



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0916862-1 B1



(22) Data do Depósito: 24/07/2009

(45) Data de Concessão: 11/08/2020

(54) Título: COMPOSTOS ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS DEGENERATIVAS E INFLAMATÓRIAS

(51) Int.Cl.: C07D 471/04; A61K 31/437; A61P 19/02.

(30) Prioridade Unionista: 25/07/2008 US 61/135,920; 26/06/2009 US 61/220,685.

(73) Titular(es): GALAPAGOS N.V..

(72) Inventor(es): CHRISTEL JEANNE MARIE MENET; JAVIER BLANC.

(86) Pedido PCT: PCT EP2009059605 de 24/07/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/010191 de 28/01/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 25/01/2011

(57) Resumo: COMPOSTOS ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS DEGENERATIVAS E INFLAMATÓRIAS, SEU USO, BEM COMO COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA A presente invenção refere-se a um composto de [1,2,4]triazolo [1,5-a]piridina é descrito que tem uma fórmula representada pela fórmula (I) . Este composto pode ser preparado como uma composição farmacêutica, e pode ser usado para a prevenção e tratamento de uma variedade de condições em mamíferos incluindo humanos, incluindo por meio de exemplo não limitante, doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão) e doenças proliferativas.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**"COMPOSTOS ÚTEIS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS
DEGENERATIVAS E INFLAMATÓRIAS, SEU USO, BEM COMO
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA".**

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção refere-se a compostos que são inibidores de JAK, uma família de tirosina cinases que são envolvidos na modulação do desgaste da cartilagem, degeneração de articulação e doenças envolvendo tal degradação e/ou inflamação. A presente invenção também fornece métodos para a produção destes compostos, composições farmacêuticas compreendendo destes compostos, métodos para a prevenção e/ou tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, estados de doença regulados por endotoxina, doenças envolvendo o comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6, doenças proliferativas e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão); e/ou métodos para a prevenção e/ou tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste da articulação e/ou inflamação administrando-se um composto da invenção.

[0002] Janus cinases (JAKs) são tirosina cinases citoplásmicas que transduzem a sinalização dos receptores de membrana para fatores de transcrição de STAT. Quatro membros da família JAK são descritos, JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2. Na ligação da citocina ao seu receptor, os membros da família JAK auto- e/ou transfosforilam-se entre si, seguidos por fosforilação de STATs que em seguida migram-se para o núcleo para modular a transcrição. A transdução de sinal

intracelular de JAK-STAT funciona como os interferons, na maioria das vezes interleucinas, bem como uma variedade de citocinas e fatores endócrinos tais como EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF, PRL Vainchenker W. e outros, (2008).

[0003] A combinação de modelos genéticos de pesquisa de inibidor de JAK de molécula pequena revelou o potencial terapêutico de diversas JAKs. JAK3 é validada por genéticas de camundongo e humanas como um alvo de imunossupressão (O'Shea J. e outros, (2004)). Os inibidores JAK3 foram de forma sucedida abrangidas pelo desenvolvimento clínico, inicialmente para rejeição de transplante de órgão, porém posteriormente também em outras indicações imuno-inflamatórias tais como artrite remautoide (RA), psoríase e doença de Crohn (<http://clinicaltrials.gov/>).

[0004] TYK2 é um alvo potencial para doenças imuno-inflamatórias, sendo validado por estudos de camundongo de nocaute e genéticas humanas e (Levy D. e Loomis C. (2007)).

[0005] JAK1 é um novo alvo na área de doença imuno-inflamatória. JAK1 heterodimeriza-se com outra JAKs para transduzir a sinalização pró-inflamatória regulada por citocina. Portanto, a inibição de JAK1 e/ou outras JAKs é esperada ser de benefício terapêutico para uma faixa de condições inflamatórias bem como para outras doenças reguladas por transdução de sinal mediada por JACK.

Antecedentes da Invenção

[0006] Cartilagem é um tecido avascular do qual condrócitos são o principal componente celular. Os condrócitos na cartilagem normal ocupam aproximadamente 5% do volume de tecido, enquanto a matriz extracelular compõe os 95% restantes do tecido. Os condrócitos secretam os componentes da matriz, principalmente proteoglicanos e colágenos, que por sua vez supri os condrócitos com um ambiente adequado para sua sobrevivência sob o estresse mecânico. Na

cartilagem, o colágeno tipo II, juntamente com a proteína colágeno tipo IX, é disposto em estruturas similares à fibrila sólida que fornecem cartilagem com maior resistência mecânica. Os proteoglicanos podem absorver água e são responsáveis pelas propriedades de absorção de choque e elásticas da cartilagem.

[0007] Um dos papéis funcionais de cartilagem na articulação é deixar os ossos articularem-se uns sobre os outros suavemente. A perda da cartilagem articular, portanto, causa os ossos roçarem-se uns contra os outros induzindo à dor e perda de mobilidade. O desgaste da cartilagem pode ter várias causas. Em artrites inflamatórias, como artrite reumatoide, por exemplo, a desgaste da cartilagem é causada pela secreção de proteases (por exemplo, collagenases) por tecidos inflamados (a sinóvia inflamada, por exemplo). O desgaste da cartilagem pode também ser o resultado de uma lesão da cartilagem, devido a um acidente ou cirurgia, ou carga exagerada ou 'deterioração e desgaste'. A capacidade do tecido da cartilagem de regenerar-se após tais insultos é limitada. Condrócitos na cartilagem lesionada frequentemente exibe atividade de sintetização de cartilagem reduzida (anabólica) e/ou atividade de desgaste da cartilagem aumentada (catabólica).

[0008] A degeneração de cartilagem é a indicação de várias doenças, entre as quais artrite reumatoide e osteoartrite são as mais proeminentes. Artrite reumatoide (RA) é uma doença degenerativa da articulação crônica, caracterizada inflamação e destruição das estruturas da articulação. Quando a doença não é controlada, ela induz à incapacidade substancial e dor devido à perda de funcionalidade da articulação e ainda morte prematura. O objetivo de uma terapia de RA, portanto, não é apenas reduzir a doença, porém atingir a remissão a fim de interromper a destruição da cartilagem. Além da gravidade do resultado da doença, a prevalência elevada de RA (~

0,8% dos adultos é afetado no mundo inteiro) significa um impacto socioeconômico elevado. (Para revisões sobre RA, referimos-nos a Smolen e Steiner (2003); Lee e Weinblatt (2001); Choy e Panayi (2001); O'Dell (2004) e Firestein (2003)).

[0009] Osteoartrite (também referida como OA, ou artrite de deterioração e desgaste) é a forma mais comum de artrite e é caracterizada pela perda da cartilagem articular, frequentemente associada com hipertrofia do osso e dor. A doença principalmente afeta mãos e articulações que suportam peso tais como joelhos, quadris e espinhas dorsais. Este processo reduz a cartilagem. Quando a área da superfície desaparecer devido à redução, uma osteoartrite de grau I será obtida; quando a área de superfície tangencial desaparecer, uma osteoartrite de grau II será obtida. Existem também níveis de degeneração e destruição, que afetam a camadas de cartilagem profundas e calcificadas que formam fronteiras com o osso subcondral. Para uma revisão extensiva sobre osteoartrite, referimo-nos a Wieland e outros, 2005.

[00010] As manifestações clínicas do desenvolvimento da condição de osteoartrite são: volume aumentado da articulação, dor, crepitação e incapacidade funcional que induz à dor e mobilidade reduzida das articulações. Quando a doença também se desenvolve, dor surge. Se a condição persisti sem correção e/ou terapia, a articulação será destruída induzindo à incapacidade. A cirurgia de substituição com prótese total é então requerida.

[00011] Métodos terapêuticos para a correção das lesões da cartilagem articular que aparecem durante a doença osteoartrítica foram desenvolvidos, porém até agora nenhum deles foi capaz de mediar a regeneração de cartilagem articular *in situ* e *in vivo*.

[00012] Osteoartrite é difícil de tratar. Atualmente, nenhuma cura está disponível e o tratamento foca-se no alívio da dor e prevenção da

articulação afetada de tornar-se deformada. Tratamentos comuns incluem o uso de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDs). Embora os suplementos dietéticos tais como condroitina e sulfato de glicosamina tenham sido defendidos como opções seguras e eficazes para o tratamento de osteoartrite, um teste clínico recente revelou que ambos os tratamentos não reduziram a dor associada com a osteoartrite. (Clegg e outros, 2006). Ao mesmo tempo, nenhum fármaco osteoartítico modificador da doença está disponível.

[00013] Em diversos casos, a substituição da articulação pode ser necessária. Isto é especialmente real para os quadris e joelhos. Se uma articulação for extremamente dolorosa e não puder ser substituída, ela poderá ser fundida. Este procedimento interrompe a dor, porém resulta na perda permanente da função da articulação, tornando a caminhada e curvatura difícil.

[00014] Outro tratamento possível é o transplante de condrócitos autólogos cultivados. Aqui, o material celular condral é tirado do paciente, enviado para um laboratório onde ele é ampliado. O material é em seguida implantado no tecido lesionado para revestir os defeitos do tecido.

[00015] Outro tratamento inclui uma instilação intra-articular de Hilan G-F 20 (por exemplo, Synvisc®, Hyalgan®, Artz®), um substrato que melhora temporariamente a reologia do fluido sinovial, produzindo uma sensação quase imediata de uma redução acentuada de dor.

[00016] Outros métodos reportados incluem a aplicação de enxertos tendinosos, periosteais, fasciais, musculares ou pericondrais; implante de fibrina ou condrócitos cultivados; implante de matrizes sintéticas, tais como colágeno, fibra de carbono; administração de campos eletromagnéticos. Todos estes tiveram efeitos mínimos e incompletos reportados, resultando em um tecido de má qualidade que nem suporta a carga pesada nem permite a restauração de uma

função articular com movimento normal.

[00017] A estimulação dos processos anabólicos, processos catabólicos de bloqueio, ou uma combinação destes dois, pode resultar na estabilização da cartilagem, e talvez ainda reversão da lesão e, portanto, prevenir outra progressão da doença. Vários gatilhos podem ativar a estimulação anabólica de condrócitos. O fator-I de crescimento similar à insulina (IGF-I) é o fator de crescimento anabólico predominante no fluido sinovial e estimula a síntese tanto de proteoglicanos quanto colágeno. Mostrou-se também que os membros da família da proteína morfogenética óssea (BMP), notavelmente BMP2, BMP4, BMP6, e BMP7, e os membros da família do fator β de crescimento transformador humano (TGF- β) podem induzir à estimulação anabólica de condrócito (Chubinskaya e Kuettner, 2003). Um composto foi Recentemente identificado que induz à estimulação anabólica de condrócitos (US 6.500.854; EP 1 391 211). Entretanto, a maioria destes compostos mostra efeitos colaterais severos e, conseqüentemente, existe uma forte necessidade de compostos que estimulem a diferenciação de condrócito sem estes efeitos colaterais.

[00018] Vandeghinste e outros, (WO 2005/124342) descobriram JAK1 como um alvo cuja inibição pode ter relevância terapêutica para diversas doenças incluindo OA. JAK1 pertence à família de Janus cinase (JAK) de tirosina cinases citoplásmicas, envolvidas na transdução de sinal intracelular mediada por receptor de citocina. A família de JAK consiste em 4 membros: JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2. As JAKs são recrutadas por receptores de citocina, na ligação da citocina, seguida por heterodimerização do receptor de citocina e uma subunidade receptora compartilhada (cadeia gama-c comum, gp 130). As JAKs são em seguida ativadas por auto e/ou transfosforilação por outra JAK, resultando em fosforilação dos receptores e recrutamento e fosforilação de membros do transdutor de sinal e ativador de

transcrição (STATs). Os STATs fosforilados dimerizam e translocam-se para o núcleo onde eles se ligam às regiões realçadoras de genes responsivos à citocina. O nocaute do gene de JAK1 e camundongos demonstrou que JAK1 desempenha papéis essenciais e não redundantes durante o desenvolvimento: Camundongos de JAK1^{-/-} morreram dentro de 24 horas após o nascimento e o desenvolvimento de linfócito foi gravemente prejudicado. Além disso, as células de JAK1^{-/-} não foram, ou foram menos, reativas às citocinas que usam receptores de citocina de classe II, receptores de citocina que usam a subunidade gama-c para sinalização e a família de receptores de citocina que usam a subunidade gp 130 para sinalização (Rodig e outros, 1998).

[00019] Vários grupos implicaram a sinalização de JAK-STAT em biologia de condrócito. Li e outros, (2001) mostraram que Oncostatina M induz a expressão de gene de MMP e TIMP3 em condrócitos primários por ativação de séries de reações de sinalização de JAK/STAT e MAPK. Osaki e outros, (2003) mostraram que a inibição mediada por interferon-gama de colágeno II em condrócitos envolve a sinalização de JAK-STAT. IL1-beta induz ao catabolismo de cartilagem reduzindo a expressão de componentes matrizes, e induzindo a expressão de collagenases e sintase de óxido nítrico induzível (NOS2), que media a produção de óxido nítrico (NO). Otero e outros, (2005) mostraram que leptina e IL1-beta sinergisticamente induziram a produção de NO ou expressão de mRNA de NOS2 em condrócitos, e que foi bloqueada por um inibidor de JAK. Legendre e outros, (2003) mostraram que IL6/receptor de IL6 induziu a sub-regulação de colágeno II de genes matrizes específicos de cartilagem, núcleo de agrecano e proteína de ligação, e que isto foi mediado por sinalização de JAK/STAT. Portanto, estas observações sugerem um papel para a atividade de JAK Cinase na homeostase da cartilagem e

oportunidades terapêuticas para os inibidores de JAK Cinase.

