra técnica de separação apropriada.

Em algumas variantes de realização, um composto de fórmula (II) não é purificado por cromatografia antes da preparação da solução no solvente orgânico.

Em certas variantes de realização, a preparação compreende adicionalmente a indução da cristalização. Em determinadas variantes de realização, a preparação compreende ainda a lavagem dos cristais, por exemplo, com um líquido solvente ou não solvente. Em algumas variantes de realização, a preparação compreende adicionalmente a secagem, de preferência a pressão reduzida, tal como sob vácuo.

Em algumas variantes de realização, X é um contra-íão escolhido entre bromidrato, cloridrato, sulfato, fosfato, nitrato, acetato, trifluoracetato, citrato, metano-

sulfonato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, succinato, tosilato, malonato, maleato, fumarato, succinato, tartarato, mesilato, 2-hidroxietano-sulfonato, e semelhantes. (Ver, por exemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19). Em algumas formas de realização, X é escolhido entre trifluoracetato, metanossulfonato, toluenossulfonato, acetato, cloreto e brometo, de preferência trifluoracetato.

Em algumas variantes de realização, o solvente orgânico é escolhido entre acetonitrilo, acetato de etilo, heptanos, hexanos, acetato de isopropilo, metanol, metiletilcetona, tetrahidrofurano, tolueno e água, ou qualquer combinação dos mesmos. Em determinadas variantes de realização, o composto amorfo de fórmula (II) pode ser dissolvido num solvente orgânico, escolhido entre acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano e tolueno, ou qualquer combinação dos mesmos. Em certas variantes preferidas de realização, o solvente orgânico é o tolueno, tetrahidrofurano ou acetonitrilo, de preferência acetonitrilo ou tolueno.

Em algumas variantes de realização, a preparação compreende ainda a lavagem dos cristais de fórmula (II). Em algumas variantes de realização, a lavagem dos cristais compreende a lavagem com um líquido escolhido entre o antissolvente, acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano, tolueno, água, ou uma combinação dos mesmos. Em algumas variantes de realização, os cristais são lavados com uma combinação de antissolvente e do solvente orgânico. Em certas variantes de realização, o antissolvente é a água, enquanto noutras variantes é um solvente de alcano, tal

como hexano ou pentano, ou um solvente de hidrocarboneto aromático, tal como benzeno, tolueno ou xileno.

Em algumas variantes de realização, a preparação compreende ainda a secagem dos cristais de ambas as fórmulas (II), de preferência a pressão reduzida, tal como sob vácuo.

Em certas variantes de realização, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um composto cristalino de fórmula (II) e um veículo farmacêuticamente aceitável. Em algumas variantes de realização, a composição é escolhida entre comprimidos, cápsulas e injeções.

Utilização de tripeptídeos-epoxicetonas cristalinos

Habitualmente, a degradação da proteína é crucial para a manutenção das funções normais da célula, e o proteasoma é parte integrante do processo de degradação da proteína. O proteasoma controla os níveis de proteínas que são importantes para a progressão do ciclo celular e a apoptose em células normais ou malignas; por exemplo, ciclinas, caspases, BCL2 e nF-kB (Kumatori et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:7071-7075; Almond et al., Leukemia (2002) 16: 433-443). Assim, não é surpreendente que a atividade inibidora do proteasoma se possa traduzir em terapias para tratar vários estados de doenças, tais como doenças malignas, doenças não malignas e doenças autoimunes, consoante as células envolvidas.

Modelos, tanto *in vitro* como *in vivo*, mostraram que as células malignas, em geral, são suscetíveis à inibição por proteasoma. Na realidade, a inibição por proteasoma foi já validada como uma estratégia terapêutica para o tratamento

do mieloma múltiplo. Isto poderia ser devido, em parte, à dependência das células malignas, altamente prolíferas, em relação ao sistema do proteasoma, para remover proteínas rapidamente (Rolfe et al., J. Mol. Med. (1997) 75:5-17; Adams, Nature (2004) 4: 349-360). Por conseguinte, algumas variantes de realização da invenção referem-se a um método para o tratamento do cancro, compreendendo a administração, a um paciente que necessite do referido tratamento, de uma quantidade eficaz de um composto inibidor do proteasoma, aqui apresentado. Tal como é aqui usado, o termo "cancro" inclui, sem estar limitado a estes, tumores transportados pelo sangue e tumores sólidos. Cancro refere-se a uma doença do sangue, dos ossos, órgãos, tecido cutâneo e do sistema vascular, incluindo, sem estar limitado a estes, os cancros da bexiga, sangue, ossos, cérebro, mama, colo do útero, cólon, endométrio, esófago, olhos, cabeça, rins, fígado, pulmões, nódulos linfáticos, boca, pescoço, ovários, pâncreas, próstata, recto, renal, da pele, estômago, testículos, garganta e útero. Os cancros específicos incluem, sem estarem limitados a estes, a leucemia (leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia das células capilares), neoplasmas de células B maduras (pequeno linfoma linfocítico, leucemia prolinfocítica das células B, linfoma linfoplasmacítico (tal como macroglobulinemia de Waldenström), linfoma da zona marginal do baço, mieloma de células do plasma, plasmocitoma, doenças de deposição de imunoglobulina monoclonal, doenças de cadeia pesada, linfoma de célula B marginal extranodal (linfoma MALT), linfoma de célula B marginal nodal (NMZL), linfoma folicular, linfoma da célula do manto, linfoma da célula B difusa, linfoma da célula B grande mediastinal (tímica), linfoma da célula B grande

intravascular, linfoma de efusão primária e linfoma/leucemia de Burkitt), neoplasmas da célula T madura e da célula assassina natural (NK) (leucemia prolinfocítica da célula T, leucemia linfocítica granular da célula T grande, leucemia agressiva da célula NK, leucemia/linfoma da célula T de adulto, linfoma extranodal da célula NK/T, linfoma de célula T tipo enteropatia, linfoma da célula T hepatosplénica, linfoma da célula NK blástica, micose fúngica (síndrome de Sezary), linfoma primário de grandes células anaplásticas cutâneas, papulose linfomatóide, linfoma da célula T angioimunoblástica, linfoma de célula T periférica não específica e linfoma de grandes células anaplásticas), linfoma de Hodgkin (esclerose nodular, celuarite mista, rico em linfócitos, exaurido ou não exaurido em linfócitos, linfócito nodular predominante), mieloma (mieloma múltiplo, mieloma indolente, mieloma latente), doença mieloproliferativa crónica, doença mielodisplástica/mieloproliferativa, síndromas mielodisplásticos, distúrbios linfoproliferativos associados a imunodeficiência, neoplasmas de células histiocíticas e dendríticas, mastocitose, condrossarcoma, sarcoma de Ewing, fibrossarcoma, tumor maligno de células gigantes, doença do mieloma ósseo, osteossarcoma, cancro da mama (dependente de hormonas, independente de hormonas), cancros ginecológicos (do colo do útero, endométrico, das trompas de Falópio, doença trofoblástica gestacional, do ovário, peritoneal, uterina, vaginal e vulvar), carcinoma da célula basal (BCC), carcinoma das células escamosas (SCC), melanoma maligno, dermatofibrossarcoma protuberante, carcinoma da célula de Merkel, sarcoma de Kaposi, astrocitoma, astrocitoma pilocítico, tumor neuroepitelial desembrionário, oligodendroglioma, ependimoma, glioblastoma multiforme, gliomas mistos, oligoastrocitomas,

meduloblastoma, retinoblastoma, neuroblastoma, germinoma, teratoma, mesotelioma maligno (mesotelioma peritoneal, mesotelioma pericardial, mesotelioma pleural), tumor gastro-entero-pancreático ou gastroenteropancreático neuroendócrino (GEP-NET), carcinoide, tumor endócrino pancreático (PET), adenocarcinoma colorrectal, carcinoma colorrectal, tumor neuroendócrino agressivo, leiomiossarcoma, adenossarcoma mucinoso, adenocarcinoma da célula Signet Ring, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, hepatoblastoma, hemangioma, adenoma hepático, hiperplasia nodular focal (hiperplasia regenerativa nodular, hamartoma), carcinoma pulmonar de células não pequenas (NSCLC) (carcinoma pulmonar de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma pulmonar de células grandes), carcinoma pulmonar de células pequenas, carcinoma da tiroide, cancro da próstata (refratário a hormonas, independente de andrógenos, dependente de andrógenos, insensível a hormonas), carcinoma de célula renal, e sarcomas de tecidos moles (fibrossarcoma, histiocitoma fibroso maligno, dermatofibrossarcoma, lipossarcoma, rabdomiossarcoma, leiomiossarcoma, hemangiossarcoma, sarcoma sinovial, tumor/neurofibrossarcoma maligno da bainha de nervos periféricos, osteossarcoma extra-esqueleto).

Muitos tumores dos tecidos hematopoiético e linfoide são caracterizados por um aumento da proliferação de células, ou de um tipo particular de célula. As doenças mieloproliferativas crónicas (CMPDs) são distúrbios das células do tronco hematopoiético clonal, caracterizados pela proliferação, na medula óssea, de uma ou de mais das linhagens mieloides, do que resulta um número acrescido de granulócitos, glóbulos sanguíneos vermelhos e/ou plaquetas

no sangue periférico. Deste modo, o uso de inibidores de proteasomas para o tratamento destas doenças é atrativo e está a ser examinado (Cilloni et al., *Haematologica* (2007) 92: 1124-11229). O CMPD pode incluir leucemia mielógena crónica, leucemia neutrofílica crónica, leucemia eosinofílica crónica, policitemia vera, mielofibrose idiopática crónica, trombocitemia essencial e doença mieloproliferativa crónica não classificável. Um aspeto da invenção é o método de tratamento de CMPD, que compreende a administração a um paciente, que necessite do referido tratamento, de uma quantidade eficaz de um composto inibidor do proteasoma aqui apresentado.

As doenças mielodisplásticas/mieloproliferativas, tais como a leucemia mielomonocítica crónica, a leucemia mieloide crónica atípica, a leucemia mielomonocítica juvenil e a doença mielodisplástica/mieloproliferativa crónica não classificável, são caracterizadas por hiper celularidade da medula óssea, devido à proliferação em uma ou mais das linhagens mieloides. A inibição do proteasoma com um composto ou composição como é aqui descrita, pode servir para tratar estas doenças mielodisplásticas-/mieloproliferativas, fornecendo a um paciente que necessite de um tal tratamento uma quantidade eficaz do composto ou composição.

Os síndromas mielodisplásticos (MDS) referem-se a um grupo de distúrbios celulares do tronco hematopoiético caracterizados por displasia e hematopoiese ineficaz em uma ou mais das principais linhas de células mieloides. Ter como alvos NF- κ B com um inibidor de proteasoma nestas virulências hematológicas induz a apoptose, matando assim a célula maligna (Braun et al. *Cell Death and Differentiation*

(2006) 113:748-758). Uma outra variante da invenção é um método para o tratamento de MDS, compreendendo a administração a um paciente, que necessite de um tal tratamento, de uma quantidade eficaz de um composto aqui revelado. O MDS inclui anemia refractária, anemia refractária com sideroblastos em anel, citopenia refractária com displasia multilinhagem, anemia refractária com excesso de blastos, síndrome mielodisplástico não classificável e síndrome mielodisplástico associado a uma anomalia do cromossoma del(5q) isolado.

A mastocitose é uma proliferação de mastócitos e a sua subsequente acumulação num ou mais sistemas de órgãos. A mastocitose inclui, sem estar limitada a estas, a mastocitose cutânea, a mastocitose sistémica indolente (ISM), a mastocitose sistémica tendo associada a doença da linhagem não-mastócito hematológica clonal (SM-AHNMD), a mastocitose sistémica agressiva (ASM), a leucemia do mastócito (MCL), sarcoma do mastócito (MCS) e mastocitoma extracutâneo. Uma outra variante de realização da invenção é um método para o tratamento da mastocitose, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um composto ou composição, aqui revelada, a um paciente diagnosticado com mastocitose.

O proteosoma regula os NF- κ B, que, por sua vez, regulam os genes envolvidos na resposta imune e inflamatória. Por exemplo, o NF- κ B é necessário para a expressão do gene κ da cadeia leve de imunoglobulina, do gene da cadeia α do recetor IL-2, do principal gene do complexo de histocompatibilidade de classe I, e de um certo número de genes de citocina que codificam, por exemplo, IL-2, IL-6, o fator estimulante da colónia de granulócitos, e de IFN- β

(Palombella et al., *Cell* (1994) 78: 773-785). Deste modo, em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a métodos de afetar o nível de expressão de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF α , IFN- β ou qualquer das outras proteínas mencionadas anteriormente, compreendendo cada método a administração, a um paciente, de uma quantidade eficaz de um composto ou composição inibidores de proteosoma, aqui apresentados. Em algumas variantes de realização, a invenção inclui um método de tratamento de uma doença autoimune num mamífero, compreendendo a administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto ou composição aqui descritos. Uma doença autoimune, neste caso, é uma doença ou distúrbio que é proveniente dos próprios tecidos do indivíduo e é dirigida contra os mesmos. Os exemplos de doenças ou distúrbios autoimunes incluem, sem, no entanto, estarem limitados a estes, respostas inflamatórias, tais como doenças inflamatórias da pele, incluindo a psoríase e a dermatite (por exemplo, dermatite atópica); escleroderma sistémico e esclerose; respostas associadas a doenças inflamatórias do intestino (tais como, doença de Crohn e colite ulcerativa); síndrome de angústia respiratória (incluindo o síndrome de angústia respiratória do adulto; ARDS); dermatite; meningite; encefalite; uveíte; colite; glomerulonefrite; estados alérgicos, tais como eczema e asma, e outros estados que envolvam infiltração de células T e respostas inflamatórias crónicas; aterosclerose; deficiência de adesão de leucócitos; artrite reumatoide; lupus eritematoso sistémico (SLE); diabetes melitus (por exemplo, diabetes melitus tipo I ou diabetes melitus dependente de insulina); esclerose múltipla; síndrome de Reynaud; tiroidite autoimune; encefalomielite alérgica; síndrome de Sjogren; ataque de diabetes juvenil; e respostas imunes associadas a hipersensibilidade aguda e

retardada mediada por citocinas e linfócitos T, encontrados tipicamente na tuberculose, sarcoidose, poliomiosite, granulomatose e vasculite; anemia perniciosa (doença de Addison); doenças que envolvem diapedese de leucócitos; distúrbios inflamatórios do sistema nervoso central (CNS); síndrome de lesão de múltiplos órgãos; anemia hemolítica (incluindo, mas não limitada a estas, crioglobulinemia ou anemia positiva de Coombs); miastenia grave; doenças mediadas pelo complexo antígeno-anticorpo; doença da membrana basal antiglomerular; síndrome antifosfolípido; neurite alérgica; doença de Grave; síndrome miastênico de Lambert-Eaton; penfigoide bolhoso; pênfigo; poliendocrinopatias autoimunes; doença de Reiter; síndrome de Moersh-Woltman; doença de Beheet; arterite de células gigantes; nefrite complexa imune; neuropatia de IgA; polineuropatias de IgM; púrpura trombocitopénica imune (ITP) ou trombocitopenia autoimune.