[00020] Os membros da família de JAK foram implicados em condições adicionais incluindo distúrbios mieloproliferativos (O'Sullivan e outros, 2007, *Mol Immunol.* 44(10):2497-506), onde mutações em JAK2 foram identificadas. Isto indica que os inibidores de JAK, em particular JAK2, também ser de uso no tratamento de distúrbios mieloproliferativos. Adicionalmente, a família de JAK, em particular JAK1, JAK2 e JAK3, foi ligada a cânceres, em particular leucemias, por exemplo, leucemia mieloide aguda (O'Sullivan e outros, 2007, *Mol Immunol.* 44(10):2497-506; Xiang e outros, 2008, "Identification of somatic JAK1 mutations in patients with acute myeloid leukemia" *Blood First Edition Paper*, pré-publicado *online* em 26 de Dezembro de 2007; DOI 10.1182/blood-2007-05-090308) e leucemia linfoblástica aguda (Mullighan e outros, 2009) ou tumores sólidos, por exemplo, leiomiossarcoma uterino (Constantinescu e outros, 2007, *Trends in Biochemical Sciences* 33(3): 122-131), câncer de próstata (Tarn e outros, 2007, *British Journal of Cancer*, 97, 378 - 383). Estes resultados indicam que os inibidores de JAK, em particular de JAK1 e/ou JAK2, podem também ter utilidade no tratamento de cânceres (leucemias e tumores sólidos, por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata).

[00021] Além disso, doença de Castleman, mieloma múltiplo, glomerulonefrite proliferativa mesangial, psoríase, e sarcoma de Kaposi são igualmente devido à hipersecreção da citocina IL-6, cujos efeitos biológicos são mediados por sinalização de JAK-STAT intracelular (Tetsuji Naka, Norihiro Nishimoto e Tadimitsu Kishimoto, *Arthritis Res* 2002, 4 (suplemento 3): S233-S242). Este resultado mostra que o inibidor de JAK, pode também encontrar utilidade no tratamento das referidas doenças.

[00022] Uma ligação com doenças autoimunes foi estabelecida

para JAK3 e Tyk2. Mutações em JAK3, porém também na cadeia receptora de gama-c de componentes de sinalização a montante e receptor de IL7 calculadas em agregado para -70% de casos de imunodeficiência combinada severa humana (OShea e outros, 2004). Observe que JAK1 coopera com JAK3 em sinais de transdução da cadeia receptora de gama-c. Polimorfismos de Tyk2 são observados em lúpus eritematoso sistêmico (SLE) (O'Sullivan e outros, 2007, Mol Immunol. 44(10): 2497-506). Portanto, o alvejamento da família de JAK pode fornecer uma oportunidade terapêutica na área de imunoinflamação.

[00023] As terapias atuais não são satisfatórias e, portanto, permanece uma necessidade de identificar outros compostos que podem ser de uso no tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Os inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontram no tratamento de cânceres, especialmente leucemias e tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). A

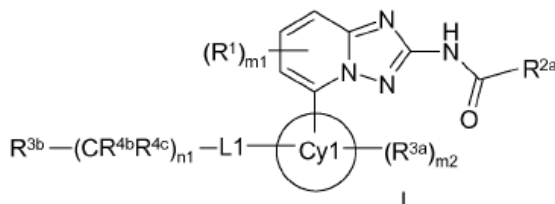
presente invenção, portanto, fornece compostos, métodos para sua fabricação e composições farmacêuticas que compreende um composto da invenção juntamente com um veículo farmacêutico adequado. A presente invenção também provê o uso de um composto da invenção na preparação de um medicamento para o tratamento de doenças degenerativas da articulação.

Sumário da Invenção

[00024] A presente invenção é baseada na descoberta de que os inibidores de JAK são úteis para o tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Os inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontram aplicação no tratamento de cânceres, especialmente leucemias e tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). A presente invenção também fornece métodos para a produção destes compostos, composições farmacêuticas compreendendo estes compostos e métodos para o tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste da articulação e/ou inflamação

administrando-se um composto da invenção.

[00025] Consequentemente, em um primeiro aspecto da invenção, compostos de 1,2,4-triazolo[1,5-a]piridina são descritos tendo uma fórmula (I):



em que

Cy1 é selecionado de arila e heteroarila;

L1 é selecionado de uma ligação simples, -O-, -C(O)-, -C[=N(R⁴ᵃ)]-, -N(R⁴ᵃ)-, -CON(R⁴ᵃ)-, -SO₂N(R⁴ᵃ)-, -S(O)₂-, -N(R⁴ᵃ)CO-, ou -N(R⁴ᵃ)SO₂-; cada R¹ é independentemente selecionado de C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ alquila substituída, acila, acila substituída, acilamino substituído ou não substituído, C₁-C₆ alcóxi substituído ou não substituído, amido substituído ou não substituído, amino substituído ou não substituído, sulfinila substituída, sulfonila substituída, aminossulfonila substituída ou não substituída, ácido sulfônico, éster de ácido sulfônico, carbóxi, ciano, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, halo, e hidroxila;

cada R³ᵃ é independentemente selecionado de C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ alquila substituída, acila, acila substituída, acilamino substituído ou não substituído, C₁-C₆ alcóxi substituído ou não substituído, amido substituído ou não substituído, alcóxicarbonila, alcóxicarbonila substituída, arilalquilóxi, arilalquilóxi substituído, amino substituído ou não substituído, arila, arila substituída, arilalquila, sulfanila substituída, sulfinila substituída, sulfonila substituída, aminossulfonila substituída ou não substituída, ácido sulfônico, éster de ácido sulfônico, azido, carbóxi, ciano, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou

não substituída, halo, heteroarila substituída ou não substituída, hidroxila, nitro, e tiol;

R^{2a} é selecionada de C_1-C_6 alquila substituída ou não substituída ou C_3-C_7 cicloalquila substituída ou não substituída;

R^{3b} é independentemente selecionado de arila substituída ou não substituída, C_3-C_7 cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída; ou R^{3b} é independentemente selecionado de $O-R^{3c}$, $CO-R^{3c}$, e $CON(R^{4a})-R^{3c}$; e R^{3c} é independentemente selecionado de arila substituída ou não substituída, C_3-C_7 cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída;

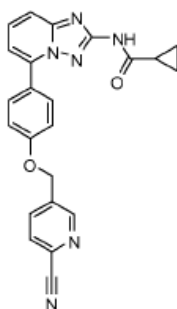
cada R^{4a} , R^{4b} e R^{4c} é independentemente selecionado de H, C_1-C_6 alquila, C_1-C_6 alquila substituída, C_3-C_7 cicloalquila, ou C_3-C_7 cicloalquila substituída;

m_1 é 0, 1, ou 2; m_2 é 0, 1, 2, ou 3; e n_1 é 0, 1, 2, 3, ou 4;

contanto que quando L1 for $-O-$, $-N(R^{4a})-$, $-CON(R^{4a})-$, ou $-SO_2N(R^{4a})-$, e R^{3b} for diferente de cicloalquila, arila ou heteroarila de 5 a 10 membros, em seguida n_1 seja 1, 2, 3, ou 4;

ou sais farmaceuticamente aceitáveis ou solvatos dos mesmos ou solvatos dos sais farmaceuticamente aceitáveis.

[00026] Em uma modalidade mais particular, o composto está de acordo com a fórmula VIa:



VIa

ou sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo ou um solvato do sal farmaceuticamente aceitável.

[00027] Em um outro aspecto, a presente invenção fornece composições farmacêuticas compreendendo um composto da invenção, e diluente, excipiente ou veículo farmacêutico. Neste aspecto da invenção, a composição farmacêutica pode compreender um ou mais dos compostos descritos aqui. Além disso, os compostos da presente invenção úteis nas composições farmacêuticas e métodos de tratamento descritos aqui, são todos farmaceuticamente aceitáveis quando preparados e usados.

[00028] Em um outro aspecto da invenção, esta invenção fornece um método de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com uma condição dentre aquelas listadas aqui, e particularmente, tal condição como pode ser associada com atividade de JAK anormal, por exemplo, doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Os inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontrar aplicação no tratamento de cânceres, especialmente leucemias e

tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). Em uma modalidade particular, a presente invenção fornece um método para o tratamento de condições selecionada de inflamação, tal como artrite reumatoide, artrite idiopática juvenil, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), doenças inflamatórias do intestino (por exemplo, doença de Crohn, colite), estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), e rejeição de transplante de órgão; e degradação ou degeneração da cartilagem, osso e/ou articulação, tal osteoartrite, cujo método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[00029] Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um método de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com distúrbios proliferativos em particular cânceres, (por exemplo, tumores sólidos), leucemias, mieloma múltiplo ou psoríase, cujo método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[00030] Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento ou prevenção de uma condição selecionada daquelas listadas aqui, particularmente tais condições como podem ser associadas com atividade de JAK anormal tais como doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou

estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Os inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontram aplicação no tratamento de cânceres, especialmente leucemias e tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). Em uma modalidade específica, a condição é selecionada de inflamação, tal como artrite reumatoide, artrite idiopática juvenil, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), doenças inflamatórias do intestino (por exemplo, doença de Crohn, colite), estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), e rejeição de transplante de órgão; e degradação ou degeneração da cartilagem, osso e/ou articulação, tal como osteoartrite.

[00031] Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento ou prevenção de distúrbios proliferativos, em particular cânceres, (por exemplo, tumores sólidos), leucemias, mieloma múltiplo ou psoríase.

[00032] Ainda em outro método de aspecto de tratamento, esta invenção fornece um método para o tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com uma condição que tem uma causa relacionada com a atividade de JAK anormal como descrito aqui, e compreende administrar uma quantidade de prevenção de condição ou tratamento de condição eficaz de uma ou mais das composições

farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[00033] Em um outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento ou prevenção de uma condição que tem uma causa relacionada com a atividade de JAK anormal.

[00034] Em aspectos adicionais, esta invenção fornece métodos para sintetizar os compostos da invenção, com protocolos sintéticos representativos e séries de reações descritas aqui a seguir.

[00035] Consequentemente, é um objetivo principal desta invenção fornecer uma nova série de compostos, que podem modificar a atividade de JAK e desse modo prevenir ou tratar quaisquer enfermidades que podem ser que têm uma causa relacionada à ela.

[00036] É também um objetivo desta invenção fornecer uma série de compostos que podem tratar ou melhorar enfermidades ou sintomas das mesmas, tais como degradação da cartilagem e/ou osso e inflamação relacionada, e doenças da articulação, que podem ter causa relacionada com a atividade de JAK.

[00037] Ainda um outro objetivo desta invenção é fornecer composições farmacêuticas que podem ser usadas no tratamento ou prevenção de uma variedade de estados de doença, incluindo as doenças associadas com atividade de JAK tal como doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de

cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontram aplicação no tratamento de cânceres, leucemias e tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). Em uma modalidade específica a condição é selecionada de inflamação, tal como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), e rejeição de transplante de órgão; e degradação ou degeneração da cartilagem, osso e/ou articulação, tal como osteoartrite ou cânceres (por exemplo, tumores sólidos ou leucemias).

[00038] Outros objetivos e vantagens tornar-se-ão evidentes para aqueles versados na técnica a partir de uma consideração da seguinte descrição detalhada.

Descrição Detalhada da Invenção

Definições

[00039] Os seguintes termos destinam-se a ter os significados apresentados neste momento abaixo e são úteis no entendimento da descrição e escopo pretendido da presente invenção.

[00040] Quando descrevendo a invenção, que pode incluir compostos, composições farmacêuticas contendo tais compostos e métodos de usar tais compostos e composições, os seguintes termos, se presentes, têm os seguintes significados a menos que de outro

modo indicado. Deve também ser entendido que quando descrita aqui qualquer uma das porções definidas a seguir abaixo pode ser substituída com uma variedade de substituintes, e que as respectivas definições destinam-se a incluir tais posições substituídas no seu escopo como estabelecido abaixo. A menos que de outro modo estabelecido, o termo "substituído" deve ser definido como estabelecido abaixo. Deve-se também ser entendido que os termos "grupos" e "radicais" podem ser considerados alternáveis quando usados aqui.

[00041] Os artigos "um, uma **(a)**" e "um, uma **(an)**" podem ser usados aqui para referir-se a um ou mais do que um (isto é, pelo menos um) dos objetos gramaticais do artigo. Por meio de exemplo "um análogo" significa um análogo ou mais do que um análogo.

[00042] 'Acila' ou 'Alcanoíla' refere-se a um radical $-C(O)R^{20}$, onde R^{20} é hidrogênio, C_1-C_8 alquila, C_3-C_{10} cicloalquila, C_3-C_{10} cicloalquilmetila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, arila, arilalquila, heteroarila ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros como definido aqui. Exemplos representativos incluem, porém não estão limitados à formila, acetila, ciclo-hexilcarbonila, ciclo-hexilmetilcarbonila, benzoíla e benzilcarbonila. Grupos 'acila' exemplares são $-C(O)H$, $-C(O)-C_1-C_8$ alquila, $-C(O)-(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ aril), $-C(O)-(CH_2)_t$ (heteroarila de 5 a 10 membros), cicloalquila), e $-C(O)-(CH_2)_t$ (heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4.

[00043] 'Acila substituída' ou 'alcanoíla substituída' refere-se a um radical $-C(O)R^{21}$, em que R^{21} é independentemente

- C_1-C_8 alquila, substituída com halo ou hidróxi; ou
- C_3-C_{10} cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C_6-C_{10} arila, arilalquila, heteroarila ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros, cada dos quais é substituído com C_1-C_4 alquila não

substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00044] 'Acilamino' refere-se a um radical -NR²²C(O)R²³, onde R²² é hidrogênio, C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, arilalquila, heteroarila ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros e R é hidrogênio, C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, arilalquila, heteroarila ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros, como definido aqui. 'Acilamino' exemplar inclui, porém não está limitado a formilamino, acetilamino, ciclo-hexilcarbonilamino, ciclo-hexilmetil- carbonilamino, benzoilamino e benzilcarbonilamino. Grupos 'acilamino' exemplares são -NR²¹ C(O)-C₁-C₈ alquila, -NR²¹ C(O)-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ aril), -NR²¹ C(O)-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -NR²¹ C(O)-(CH₂)_t (C₃-C₁₀ cicloalquil), e -NR²¹ C(O)-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4, cada R²¹ independentemente representa H ou C₁-C₈ alquila.

[00045] 'Acilamino substituído' refere-se a um radical -NR²⁴C(O)R²⁵, em que :

R²⁴ é independentemente

- H, C₁-C₈ alquila, substituída com halo ou hidróxi; ou
- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, arilalquila, heteroarila ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros, cada dos quais é substituído com C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi, não substituída C₁-C₄ haloalquila, não substituída C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi; e

R²⁵ é independentemente

- H, C₁-C₈ alquila, substituída com halo ou hidróxi; ou
- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros,

C₆-C₁₀ arila, arilalquila, heteroarila ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros, cada dos quais é substituído com C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidroxila; contanto que pelo menos um de R²⁴ e R²⁵ seja diferente de H.

[00046] 'Alcóxi' refere-se ao grupo -OR²⁶ onde R²⁶ é C₁-C₈ alquila. Grupos alcóxi particulares são metóxi, etóxi, n-propóxi, isopropóxi, n-butóxi, terc-butóxi, sec-butóxi, n-pentóxi, n-hexóxi, e 1,2-dimetilbutóxi. Grupos alcóxi particulares são alcóxi inferior, isto é, com entre 1 e 6 átomos de carbono. Outros grupos alcóxi particulares têm entre 1 e 4 átomos de carbono.

[00047] 'Alcóxi substituído' refere-se a um grupo alcóxi substituído com um ou mais daqueles grupos relacionados na definição de "substituído" aqui, e particularmente refere-se a um mm grupo alcóxi tendo 1 ou mais substituintes, por exemplo, de 1 a 5 substituintes, e particularmente de 1 a 3 substituintes, em particular 1 substituinte, selecionado do grupo que consiste em amino, amino substituído, C₆-C₁₀ arila, -O-arila, carboxila, ciano, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, halogênio, heteroarila de 5 a 10 membros, hidroxila, nitro, tioalcóxi, tio-O-arila, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- e aril-S(O)₂-. Grupos 'alcóxi substituído' exemplares são -O-(CH₂)_t (C₆-C₁₀ aril), -O-(CH₂)_t (heteroarila de 5 a 10 membros), -O-(CH₂)_t (C₃-C₁₀ cicloalquil), e -O-(CH₂)_t (heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4 e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi. Grupos 'alcóxi substituído' exemplares particulares são OCF₃,

OCH₂CF₃, OCH₂Ph, OCH₂-ciclopropila, OCH₂CH₂OH, OCH₂CH₂ NMe₂.

[00048] 'Alcoxicarbonila' refere-se a um radical -C(O)-OR²⁷ onde R²⁷ representa um C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, C₃-C₁₀ cicloalquilalquila, heterocicloalquilalquila de 4 a 10 membros, aralquila, ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros como definido aqui. Grupos "alcoxicarbonila" exemplares são C(O)O-C₁-C₈ alquila, -C(O)O-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ aril), -C(O)O-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -C(O)O-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ cicloalquil), e -C(O)O-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 1 a 4.

[00049] 'Alcoxicarbonila substituída' refere-se a um radical -C(O)-OR²⁸ onde R²⁸ representa:

- C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, C₃-C₁₀ cicloalquilalquila, ou heterocicloalquilalquila de 4 a 10 membros, cada dos quais é substituído com halo, amino substituído ou não substituído, ou hidróxi; ou

- C₈-C₁₀ aralquila, ou heteroarilalquila de 5 a 10 membros, cada dos quais é substituído com C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidroxila.

[00050] 'Alquila' significa hidrocarboneto alifático linear ou ramificado tendo de 1 a 20 átomos de carbono.

[00051] Alquila particular tem de 1 a 12 átomos de carbono. Mais particular é a alquila inferior que tem de 1 a 6 átomos de carbono. Um outro grupo particular tem de 1 a 4 átomos de carbono. Grupos de cadeia linear exemplares incluem metila, etil n-propila, e n-butila. Ramificado significa que um ou mais grupos alquila inferior tais como metila, etila, propila ou butila estão ligados a uma cadeia alquila linear, grupos de cadeia ramificada exemplares incluem isopropila, iso-butila, terc-butila e isoamila.

[00052] 'Alquila substituída' refere-se a um grupo alquila como acima definido substituído com um ou mais daqueles grupos relacionados na definição de "substituído" aqui, e particularmente refere-se a um grupo alquila tendo 1 ou mais substituintes, por exemplo, de 1 a 5 substituintes, e particularmente de 1 a 3 substituintes, em particular 1 substituinte, selecionado do grupo que consiste em acila, acilamino, acilóxi (-O-acil ou -OC(O)R²⁰), alcóxi, alcóxicarbonila, alcóxicarbonilamino (-NR-alcóxicarbonila ou -NH-C(O)-OR²⁷), amino, amino substituído, aminocarbonila (carbamoíla ou amido ou -C(O)-NR₂), aminocarbonilamino (-NR - C(O)-NR₂), aminocarbonilóxi (-O-C(O)-NR₂), aminossulfonila, sulfonilamino, arila, -O-arila, azido, carboxila, ciano, cicloalquila, halogênio, hidróxi, heteroarila, nitro, tiol, -S-alquila, -S-arila, -S(O)-alquila, -S(O)-arila, -S(O)₂-alquila, e -S(O)₂-arila. Em uma modalidade particular 'alquila substituída' refere-se a um grupo C₁-C₈ alquila substituída com halo, ciano, nitro, trifluorometila, trifluorometóxi, azido, -NR SO₂R, -SO₂NR R, (CR^{'''}R^{'''})_m OR^{''}; em que cada R^{''} é independentemente selecionado de H, C₁-C₈ alquila, -(CH₂X(C₆-C₁₀ aril), -(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -(CH₂)_t(C₃-C₁₀ cicloalquil), e -(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4 e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituída ou hidróxi. Cada um R^{'''} e R^{'''} independentemente representa H ou C₁-C₈ alquila.

[00053] 'Amino' refere-se ao radical -NH₂.

[00054] 'Amino substituído' refere-se a um grupo amino substituído com um ou mais daqueles grupos relacionados na definição de 'substituído' aqui, e particularmente refere-se ao grupo -N(R³³)₂ onde

cada R^{33} é independentemente selecionado de:

- hidrogênio, C_1 - C_8 alquila, C_6 - C_{10} arila, heteroarila de 5 a 10 membros, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, ou C_8 - C_{10} cicloalquila; ou
- C_1 - C_8 alquila, substituída com halo ou hidróxi; ou
- $-(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ aril), $-(CH_2)_t$ (heteroarila de 5 a 10 membros), $-(CH_2)_t(C_3-C_{10}$ cicloalquil) ou $-(CH_2)_t$ (heterocicloalquila de 4 a 10 membros) em que t é um número inteiro entre 0 e 8, cada dos quais é substituído por não substituída C_1 - C_4 alquila, halo, não substituída C_1 - C_4 alcóxi, C_1 - C_4 haloalquila não substituída, C_1 - C_4 hidroxialquila não substituída, ou C_1 - C_4 haloalcóxi não substituído ou hidróxi; ou
- ambos os grupos R^{33} são ligados para formar um grupo alquilenos.

[00055] Quando ambos os grupos R^{33} são hidrogênio, $-N(R^{33})_2$ é um grupo amino. Grupos 'amino substituído' exemplares são $-NR^{33'}-C_1-C_8$ alquila, $-NR^{33'}-(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ aril), $-NR^{33'}-(CH_2)_t$ (heteroarila de 5 a 10 membros), $-NR^{33'}-(CH_2)_t(C_3-C_{10}$ cicloalquil), e $-NR^{33'}-(CH_2)_t$ (heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4, cada R^{33} independentemente representa H ou C_1 - C_8 alquila; e quaisquer grupos alquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por halo, amino substituído ou não substituído, ou hidróxi; e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C_1 - C_4 alquila não substituída, halo, C_1 - C_4 alcóxi não substituído, C_1 - C_4 haloalquila não substituída, C_1 - C_4 hidroxialquila não substituída, ou C_1 - C_4 haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00056] "Aminossulfonila" ou "Sulfonamida" refere-se ao radical $-S(O_2)NH_2$.

[00057] "Aminossulfonila substituída" ou "sulfonamida substituída" refere-se a um radical tal como $-S(O_2)N(R^{48})_2$ em que cada R^{48} é

independentemente selecionado de:

- H, C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, e heteroaralquil; ou

- C₁-C₈ alquila substituída com halo ou hidróxi; ou

- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, ou heteroarilquila, substituída por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi; contanto que pelo menos um R⁴⁸ seja diferente de H.

[00058] Grupos 'aminossulfonila substituída' ou 'sulfonamida substituída' exemplares são -S(O₂)N(R⁴⁸)-C₁-C₈ alquila, -S(O₂)N(R^{48'})-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ aril), -S(O₂)N(R^{48'})-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -S(O₂)N(R^{48'})-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ cicloalquil), e -S(O₂)N(R^{48'})-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4; cada R⁴⁸ independentemente representa H ou C₁-C₈ alquila; e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00059] 'Aralquila' ou 'arilalquila' refere-se a um grupo alquila, como acima definido, substituído com um ou mais grupos arila, como acima definido. Grupos aralquila ou arilalquila particulares são grupos alquila substituídos com um grupo arila.

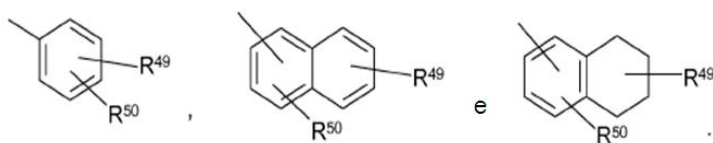
[00060] 'Aralquila substituída' ou 'arilalquila substituída' refere-se a um grupo alquila, como acima definido, substituído com um ou mais grupos arila; e pelo menos um de qualquer grupo arila presente, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída,

halo, ciano, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00061] 'Arila' refere-se a um grupo hidrocarboneto monovalente aromatic derivado pela remoção de um átomo de hidrogênio de um único átomo de carbono de um sistema de anel aromático origem. Em particular arila refere-se a uma estrutura anel aromático, monocíclico ou policíclico que inclui de 5 a 12 membros de anel, mais usualmente 6 a 10, onde o grupo arila é um sistema de anel monocíclico ele preferivelmente contém 6 átomos de carbono. Grupos arila típicos incluem, porém não estão limitados a grupos derivados de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benzeno, criseno, coroneno, fluorantheno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-2,4-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiadenos, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno e trinaftaleno. Particularmente grupos arila incluem fenila, naftila, indenila, e tetra-hidronaftila.

[00062] 'Arila substituída' refere-se a um grupo arila substituído com um ou mais daqueles grupos relacionados na definição de 'substituído' aqui, e particularmente refere-se a um grupo arila que pode opcionalmente ser substituído com 1 ou mais substituintes, por exemplo, de 1 a 5 substituintes, particularmente 1 a 3 substituintes, em particular 1 substituinte. Particularmente, 'arila substituída' refere-se a um grupo arila substituído com um ou mais dos grupos selecionados de halo, C₁-C₈ alquila, C₁-C₈ haloalquila, C₁-C₈ haloalcóxi, ciano, hidróxi, C₁-C₈ alcóxi, e amino.