O sistema imune isola células autólogas que estejam infectadas por vírus, que tenham sofrido transformação oncogénica ou que apresentem peptídeos não familiares sobre a sua superfície. A proteólise intracelular gera pequenos peptídeos para apresentação aos linfócitos T, para induzir respostas imunes mediadas por MHC de classe I. Deste modo, em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um processo para a utilização do composto como um agente imunomodulador para a inibição ou a alteração da apresentação do antígeno numa célula, compreendendo a exposição da célula (ou a administração a um paciente) a um composto aqui descrito. As formas de realização específicas incluem um processo para o tratamento de enxertos ou de doenças relacionadas com transplantes, tais como a doença enxerto-contra-hospedeiro ou doença hospedeiro-contra-

enxerto num mamífero, compreendendo a administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto aqui descrito. O termo "enxerto", tal como é aqui usado, refere-se a material biológico proveniente de um doador, para transplantação para um recetor. Os enxertos incluem material tão diverso como por exemplo, células isoladas, tais como células "ilhas"; tecidos, tais como a membrana amniótica de um recém-nascido, medula óssea, células precursoras hematopoiéticas, e tecido ocular, tais como o tecido da córnea; e órgãos, tais como a pele, coração, fígado, baço, pâncreas, lobo tiroide, pulmão, rim, órgãos tubulares (por exemplo, intestino, vasos sanguíneos ou o esófago). Os órgãos tubulares podem ser usados para substituir partes lesionadas do esófago, vasos sanguíneos ou o canal biliar. Os enxertos da pele podem ser usados não só para queimaduras, mas também como um revestimento do intestino lesionado ou para fechar certos defeitos, tais como a hérnia diafragmática. O enxerto é derivado de qualquer fonte de mamíferos, incluindo o homem, quer de cadáveres ou de doadores vivos. Em alguns casos, o doador e o recetor são o mesmo mamífero. O enxerto é de preferência medula óssea ou um órgão, tal como o coração, e o doador do enxerto e o hospedeiro são compatibilizados quanto a antígenos HLA de classe II.

Os neoplasmas de células histiocíticas e dendríticas são derivados de fagócitos e células acessórias, que têm papéis importantes no processamento e na apresentação de antígenos aos linfócitos. Provou-se que exaurir o conteúdo de proteasomas em células dendríticas altera as suas respostas induzidas por antígenos (Chapatte et al. Cancer Res. (2006) 66: 5461-5468). Assim, uma outra variante de realização da invenção compreende a administração de uma quantidade

eficaz de um composto ou composição aqui descritos, a um paciente com neoplasma de células histiocíticas ou dendríticas. Os neoplasmas de células histiocíticas ou dendríticas incluem o sarcoma histiocítico, histiocitose de células de Langerhans, sarcoma de células de Langerhans, sarcoma/tumor de células dendríticas interalinhadas, sarcoma/tumor de células dendríticas foliculares, e sarcoma de células dendríticas não especificadas.

Provou-se que a inibição do proteasoma é benéfica para o tratamento de doenças em que um tipo de células está a proliferar, e em distúrbios imunes; deste modo, uma variante de realização da invenção inclui o tratamento de doenças linfoproliferativas (LPD) associadas a distúrbios imunes primários (PID), compreendendo a administração de uma quantidade eficaz do composto apresentado a um paciente que necessite do mesmo. Os cenários clínicos mais comuns de imunodeficiência associados a uma incidência acrescida de distúrbios linfoproliferativos, incluindo neoplasmas e linfomas de células B e células T, são síndromas de imunodeficiência primária e outros distúrbios imunes primários, infecção com o vírus da imunodeficiência humana (VIH), imunossupressão iatrogénica em pacientes que tenham recebido homotransplantes de órgãos sólidos ou de medula óssea, e imunossupressão iatrogénica associada a tratamento com metotrexato. Outros PIDs, comumente associados a LPDs, mas não limitados aos mesmos, são ataxia telangiectasia (AT), síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), imunodeficiências variáveis comuns (CVID), imunodeficiência combinada grave (SCID), distúrbio linfoproliferativo X-ligado (XLP), síndrome de rutura de Nijmegen (NBS), síndrome hiper-IgM, e síndrome linfoproliferativo autoimune (ALPS).

Variantes de realização adicionais da invenção referem-se a métodos para afetar a regulação das oncoproteínas, dependente do proteasoma, e a métodos de tratamento ou de inibição do crescimento de cancros, compreendendo cada método a exposição de uma célula (*in vivo*, por exemplo, num paciente, ou *in vitro*) à composição do inibidor de proteasoma aqui descrito. Proteínas E6, derivadas de HPV-16 e de HPV-18, estimulam a conjugação e a degradação de p53, dependente de ATP e ubiquitina, em lisados brutos de reticulócitos. Tem-se verificado que o oncogene recessivo p53 se acumula, a temperaturas não permissíveis numa linha de células, com um E1 termoinstável mutado. Os níveis elevados de p53 podem conduzir à apoptose. Os exemplos de proto-oncoproteínas degradadas pelo sistema da ubiquitina incluem c-Mos, c-Fos e C-Jun. Em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um método para o tratamento da apoptose relacionada com o p53, compreendendo a administração a um paciente de uma quantidade eficaz de uma composição inibidora de proteasoma, aqui apresentada.

Um outro aspeto da invenção refere-se à utilização de composições de inibidor de proteasoma aqui apresentadas, para o tratamento de doenças e patologias neurodegenerativas, incluindo, sem se estar limitado a estas, choque, lesões isquémicas do sistema nervoso, trauma neural (por exemplo, lesão do cérebro por percussão, lesão da medula espinal, e lesão traumática do sistema nervoso), esclerose múltipla e outras neuropatias imunes mediadas (por exemplo, síndrome de Guillain-Barre e as suas variantes, neuropatia axónica motora aguda, polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda) e síndrome de Fisher), complexo de demência VIH/SIDA, axonomia, neuropatia diabética, doença de Parkinson, doença de Huntington,

esclerose múltipla, meningite bacteriana, parasítica, fúngica e viral, encefalite, demência vascular, demência multi-enfarte, demência do corpo de Lewy, demência do lobo frontal, tal como a doença de Pick, demências subcorticais (tal como paralisia de Huntington ou paralisia supranuclear progressiva), síndromas de atrofia cortical focal (tais como afasia primária), demências metabólico-tóxicas (tais como hipotireoidismo crônico ou deficiência B12), e demências causadas por infecções (tais como sífilis ou meningite crônica).

A doença de Alzheimer é caracterizada por depósitos extracelulares da proteína β -amiloide (β -AP) em placas senis e em vasos cerebrais. A β -AP é um fragmento de peptídeo com 39 a 42 aminoácidos, derivado de um precursor de proteína amiloide (APP). São conhecidas pelo menos três isoformas de APP (695, 751 e 770 aminoácidos). O entrelaçamento alternativo do ARNm gera as isoformas; o processamento normal afeta uma parte da sequência de β -AP, evitando, por conseguinte, a geração de β -AP. Crê-se que o processamento anormal da proteína pelo proteasoma contribui para a abundância do β -AP no cérebro Alzheimer. O enzima de processamento de β -AP em ratos contém cerca de dez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). A subunidade de 25 kDa tem uma sequência N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que é idêntica à subunidade β de "macropain" humana (Kojima, S. et al., *Fed. Eur. Biochem. Soc.*, (1992) 304:57-60). O enzima de processamento de APP promove a clivagem na ligação Gln¹⁵--Lys¹⁶; na presença do íon cálcio, o enzima também promove a clivagem na ligação Met⁻¹--Asp¹ e na ligação Asp¹--Ala² para libertar o domínio extracelular de β -AP.

Nesta conformidade, um aspeto da invenção refere-se a um método de tratamento da doença de Alzheimer, compreendendo a administração a um paciente de uma quantidade eficaz de um composto ou composição inibidor de proteasoma aqui apresentado. Este tratamento inclui a redução da taxa de processamento de β -AP, a redução da taxa de formação da placa de β -AP, a redução da taxa de criação de β -AP, e a redução dos sinais clínicos da doença de Alzheimer.

A fibrose é a formação excessiva e persistente de tecido conjuntivo fibroso, resultante do crescimento hiperproliferativo de fibroblastos, e está associada à ativação da via de sinalização de TGF- β . A fibrose envolve a deposição extensa da matriz extracelular e pode ocorrer no seio de, virtualmente, qualquer tecido, ou através de diversos tecidos diferentes. Normalmente, o nível da proteína de sinalização intracelular (Smad) que ativa a transcrição dos genes alvo, aquando da estimulação de TGF- β , é regulado pela atividade do proteasoma (Xu et al., 2000). No entanto, foi observada uma degradação acelerada dos componentes de sinalização de TGF- β em patologias fibróticas, tais como fibrose cística, fibrose de injeção, fibrose do endomiocárdio, fibrose pulmonar idiopática, mielofibrose, fibrose retroperitoneal, fibrose maciça progressiva, e fibrose sistémica nefrogénica. Outras patologias que estão frequentemente associadas à fibrose incluem a cirrose, doença pulmonar difusa do parênquima, síndrome de dor pós-vasectomia, tuberculose, anemia falciforme e artrite reumatoide. Uma variante de realização da invenção é o método de tratamento de uma patologia fibrótica, ou associada a fibrótica, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz da composição aqui

descrita a um paciente que necessite do referido tratamento.

O tratamento de vítimas de queimaduras é frequentemente estorvado pela fibrose. Deste modo, em algumas variantes de realização, a invenção refere-se à administração tópica ou sistémica, a um paciente, do inibidor, para tratar queimaduras. O fecho das feridas depois de uma cirurgia está frequentemente associado a escaras desfigurantes, que podem ser evitadas por inibição da fibrose. Assim, em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um método para a prevenção ou a redução da formação de escaras.

A produção excessiva de citocinas, tais como TNF α , induzida por lipopolissacarídeos (LPS), é considerada como sendo central aos processos associados ao choque séptico. Além disso, é geralmente aceite que o primeiro passo na ativação das células por LPS é a ligação dos LPS a recetores específicos da membrana. As subunidades α e β do complexo de proteasoma 20S têm sido identificadas como proteínas de ligação de LPS, sugerindo que a transdução do sinal induzida por LPS pode ser um importante alvo terapêutico no tratamento ou prevenção da septicémia (Qureshi, N. et al., *J. Immun.* (2003) 171: 1515-1525). Por conseguinte, em algumas variantes de realização, a composição do inibidor de proteasoma pode ser usada para a inibição de TNF α , para prevenir e/ou tratar o choque séptico.

A lesão por isquemia e reperfusão tem como resultado a hipoxia, uma patologia em que há uma deficiência do oxigénio que chega aos tecidos do corpo. Esta patologia

causa uma degradação acrescida de I κ -B α , do que resulta a ativação de NF- κ B (Koong et al., 1994). Foi demonstrado que a gravidade da lesão, da qual resulta a hipoxia, pode ser reduzida com a administração de um inibidor de proteasoma (Gao et al., 2000; Bao et al., 2001; Pye et al., 2003). Por conseguinte, algumas formas de realização da invenção referem-se a um método de tratamento de uma patologia isquémica ou lesão de reperfusão, compreendendo a administração, a um paciente que necessite de um tal tratamento, de uma quantidade eficaz do composto inibidor do proteasoma, aqui apresentado. Os exemplos destas patologias ou lesões incluem, sem estar limitados a estas, o síndrome agudo das coronárias (placas vulneráveis), a doença oclusiva arterial (oclusões cardíaca, cerebral, arterial periférica e vascular), aterosclerose (esclerose das coronárias, doença das artérias coronárias), enfartes, insuficiência cardíaca, pancreatite, hipertrofia do miocárdio, estenose e restenose.

O NF- κ B também se liga especificamente ao intensificador/promotor de VIH. Quando é comparado com o Nef de mac239, a proteína Nef de pbj14, reguladora do VIH, difere em dois aminoácidos na região que controla a ligação da proteína cinase. Crê-se que a proteína cinase assinala a fosforilação de I κ B, desencadeando a degradação do I κ B através da via ubiquitina-proteasoma. Depois da degradação, o NF- κ B é libertado no núcleo, favorecendo assim a transcrição do VIH (Cohen, J., *Science*, (1995) 267:960). Em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um método para a inibição ou a redução da infeção por VIH num paciente, ou a um método para a diminuição do nível da expressão do gene viral, compreendendo cada método a

administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um composto ou composição inibidores do proteasoma, aqui apresentados.

As infecções virais contribuem para a patologia de muitas doenças. As patologias cardíacas, tais como a miocardite e a cardiomiopatia dilatada, em progressão, têm sido ligadas ao vírus de Coxsackie B3. Numa análise comparativa em micro-séries, do genoma completo de corações de rato infetados, as subunidades específicas de proteasoma foram uniformemente reguladas positivamente em corações de ratos que desenvolveram miocardite crónica (Szalay et al., *Am J Pathol* 168: 1542-52, 2006). Alguns vírus utilizam o sistema ubiquitina-proteasoma no passo da entrada viral, em que o vírus é libertado do endossoma para o citosol. O vírus de hepatite de rato (VHM) pertence à família *Coronaviridae*, que também inclui o coronavírus do síndrome respiratório agudo grave (SARS). Yu e Lai (*J Virol* 79: 644-648, 2005) demonstraram que o tratamento com um inibidor de proteasoma, de células infetadas com VHM, teve como resultado uma diminuição da replicação viral, correlacionada com o título viral reduzido, em comparação com o das células não tratadas. O vírus da hepatite B humana (VBH), um membro da família de vírus *Hepadnaviridae*, necessita igualmente de proteínas de invólucro codificadas por vírus, para se propagar. A inibição da via de degradação do proteasoma causa uma redução significativa da quantidade de proteínas de invólucro segregadas (Simsek et al., *J Virol* 79:12914-12920, 2005). Para além do VBH, outros vírus de hepatite (A,C,D e E) podem utilizar também a via de degradação de ubiquitina-proteasoma para a secreção, morfogénese e patogénese. Por consequência, em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um

método para o tratamento de uma infecção viral, tal como SARS ou hepatites A, B, C, D e E, compreendendo pôr-se uma célula em contacto com uma quantidade eficaz de um composto ou composição aqui apresentado, ou administrar-se essa quantidade a um paciente.

Em algumas variantes de realização, as composições reveladas podem ser úteis para o tratamento de uma infecção parasítica, tal como infecções causadas por parasitas protozoários. O proteasoma destes parasitas é considerado como estando envolvido primariamente em atividades de diferenciação de células e de replicação (Paugam et al., Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Além disso, verificou-se que as espécies entamoeba têm demonstrado perder a capacidade de enquistamento quando são expostas a inibidores de proteasoma (Gonzales, et al., Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec n° 139-140). Em algumas destas variantes de realização, os protocolos administrativos para as composições de inibidores de proteasoma são úteis para o tratamento de infecções parasíticas em humanos, causadas por um parasita protozoário escolhido entre Plasmodium sps. (incluindo P. falciparum, P. vivax, P. malariae e P. ovale, que causam malária), Trypanosoma sps. (incluindo T. cruzi, que causa a doença de Chagas, e T. brucei, que causa a doença do sono africana), Leishmania sps. (incluindo L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana, etc.), Pneumocystis carinii (um protozoário conhecido por causar pneumonia em pacientes com SIDA ou outros pacientes imunossuprimidos), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens e Giardia lamblia. Em algumas variantes de realização, as composições de inibidor de proteasoma apresentadas são úteis para o tratamento de infecções parasíticas em animais e no gado, causadas por um

parasita protozoário escolhido entre *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidium* sps., *Echinococcus granulosus*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* e *neurospora crassa*. Outros compostos que atuam como inibidores de proteasoma no tratamento de doenças parasíticas são descritos no documento WO 98/10779.

Em algumas variantes de realização, as composições de inibidor de proteasoma inibem a atividade de proteasoma num parasita, sem a recuperação dos glóbulos vermelhos e dos glóbulos brancos. Em algumas variantes de realização, o longo período de semivida dos glóbulos sanguíneos pode proporcionar uma proteção prolongada, em relação à terapia contra exposições recorrentes aos parasitas. Em algumas variantes de realização, as composições de inibidor de proteasoma podem proporcionar uma proteção prolongada em relação à quimioprofilaxia, contra futuras infecções.

Os procariotes têm um equivalente em relação à partícula de proteasoma 20S eucariote. Embora a composição subunitária da partícula 20S procariótica seja mais simples do que a dos eucariotes, tem todavia a capacidade de hidrolisar ligações peptídicas de uma forma semelhante. Por exemplo, o ataque nucleofílico sobre a ligação peptídica ocorre através do resíduo de treonina no terminal N das subunidades β . Deste modo, uma variante de realização da presente invenção refere-se a um método para o tratamento de infecções procarióticas, compreendendo a administração, a um paciente, de uma quantidade eficaz do composto ou composição inibidores do proteasoma, aqui apresentados. As infecções procarióticas podem incluir doenças causadas quer por micobactérias (tais como tuberculose, lepra ou úlcera de Buruli), quer por arqueobactérias.

Foi também demonstrado que os inibidores que se ligam ao proteasoma 20S simulam a formação de osso em culturas de órgãos ósseos. Além disso, quando os referidos inibidores foram administrados sistemicamente a ratos, certos inibidores de proteasoma aumentaram o volume dos ossos e a taxa de formação de ossos acima dos 70% (Garrett, I. R. et al., *J. Clin. Invest.* (2003) 111: 1771-1782), sugerindo, por conseguinte, que a "maquinaria" ubiquitina-proteasoma regula a diferenciação osteoblástica e a formação dos ossos. Portanto, um composto ou composição inibidor de proteasoma revelado pode ser útil no tratamento e/ou prevenção de doenças associadas à perda de osso, tais como a osteoporose.

Deste modo, em algumas variantes de realização, a invenção refere-se a um método para o tratamento de uma doença ou patologia escolhida entre cancro, doença autoimune, patologias relacionadas com enxertos ou transplantes, doença neurodegenerativa, patologia associada a fibrótica, patologias associadas com isquemias, infeções (virais, parasíticas ou procarióticas) e doenças associadas com a perda de osso, compreendendo a administração de um composto ou composição, como foi aqui apresentado.

Administração de tripeptídeo-epoxicetonas cristalino

Os compostos preparados como é aqui descrito podem ser administrados em várias formas, dependendo do distúrbio a ser tratado e da idade, estado e peso corporal do paciente, como é bem sabido na técnica. Por exemplo, quando os compostos devam ser ministrados oralmente, podem ser formulados como comprimidos, cápsulas, grânulos, pós, ou xaropes; ou, para a administração parentérica, podem ser

formulados como injeções (intravenosa, intramuscular ou subcutânea), preparações para infusão gota a gota, ou supositórios. Para a aplicação pela via da membrana mucosa oftálmica, podem ser formulados como gotas oftálmicas ou pomadas oftálmicas. Estas formulações podem ser preparadas por meios convencionais, e, se desejado, o ingrediente ativo pode ser misturado com qualquer aditivo ou excipiente convencional, tal como um aglutinante, um agente desintegrante, um lubrificante, um corretivo, um agente solubilizante, um auxiliar de suspensão, um agente emulsionante, um agente de revestimento, uma ciclodextrina e/ou um tampão. Embora a dosagem varie consoante os sintomas, a idade e o peso corporal do paciente, a natureza e a gravidade do distúrbio a ser tratado ou prevenido, a via de administração e a forma do medicamento, em geral é recomendada uma dosagem diária de 0,01 a 2000 mg do composto para um paciente humano adulto, e esta pode ser administrada numa dose única ou em doses divididas. A quantidade do ingrediente ativo que pode ser combinada com um material veicular para produzir uma forma de dosagem simples será, genericamente, a quantidade do composto que produz um efeito terapêutico.

O instante preciso da administração e/ou a quantidade da composição que produzem os resultados mais eficazes, em termos de eficácia do tratamento, num determinado paciente, dependem da atividade, da farmacocinética e da biodisponibilidade de um composto particular, do estado fisiológico do paciente (incluindo a idade, sexo, tipo e fase da doença, estado físico geral, capacidade de resposta a uma dada dosagem, e tipo de medicamento), da via de administração, etc. No entanto, as diretivas acima podem ser usadas como base para um ajuste mais preciso do

tratamento, por exemplo, a determinação do instante e/ou da quantidade de administração ótimos, o que não exige mais do que experimentação de rotina, que consiste em acompanhar o paciente e ajustar a dosagem e/ou o instante da toma.

A frase "farmaceuticamente aceitável" é aqui empregue referindo-se aos ligantes, materiais, composições e/ou formas de dosagem que, no âmbito de um parecer médico fundamentado, são apropriados para ser usados em contacto com os tecidos dos seres humanos e de animais, sem toxicidade, irritação, resposta alérgica excessivas, ou outros problemas ou complicações, compatíveis com uma relação benefício/risco razoáveis.

A frase "veículo farmaceuticamente aceitável", tal como é aqui usada, significa um material, composição ou veículo farmaceuticamente aceitável, tal como uma carga, diluente, excipiente, solvente ou material de encapsulação, sólidos ou líquidos. Cada veículo deve ser "aceitável", no sentido de ser compatível com os outros ingredientes da formulação e não ser lesivo para o paciente. Alguns exemplos de materiais que podem servir como veículos farmaceuticamente aceitáveis incluem: (1) açúcares, tais como lactose, glucose e sacarose; (2) amidos, tais como amido de milho, fécula de batata e β -ciclodextrina substituída ou insubstituída; (3) celulose e os seus derivados, tais como carboximetilcelulose de sódio, etil-celulose e acetato de celulose; (4) tragacanto em pó; (5) malte; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tais como manteiga de cacau e ceras para supositórios; (9) óleos, tais como óleo de amendoim, óleo de semente de algodão, óleo de girassol, óleo de sésamo, azeite, óleo de milho e óleo de soja; (10) glicóis, como propilenoglicol; (11) polióis, tais como

glicerina, sorbitol, manitol e polietilenoglicol; (12) éteres, tais como oleato de etilo e laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponizantes, tais como hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; (15) ácido algínico; (16) água isenta de agentes pirogênicos; (17) soro fisiológico isotônico; (18) solução de Ringer; (19) álcool etílico; (20) soluções tampão de fosfatos; e (21) outras substâncias não tóxicas compatíveis, empregues em formulações farmacêuticas. Em algumas variantes de realização, as composições farmacêuticas da presente invenção são não pirogênicas, ou seja, não induzem elevações de temperatura significativas quando administradas a um paciente.

O termo "sal farmacêuticamente aceitável" refere-se aos sais de adição de ácidos orgânicos e inorgânicos, relativamente não tóxicos, do inibidor ou inibidores. Estes sais podem ser preparados *in situ* durante o isolamento final e a purificação do ou dos inibidores, ou por fazer reagir, em separado, um inibidor ou inibidores purificados, na sua forma de base livre, com um ácido orgânico ou inorgânico apropriado, e isolando-se o sal assim formado. 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, tartarato, naftilato, mesilato, glucoheptanoato, lactobionato, laurilsulfonato, e sais de aminoácidos, e semelhantes. (ver, por exemplo, Berge et al. (1997) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19).

Em outros casos, os inibidores úteis nos métodos da presente invenção podem conter um ou mais grupos funcionais ácidos e, desta forma, são capazes de formar sais

farmaceuticamente aceitáveis com bases farmaceuticamente aceitáveis. Nestes casos, o termo " sais farmaceuticamente aceitáveis" refere-se aos sais de adição de base, orgânicos e inorgânicos, relativamente não tóxicos, de um inibidor ou inibidores. Do mesmo modo, estes sais podem ser preparados *in situ* durante o isolamento final e a purificação do ou dos inibidores, ou fazendo-se reagir, em separado, o inibidor ou inibidores purificados, na sua forma de ácido livre, com uma base apropriada, tal como o hidróxido, carbonato ou bicarbonato de um catião metálico farmaceuticamente aceitável, com amónia ou com uma amina orgânica farmaceuticamente aceitável, primária, secundária ou terciária. Os sais alcalinos ou alcalinoterrosos representativos incluem os sais de lítio, sódio, potássio, cálcio, magnésio e alumínio, e semelhantes. As aminas orgânicas representativas, úteis para a formação dos sais de adição de bases, incluem a etilamina, dietilamina, etilenodiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina e semelhantes (ver, por exemplo, Berge et al., *supra*).

Podem estar também presentes nas composições agentes humectantes, emulsionantes e lubrificantes, tais como laurilsulfato de sódio e estearato de magnésio, assim como agentes corantes, agentes desmoldantes, agentes de revestimento, agentes edulcorantes, aromatizantes e perfumantes, conservantes e antioxidantes.

Os exemplos de antioxidantes farmaceuticamente aceitáveis incluem: (1) antioxidantes solúveis em água, tais como o ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfato de sódio, metabissulfito de sódio, sulfito de sódio, e semelhantes; (2) antioxidantes solúveis em óleos, tais como o palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA),

hidroxibutileno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, e semelhantes; e (3) agentes quelatantes de metais, tais como o ácido cítrico, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, e semelhantes.

As formulações apropriadas para administração oral podem estar na forma de cápsulas, hóstias, pílulas, comprimidos, losangos (utilizando uma base aromatizada, geralmente sacarose e acácia ou tragacanto), pós, grânulos, ou uma solução ou suspensão num líquido aquoso ou não aquoso, ou como uma emulsão líquida óleo em água ou água em óleo, ou como um elixir ou xarope, ou como pastilhas (usando uma matriz inerte, tal como gelatina ou glicerina, ou sacarose e acácia) e/ou como solutos para bochechar, e semelhantes, contendo, cada um, uma quantidade predeterminada de um ou vários inibidores como substância ativa. Uma composição também pode ser administrada como uma pílula, electuário ou pasta.

Nas formas de dosagem sólidas para administração oral (cápsulas, comprimidos, pílulas, drageias, pós, grânulos, ou semelhantes), o ingrediente ativo pode ser misturado com um ou mais veículos farmacologicamente aceitáveis, tais como citrato de sódio ou fosfato dicálcico, e/ou com qualquer dos seguintes: (1) cargas ou diluentes, tais como amidos, ciclodextrinas, lactose, sacarose, glucose, manitol, e/ou sílica; (2) ligantes, tais como, por exemplo, carboximetilcelulose, alginato, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose, e/ou acácia; (3) humectantes, tais como glicerina; (4) agentes desintegrantes, tais como agar-agar, carbonato de cálcio, amidos de batata ou tapioca, ácido algínico, determinados silicatos, e carbonato de sódio; (5)

agentes retardantes de dissolução, como parafina; (6) aceleradores de absorção, tais como compostos de amónio quaternário; (7) agentes humectantes, tais como, por exemplo, álcool acetílico e monoestearato de glicerol; (8) absorventes, tais como caolino e argila de bentonite; (9) lubrificantes, tal como o talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, lauril-sulfato de sódio, e misturas dos mesmos; e (10) corantes. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as composições farmacêuticas também podem compreender agentes tampões. As composições sólidas de tipo semelhante podem ser também empregues como cargas em cápsulas de gelatina mole e dura, cheias mediante a utilização de excipientes, tais como lactose ou açúcares lácteos, assim como polietilenoglicóis de alto peso molecular, e semelhantes. Em algumas variantes de realização, o tripeptídeo-epoxicetona cristalino é administrado a um mamífero como uma cápsula. Numa outra variante de realização, o tripeptídeo-epoxicetona cristalino é um composto de fórmula (I). Numa forma de realização de maior preferência o tripeptídeo-epoxicetona cristalino é um composto de fórmula (II).

Um comprimido pode ser produzido por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Os comprimidos obtidos por compressão podem ser preparados usando-se aglutinantes (por exemplo, gelatina ou hidroxipropilmetil-celulose), lubrificantes, diluentes inertes, conservantes, desintegrantes (por exemplo, amido-glicolato de sódio ou carboximetilcelulose de sódio reticulada), agentes tensioativos ou dispersantes. Os comprimidos moldados podem ser produzidos moldando-se numa máquina apropriada uma mistura do ou dos inibidores em pó humedecidos com um diluente líquido inerte.