[00063] Exemplos de arilas substituídas representativas incluem os seguintes



[00064] Nestas fórmulas um dentre R^{49} e R^{50} pode ser hidrogênio e pelo menos um dentre R^{49} e R^{50} é cada independentemente selecionado de C_1 - C_8 alquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, alcanóila, C_1 - C_8 alcóxi, hetero-O- arila, alquilamino, arilamino, heteroarilamino, $NR^{51}COR^{52}$, $NR^{51}SOR^{52}$, $NR^{51}SO_2R^{52}$, COO alquila, COO arila, $CONR^{51}R^{52}$, $CONR^{51}OR^{52}$, $NR^{51}R^{52}$, $SO_2NR^{51}R^{52}$, S-alquila, SO alquila, SO_2 alquila, Sarila, SO arila, SO_2 arila; ou R^{49} e R^{50} podem ser ligados para formar um anel cíclico (saturado ou insaturado) de 5 a 8 átomos, opcionalmente contendo um ou mais heteroátomos selecionados do grupo N, O ou S. R^{51} , e R^{52} são independentemente hidrogênio, C_1 - C_8 alquila, C_1 - C_4 haloalquila, C_3 - C_{10} cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C_6 - C_{10} arila, arila substituída, heteroarila de 5 a 10 membros. 'Arilalquilóxi' refere-se a um radical -O-alquilarila onde alquilarila é como definido aqui.

[00065] 'Arilalquilóxi substituído' refere-se a um radical -O-alquilarila onde alquilarila é como definido aqui; e quaisquer arila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C_1 - C_4 alquila não substituída, halo, ciano, C_1 - C_4 alcóxi não substituído, C_1 - C_4 haloalquila não substituída, C_1 - C_4 hidroxialquila não substituída, ou C_1 - C_4 haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

'Azido' refere-se ao radical $-N_3$.

[00066] 'Carbamoíla ou amido' refere-se ao radical $-C(O)NH_2$.

[00067] 'Carbamoíla substituída ou amido substituído' refere-se ao radical $-C(O)N(R^{53})_2$ em que cada R^{53} é independentemente:

- H, C_1 - C_8 alquila, C_3 - C_{10} cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C_6 - C_{10} arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, e heteroaralquila; ou

- C₁-C₈ alquila substituída com halo ou hidróxi; ou
- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, ou heteroaralquila, cada dos quais é substituído por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi; contanto que pelo menos um R⁵³ é diferente de H.

[00068] Grupos 'amido substituído/carbamoíla' são -C(O) NR^{53'}-C₁-C₈ alquila, -C(O)NR^{53'}-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ aril), -C(O)N^{53'}-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -C(O)NR^{53'}-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ cicloalquil), e -C(O)NR^{53'}-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4, cada R^{53'} independentemente representa H ou C₁-C₈ alquila e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00069] 'Carbóxi' refere-se ao radical -C(O)OH.

[00070] 'Cicloalquila' refere-se a grupos hidrocarbila não aromáticos cíclicos tendo de 3 a 10 átomos de carbono. Tais grupos cicloalquila incluem, por meio de exemplo, estruturas de anel simples tal como ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila, ciclo-heptila, e ciclooctila.

[00071] 'Cicloalquila substituída' refere-se a um grupo cicloalquila como acima definido substituído com um ou mais daqueles grupos relacionados na definição de 'substituído' aqui, e particularmente refere-se a um grupo cicloalquila tendo 1 ou mais substituintes, por exemplo, de 1 a 5 substituintes, e particularmente de 1 a 3 substituintes, em particular 1 substituinte.

[00072] 'Ciano' refere-se ao radical -CN.

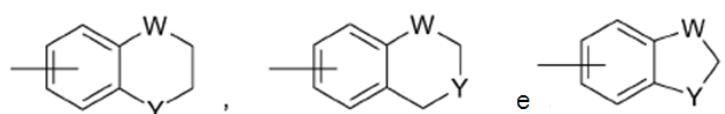
[00073] 'Halo' ou 'halogênio' refere-se a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) e iodo (I). Grupos halo particulares são flúor ou cloro.

[00074] 'Hetero' quando usado para descrever um composto ou um grupo presente em um composto significa que um ou mais átomos de carbono no composto ou grupo foram substituídos por um heteroátomo de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre. Hetero pode ser aplicado a qualquer um dos grupos hidrocarbila acima descritos tal como alquila, por exemplo, heteroalquila, cicloalquila, por exemplo, heterocicloalquila, arila, por exemplo, heteroarila, cicloalquenila, por exemplo, cicloeteroalquenila, e similares tendo de 1 a 5, e particularmente de 1 a 3 heteroátomos.

[00075] 'Heteroarila' significa uma estrutura de anel aromático, monocíclico ou policíclico, que inclui um ou mais heteroátomos e 5 a 12 membros de anel, mais usualmente 5 a 10 membros de anel. O grupo heteroarila pode ser, por exemplo, um anel monocíclico de cinco membros ou seis membros ou uma estrutura bicíclica formada de anéis cinco e seis membros fundidos ou dois anéis de seis membros fundidos ou, por meio de um outro exemplo, dois anéis de cinco membros fundidos. Cada anel contém até heteroátomos tipicamente selecionados de nitrogênio, enxofre e oxigênio. Tipicamente o anel heteroarila conterà até 4 heteroátomos, mais tipicamente até 3 heteroátomos, mais usualmente até 2, por exemplo, um heteroátomo simples. Em uma modalidade, o anel heteroarila contém pelo menos um átomo de nitrogênio de anel. Os átomos de nitrogênio no anel heteroarila podem ser básicos, como no caso de um imidazol ou piridina, ou essencialmente não básicos como nos átomos de nitrogênio presentes como no caso de nitrogênio de indol ou pirrol. O número geral de átomos de nitrogênio básicos presentes no grupo heteroarila, incluindo quaisquer substituintes de grupo amino do anel,

será menor do que cinco. Exemplos de grupos heteroarila monocíclica de cinco membros incluem, porém não estão limitados a grupos pirrol, furano, tiofeno, imidazol, furazano, oxazol, oxadiazol, oxatriazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, pirazol, triazol e tetrazol. Exemplos de grupos heteroarila monocíclica de seis membros incluem, porém não estão limitados à piridina, pirazina, piridazina, pirimidina e triazina. Exemplos particulares de grupos heteroarila bicíclica contendo um anel de cinco membros fundido a outro anel de cinco membros incluem, porém não estão limitados a imidazotiazol e imidazoimidazol. Exemplos particulares de grupos heteroarila bicíclica contendo um anel de seis membros fundido a um anel de cinco membros incluem, porém não estão limitados a grupos benzfurano, benztiofeno, benzimidazol, benzoxazol, isobenzoxazol, benzisoxazol, benzotiazol, benzisotiazol, isobenzofurano, indol, isoindol, isoindolona, indolizina, indolina, isoindolina, purina (por exemplo, adenina, guanina), indazol, pirazolopirimidina, triazolopirimidina, benzodioxol e pirazolopiridina. Exemplos particulares de grupos heteroarila bicíclica contendo dois anéis de seis membros fundidos incluem, porém não estão limitados a grupos quinolina, isoquinolina, cromano, tiocromano, cromeno, isocromeno, cromano, isocromano, benzodioxano, quinolizina, benzoxazina, benzodiazina, piridopiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, ftalazina, naftiridina e pteridina. Grupos heteroarila particulares são aqueles derivados de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridina, quinolina, imidazol, oxazol e pirazina.

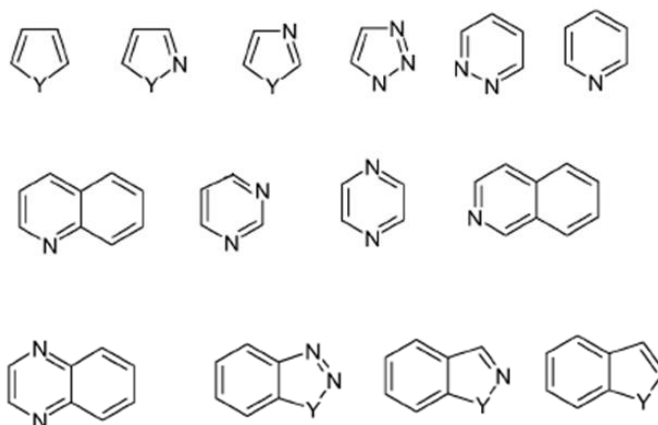
[00076] Exemplos de arila representativos tendo heteroátomos contendo substituição incluem os seguintes:



em que cada W é selecionada de $C(R^{54})_2$, NR^{54} , O e S; e cada Y é selecionada de carbonila, NR^{54} , O e S; e R^{54} é

independentemente hidrogênio, C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, e heteroarila de 5 a 10 membros.

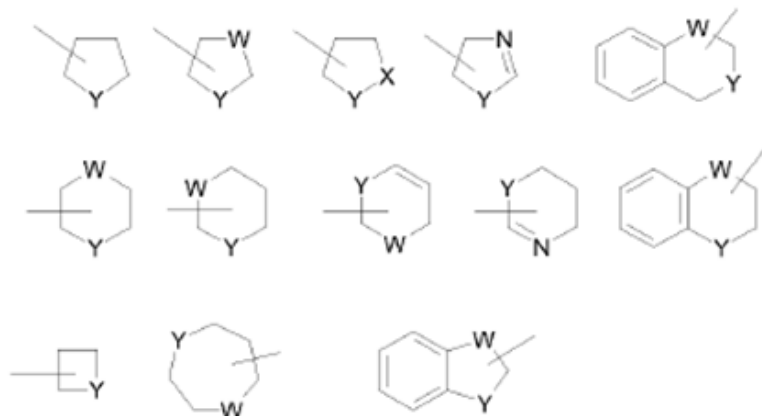
[00077] Exemplos de heteroarilas representativos incluem os seguintes:



em que cada Y é selecionado de carbonila, N, NR⁵⁵, O e S; e R⁵⁵ é independentemente hidrogênio, C₁-C₆ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, e heteroarila de 5 a 10 membros.

[00078] Como usado aqui, o termo 'heterocicloalquila' refere-se a um anel não aromático e heterocíclico estável, de 4 a 10 membros e/ou incluindo anéis contendo um ou mais heteroátomos independentemente selecionados de N, O e S, fundido a eles. Um sistema de anel heterocíclico fundido pode incluir anéis carbocíclicos e necessitar apenas incluir um anel heterocíclico. Exemplos de anéis heterocíclicos incluem, porém não estão limitados à morfolina, piperidina (por exemplo, 1-piperidinila, 2-piperidinila, 3-piperidinila e 4-piperidinila), pirrolidina (por exemplo, 1-pirrolidinila, 2-pirrolidinila e 3-pirrolidinila), pirrolidona, pirano (2H-pirano ou 4H-pirano), diidrotiofeno, diidropirano, diidrofurano, diidrotiazol, tetra-hidrofurano, tetra-hidrotiofeno, dioxano, tetra-hidropirano (por exemplo, 4-tetra-hidropiranil), imidazolina, imidazolidinona, oxazolina, tiazolina, 2-pirazolina, pirazolidina, piperazina, e N-alquila piperazinas tal como N-metil piperazina. Outros

exemplos incluem tiomorfolina e seu S-óxido e S,S-dióxido (particularmente tiomorfolina). Ainda outros exemplos incluem azetidina, piperidona, piperazona, e N-alquil piperidinas tal como N-metil piperidina. Exemplos particulares de grupos heterocicloalquila são mostrados nos seguintes exemplos ilustrativos:



em que cada W é selecionada de CR^{56} , $C(R^{56})_2$, NR^{56} , O e S; e cada Y é selecionada de NR^{56} , O e S; e R^{56} é independentemente hidrogênio, C_1 - C_8 alquila, C_3 - C_{10} cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C_6 - C_{10} arila, heteroarila de 5 a 10 membros. Estes anéis heterocicloalquila podem ser opcionalmente substituídos com um ou mais grupos selecionados do grupo que consiste em acila, acilamino, acilóxi (-O-acila ou $-OC(O)R^{20}$), alcóxi, alcoxycarbonila, alcoxycarbonilamino ($-NR''$ -alcoxycarbonila ou $-NH-C(O)-OR^{27}$), amino, amino substituído, aminocarbonila (amido ou $-C(O)-NR_2$), aminocarbonilamino ($-NR-C(O)-NR_2$), aminocarbonilóxi ($-O-C(O)-NR_2$), aminossulfonila, sulfonilamino, arila, -O-arila, azido, carboxila, ciano, cicloalquila, halogênio, hidróxi, nitro, tiol, -S-alquila, -S-arila, -S(O)-alquila, -S(O)-arila, $-S(O)_2$ -alquila, e $-S(O)_2$ -arila. Grupos substituintes incluem carbonila ou tiocarbonila que fornecem, por exemplo, derivados de lactam e ureia.

[00079] 'Hidróxi' refere-se ao radical -OH.

[00080] 'Nitro' refere-se ao radical $-NO_2$.

[00081] 'Substituído' refere-se a um grupo em que um ou mais átomos de hidrogênio são cada qual independentemente substituídos com o(s) substituinte(s) igual ou diferente. Substituintes típicos podem ser selecionados do grupo que consiste em: halogênio, $-R^{57}$, $-O$, $=O$, $-OR^{57}$, $-SR^{57}$, $-S^-$, $=S$, $-NR^{57}R^{58}$, $=NR^{57}$, $-CCl_3$, $-CF_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-S(O)_2O^-$, $-S(O)_2OH$, $-S(O)_2R^{57}$, $-OS(O)_2O^-$, $-OS(O)_2R^{57}$, $-P(O)(O^-)_2$, $-P(O)(OR^{57})(O^-)$, $OP(O)(OR^{57})(OR^{58})$, $-C(O)R^{57}$, $-C(S)R^{57}$, $-C(O)OR^{58}$, $-C(O)NR^{57}R^{58}$, $-C(O)O^-$, $-C(S)OR^{57}$, $-NR^{59}C(O)NR^{57}R^{58}$, $-NR^{59}C(S)NR^{57}R^{58}$, $-NR^{60}C(NR^{59})NR^{57}R^{58}$ e $-C(NR^{59})NR^{57}R^{58}$, em que cada R^{57} , R^{58} , R^{59} e R^{60} são independentemente:

- hidrogênio, C_1 - C_8 alquila, C_6 - C_{10} arila, arilalquila, C_3 - C_{10} cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, heteroarila de 5 a 10 membros, heteroarilalquil; ou

- C_1 - C_8 alquila substituída com halo ou hidróxi; ou
- C_6 - C_{10} arila, heteroarila de 5 a 10 membros, C_6 - C_{10} cicloalquila ou heterocicloalquila de 4 a 10 membros substituída por C_1 - C_4 alquila não substituída, halo, C_1 - C_4 alcóxi não substituído, C_1 - C_4 haloalquila não substituída, C_1 - C_4 hidroxialquila não substituída, ou não substituída C_1 - C_4 haloalcóxi ou hidroxí.

[00082] Em uma modalidade particular, grupos substituídos são substituídos com um ou mais substituintes, particularmente com 1 a 3 substituintes, em particular com um grupo substituinte.

[00083] Em uma outra modalidade particular o grupo ou grupos substituintes são selecionados de: halo, ciano, nitro, trifluorometila, trifluorometóxi, azido, $-NR''SO_2R''$, $-SO_2NR''R''$, $-C(O)R''$, $-C(O)OR''$, $-OC(O)R''$, $-NR''C(O)R''$, $-C(O)NR''R''$, $-NR''R''$, $-(CR''R'')_mOR''$, em que, cada R'' é independentemente selecionado de H, C_1 - C_8 alquila, $-(CH_2)_tC_6$ - C_{10} aril), $-(CH_2)_t$ (heteroarila de 5 a 10 membros), $-(CH_2)_tC_3$ - C_{10} cicloalquil), e $-(CH_2)_t$ (heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é

um número inteiro de 0 a 4; e

- quaisquer grupos alquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por halo ou hidróxi; e

- quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi. Cada R independentemente representa H ou C₁-C₆alquila.

[00084] 'Sulfanila substituída' refere-se ao grupo -SR⁶¹, em que R⁶¹ é selecionado de:

- C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, e heteroaralquila; ou

- C₁-C₈ alquila substituída com halo, amino substituído ou não substituído, ou hidróxi; ou

- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, ou heteroaralquila, cada dos quais é substituído por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00085] Grupos 'sulfanila substituída' exemplares são -S-(C₁-C₈ alquil) e -S-(C₃-C₁₀ cicloalquil), -S-(CH₂)_tC₆-C₁₀ aril), -S-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -S-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ cicloalquil), e -S-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4 e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-

C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00086] 'Sulfinila Substituída' refere-se ao grupo -S(O)R⁶⁸, em que R⁶⁸ é selecionado de:

- C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, e heteroaralquila; ou

- C₁-C₈ alquila substituída com halo, amino substituído ou não substituído, ou hidróxi; ou

- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, ou heteroaralquila, substituída por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00087] Grupos 'sulfinila substituída' exemplares são -S(O)-(C₁-C₈ alquil) e -S(O)-(C₃-C₁₀ cicloalquil), -S(O)-(CH₂)_tC₆-C₁₀ aril), -S(O)-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -S(O)-(CH₂)_tC₃-C₁₀ cicloalquil), e -S(O)-(CH₂)_t (heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4 e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por não substituída C₁-C₄ alquila, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00088] 'Sulfonila Substituída' refere-se ao grupo -S(O)₂R⁷⁵, em que R⁷⁵ é selecionado de:

- C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, e heteroaralquil; ou

- C₁-C₈ alquila substituída com halo, amino substituído ou não substituído, ou hidróxi; ou

- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, ou heteroaralquila, cada dos quais é substituído por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00089] Grupos 'sulfonila substituída' exemplares são -S(O)₂-(C₁-C₈ alquil) e -S(O)₂-(C₃-C₁₀ cicloalquil), -S(O)₂-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ aril), -S(O)₂-(CH₂)_t (heteroarila de 5 a 10 membros), -S(O)₂-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ cicloalquil), e -S(O)₂-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4 e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00090] 'Sulfo' ou 'ácido sulfônico' refere-se a um radical tal como -SO₃H.

[00091] 'Sulfo substituído' ou 'éster de ácido sulfônico' refere-se ao grupo -S(O)₂OR⁸², em que R⁸² é selecionado de:

- C₁-C₈ alquila, C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, e heteroaralquila; ou

- C₁-C₈ alquila substituída com halo, amino substituído ou não substituído, ou hidróxi; ou

- C₃-C₁₀ cicloalquila, heterocicloalquila de 4 a 10 membros, C₆-C₁₀ arila, aralquila, heteroarila de 5 a 10 membros, ou heteroaralquila, cada dos quais é substituído por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou não substituída C₁-

C₄ haloalcóxi ou hidróxi.

[00092] Grupos 'Sulfo substituída' ou 'éster de ácido sulfônico' exemplares são -S(O)₂-O-(C₁-C₈ alquil) e -S(O)₂-O-(C₃-C₁₀ cicloalquil), -S(O)₂-O-(CH₂)_t (C₆-C₁₀ aril), -S(O)₂-O-(CH₂)_t(heteroarila de 5 a 10 membros), -S(O)₂-O-(CH₂)_t (C₃-C₁₀ cicloalquil), e -S(O)₂-O-(CH₂)_t(heterocicloalquila de 4 a 10 membros), em que t é um número inteiro de 0 a 4 e quaisquer grupos arila, heteroarila, cicloalquila ou heterocicloalquila presentes, podem eles próprios ser substituídos por C₁-C₄ alquila não substituída, halo, C₁-C₄ alcóxi não substituído, C₁-C₄ haloalquila não substituída, C₁-C₄ hidroxialquila não substituída, ou C₁-C₄ haloalcóxi não substituído ou hidróxi.

[00093] 'Tiol' refere-se ao grupo -SH.

[00094] Alguém versado na técnica de síntese orgânica reconhecerá que o número máximo de heteroátomos em um anel estável, heterocíclico quimicamente praticável, seja ele aromático ou não aromático, é determinado pelo tamanho do anel, o grau de insaturação e a valência dos heteroátomos. Em geral, um anel heterocíclico pode ter um a quatro heteroátomos contanto que o anel heteroaromático seja quimicamente praticável e estável.

[00095] 'Farmaceuticamente aceitável' significado aprovado ou aprovável por uma agência reguladora do governo Federal ou Estatal ou a agência correspondente em países diferentes dos Estados Unidos, ou que é listado na farmacopeia dos Estados Unidos ou outra farmacopéia para uso em animais, e mais particularmente, em humanos.

[00096] 'Sal farmaceuticamente aceitável' refere-se a um sal de um composto da invenção que é farmaceuticamente aceitável e que possui a atividade farmacológica desejada do composto origem. Em particular, tais sais são não tóxicos podem ser sais de adição de ácido inorgânico ou orgânico e sais de adição de base. Especificamente, tais

sais incluem: (1) sais de adição de ácido, formados com ácidos inorgânicos tal como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, e similares; ou formados com ácidos orgânicos tais como ácido acético, ácido propiônico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malônico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanossulfônico, ácido etanossulfônico, ácido 1,2-etano-dissulfônico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido 4-clorobenzenossulfônico, ácido 2-naftalenesulfônico, ácido 4-toluenesulfônico, ácido canforsulfônico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]octerc-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoeptico, ácido 3-fenilpropiônico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciário, ácido lauril sulfúrico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucônico, e similares; ou (2) sais formados quando um próton ácido presente no composto origem é substituído por um íon de metal, por exemplo, um íon de metal de álcali, um íon alcalinoterroso, ou um íon de alumínio; ou coordenados com uma base orgânica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina e similares. Os sais também incluem, por meio de exemplo apenas, sódio, potássio, cálcio, magnésio, amônio, tetraalquilamônio, e similares; e quando o composto contém uma funcionalidade básica, sais de ácidos não tóxicos orgânicos ou inorgânicos, tais como cloridrato, hidrobrometo, tartarato, mesilato, acetato, maleato, oxalato e similares. O termo "cátion farmacologicamente aceitável" refere-se a um contra-íon catiônico aceitável de um grupo funcional ácido. Tais cátions são exemplificados por cátions de sódio, potássio, cálcio, magnésio, amônio, tetraalquilamônio, e similares.

[00097] 'Veículo farmacologicamente aceitável' refere-se a um diluente, adjuvante, excipiente ou portador com o qual um composto da invenção é administrado.

[00098] 'Profármacos' refere-se a compostos, incluindo derivados dos compostos da invenção, que têm grupos cliváveis e tornam-se por solvólise, ou sob condições fisiológicas os compostos da invenção que são farmacologicamente ativos *in vivo*. Tais exemplos incluem, porém não estão limitados aos derivados de éster de colina e similares, N-alquil morfina ésteres e similares.

[00099] 'Solvato' refere-se às formas do composto que são associadas com um solvente, geralmente por uma reação de solvólise. Esta associação física inclui a ligação de hidrogênio. Solventes convencionais incluem água, etanol, ácido acético e similares. Os compostos da invenção podem ser preparados, por exemplo, em forma cristalina e podem ser solvatados ou hidratados. Solvatos adequados incluem solvatos farmacologicamente aceitáveis, tal como hidratos, e também incluem tanto solvatos estequiométricos quanto solvatos não estequiométricos. Em certos casos o solvato serão capazes de isolamento, por exemplo, quando uma ou mais moléculas de solvente são incorporadas na treliça cristalina do sólido cristalino. 'Solvato' abrange tanto solvatos de fase de solução quanto isoláveis. Solvatos representativos incluem hidratos, etanolatos e metanolatos.

[000100] 'Indivíduo' inclui humanos. Os termos 'humano', 'paciente' e 'indivíduo' são usados alternadamente aqui.

[000101] 'Quantidade terapêuticamente eficaz' significa a quantidade de um composto que, quando administrado a um indivíduo para o tratamento de uma doença, é suficiente para realizar tal tratamento para a doença. A "quantidade terapêuticamente eficaz" pode variar dependendo do composto, da doença e sua gravidade, e da idade, peso, etc., do indivíduo a ser tratado.

[000102] 'Prevenindo' ou 'prevenção' refere-se a uma redução no risco de adquirir ou desenvolver uma doença ou distúrbio (isto é, fazer com que pelo menos um dos sintomas clínicos da doença não se desenvolva em um indivíduo que pode ser exposto a um agente causador de doença ou pré-disposto à doença no avanço do início da doença).

[000103] O termo 'profilaxia' está relacionado à 'prevenção', e refere-se a uma medida ou procedimento, o propósito do qual é prevenir, em vez de tratar ou curar uma doença. Exemplos não limitantes de avaliações profiláticas podem incluir a administração de vacinas; a administração de heparina de baixo peso molecular a pacientes de hospital em risco de trombose devido, por exemplo, à imobilização; e a administração de um agente antimalárico tal como cloroquina, no avanço de uma visita a uma região geográfica onde a malária é endêmica ou o risco de contrair a malária é elevado.

[000104] 'Tratando' ou 'tratamento' de qualquer doença ou distúrbio refere-se, em uma modalidade, à melhora da doença ou distúrbio (isto é, interrupção da doença ou redução da manifestação, extensão ou gravidade de pelo menos um dos sintomas clínicos da mesma). Em outra modalidade 'tratando' ou 'tratamento' refere-se à melhora de pelo menos um parâmetro físico, que não pode ser discernível pelo indivíduo. Ainda em outra modalidade, 'tratando' ou 'tratamento' refere-se à modulação da doença ou distúrbio, fisicamente, (por exemplo, estabilização de um sintoma discernível), fisiologicamente, (por exemplo, estabilização de um parâmetro físico), ou ambos. Em uma outra modalidade, 'tratando' ou 'tratamento' refere-se à diminuição da progressão da doença. Como usado aqui o termo 'condição(s) envolvendo inflamação' refere-se ao grupo de condições incluindo, artrite reumatoide, osteoartrite, artrite idiopática juvenil, psoríase, doença da via aérea alérgica (por exemplo, asma, rinite), doenças

inflamatórias do intestino (por exemplo, doença de Crohn, colite), estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), e doenças relacionadas envolvendo cartilagem, tal como àquelas das articulações. Particularmente o termo refere-se à artrite reumatoide, osteoartrite, doença da via aérea alérgica (por exemplo, asma) e doenças inflamatórias do intestino.