Os comprimidos, e outras formas de dosagem sólidas, tais como drageias, cápsulas, pílulas e grânulos, podem ser opcionalmente dotados de um sulco, ou ser preparados com revestimentos e capas, tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos bem conhecidos na técnica da formulação farmacêutica. Podem ser também formulados de modo a proporcionarem uma libertação lenta ou controlada do ingrediente ativo contido, usando-se, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose em proporções variáveis, para providenciar o perfil de libertação desejado, outras matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microsferas. Podem ser esterilizados, por exemplo, por filtração através de um filtro que retenha bactérias, ou por incorporação de agentes esterilizadores na forma de composições sólidas esterilizadas, que podem ser dissolvidas em água esterilizada, ou em qualquer outro meio injetável esterilizado, imediatamente antes da utilização. Estas composições podem, opcionalmente, conter também agentes opacificantes, e podem ter uma composição tal que libertem o ou os ingredientes ativos apenas, ou preferencialmente, numa determinada porção do tracto gastrointestinal, opcionalmente de uma forma prolongada. Os exemplos de composições de embeber que podem ser usadas incluem substâncias poliméricas e ceras. O ingrediente ativo também pode estar na forma microencapsulada, se for conveniente, com um ou mais dos ingredientes acima descritos.

As formas de dosagem líquidas para administração oral incluem emulsões, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacêuticamente aceitáveis. Para além do ingrediente ativo, as formas de dosagem líquidas podem conter diluentes inertes comumente utilizados na técnica, tais como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes

solubilizantes e emulsionantes, tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, álcool benzílico, benzoato de benzilo, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, óleos (em particular os óleo de sementes de algodão, de amendoim, de gérmen de milho, azeite, óleo de rícino e óleo de sésamo), glicerina, álcool tetrahidrofurfurílico, polietilenoglicóis e ésteres de sorbitano de ácidos gordos, e misturas dos mesmos.

Além dos diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes, tais como humectantes, emulsionantes e agentes de suspensão, edulcorantes, aromatizantes, corantes, perfumes e conservantes.

As suspensões, para além do ingrediente ou dos ingredientes ativos, podem conter agentes de suspensão, tais como, por exemplo, álcool isoestearílico etoxilado, polioxietileno-sorbitol e ésteres de sorbitano, celulose microcristalina, metahidróxido de alumínio, bentonite, agar-agar e tragacanto, e misturas dos mesmos.

As formulações para administração rectal ou vaginal podem ser apresentadas como um supositório, que pode ser preparado por mistura de um ou mais inibidores com um ou mais excipientes ou veículos apropriados, não irritantes, compreendendo, por exemplo, manteiga de cacau, polietilenoglicol, uma cera de supositório ou um salicilato, que sejam sólidos à temperatura ambiente, mas líquidos à temperatura do corpo e, por conseguinte, se fundam no recto ou na cavidade vaginal e libertem o ingrediente ativo.

As formulações que são apropriadas para administração vaginal também incluem pessários, tampões, cremes, geles, pastas, espumas ou formulações para pulverização, contendo veículos, tais como os que são conhecidos na técnica como sendo apropriados.

As formas de dosagem apropriadas para a administração tópica ou transdérmica de um ou mais inibidores incluem pós, "sprays", pomadas, pastas, cremes, loções, geles, soluções, pensos e inalações. O componente ativo pode ser misturado, em condições de esterilização, com um veículo farmacologicamente aceitável, e com quaisquer conservantes, tampões ou propulsores que possam ser necessários.

Além do inibidor ou inibidores, as pomadas, pastas, cremes e geles podem conter excipientes, tais como, gorduras animais e vegetais, óleos, ceras, parafinas, amidos, tragacanto, derivados de celulose, polietilenoglicóis, silicones, bentonites, sílica, talco e óxido de zinco, ou misturas dos mesmos.

Além do inibidor ou inibidores, os pós e "sprays" podem conter excipientes, tais como lactose, talco, sílica, hidróxido de alumínio, silicatos de cálcio e pó de poliamida, ou misturas destas substâncias. Os "sprays" podem conter adicionalmente os propulsores habituais, tais como clorofluorcarbonetos e hidrocarbonetos voláteis insubstituídos, tais como butano e propano.

Em alternativa, o ou os inibidores podem ser ministrados por aerossóis. Isto é realizado preparando-se um aerossol aquoso, uma preparação de lipossomas ou partículas sólidas que contenham a composição. Poderá ser usada uma suspensão

não aquosa (por exemplo, em propulsante de fluorcarbono). São preferidos os nebulizadores sônicos, porque minimizam a exposição do agente ao cisalhamento, de que pode resultar a degradação do composto.

Habitualmente, um aerossol aquoso é produzido preparando-se uma formulação em solução ou suspensão aquosa do agente, conjuntamente com veículos e estabilizadores convencionais farmacologicamente aceitáveis. Os veículos e estabilizadores variam, consoante as exigências da composição particular, mas tipicamente incluem meios tensioativos não iônicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitano, lecitina, cremóforos), cossolventes farmacologicamente aceitáveis, tais como polietilenoglicol, proteínas inócuas, como albumina do soro, ácido oleico, aminoácidos, tais como glicina, tampões, sais, açúcares ou açúcar-álcoois. Os aerossóis são geralmente preparados a partir de soluções isotónicas.

Os pensos transdérmicos têm a vantagem adicional de proporcionar um fornecimento controlado do inibidor ou dos inibidores ao corpo. Estas formas de dosagem podem ser produzidas dissolvendo ou dispersando o agente num meio apropriado. Podem ser também usados melhoradores de dispersão para aumentar o fluxo do ou dos inibidores através da pele. O débito deste fluxo pode ser controlado ou pelo emprego de uma membrana que controla o débito, ou por dispersão do ou dos inibidores numa matriz polimérica ou gel.

As composições farmacêuticas da presente invenção, adequadas para administração parentérica, compreendem um ou mais inibidores em combinação com uma ou mais soluções,

dispersões, suspensões ou emulsões, aquosas ou não aquosas, esterilizadas, farmacêuticamente aceitáveis, ou pós esterilizados, que podem ser reconstituídos em soluções ou dispersões injetáveis esterilizadas, imediatamente antes da utilização, e que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostatos, solutos que tornem a formulação isotônica com o sangue do paciente previsto, ou agentes de suspensão ou de espessamento.

Os exemplos de veículos aquosos e não aquosos apropriados, que podem ser empregues nas composições farmacêuticas da invenção, incluem água, etanol, polióis (tais como glicerina, propilenoglicol, polietilenoglicol, e semelhantes), e misturas apropriadas dos mesmos, óleos vegetais, tais como azeite, e ésteres orgânicos injetáveis, tais como oleato de etilo. Pode ser mantida uma fluidez apropriada, por exemplo, por utilização de materiais de revestimento, tais como lecitina, pela manutenção do tamanho de partículas requerido, no caso de dispersões, e pelo uso de meios tensioativos.

Estas composições podem conter também adjuvantes, tais como conservantes, humectantes, emulsionantes e agentes de dispersão. A prevenção da ação de microrganismos pode ser assegurada pela inclusão de vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, e semelhantes. Pode ser também desejável incluir nas composições agentes de ajustamento da tonicidade, tais como açúcares, cloreto de sódio, e semelhantes. Adicionalmente, a absorção prolongada da forma farmacêutica injetável pode ser alcançada mediante a inclusão de agentes que atrasem a absorção, tais como monoestearato de alumínio e gelatina.

Em alguns casos, a fim de se prolongar o efeito de um medicamento, é desejável tornar mais lenta a absorção do medicamento de uma injeção subcutânea ou intramuscular. Por exemplo, a absorção prolongada de um medicamento ministrado por via parentérica é conseguida dissolvendo ou pondo em suspensão o medicamento num veículo oleoso.

As formas de depósito injetáveis são produzidas formando-se matrizes de microcápsulas de um inibidor ou inibidores em polímeros biodegradáveis, tais como polilactídeo-poliglicólido. Consoante a relação do medicamento para o polímero e a natureza do polímero particular empregue, pode ser controlada a taxa de libertação do medicamento. Os exemplos de outros polímeros biodegradáveis empregues incluem poli(ortoésteres) e poli(anidridos). As formulações injetáveis de depósito são também preparadas retendo o medicamento em lipossomas ou microemulsões que sejam compatíveis com o tecido do corpo.

As preparações de agentes podem ser dadas oralmente, ou por vias parentérica, tópica ou rectal. São, evidentemente, dadas por formas adequadas a cada via de administração. Por exemplo, são administradas na forma de comprimidos ou cápsulas, por injeção, inalação, loção oftálmica, pomada, supositório, infusão; por via tópica, como loção ou pomada; e por via rectal, como supositórios. É preferida a administração oral.

As frases "administração parentérica" e "administrado parentericamente", tal como são aqui usadas, significam modos de administração distintos das aplicações entérica e tópica, geralmente por injeção, e incluem, sem limitações, a injeção intravenosa, intramuscular, intra-arterial,

intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal e intraesternal, e infusão.

As frases "administração sistêmica", "administrado sistemicamente", "administração periférica" e "administrado perifericamente", tal como são aqui usadas, significam a administração de um ligante, medicamento, ou outro material que não seja administrado diretamente no sistema nervoso central, de modo que entre no sistema do paciente e, deste modo, seja sujeito ao metabolismo e outros processos análogos, por exemplo, a administração subcutânea.

Estes inibidores podem ser ministrados a humanos e a outros animais, para terapia, por qualquer via de administração apropriada, incluindo as vias oral, nasal, como por exemplo, um "spray", as vias rectal, intravaginal, parentérica, intracisternal e tópica, como por pós, pomadas ou gotas, incluindo as vias bucal e sublingual.

Independentemente da via de administração escolhida, o inibidor ou inibidores, que podem ser usados numa forma hidratada apropriada, e/ou as composições farmacêuticas da presente invenção, são formulados como formas de dosagem farmacêuticamente aceitáveis por métodos convencionais conhecidos dos peritos na técnica.

Os níveis de dosagem reais dos ingredientes ativos nas composições farmacêuticas da presente invenção podem ser variados, de forma a obter-se uma quantidade do ingrediente ativo que seja eficaz para se obter a resposta terapêutica

desejada para um paciente, composição e modo de administração particulares, sem ser tóxico para o paciente.

A concentração de um composto revelado, numa mistura farmacologicamente aceitável, vai variar em função de diversos fatores, incluindo a dosagem do composto a ser ministrado, as características farmacocinéticas do composto ou compostos empegues, e a via de administração. Em geral, as composições da presente invenção podem ser fornecidas numa solução aquosa que contém cerca de 0,1-10% p/v de um composto aqui revelado, entre outras substâncias, para administração parentérica. As gamas de doses típicas variam desde cerca de 0,01 até cerca de 50 mg/kg de peso corporal por dia, dada em 1-4 doses divididas. Cada dose dividida pode conter o mesmo composto ou compostos diferentes da invenção. A dosagem será uma quantidade eficaz, dependendo de vários fatores, incluindo a saúde geral de um paciente, e a formulação e a via de administração do composto ou compostos escolhidos.

Definições

O termo " C_{x-y} -alquilo" refere-se a grupos de hidrocarbonetos saturados, substituídos ou insubstituídos, incluindo grupos alquilo de cadeia linear e grupos alquilo de cadeia ramificada, que contêm entre x e y carbonos na cadeia, incluindo grupos halogenoalquilo, tais como trifluormetilo e 2,2,2-trifluoretilo, etc. C_0 alquilo indica um hidrogénio onde o grupo está em posição terminal, ou uma ligação se for interno. Os termos " C_{2-y} alcenilo" e " C_{2-y} alcinilo" referem-se a grupos alifáticos insaturados, substituídos ou insubstituídos, análogos em comprimento e possível

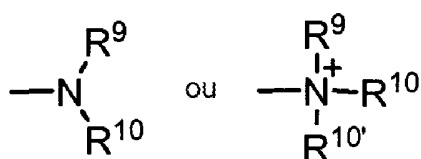
substituição dos alquilo descritos acima, mas que contém pelo menos uma ligação dupla ou tripla, respetivamente.

O termo "alcoxi" refere-se a um grupo alquilo que tem um oxigénio ligado. Os grupos alcoxi representativos incluem metoxi, etoxi, propoxi, t-butoxi e semelhantes. Um "éter" é formado por dois hidrocarbonetos ligados por covalência por um oxigénio. Por conseguinte, o substituinte de um alquilo que torna esse alquilo num éter é um alcoxi, ou é semelhante.

O termo "C₁₋₆alcoxialquilo" refere-se a um grupo C₁₋₆alquilo substituído por um grupo alcoxi, formando assim um éter.

O termo "C₁₋₆aralquilo", tal como é aqui usado, refere-se a um grupo C₁₋₆alquilo substituído por um grupo arilo.

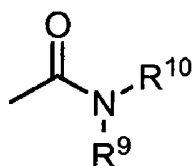
Os termos "amina" e "amino" são reconhecidos na técnica e referem-se ambos a aminas substituídas e não substituídas e aos seus sais, por exemplo, a parte que pode ser representada pelas fórmulas gerais:



em que R⁹, R¹⁰ e R^{10'} representam, independentemente um do outro, um hidrogénio, um alquilo, um alcenilo, -(CH₂)_m-R⁸, ou R⁹ e R¹⁰, tomados em conjunto com o átomo N a que estão ligados, completam um heterociclo que tem 4 a 8 átomos na estrutura do anel; R⁸ representa um arilo, um cicloalquilo, um cicloalcenilo, um heterociclilo ou um policiclilo; e m é

zero ou um inteiro entre 1 e 8. Em variantes de realização preferidas, apenas um dos R^9 ou R^{10} pode ser um carbonilo, por exemplo, R^9 , R^{10} e o átomo de azoto, juntos, não formam uma imida. Em formas de realização ainda mais preferidas, R^9 e R^{10} (e eventualmente $R^{10'}$), independentemente uns dos outros, representam um hidrogénio, um alquilo, um alcenilo, ou $-(CH_2)_m-R^8$. Em algumas variantes de realização, o grupo amino é básico, significando que a forma protonada tem um valor $pK_a \geq 7,00$.

Os termos "amida" e "amido" são conhecidos na técnica como um carbonilo substituído por amino e incluem uma parte que pode ser representada pela fórmula geral:



em que R^9 e R^{10} são definidos como acima. As formas preferidas de amida não incluem imidas, que podem ser instáveis.