[000105] Como usado aqui os termos 'condição(s) envolvendo uma resposta imune' e 'doenças autoimunes' são usados alternadamente e referem-se ao grupo de doenças incluindo doença obstrutiva das vias aéreas, incluindo condições tais como COPD, asma (por exemplo, asma intrínseca, asma extrínseca, asma da poeira, asma infantil) particularmente asma crônica ou inveterada (por exemplo, asma tardia e hipersensibilidade das vias aéreas), bronquite, incluindo asma brônquica, lúpus eritematoso sistêmico (SLE), esclerose múltipla, diabetes melito tipo I e complicações associadas com elas, eczema atópica (dermatite atópica), dermatite de contato e outra dermatite eczematosas, doença inflamatória do intestino (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerativa), aterosclerose e esclerose lateral amiotrófica. Particularmente o termo refere-se a COPD, asma, lúpus eritematoso sistêmico, diabetes melito tipo I e doença inflamatória do intestino.

[000106] Como usado aqui o termo 'rejeição de transplante' refere-se à rejeição aguda ou crônica de células, tecido, ou alo- ou xenoenxertos de órgão sólido de, por exemplo, ilhotas pancreáticas, células tronco, medula óssea, pele, músculo, tecido da córnea, tecido neuronal, coração, pulmão, coração-pulmão combinado, rim, fígado, intestino, pâncreas, traqueia ou esôfago, ou doenças do enxerto versus hospedeiro.

[000107] Como usado aqui o termo 'doença(s) proliferativa(s)' refere-

se às condições tal como câncer (por exemplo, leiomiossarcoma uterino ou câncer de próstata), distúrbios mieloproliferativos (por exemplo, policitemia vera, trombocitose essencial e mielofibrose), leucemia (por exemplo, leucemia mieloide aguda e leucemia linfoblástica aguda), mieloma múltiplo, psoríase, restenose, esclerodermite ou fibrose. Em particular o termo refere-se a cânceres, leucemia, mieloma múltiplo e psoríase.

[000108] Como usado aqui, o termo 'câncer' refere-se a um crescimento maligno ou benigno de células na pele ou nos órgãos do corpo, por exemplo, porém sem limitação, mama, próstata, pulmão, rim, pâncreas, estômago ou intestino. Um câncer tende a infiltrar-se em tecido adjacente e disseminar-se (criar metástase) para órgãos distantes, por exemplo, para o osso, fígado, pulmão ou para o cérebro. Como usado aqui o termo câncer inclui tanto tipos de célula de tumor metastático, tais como, porém não limitados a melanoma, linfoma, leucemia, fibrossarcoma, rabdomiossarcoma, e mastocitoma quanto tipos de carcinoma de tecido, tais como, porém não limitados a câncer colorretal, câncer de próstata, câncer de pulmão de célula pequena e câncer de pulmão de célula não pequena, câncer de mama, câncer pancreático, câncer de bexiga, câncer renal, câncer gástrico, glioblastoma, câncer de fígado primário, câncer ovariano, câncer de próstata e leiomiossarcoma uterino.

[000109] Como usado aqui o termo 'leucemia' refere-se às doenças neoplásicas do sangue e dos órgãos formadores de sangue. Tais doenças podem causar disfunção do sistema imune e medula óssea, que torna o hospedeiro altamente suscetível à infecção e hemorragia. Em particular o termo leucemia refere-se à leucemia mieloide aguda (AML) e leucemia linfoblástica aguda (ALL).

[000110] Como usado aqui o termo 'doenças envolvendo comprometimento de regeneração da cartilagem' e especificamente

'doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos' inclui condições tais como osteoartrite, artrite psoriática, artrite reumatoide juvenil, artrite gotosa, artrite séptica ou infecciosa, artrite reativa, distrofia simpática de reflexo, algodistrofia, síndrome Tietze ou condrite costal, fibromialgia, osteocondrite, artrite neurogênica ou neuropática, artropatia, formas endêmicas de artrite como ostereartrite deformante endêmica, doença de Meleni e doença de Handigodu; degeneração resultante de fibromialgia, lúpus eritematoso sistêmico, escleroderma e espondilite anquilosante.

[000111] Como usado aqui o termo 'malformação(s) da cartilagem congênita(s)' inclui condições tais como condrólise hereditária, condrodisplasias e pseudocondrodisplasias, em particular, porém sem limitação, microtia, anotia, condrodisplasia metafisária, e distúrbios relacionados.

[000112] Como usado aqui o termo 'doença(s) associada(s) com hipersecreção de IL6' inclui condições tais como doença de Castleman, mieloma múltiplo, psoríase, sarcoma de Kaposi e/ou glomerulonefrite proliferativa mesangial.

[000113] 'Composto(s) da invenção', e expressões equivalentes, destinam-se a abranger os compostos das fórmulas como anteriormente descrito aqui, cuja expressão inclui os sais farmaceuticamente aceitáveis, e os solvatos, por exemplo, hidratos, e os solvatos dos sais farmaceuticamente aceitáveis onde o contexto desse modo permitir. Similarmente, referência aos intermediários, se ou não eles próprios são reivindicados, destina-se a abranger seus sais, e solvatos, onde o contexto desse modo permitir.

[000114] Quando as faixas são referidas aqui à, por exemplo, porém sem limitação, C₁-C₈ alquila, a citação de uma faixa deve ser considerada uma representação de cada membro da referida faixa.

[000115] Outros derivados dos compostos da invenção têm atividade

tanto em suas formas de ácido quanto derivado de ácido, porém na forma sensível ao ácido frequentemente oferece vantagens de solubilidade, compatibilidade de tecido, ou liberação retardada no organismo do mamífero (veja, Bundgard, H., Design of Prodrugs, páginas 7 a 9, 21 a 24, Elsevier, Amsterdam 1985). Profármacos incluem derivados de ácido bem conhecidos pelos clínicos da técnica, tal como, por exemplo, ésteres preparados por reação do ácido origem com um álcool adequado, ou amidas preparadas por reação do composto de ácido origem composto com uma amina substituída ou não substituída, ou anidridos de ácido, ou anidridos mistos. Ésteres alifáticos simples ou aromáticos, amidas e anidridos derivados de grupos acídicos pendente sobre os compostos desta invenção são profármacos particularmente úteis. Em alguns casos é desejável preparar profármacos tipo éster duplo tal como (acilóxi)alquil ésteres ou ((alcoxicarbonil)óxi)alquilésteres. Tais profármacos particulares são os C₁ a C₈ alquil, C₂-C₈ alquenila, aril, C₇-C₁₂ aril substituída, e C₇-C₁₂ arilalquil ésteres dos compostos da invenção.

[000116] Como usado aqui, o termo 'variante isotópica' refere-se a um composto que contém proporções não naturais de isótopos em, um ou mais dos átomos que constituem tal composto, por exemplo, uma 'variante isotópica' de um composto pode conter um ou mais isótopos não radioativos, tais como, por exemplo, deutério (²H ou D), carbono-13 (¹³C), nitrogênio-15 (¹⁵N), ou similares. Será entendido que, em um composto onde tal substituição isotópica é feita, os seguintes átomos, onde presentes, podem variar, de modo que, por exemplo, qualquer hidrogênio possa ser ²H/O, qualquer carbono possa ser ¹³C, ou qualquer nitrogênio possa ser ¹⁵N, e que a presença e substituição de tais átomos possam ser determinadas dentro da versatilidade da técnica. Igualmente, a invenção pode incluir a preparação de variantes isotópicas com radioisótopos, no caso, por exemplo, onde os

compostos resultantes podem ser usados para estudos de distribuição de tecido de substrato e/ou fármaco. Os isótopos radioativos trício, isto é, ^3H , e carbono-14, isto é, ^{14}C , são particularmente úteis para este propósito em vista de sua facilidade de incorporação e métodos de pronta detecção. Além disso, os compostos podem ser preparados que são substituídos com isótopos emissores de pósitron, tais como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O e ^{13}N , e podem ser úteis em estudos de Topografia de Emissão de Pósitron (PET) para exame de ocupação de receptor de substrato.

[000117] Todas as variantes isotópicas dos compostos fornecidos aqui, radioativas ou não, destinam-se a ser abrangidas no escopo da invenção.

[000118] Deve-se também entender que os compostos que têm a mesma fórmula molecular, porém diferem na natureza ou sequência de ligação de seus átomos ou na disposição de seus átomos no espaço denominados 'isômeros'. Isômeros que diferem na disposição de seus átomos no espaço são denominados 'estereoisômeros'.

[000119] Estereoisômeros que não são imagens refletidas um do outro são denominados 'diastereômeros' e aqueles que são imagens refletidas não sobreponíveis um do outro são denominados 'enantiômeros'. Quando um composto tem um centro assimétrico, por exemplo, ele é ligado a quatro diferentes grupos, um par de enantiômeros é possível. Um enantiômero pode ser caracterizado pela configuração absoluta de seu centro assimétrico e é descrito pelas normas de sequência R- e S- de Cahn e Prelog, ou pela maneira em que a molécula gira o plano luz polarizada e designado como dextrogiatório ou levogiriatório (isto é, como isômeros (+) ou (-) respectivamente). Um composto quiral pode existir como enantiômero individual ou como uma mistura do mesmo. Uma mistura contendo proporções iguais dos enantiômeros é chamada de uma 'mistura

racêmica'.

[000120] 'Tautômeros' refere-se a compostos que são formas alternáveis de uma estrutura de composto particular, e que variam na remoção de átomos de hidrogênio e elétrons. Desse modo, duas estruturas podem estar em equilíbrio através do movimento dos elétrons π e um átomo (geralmente H). Por exemplo, enóis e cetonas são tautômeros por que eles são rapidamente interconvertidos por tratamento com ácido ou base. Outro exemplo de tautomerismo é as formas *aci*- e *nitro*- de fenilnitrometano, que são igualmente formadas por tratamento com ácido ou base.

[000121] As formas tautoméricas podem ser relevantes para a obtenção da reatividade química e atividade biológica ideais de um composto de interesse.

[000122] Os compostos desta invenção podem possuir um ou mais centros assimétricos; tais compostos podem, portanto, ser produzidos como estereoisômeros (R)- ou (S)- individuais ou como misturas dos mesmos.

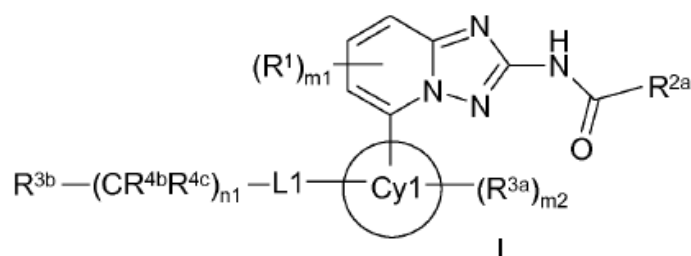
[000123] A menos que de outro modo indicado, a descrição ou nomeação de um composto particular na especificação e reivindicações destina-se a incluir tanto enantiômeros individuais quanto misturas, racêmicas, ou de outro modo, dos mesmos. Os métodos para a determinação de estereoquímica e a separação de estereoisômeros são bem conhecidos na técnica.

OS COMPOSTOS

[000124] A presente invenção é baseada na descoberta de que os inibidores de JAK são úteis para o tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite),

artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Os inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontram aplicação no tratamento de cânceres, especialmente leucemias e tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). Em particular doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação e/ou inflamação, por exemplo, osteoartrite. A presente invenção também fornece métodos para a produção destes compostos, composições farmacêuticas compreendendo estes compostos e métodos para o tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação e/ou inflamação administrando-se um composto da invenção. Os presentes compostos podem ser inibidores de um ou mais membros da família de JAK; especificamente eles pode inibir a atividade de um ou mais de JAK1, JAK2, JAK3 e/ou TYK2.

[000125] Consequentemente, em um primeiro aspecto da invenção, os compostos de 1,2,4-triazolo[1,5-a]piridina são descritos tendo uma fórmula (I):



em que

Cy1 é selecionado de arila e heteroarila;

L1 é selecionado de uma ligação simples, -O-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -N(R^{4a})-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})CO-, ou -N(R^{4a})SO₂-;

cada R¹ é independentemente selecionado de C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ alquila substituída, acila, acila substituída, acilamino substituído ou não substituído, C₁-C₆ alcóxi substituído ou não substituído, amido substituído ou não substituído, amino substituído ou não substituído, sulfinila substituída, sulfonila substituída, aminossulfonila substituída ou não substituída, ácido sulfônico, éster de ácido sulfônico, carbóxi, ciano, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, halo, e hidroxila;

cada R^{3a} é independentemente selecionado de C₁-C₆ alquila, C₁-C₆ alquila substituída, acila, acila substituída, acilamino substituído ou não substituído, C₁-C₆ alcóxi substituído ou não substituído, amido substituído ou não substituído, alcoxicarbonila, alcoxicarbonila substituída, arilalquilóxi, arilalquilóxi substituído, amino substituído ou não substituído, arila, arila substituída, arilalquila, sulfanila substituída, sulfinila substituída, sulfonila substituída, aminossulfonila substituída ou não substituída, ácido sulfônico, éster de ácido sulfônico, azido, carbóxi, ciano, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, halo, heteroarila substituída ou não substituída, hidroxila, nitro, e tiol;

R^{2a} é selecionado de C₁-C₆ alquila substituída ou não substituída ou C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída;

R^{3b} é independentemente selecionado de arila substituída ou não substituída, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída,

heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída; ou R^{3b} é independentemente selecionado de $O-R^{3c}$, $CO-R^{3c}$, e $CON(R^{4a})-R^{3c}$; e R^{3c} é independentemente selecionado de arila substituída ou não substituída, C_3-C_7 cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída; cada R^{4a} , R^{4b} e R^{4c} é independentemente selecionado de H, C_1-C_6 alquila, C_1-C_6 alquila substituída, C_3-C_7 cicloalquila, ou C_3-C_7 cicloalquila substituída; m_1 é 0, 1, ou 2; m_2 é 0, 1, 2, ou 3; e n_1 é 0, 1, 2, 3, ou 4; contanto que quando L1 for -O-, -N(R^{4a})-, -CON(R^{4a})-, ou -SO₂N(R^{4a})-, e R^{3b} for diferente de cicloalquila, arila ou heteroarila de 5 a 10 membros, então n_1 seja 1, 2, 3, ou 4; ou sais farmaceuticamente aceitáveis ou solvatos dos mesmos ou solvatos dos sais farmaceuticamente aceitáveis.