O termo "arilo", como é aqui usado, inclui grupos aromáticos de anel simples, com 5, 6 e 7 membros, substituídos ou não substituídos, em que cada átomo do anel é um carbono. O termo "arilo" inclui também sistemas de anel policíclicos, com dois ou mais anéis cíclicos, em que dois ou mais átomos de carbono são comuns a dois anéis adjacentes, em que pelo menos um dos anéis é aromático, por exemplo, os outros anéis cíclicos podem ser cicloalquilos, cicloalcenilos, cicloalcinilos, arilos, heteroarilos e/ou

heterociclicos. Os grupos arilo incluem benzeno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina, e semelhantes.

Os termos "carbociclo" e "carbociclilo", tal como são aqui usados, referem-se a um anel não aromático, substituído ou insubstituído, em que cada átomo do anel é um carbono. Os termos "carbociclo" e "carbociclilo" incluem também sistemas de anéis policíclicos que possuem dois ou mais anéis cíclicos, em que dois ou mais átomos de carbono são comuns a dois anéis adjacentes, em que pelo menos um dos anéis é carbocíclico, por exemplo, os outros anéis cíclicos podem ser cicloalquilos, cicloalcenilos, cicloalcinilos, arilos, heteroarilos e/ou heterociclicos.

O termo "carbonilo" é reconhecido na técnica e inclui partes que podem ser representadas pelas fórmulas gerais:



em que X é uma ligação ou representa um oxigénio ou um enxofre, e R¹¹ representa um hidrogénio, um alquilo, um alcenilo, -(CH₂)_m-R⁸, ou um sal farmaceuticamente aceitável, e R^{11'} representa um hidrogénio, um alquilo, um alcenilo ou -(CH₂)_m-R⁸, em que m e R⁸ são definidos como acima. Quando X é um oxigénio e R¹¹ ou R^{11'} não são hidrogénio, a fórmula representa um "éster". Quando X é um oxigénio e R¹¹ é um hidrogénio, a fórmula representa um "ácido carboxílico".

O termo "heteroarilo" inclui estruturas aromáticas com anéis com 5 a 7 membros, mais preferivelmente com anéis com 5 a 6 membros, substituídas ou insubstituídas, cujas

estruturas de anel incluem um a quatro heteroátomos. O termo "heteroarilo" inclui também sistemas de anel policíclicos, possuindo dois ou mais anéis cíclicos em que dois ou mais átomos de carbono são comuns a dois anéis adjacentes, em que pelo menos um dos anéis é heteroaromático, por exemplo, os outros anéis cíclicos podem ser cicloalquilos, cicloalcenilos, cicloalcinilos, arilos, heteroarilos e/ou heterocíclicos. Os grupos heteroarilo incluem, por exemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazo, isoxazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina e pirimidina, e semelhantes.

O termo "heteroátomo", tal como é aqui usado, significa um átomo de qualquer elemento que não seja carbono ou hidrogénio. Os heteroátomos preferidos são azoto, oxigénio, fósforo e enxofre.

Os termos "heterociclilo" ou "grupo heterocíclico" referem-se a estruturas em anel com 3 a 10 membros, não aromáticas, substituídas ou não substituídas, mais preferivelmente anéis com 3 a 7 membros, cujas estruturas em anel incluem um a quatro heteroátomos. Os termos "heterociclilo" ou "grupo heterocíclico" incluem também sistemas de anéis policíclicos, possuindo dois ou mais anéis cíclicos nos quais dois ou mais átomos de carbono são comuns a dois anéis adjacentes, em que pelo menos um dos anéis é heterocíclico, por exemplo, os outros anéis cíclicos podem ser cicloalquilos, cicloalcenilos, cicloalcinilos, arilos, heteroarilos e/ou heterocíclicos. Os grupos heterociclilo incluem, por exemplo, tetrahydrofurano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactames, e semelhantes.

O termo "C₁₋₆heterocicloalquilo", tal como é aqui usado, refere-se a um grupo C₁₋₆alquilo substituído por um grupo heterociclilo.

O termo "C₁₋₆hidroxialquilo", tal como é aqui usado, refere-se a um grupo C₁₋₆alquilo substituído por um grupo hidroxil.

Tal como é aqui usado, o termo "inibidor" é entendido como descrevendo um composto que bloqueia ou reduz uma atividade de um enzima (por exemplo, a inibição da clivagem proteolítica de substratos peptídicos fluorogénicos convencionais, tais como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC e Z-LLE-AMC, a inibição de várias atividades catalíticas do proteasoma 20S). Um inibidor pode atuar com inibição competitiva, incompetitiva ou não competitiva. Um inibidor pode ligar-se reversivelmente ou irreversivelmente e, por conseguinte, o termo inclui compostos que são substratos suicidas de um enzima. Um inibidor pode modificar um ou mais sítios no sítio ativo do enzima ou próximo do mesmo, ou pode causar uma alteração conformacional algures no enzima.

Tal como é aqui usado, o termo "biodisponível oralmente" é entendido como descrevendo um composto administrado a um rato, a 40 mg/kg ou menos, a 20 mg/kg ou menos, ou mesmo a 10 mg/kg ou menos, em que uma hora depois da administração oral, um tal composto mostra pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 75% ou mesmo pelo menos cerca de 90% de inibição de atividade do proteasoma CT-L no sangue.

Tal como é aqui usado, o termo "peptídeo" inclui não somente ligações amida convencionais com substituintes α convencionais, mas peptidomiméticos utilizados comumente,

outras ligações modificadas, cadeias laterais de ocorrência não natural e modificações de cadeias laterais, como será pormenorizado adiante.

Os termos "policiclilo" ou "policíclico" referem-se a dois ou mais anéis (por exemplo, cicloalquilos, cicloalcenilos, cicloalcinilos, arilos, heteroarilos e/ou heterocíclicos), em que dois ou mais átomos de carbono são comuns a dois anéis adjacentes, por exemplo, os anéis são "anéis fundidos". Cada um dos anéis do policiclo pode estar substituído ou insubstituído.

O termo "proteasoma", tal como é aqui usado, é entendido como incluindo imunoproteasomas e proteasomas constitutivos.

O termo "essencialmente puro", tal como é aqui usado, refere-se a um polimorfo cristalino que é mais do que 90% puro, significando que contém menos de 10% de qualquer outro composto, incluindo o correspondente composto amorfo. O polimorfo cristalino é, de preferência, mais de 95% puro, ou mesmo mais de 98% puro.

O termo "prevenção" é conhecido na técnica e, quando é usado em relação a uma patologia, tal como uma recorrência local (por exemplo, dor), uma doença, como o cancro, um síndrome complexo, tal como insuficiência cardíaca, ou qualquer outra patologia médica, é bem compreendido na técnica e inclui a administração de uma composição que reduz a frequência, ou retarda o ataque, de sintomas de uma patologia médica num paciente, em relação a um paciente que não recebeu a composição. Deste modo, a prevenção do cancro inclui, por exemplo, a redução do número de crescimentos

cancerosos detetáveis numa população de pacientes que receberam um tratamento profilático, em relação a uma população de controle não tratada, e/ou o atraso do aparecimento de crescimentos cancerosos detetáveis numa população tratada, em relação a uma população de controle não tratada, por exemplo, de uma quantidade estatisticamente e/ou clinicamente significativa. A prevenção de uma inflamação inclui, por exemplo, a redução do número de diagnósticos da infecção numa população tratada, em relação a uma população de controle não tratada, e/ou o atraso do aparecimento de sintomas da infecção numa população tratada, em relação a uma população de controle não tratada. A prevenção da dor inclui, por exemplo, a redução da intensidade, ou, em alternativa, do atraso das sensações dolorosas sofridas pelos pacientes numa população tratada, em relação a uma população de controle não tratada.

O termo "promedicamento" compreende compostos que, em condições fisiológicas, são convertidos em agentes terapeuticamente ativos. Um processo comum para se produzir um promedicamento é incluir partes seleccionadas que são hidrolisadas em condições fisiológicas, para revelarem a molécula desejada. Em outras variantes de realização, o promedicamento é convertido por uma atividade enzimática no animal hospedeiro.

O termo tratamento "profilático ou terapêutico" é conhecido na técnica e inclui a administração ao hospedeiro de uma ou mais das composições objeto. Se for administrado antes da manifestação clínica da patologia não desejada (por exemplo, doença ou outro estado não desejado do animal hospedeiro), então o tratamento é profilático (por exemplo,

protege o hospedeiro contra o desenvolvimento da patologia indesejada), ao passo que se for administrado depois da manifestação da patologia não desejada, o tratamento é terapêutico (isto é, é destinado a diminuir, melhorar ou estabilizar a patologia indesejada existente, ou os efeitos colaterais da mesma).

O termo "proteasoma", tal como é aqui usado, é entendido como incluindo imunoproteasomas e proteasomas constitutivos.

O termo "substituído" refere-se a partes que têm substituintes que substituem um átomo de hidrogénio em um ou mais átomos de carbono do esqueleto. Deverá entender-se que "substituição" ou "substituído por" inclui a condição implícita de que uma tal substituição está de acordo com a valência permitida do átomo substituído e do substituinte, e que a substituição tem como resultado um composto estável, por exemplo, que não sofre espontaneamente qualquer transformação, tal como por rearranjo, ciclização, eliminação, etc. Tal como é aqui utilizado, o termo "substituído" é contemplado de modo a incluir todos os substituintes permissíveis de compostos orgânicos. Num aspeto amplo, os substituintes permissíveis incluem substituintes cíclicos e não cíclicos, ramificados e não ramificados, carbocíclicos e heterocíclicos, aromáticos e não aromáticos, dos compostos orgânicos. Os substituintes permissíveis podem ser um ou mais, e o mesmo ou diferentes, para compostos orgânicos apropriados. Para os fins da presente invenção, os heteroátomos, tais como o azoto, podem ter substituintes hidrogénio e/ou quaisquer substituintes permissíveis dos compostos orgânicos aqui descritos, que satisfaçam as valências dos heteroátomos. Os

substituintes podem incluir, por exemplo, um halogénio, um hidroxilo, um carbonilo (tal como um carboxilo, um alcoxicarbonilo, um formilo ou um acilo), um tiocarbonilo (tal como um tioéster, um tioacetato ou um tioformiato), um alcoxilo, um fosforilo, um fosfato, um fosfonato, um fosfinato, um amino, um Amido, uma amidina, uma imina, um ciano, um nitro, um azido, um sulfidrilo, um alquiltio, um sulfato, um sulfonato, um sulfamoilo, um sulfonamido, um sulfonilo, um heterociclilo, um aralquilo, ou uma parte aromática ou heteroaromática. Deverá ser entendido pelos peritos na técnica que as partes substituídas na cadeia hidrocarbonada podem, elas próprias, estar substituídas, se for apropriado.

Uma quantidade "terapeuticamente eficaz" de um composto, em relação ao método de tratamento objeto, refere-se a uma quantidade do composto ou compostos numa preparação que, quando administrada como parte de um regime de dosagem desejada (a um mamífero, de preferência a um humano) alivia um sintoma, melhora um estado ou torna mais lento o aparecimento das condições da doença, de acordo com os padrões clinicamente aceitáveis para o distúrbio ou patologia a serem tratados, ou os fins cosméticos, por exemplo, numa relação benefício/risco razoável aplicável a qualquer tratamento médico.

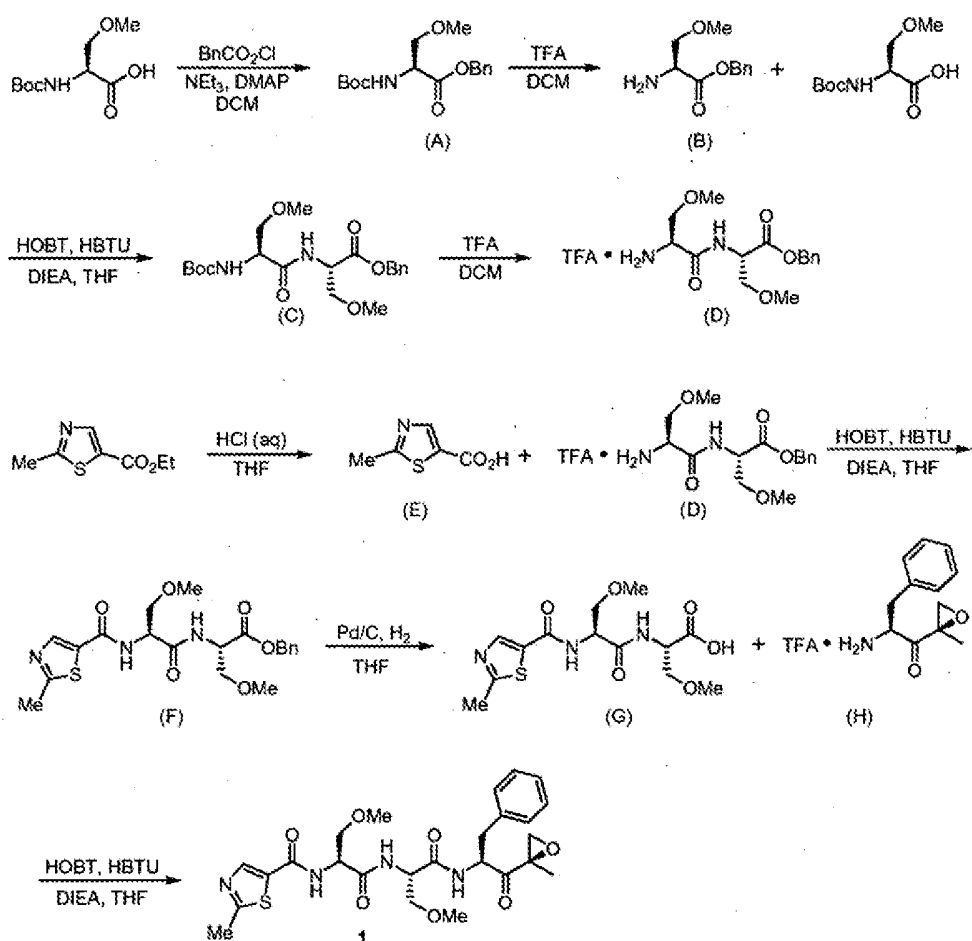
O termo "tioéter" refere-se a um grupo alquilo, tal como foi definido acima, tendo ligada uma parte enxofre. Nas variantes de realização preferidas, o "tioéter" é representado por -S-alquilo. Os grupos tioéter representativos incluem metiltio, etiltio, e semelhantes.

Tal como é aqui usado, o termo "tratar" ou "tratamento" inclui a inversão, redução ou paragem dos sintomas, sinais clínicos, e da patologia subjacente de um estado, de forma a melhorar ou estabilizar o estado de um paciente.

Exemplificação

Exemplo I

Síntese do composto I



Síntese de (A)

A uma solução, a 0 °C, de *N*-Boc-serina (éter metílico) (43,8 g, 200 mmol), trietilamina (26,5 g, 260 mmol) e 4-(dimetilamino)-piridina em diclorometano (1,2 L) foi adicionada uma solução de cloroformiato de benzilo (41 g, 240 mmol) em diclorometano (250 mL) durante 30 minutos. A mistura resultante foi agitada à mesma temperatura por mais 3 horas. Foi adicionada uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (200 mL) e a fase orgânica foi separada, a mistura residual foi extraída com diclorometano (2 × 400 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (200 mL) e salmoura (200 mL), foram secas com sulfato de sódio e filtradas através de Celite-545. Os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia *flash* (sílica-gel, hexano e acetato de etilo). O composto (A) (54 g) foi isolado e caracterizado por LC/MS (LRMS(MH) *m/z*: 310,16).

Síntese de (B)

A uma solução, a 0 °C, do composto (A) (54 g) em diclorometano (200 mL) foi adicionado ácido trifluoracético (200 mL) durante 10 minutos, e a mistura resultante foi agitada à mesma temperatura durante mais 3 horas. Os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi colocado sob alto vácuo por uma noite, dando origem ao sal de TFA do composto (B), que foi caracterizado por LC/MS (LRMS(MH) *m/z*: 210,11).

Síntese de (C)

A uma solução a 0 °C do composto (B) (43,8 g, 200 mmol), *N*-Boc-serina (éter metílico) (36,7 g, 167 mmol), HOBT (27 g,

200 mmol) e HBTU (71,4 g, 200 mmol) em tetrahidrofurano (1,2 L) foi adicionada uma solução de N,N-dietil-isopropilamina (75 g, 600 mmol) em tetrahidrofurano (250 mL) durante 10 minutos, e o pH da mistura resultante era de ~8. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante mais 5 horas. A maior parte do solvente foi removida a pressão reduzida, à temperatura ambiente, e foi diluída com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (400 mL). Em seguida foi extraída com acetato de etilo (3 × 400 mL), foi lavada com bicarbonato de sódio (100 mL) e salmoura (100 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio e filtradas através de Celite-545. Os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia *flash* (sílica-gel, hexano e acetato de etilo). O composto (C) (65 g) foi isolado e caracterizado por LC/MS (LRMS(MH) m/z : 411,21).

Síntese de (D)

A uma solução, a 0 °C, do composto (C) (18 g) em diclorometano (100 mL) foi adicionado ácido trifluoroacético (80 mL) durante 5 minutos, e a mistura resultante foi agitada à mesma temperatura por mais 3 horas. Os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi colocado sob alto vácuo durante uma noite, dando origem ao sal de TFA do composto intermediário (D), que foi caracterizado por LC/MS (LRMS(MH) m/z : 311,15).

Síntese de (E)

A uma solução, a 0 °C, de 2-metil-tiazol-5-carboxilato de etilo (15 g, 88 mmol) em tetrahidrofurano (50 mL) foi adicionada uma solução aquosa de hidróxido de sódio (5 N,

50 mL) durante 10 minutos, e a solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante mais 2 horas. Foi em seguida acidificada com ácido clorídrico (2N) até pH = 1 e foi extraída com tetrahidrofurano (3 × 100 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (30 mL) e secas com sulfato de sódio anidro. A maior parte dos solventes foi removida a pressão reduzida e o resíduo foi liofilizado para produzir o composto (E) (14 g).

Síntese de (F)

A uma solução, a 0 °C, do composto (D) (41 mmol) e de ácido 2-metil-tiazol-5-carboxílico (E) (6,0 g, 42 mmol), HOBT (7,9 g, 50 mmol) e HBTU (19,0 g, 50 mmol) em tetrahidrofurano (800 mL) foi adicionada uma solução de N,N-dietilisopropilamina (~50 g) em tetrahidrofurano (200 mL), durante 5 minutos, até o seu pH ter alcançado aproximadamente 8,5. A mistura resultante foi agitada à mesma temperatura durante uma noite. Em seguida foi abafada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (200 mL) e a maior parte dos solventes foi removida a pressão reduzida. A mistura residual foi extraída com acetato de etilo (3 × 400 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (200 mL) e salmoura (100 mL), foram secas com sulfato de sódio e filtradas através de Celite-545. Os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia *flash* (sílica-gel, acetato de etilo com 2% de metanol). O composto (F) (17,1 g) foi isolado e caracterizado por LC/MS (LRMS(MH) m/z : 436,15).

Síntese de (G)

A uma solução do composto (F) (17,1 g, 95 mmol) em metanol (300 mL) foi adicionado 10% de Pd/C (3 g). A mistura resultante foi agitada sob 1 atmosfera de hidrogénio, durante 48 horas. A mistura foi filtrada através de Celite 545 e o bolo de filtração foi lavado com metanol (~200 mL). As fases orgânicas foram concentradas a pressão reduzida e colocadas sob alto vácuo, para se produzir o composto (G), que foi caracterizado por LC/MS (LRMS(MH) m/z : 346,1).

Síntese de (H)

N-Boc-fenilalanina-cetoepóxido (140 mg, 0,46 mmol) foi diluído com DCM (2 mL) e arrefecido a 0 °C. A esta solução foi adicionado ácido trifluoracético (6 mL). O banho de arrefecimento foi removido e a mistura reativa foi agitada por 1 hora, após o que a TLC mostrou o consumo total do material de partida. A solução resultante foi concentrada a pressão reduzida e colocada sob alto vácuo, para se produzir o sal de TFA do composto (H).

Síntese do composto (I)

A uma solução, a 0 °C, dos compostos referidos acima (H) (131 mg, 0,38 mmol) e (J) (0,46 mmol), HOBT (75 mg, 0,48 mmol) e HBTU (171 mg, 0,48 mmol) em tetrahidrofurano (20 mL) e *N,N*-dimetilformamida (10 mL), foi adicionada gota a gota *N,N*-dietilisopropilamina (1 mL). A mistura foi agitada à mesma temperatura por mais 5 horas. Em seguida foi abafada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (20 mL), e a maior parte dos solventes foi removida a pressão reduzida. A mistura residual foi extraída em

seguida com acetato de etilo (3 × 40 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e salmoura (10 mL), foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas através de Celite-545. Os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi purificado por HPLC (acetato de amônio aquoso 0,02 M e acetonitrilo (66/34)), para produzir o composto **1** (92 mg), que foi liofilizado e caracterizado por LC/MS (LRMS (MH) m/z : 533,2).

Exemplo 2

O composto **1** amorfo (50 mg) foi dissolvido em acetonitrilo (1 mL), em seguida foi adicionada água desionizada (2 mL), e a solução foi levada à sobressaturação por evaporação lenta de 1 mL durante cerca de 1-2 semanas. Os cristais resultantes foram filtrados, lavados com 1 mL de acetonitrilo-água e secos sob vácuo durante 12 horas, para se obter um polimorfo cristalino do composto **1** (25 mg) com um ponto de fusão de 148 °C. A curva característica de DSC da amostra está representada na Figura 1, tal como foi registada num calorímetro de varrimento diferencial 2920 de TA Instruments, a uma velocidade de aquecimento de 10 °C/minuto.

Exemplo 3

O composto **1** amorfo (611 mg) foi dissolvido em tetrahidrofurano (5 mL), seguido da adição de hexanos (5 mL), e a solução foi semeada com o composto **1** polimorfo cristalino, como foi preparado no exemplo 2, e a solução foi levada à sobressaturação por evaporação lenta de 5 mL, durante cerca de 17 horas. Os cristais resultantes foram

filtrados, lavados com 1 mL de tetrahidrofurano:hexanos 1:1 e secos sob vácuo durante 12 horas, para fornecer um polimorfo cristalino do composto **1** (150 mg) com um ponto de fusão de 147 °C.

Exemplo 4

O composto **1** amorfo (176 mg) foi dissolvido em tetrahidrofurano (5 mL), e em seguida foi adicionado tolueno (25 mL). A solução foi semeada com o composto **1** polimorfo cristalino, como foi preparado no exemplo 2, e a solução foi levada à sobressaturação por evaporação lenta de 20 mL, durante cerca de 2 dias. Os cristais resultantes foram filtrados, lavados com 15 mL de tolueno e secos sob vácuo durante 12 horas, para fornecer um polimorfo cristalino do composto **1** (88 mg) com um ponto de fusão de 149 °C.

Exemplo 5

O composto **1** amorfo (312 mg) foi dissolvido em tolueno (50 mL), foi aquecido a cerca de 100 °C para completar a dissolução, em seguida foram adicionados hexanos (50 mL) e a solução foi semeada com o composto **1** polimorfo cristalino, como foi preparado no exemplo 2, e a solução foi levada à sobressaturação por evaporação lenta de 60 mL, durante cerca de 2 dias. Os cristais resultantes foram filtrados, lavados com 10 mL de tolueno e secos sob vácuo durante 12 horas, para fornecer um polimorfo cristalino do composto **1** (156 mg) com um ponto de fusão de 149 °C.

Exemplo 6

O composto **1** amorfo (1,4 g) foi dissolvido em tolueno (25 mL), foi aquecido a cerca de 70 °C para completar a dissolução, em seguida foi levada à sobressaturação por arrefecimento a 22 °C e deixou-se o composto cristalizar durante 12 horas. Os cristais resultantes foram filtrados, lavados com 5 mL de hexanos e secos sob vácuo durante 12 horas, para fornecer um polimorfo cristalino do composto **1** (0,94 mg) com um ponto de fusão de 149 °C.

*Exemplo 7**Síntese do composto 1**Síntese de (H)*

N-Boc-fenilalanina-cetoepóxido (1,0 equivalentes) foi dissolvida em DCM (3 L/kg de N-Boc-fenilalanina-cetoepóxido) num balão de fundo redondo com 3 tubuladuras, sob atmosfera inerte, e a solução foi arrefecida em banho de gelo. Em seguida foi adicionado TFA (5,0 equivalentes) com um débito suficiente para manter a temperatura interna abaixo dos 10 °C. A mistura reativa foi em seguida aquecida a aproximadamente 20 °C e agitada durante 1 a 3 horas. Foi depois adicionado à mistura reativa MTBE (3,6 L/kg de N-Boc-fenilalanina-cetoepóxido), mantendo-se ao mesmo tempo a temperatura abaixo de 25 °C. Foi depois adicionado heptano (26,4 L/kg de N-Boc-fenilalanina-cetoepóxido) e a mistura reativa foi arrefecida a uma temperatura entre -5 e 0 °C durante 2 a 3 horas, para permitir a cristalização do composto (H). O sólido branco foi filtrado e lavado com heptano (3 L/kg de N-Boc-fenilalanina-cetoepóxido). O

sólido branco foi em seguida seco durante 12 horas a 22 °C. O rendimento obtido foi de 86%, com pureza de 99,4% por HPLC.

Síntese do composto 1

O composto (H) (1,2 equivalentes), o composto (G) (1,0 equivalentes), HBTU (1,2 equivalentes), HOBT (1,2 equivalentes) e N-metil-pirrolidona (8 L/kg do composto (G)) foram adicionados a um balão seco, sob atmosfera inerte, e a mistura foi agitada a 23 °C para se completar a dissolução. A mistura reativa foi depois arrefecida a uma temperatura entre -5 e 0 °C, e foi adicionada diisopropil-etilamina (2,1 equivalentes) durante 15 minutos, mantendo-se ao mesmo tempo uma temperatura de reação interna de menos de 0 °C. A mistura reativa foi agitada a 0 °C durante 12 horas.

O composto **1** bruto foi precipitado vertendo-se a mistura reativa sobre bicarbonato de sódio a 8% (40 L/kg do composto (G)) e a suspensão do composto **1** bruto foi agitada durante 12 horas a 20 até 25 °C, seguido por agitação a 0 até 5 °C durante 1 hora. O sólido branco foi filtrado e lavado com água (5 L/kg do composto (G)). O sólido branco foi depois posto de novo na forma de suspensão em água (15 L/kg) durante 3 horas, a 20 até 25 °C, filtrado e lavado com água (5 l/kg do composto (G)) e acetato de isopropilo (2 × 2 L/kg do composto (G)). O sólido branco foi seco sob vácuo, a 45 °C, até peso constante. O rendimento de composto **1** foi de 65%, com pureza por HPLC de 97,2%.

O composto **1** bruto foi dissolvido completamente em acetato de isopropilo (20 L/kg de composto **1** bruto) por agitação e

aquecimento a 85 °C. A solução foi depois filtrada a quente para remover qualquer matéria granular, e a solução foi reaquecida a 85 °C para formar uma solução límpida. Deixou-se arrefecer a solução límpida, a 10 °C por hora, até 65 °C, antes da adição dos cristais semente. Deixou-se arrefecer a solução, a 10 °C por hora, até 20 °C, quando ocorreu uma cristalização substancial do composto **1**. A suspensão foi agitada a 20 °C durante 6 horas, seguido de agitação a 0 até 5 °C durante um mínimo de 2 horas, e filtração e lavagem com acetato de isopropilo (1 L/kg de composto **1** bruto). O composto **1** purificado foi seco sob vácuo a 45 °C durante um mínimo de 24 horas, até peso constante. O rendimento de composto **1** foi de 87%, com pureza por HPLC de 97,2%.

Exemplo 8

Síntese do composto 1

O composto (H) (1,1 equivalentes), o composto (G) (1,0 equivalentes), HBTU (1,5 equivalentes), HOBT (1,5 equivalentes) e DMF (8 L/kg do composto (G)) foram adicionados a um balão seco, sob atmosfera inerte, e a mistura foi agitada a 23 °C para completar a dissolução. A mistura reativa foi depois arrefecida até uma temperatura entre -5 e 0 °C, e foi adicionada diisopropiletilamina (2,1 equivalentes), durante 15 minutos, mantendo-se ao mesmo tempo uma temperatura de reação interna de menos de 0 °C. A mistura reativa foi depois agitada a 0 °C durante 3 horas.

A mistura reativa foi abafada por adição de bicarbonato de sódio saturado, previamente arrefecido (94 L/kg do composto (G)), mantendo-se ao mesmo tempo uma temperatura de reação

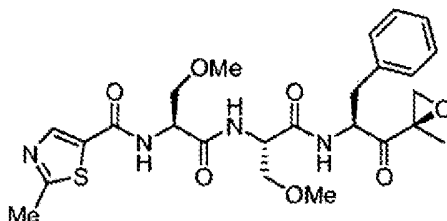
interna de menos de 10 °C. O conteúdo foi então transferido para uma ampola de separação. A mistura foi extraída com acetato de etilo (24 L/kg do composto (G)), e a fase orgânica foi lavada com bicarbonato de sódio saturado (12 L/kg do composto (G)) e com cloreto de sódio saturado (12 L/kg do composto (G)).