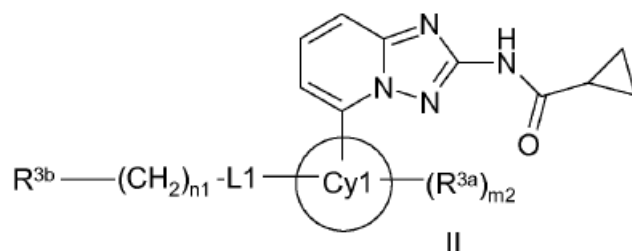
[000126] Em uma modalidade, com respeito aos compostos da fórmula I, m_1 é 0,

[000127] Em outra modalidade, com respeito aos compostos da fórmula I, R^{2a} é C_3-C_7 cicloalquila substituída ou não substituída.

[000128] Em uma modalidade particular, com respeito aos compostos da fórmula I, R^{2a} é ciclopropila, ciclobutila, ou ciclopentila.

[000129] Em uma outra modalidade, com respeito aos compostos da fórmula I, R^{4b} e R^{4c} são independentemente selecionados de H e Me.

[000130] Em uma modalidade mais particular, com respeito aos compostos da fórmula I, o composto está de acordo com a fórmula II:

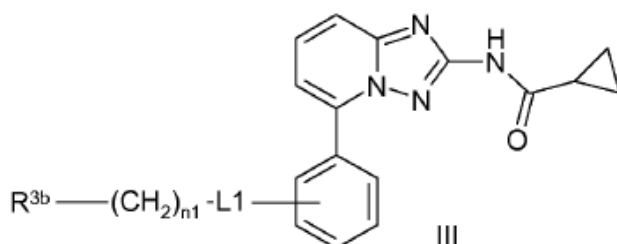


em que Cy1, L1, R^{3a} , R^{3b} , m_2 , e n_1 são como anteriormente

descrito.

[000131] Em uma modalidade, com respeito aos compostos da fórmula II, Cy1 é Ph; e m2 é 0,

[000132] Em uma modalidade mais particular, o composto está de acordo com a fórmula III:



em que L1, R^{3b}, e n1 são como acima

[000133] Em uma modalidade, com respeito aos compostos da fórmula III, R^{3b} é arila substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, ou heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída.

[000134] Em uma modalidade particular, com respeito aos compostos da fórmula III, L1 é selecionado de uma ligação simples, -O-, -N(R^{4a})-, -C(O)-, C[=N(R^{4a})]-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})SO₂- e -N(R^{4a})CO-;

n1 é 0, 1, 2, 3, ou 4; e R^{3b} é arila substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída, C₃-C₇ cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída.

[000135] Em uma modalidade, com respeito aos compostos da fórmula III, L1 é selecionado de - uma ligação simples, -O-, -N(R^{4a})-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})SO₂- e -N(R^{4a})CO-;

N1 é 0, 1, 2, 3, ou 4; e R^{3b} é arila substituída ou não substituída ou heteroarila substituída ou não substituída de 5 a 10 membros.

[000136] Em uma modalidade particular, com respeito aos

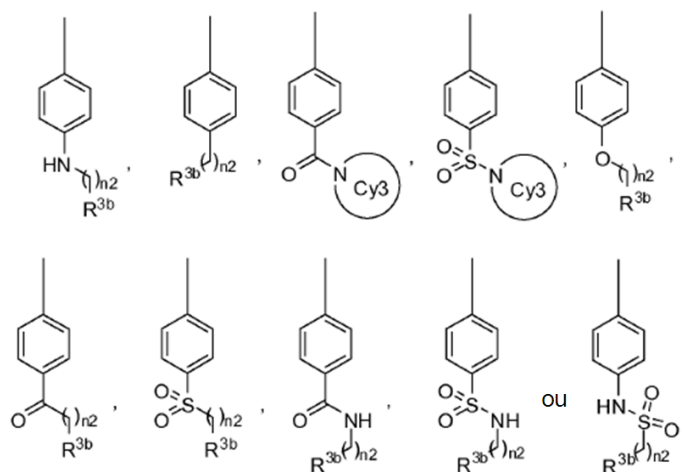
compostos da fórmula III, L1 é selecionado de - uma ligação simples, -O-, -N(R^{4a})-, -C(O)-, -C [=N(R^{4a})]-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})SO₂- e -N(R^{4a})CO-;

n1 é 0, 1, 2, 3, ou 4; e R^{3b} é fenila substituída ou não substituída, piridila substituída ou não substituída, pirrolila substituída ou não substituída, pirazolila substituída ou não substituída, imidazolila substituída ou não substituída, triazolila substituída ou não substituída, tetrazolila substituída ou não substituída, oxazolila substituída ou não substituída, oxadiazolila substituída ou não substituída, tiazolila substituída ou não substituída, tiofenila substituída ou não substituída, indolila substituída ou não substituída, indazolila substituída ou não substituída, benzimidazolila substituída ou não substituída, benzofuranila substituída ou não substituída, benzodioxanila substituída ou não substituída, benzoxazolila substituída ou não substituída, quinolinila substituída ou não substituída, ou isoquinolinila substituída ou não substituída.

[000137] Em outra modalidade particular, com respeito aos compostos da fórmula III, L1 é selecionado de -O-, e -N(R^{4a})-.

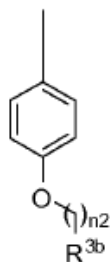
[000138] Em outra modalidade particular, com respeito aos compostos da fórmula III, L1 é -O-.

[000139] Em uma modalidade, o composto está de acordo com a fórmula III, e -Ph-L1-(CH₂)_{n1}-R^{3b} é selecionado de:



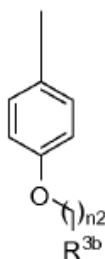
em que n_2 é n_1 e R^{3b} , e n_1 são como na fórmula 1; e Cy3 é um nitrogênio substituído ou não substituído contendo grupo heterocicloalquila de 4 a 7 membros.

[000140] Em uma modalidade, o composto está de acordo com a fórmula III, e $-\text{Ph-L1}-(\text{CH}_2)_{n_1}-R^{3b}$ é:



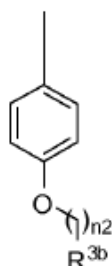
em que n_2 é n_1 ; e R^{3b} , e n_1 são como na fórmula 1.

[000141] Em uma modalidade, o composto está de acordo com a fórmula III, e $-\text{Ph-L1}-(\text{CH}_2)_{n_1}-R^{3b}$ é:



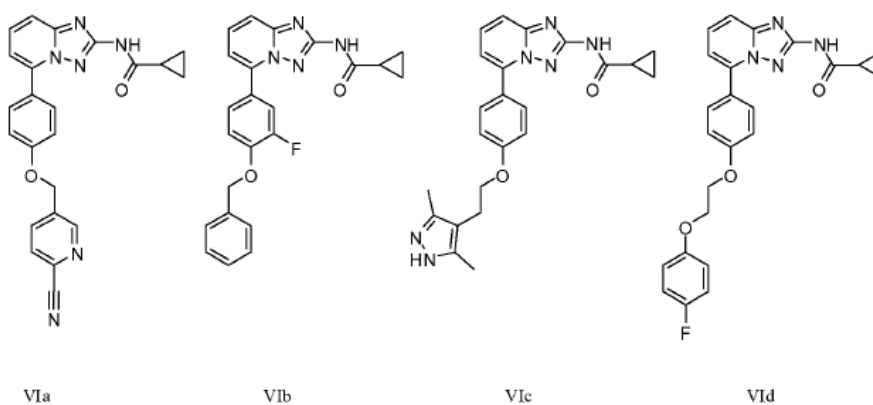
em que n_2 é n_1 ; R^{3b} é independentemente selecionado de arila substituída ou não substituída, C_3 - C_7 cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída; ou R^{3b} é independentemente selecionado de $O-R^{3c}$, $CO-R^{3c}$, e $CON(R^{4a})-R^{3c}$; e R^{3c} é independentemente selecionado de arila substituída ou não substituída, C_3 - C_7 cicloalquila substituída ou não substituída, heterocicloalquila de 4 a 7 membros substituída ou não substituída, heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída, e n_1 é 0, 1, 2, 3, ou 4.

[000142] Em uma modalidade, o composto está de acordo com a fórmula III, e $-\text{Ph-L1}-(\text{CH}_2)_{n_1}-R^{3b}$ é:

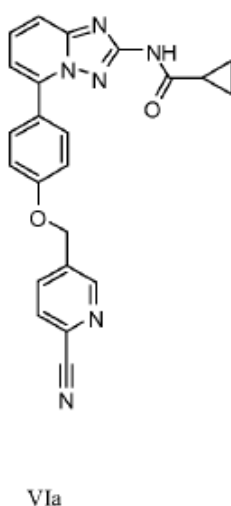


em que $n2$ é $n1$; R^{3b} é heteroarila de 5 a 10 membros substituída ou não substituída, e $n1$ é 0, 1, 2, 3, ou 4.

[000143] Em uma modalidade mais particular, o composto está de acordo com as fórmulas VIa, VIb, VIc, ou VIId:



[000144] Em uma modalidade mais particular, o composto está de acordo com as fórmulas VIa:



ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo, ou um solvato de um sal farmaceuticamente aceitável.

[000145] Em uma modalidade o composto da invenção não é uma

variante isotópica.

[000146] Em uma modalidade, com respeito à fórmula I, o composto é selecionado dos compostos exemplificados na tabela 1.

[000147] Em uma modalidade, com respeito à fórmula I, o composto é composto 176 da tabela 1.

[000148] Em certos aspectos, a presente invenção também fornece profármacos e derivados dos compostos de acordo com a(s) fórmula(s) acima. Profármacos são derivados dos compostos da invenção, que têm grupos metabolicamente cliváveis e tornam por solvólise ou sob condições fisiológicas os compostos da invenção, que são farmacologicamente ativos, *in vivo*. Tais exemplos incluem, porém não estão limitados aos derivados de éster de colina e similares, N-alquil morfolina ésteres e similares.

[000149] Outros derivados dos compostos da invenção têm atividade tanto em suas formas de ácido e derivado de ácido, porém a forma sensível a ácido frequentemente oferece vantagens de solubilidade, compatibilidade de tecido, ou liberação retardada no organismo do mamífero (veja, Bundgard, H., Design of Prodrugs, páginas 7 a 9, 21 a 24, Elsevier, Amsterdam 1985). Profármacos incluem derivados de ácido bem conhecidos pelos versados na técnica, tal como, por exemplo, ésteres preparados por reação do ácido origem com um álcool adequado, ou amidas preparadas por reação do composto de ácido origem composto com uma amina substituída ou não substituída, ou anidridos de ácido, ou anidridos mistos. Ésteres alifáticos simples ou aromáticos, amidas e anidridos derivados de grupos acídicos pendente sobre os compostos desta invenção são profármacos preferidos. Em alguns casos é desejável preparar profármacos do tipo éster duplo tais como (acilóxi) alquila ésteres ou ((alcoxycarbonil)óxi)alquilésteres. Particularmente úteis são os C₁ a C₈ alquila, C₂-C₈ alquenila, arila, C₇-C₁₂ arila substituída, e C₇-C₁₂

arilalquila ésteres dos compostos da invenção.

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

[000150] Quando empregados como produtos farmacêuticos, os compostos da invenção são tipicamente administrados na forma de uma composição farmacêutica. Tais composições podem ser preparadas de uma maneira bem conhecida na técnica farmacêutica e compreendem pelo menos um composto ativo. Geralmente, os compostos desta invenção são administrados em uma quantidade farmaceuticamente eficaz. A quantidade do composto realmente administrada tipicamente será determinada por um clínico, levando em consideração circunstâncias relevantes, incluindo a condição a ser tratada, a rotina de administração selecionada, o composto real administrado, a idade, peso e resposta do paciente individual, a gravidade dos sintomas do paciente, e similares.