A fase orgânica foi concentrada, a pressão reduzida, com uma temperatura de banho de menos de 30 °C, até 15 L/kg do composto (G), seguido por codestilação com acetato de isopropilo (2 × 24 L/kg de PR-022). O volume final foi ajustado para 82 L/kg do composto (G) com acetato de isopropilo, antes de se aquecer a 60 °C para se obter uma solução límpida. Deixou-se arrefecer até 50 °C a mistura da solução límpida, antes de se adicionarem os cristais semente. Deixou-se arrefecer a solução até 20 °C, quando ocorreu uma cristalização substancial do composto **1**. A suspensão foi agitada a 0 °C durante 12 horas, antes da filtração e lavagem com acetato de isopropilo (2 L/kg do composto **1**). O composto **1** foi seco sob vácuo a 20 °C durante 12 horas, até peso constante. O rendimento do composto **1** foi de 48%, com uma pureza por HPLC de 97,4%.

Lisboa, 27 de outubro de 2014

REIVINDICAÇÕES

1. Composto cristalino, possuindo uma estrutura de fórmula (II)



(II)

2. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 1, possuindo um ponto de fusão de 140 a 155 °C.
3. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 2, possuindo um ponto de fusão de 145 a 150 °C.
4. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 1, possuindo valores 2θ 8,94; 9,39; 9,76; 10,60; 11,09; 12,74; 15,27; 17,74; 18,96; 20,58; 20,88; 21,58; 21,78; 22,25; 22,80; 24,25; 24,66; 26,04; 26,44; 28,32; 28,96; 29,65; 30,22; 30,46; 30,78; 32,17; 33,65; 34,49; 35,08; 35,33; 37,85; 38,48.
5. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento do cancro.
6. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 5, em que o cancro é selecionado do grupo que consiste em: cancros hematológicos, macroglobulinemia de

Waldenström, mieloma múltiplo, linfoma de célula B difusa, linfoma da célula do manto, cancro pancreático e cancro do pulmão.

7. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 6, em que o cancro é o mieloma múltiplo.
8. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma doença autoimune.
9. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 8, em que a doença autoimune é selecionada no grupo que consiste em lupus, artrite reumatoide, e apresentação antigene.
10. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de um enxerto ou numa patologia relacionada com um transplante.
11. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 10, em que o enxerto ou a patologia relacionada com um implante é uma doença enxerto-contra-hospedeiro.
12. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma doença neurodegenerativa.
13. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma inflamação.

14. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma patologia associada a fibrótica.
15. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma patologia relacionada com isquemia.
16. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 15, em que a patologia relacionada com isquemia é uma insuficiência cardíaca.
17. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma infeção.
18. Composto cristalino de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, para utilização no tratamento de uma doença associada a perda de tecido ósseo.
19. Composto cristalino de acordo com a reivindicação 18, em que a doença associada à perda de tecido ósseo é a osteoporose.

Lisboa, 27 de outubro de 2014

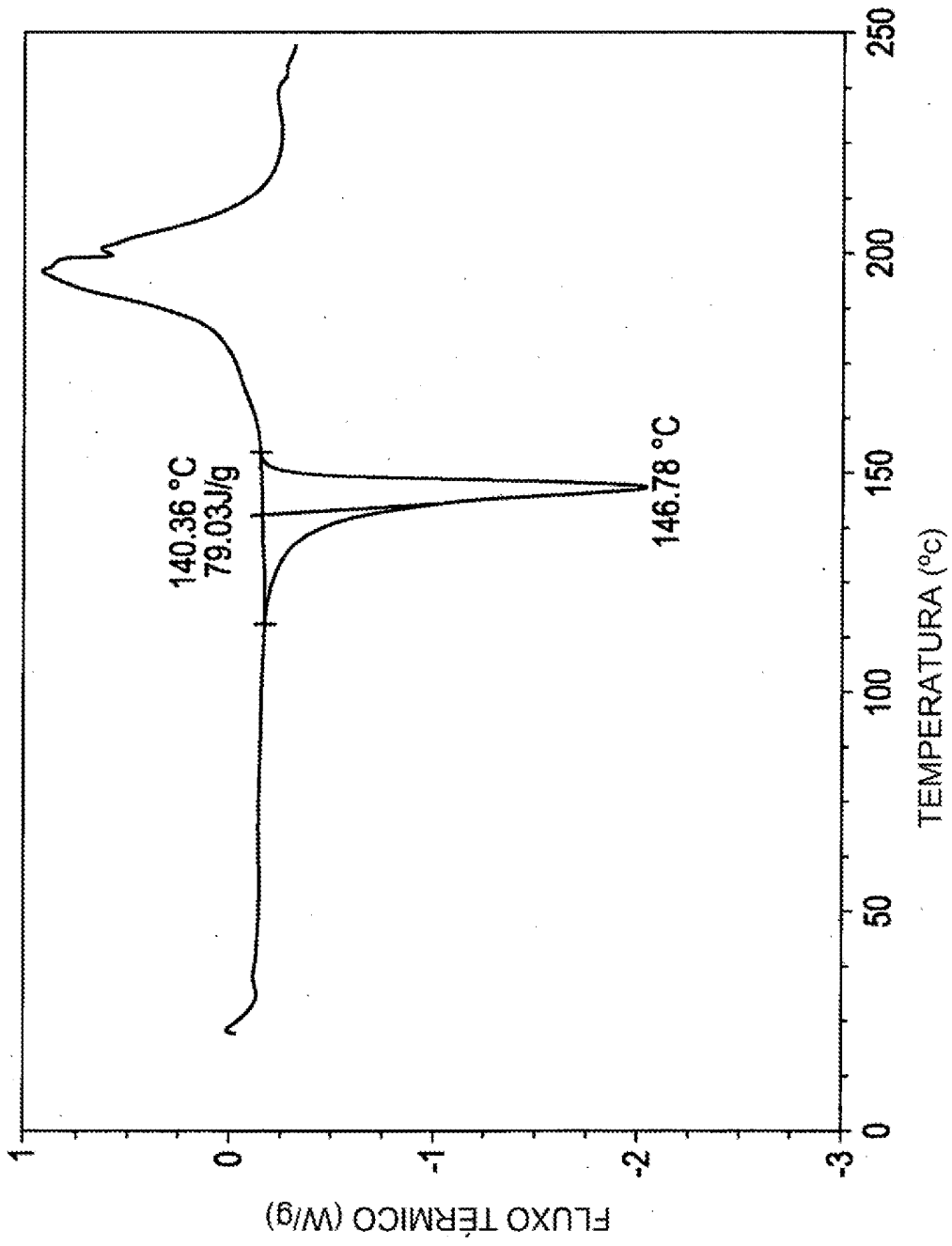


FIGURA 1

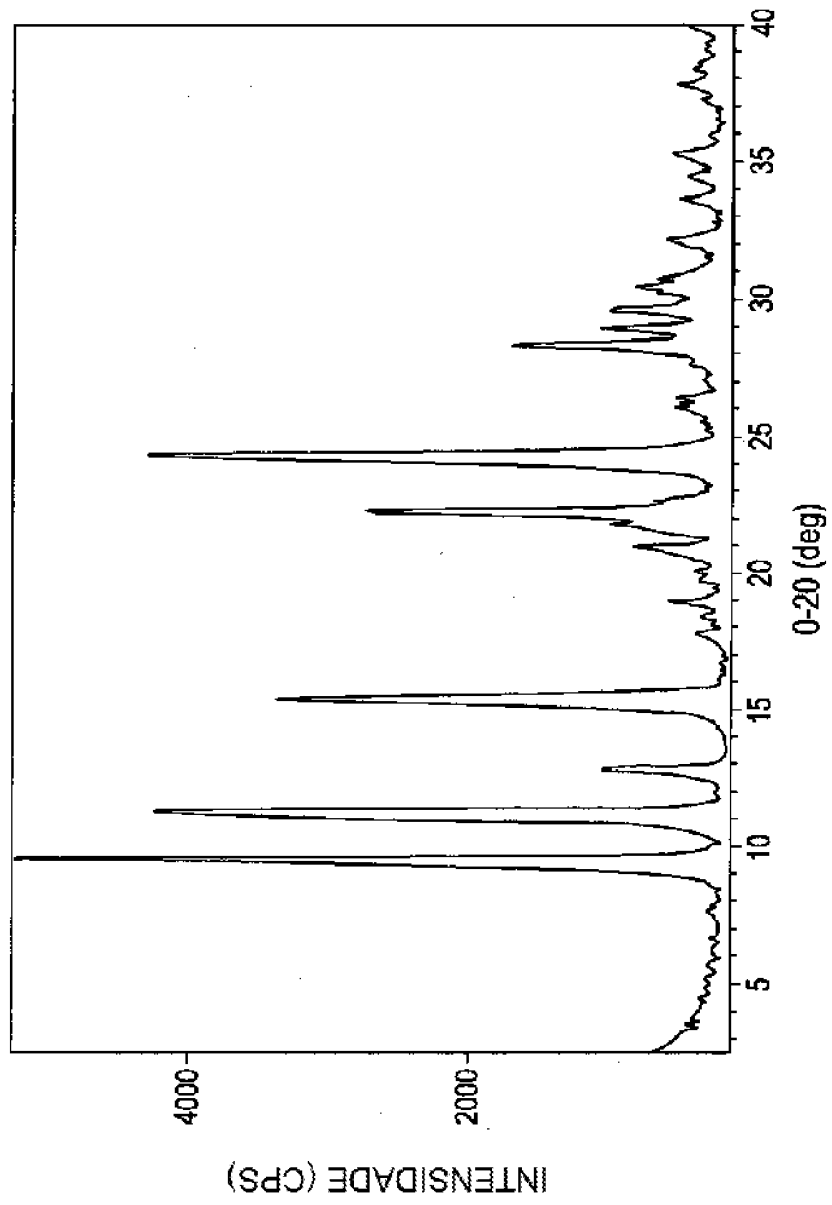


FIGURA 2

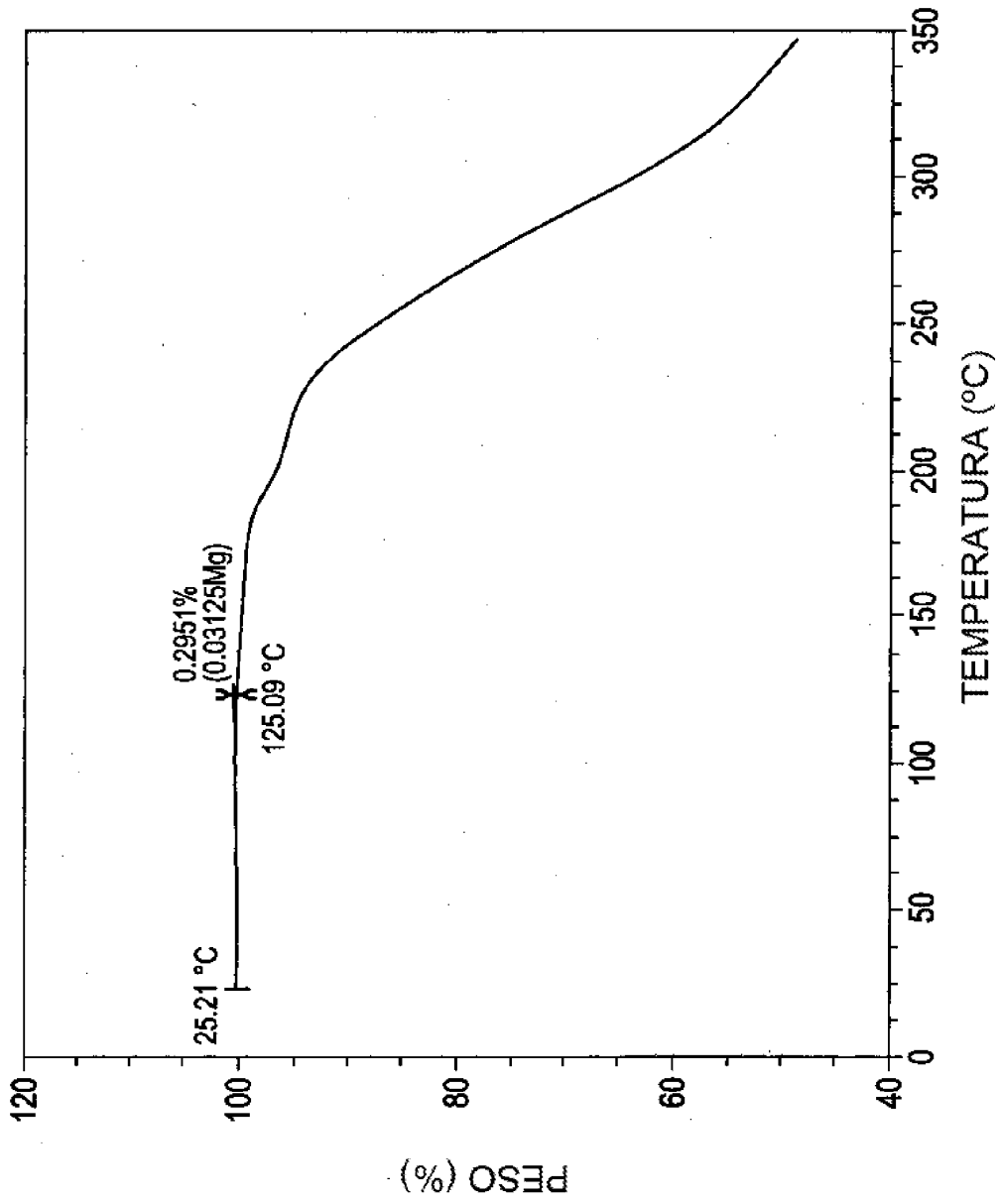


FIGURA 3

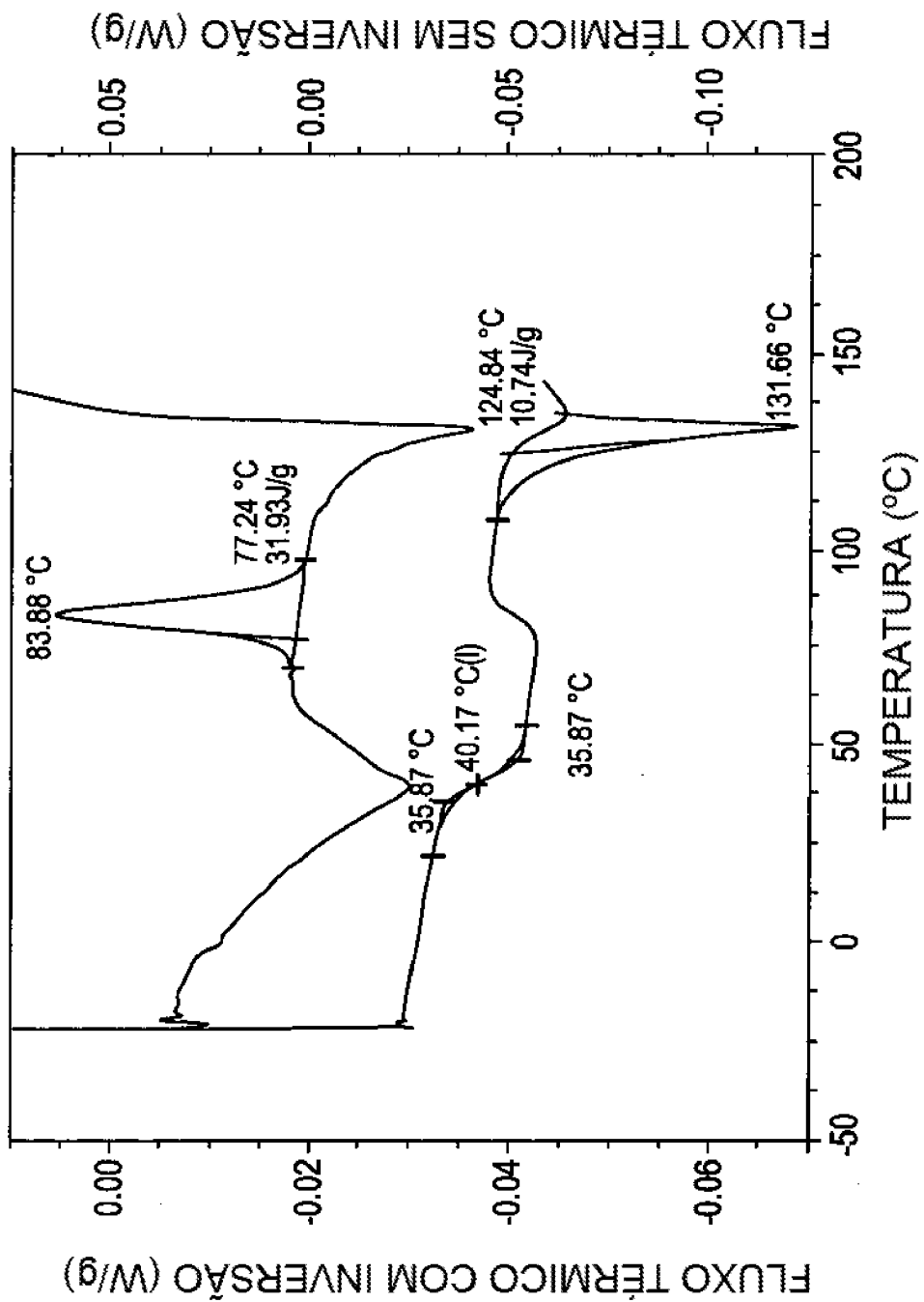


FIGURA 4

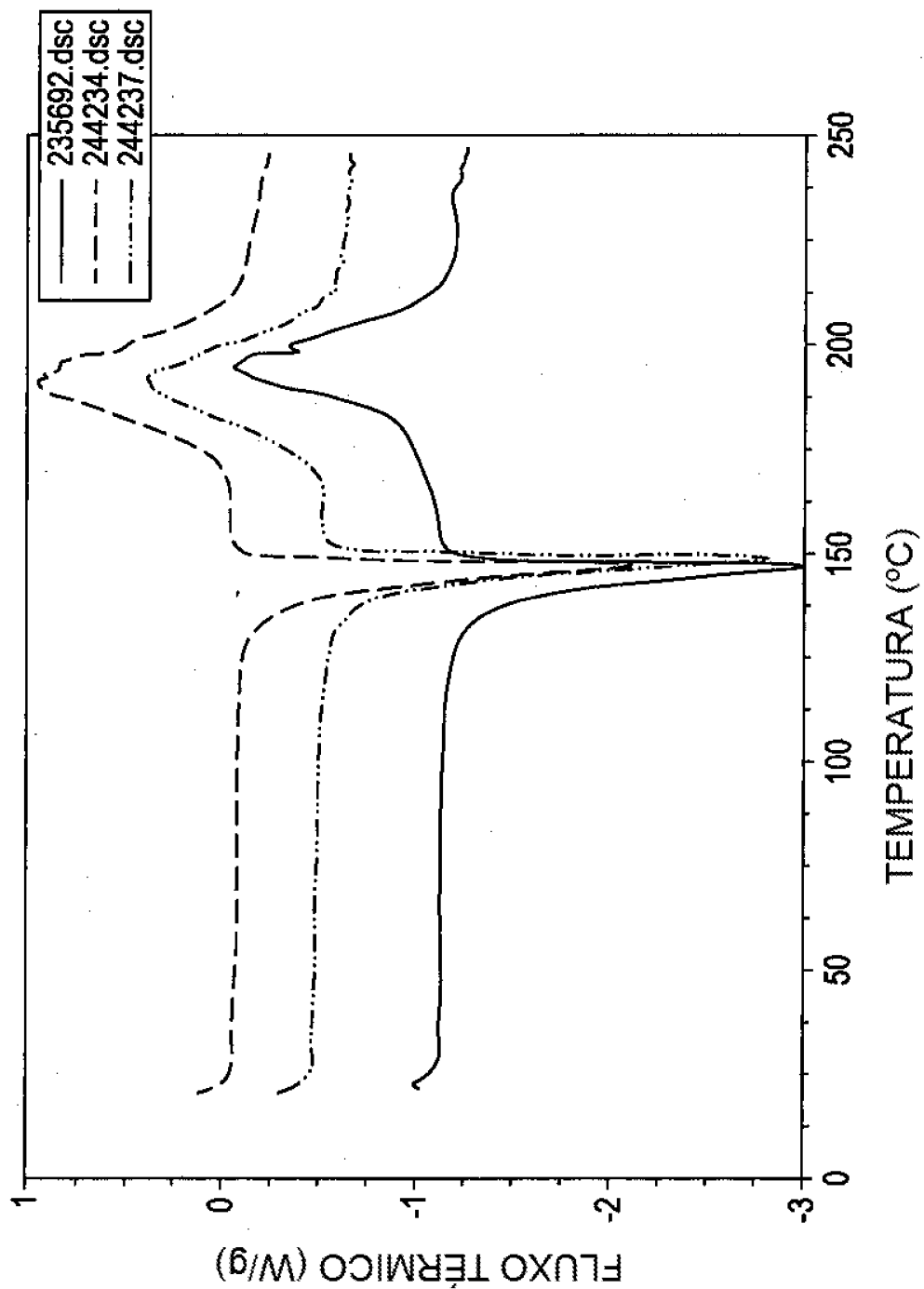


FIGURA 5

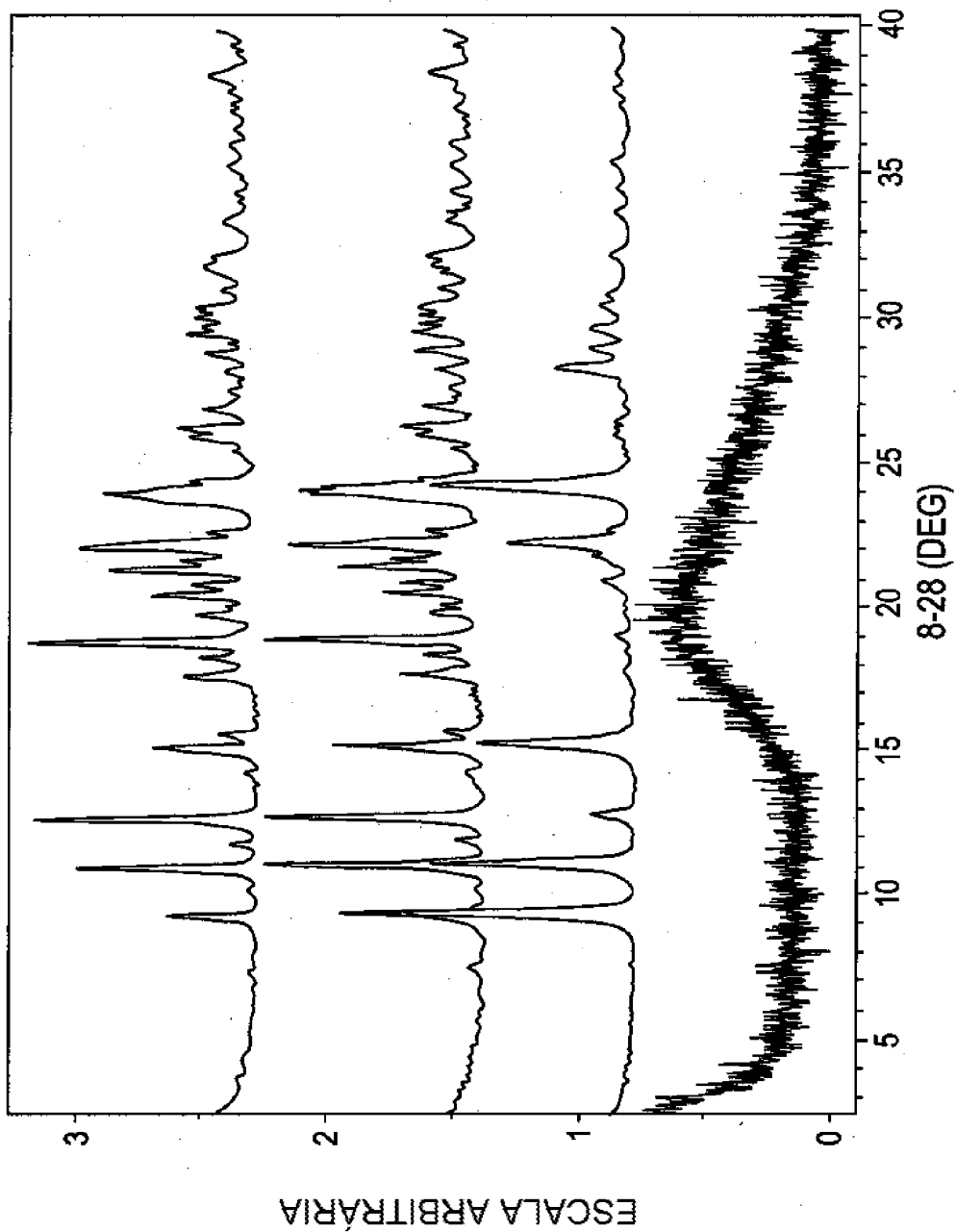


FIGURA 6

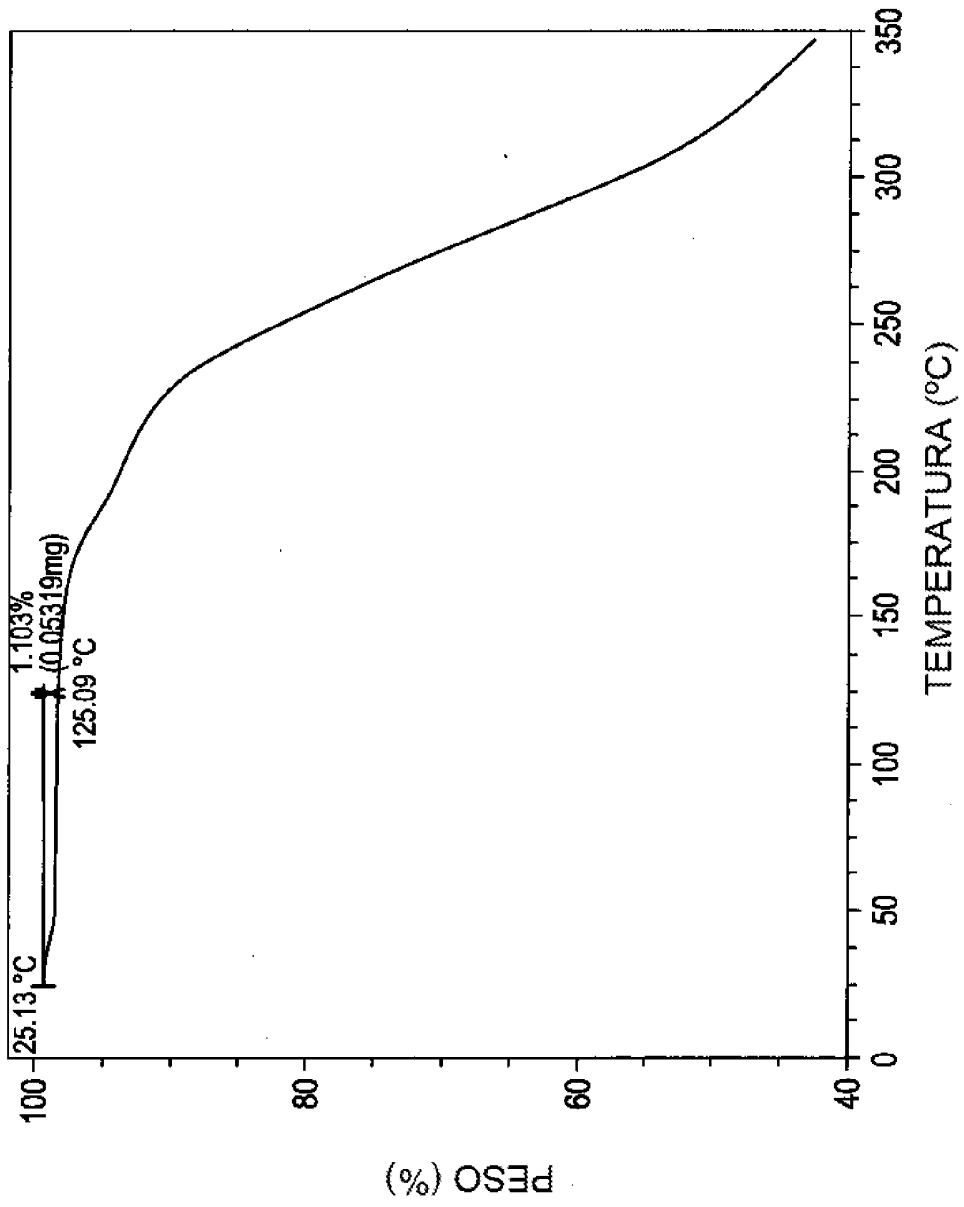


FIGURA 7