[000151] As composições farmacêuticas da invenção podem ser administradas por uma variedade de rotinas incluindo orais, retais, transdérmicas, subcutâneas, intra-articulares, intravenosas, intramusculares, e intranasais. Dependendo da rotina pretendida de liberação, os compostos desta invenção são preferivelmente formulados como composições injetáveis ou orais ou como pomadas, como loções ou como emplastros, todos para administração transdérmica.

[000152] As composições para administração oral podem tomar a forma de soluções ou suspensões líquidas de volume, ou pós de volume. Mais comumente, entretanto, as composições são apresentadas em formas de dosagem unitária para facilitar a dosagem exata. O termo "formas de dosagem unitária" refere-se às unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para indivíduos e outros mamíferos, cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de material ativo calculada para produzir o

efeito terapêutico desejado, em associação com um excipiente, veículo ou portador farmacêutico adequado. Formas de dosagem unitária típica incluem ampolas ou seringas pré-medidas, pré-carregadas das composições líquidas ou pílulas, comprimidos, cápsulas ou similares no caso de composições sólidas. Em tais composições, o composto de ácido furansulfônico é geralmente um componente menor (de cerca de 0,1 a cerca de 50% em peso ou preferivelmente de cerca de 1 a cerca de 40% em peso) com o restante sendo vários veículos ou portadores e auxiliares de processamento úteis para a formação de forma de dosagem desejada.

[000153] Formas líquidas adequadas para administração oral podem incluir um veículo aquoso ou não aquoso adequado com tampões, agentes de suspensão ou dispersão, corantes, aromatizantes e similares. Formas sólidas podem incluir, por exemplo, qualquer um dos seguintes ingredientes, ou compostos de uma natureza similar: um aglutinante tal como celulose microcristalina, goma de tragacanto ou gelatina; um excipiente tal como amido ou lactose, um agente desintegrante tal como ácido algínico, Primogel, ou amido de milho; um lubrificante tal como estearato de magnésio; um deslizante tal como dióxido de silício coloidal; um agente adoçante tal como sacarose ou sacarina; ou um agente aromatizante tal como hortelã-pimenta, salicilato de metila, ou aromatizante de laranja.

[000154] Composições injetáveis são tipicamente com base em salina tamponada por fosfato ou salina estéril injetável ou outros portadores injetáveis conhecidos na técnica. Como anteriormente, o composto ativo em tais composições é tipicamente um componente menor, frequentemente sendo de cerca de 0,05 a 10% em peso com o restante sendo o portador injetável e similares.

[000155] Composições transdérmicas são tipicamente formuladas como um unguento ou creme tópico contendo o(s) ingrediente(s)

ativo(s), geralmente em uma quantidade variando de cerca de 0,01 a cerca de 20% em peso, preferivelmente de cerca de 0,1 a cerca de 20% em peso, preferivelmente de cerca de 0,1 a cerca de 10% em peso, e mais preferivelmente de cerca de 0,5 a cerca de 15% em peso. Quando formulado como um unguento, os ingredientes ativos tipicamente serão combinados com uma base de unguento miscível em água ou parafínica. Alternativamente, os ingredientes ativos podem ser formulados em um creme com, por exemplo, uma base de creme óleo-em-água. Tais formulações transdérmicas são bem conhecidas na técnica e geralmente incluem ingredientes adicionais para realçar a penetração dérmica de estabilidade dos ingredientes ativos ou da formulação. Todas as tais formulações transdérmicas conhecidas e ingredientes são incluídos no escopo desta invenção.

[000156] Os compostos da invenção podem também ser administrados por qualquer dispositivo transdérmico.

[000157] Consequentemente, a administração transdérmica pode ser realizada usando um emplastro do tipo membrana porosa ou de reservatório, ou de uma variedade de matriz sólida.

[000158] Os componentes acima descritos para composições oralmente administráveis, injetavelmente ou topicamente administráveis são meramente representativos. Outros materiais bem como técnicas de processamento e similares são mencionados na Parte 8 de Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª Edição, 1985, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, que é incorporado aqui por referência.

[000159] Os compostos desta invenção podem também ser administrados em formas de liberação prolongada ou a partir de sistemas de liberação de fármaco prolongada. Uma descrição de materiais de liberação prolongado representativos pode ser encontrada em Remington's Pharmaceutical Sciences.

[000160] Os seguintes exemplos de formulação ilustram composições farmacêuticas representativas que podem ser preparadas de acordo com esta invenção. A presente invenção, entretanto, não está limitada às seguintes composições farmacêuticas.

Formulação 1 - Comprimidos

[000161] Um composto da invenção pode ser misturado como um pó seco com um aglutinante de gelatina seco em uma relação de peso de 1:2 aproximada. Uma quantidade menor de estearato de magnésio é adicionada como um lubrificante. A mistura é formada em comprimidos de 240 a 270 mg (80 a 90 mg de composto de amida ativo por comprimido) em uma prensa de comprimidos.

Formulação 2 - Cápsulas

[000162] Um composto da invenção pode ser misturado como um pó seco com um diluente de amido em uma relação de peso 1:1 aproximada. A mistura pode ser carregada em cápsulas de 250 mg (125 mg de composto de amida ativo por cápsula).

Formulação 3 - Líquida

[000163] Um composto da invenção (125 mg), pode ser misturado com sacarose (1,75 g) e goma xantan (4 mg) e a mistura resultante pode ser misturada, passada através de uma peneira U.S malha nº 10, e em seguida misturada com uma solução anteriormente preparada de celulose microcristalina e carboximetil celulose de sódio (11:89, 50 mg) em água. Benzoato de sódio (10 mg), aromatizante, e cor são diluídos com água e adicionados com agitação. Água suficiente pode em seguida ser adicionada com agitação. Água suficiente é em seguida adicionada para produzir um volume total de 5 mL.

Formulação 4 - Comprimidos

[000164] Um composto da invenção pode ser misturado como um pó seco com um aglutinante de gelatina seco em uma relação de peso de 1:2 aproximada. Uma quantidade menor de estearato de magnésio é

adicionada como um lubrificante. A mistura é formada em comprimidos de 450 a 900 mg (150 a 300 mg de composto de amida ativo) em uma prensa de comprimido.

Formulação 5 - Injeção

[000165] Um composto da invenção pode ser dissolvido ou suspenso em um meio aquoso injetável de salina estéril tamponada para uma concentração de aproximadamente 5 mg/mL.

Formulação 6 - Tópica

[000166] Álcool estéril (250 g) e um petróleo branco (250 g) são fundidos a cerca de 75°C e em seguida uma mistura de um composto da invenção (50 g) metilparabeno (0,25 g), propilparabeno (0,15 g), sulfato de laurila de sódio (10 g), e propileno glicol (120 g) dissolvida em água (cerca de 370 g) é adicionada e a mistura resultante é agitada até ela congelar-se.

MÉTODOS DE TRATAMENTO

[000167] Os presentes compostos podem ser usados como agentes terapêuticos para o tratamento de condições em mamíferos que têm uma causa relacionada ou atribuível à atividade de JAK anormal. Em particular, condições relacionadas à atividade anormal de uma ou mais dentre JAK1, JAK2, JAK3 e/ou TYK2. Consequentemente, o composto da invenção e composições farmacêuticas desta invenção encontram uso como produtos terapêuticos para a prevenção e/ou tratamento de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca

crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações congênitas da cartilagem, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão). Inibidores de JAK podem também encontrar aplicação no tratamento de doenças proliferativas. Em particular os inibidores de JAK encontram aplicação no tratamento de cânceres, especialmente leucemias e tumores sólidos (por exemplo, leiomiossarcoma uterino, câncer de próstata). Em particular as condições são selecionadas de condições inflamatórias, condições relacionadas com a degradação da cartilagem e/ou articulação em mamíferos incluindo humanos. Em outra modalidade, os compostos e composições farmacêuticas desta invenção encontram uso como produtos terapêuticos para a prevenção e/ou tratamento de distúrbios proliferativos em mamíferos, incluindo humanos. Em uma modalidade específica o composto da invenção e composições farmacêuticas do mesmo encontram uso como produtos terapêuticos para a prevenção e/ou tratamento de câncer em mamíferos incluindo humanos.

[000168] Em um método adicional de aspectos de tratamento, esta invenção fornece métodos de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com condição envolvendo uma resposta imune ou uma doença autoimune. Os métodos compreendem administrar uma quantidade de prevenção de condição ou tratamento de condição eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou composto da invenção descritos aqui. Em uma modalidade específica, a doença autoimune é selecionada de COPD, asma, lúpus eritematoso sistêmico, diabetes melito tipo I e doença inflamatória do intestino.

[000169] Em outro aspecto, a presente invenção fornece o composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de a condição envolvendo uma resposta autoimune ou uma doença

autoimune. Em uma modalidade específica, a doença autoimune é selecionada de COPD, asma, lúpus eritematoso sistêmico, diabetes melito tipo I e doença inflamatória do intestino.

[000170] Em um método de aspecto de tratamento, esta invenção fornece um método de tratamento, prevenção ou profilaxia em um mamífero suscetível à ou sofrendo com doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, uma condição associada com, ou doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), por exemplo, osteoartrite, artrite psoriática, artrite reumatoide juvenil, artrite gotosa, artrite séptica ou infecciosa, artrite reativa, distrofia simpática de reflexo, algodistrofia, síndrome de Tietze ou condrite costal, fibromialgia, osteocondrite, artrite neurogênica ou neuropática, artropatia, formas endêmicas de artrite como ostereartrite deformante endêmica, doença Mseleni e doença de Handigodu; degeneração resultante de fibromialgia, lúpus eritematoso sistêmico, escleroderma e espondilite anquilosante, cujo método compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de acordo com a invenção, ou uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[000171] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, uma condição associada com, ou doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), por exemplo, osteoartrite, artrite psoriática, artrite reumatoide juvenil, artrite gotosa, artrite séptica ou infecciosa, artrite reativa, distrofia simpática de reflexo, algodistrofia, síndrome de Tietze ou condrite costal, fibromialgia, osteocondrite, artrite neurogênica ou neuropática, artropatia, formas endêmicas de artrite como ostereartrite deformante endêmica, doença Mseleni e doença de Handigodu; degeneração

resultante de fibromialgia, lúpus eritematoso sistêmico, escleroderma e espondilite anquilosante.

[000172] A presente invenção também fornece um método de tratamento de malformações congênitas da cartilagem, incluindo condrólise hereditária, condrodisplasias e pseudocondrodisplasias, em particular, porém sem limitação, microtia, anotia, condrodisplasia metafisária, e distúrbios relacionados, cujo método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[000173] Em outro aspecto a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de malformações congênitas da cartilagem, incluindo condrólise hereditária, condrodisplasias e pseudocondrodisplasias, em particular, porém sem limitação, microtia, anotia, condrodisplasia metafisiária, e distúrbios relacionados.

[000174] Em outro aspecto, esta invenção fornece um método de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com uma condição envolvendo inflamação. Em um método adicional de aspectos de tratamento, esta invenção fornece métodos de tratamento de um mamífero suscetível a ou sofrendo com doenças e distúrbios que são mediados por ou resultam em inflamação tal como, por exemplo, artrite reumatoide e osteoartrite, doença da via aérea alérgica (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), e doenças relacionadas envolvendo a cartilagem, tais como àquelas das articulações, cujo método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui. Em uma

modalidade específica, a condição envolvendo inflamação é selecionada de artrite reumatoide, osteoartrite, doença da via aérea alérgica (por exemplo, asma) e doenças inflamatórias do intestino. Os métodos compreendem administrar uma quantidade de prevenção de condição ou tratamento de condição eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[000175] Em outro aspecto, esta invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de a condição envolvendo inflamação. Em outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de doenças e distúrbios que são mediados por ou resultam em inflamação tal como, por exemplo, artrite reumatoide e osteoartrite, doença da via aérea alérgica (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino, estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), e doenças relacionadas envolvendo a cartilagem, tais como àquelas das articulações. Em uma modalidade específica, a condição envolvendo inflamação é selecionada de artrite reumatoide, osteoartrite, doença da via aérea alérgica (por exemplo, asma) e doenças inflamatórias do intestino.

[000176] Em outro método de aspectos de tratamento, esta invenção fornece métodos de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com uma doença proliferativa, em particular câncer (por exemplo, tumores sólidos tais como leiomiossarcoma uterino ou câncer de próstata), leucemia (por exemplo, AML ou ALL), mieloma múltiplo e/ou psoríase cujos métodos compreendem administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui. Em outro método de aspectos de tratamento,

esta invenção fornece métodos de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com câncer (por exemplo, tumores sólidos tais como leiomiossarcoma uterino ou câncer de próstata) e/ou leucemias.

[000177] Em outro aspecto a presente invenção fornece o composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de uma doença proliferativa, em particular câncer (por exemplo, tumores sólidos tais como leiomiossarcoma uterino ou câncer de próstata), leucemia (por exemplo, AML ou ALL), mieloma múltiplo e/ou psoríase.

[000178] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de câncer (por exemplo, tumores sólidos tal como leiomiossarcoma uterino ou câncer de próstata) e/ou leucemias.

[000179] Em outro método de aspectos de tratamento, esta invenção fornece métodos de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com doenças associadas com hipersecreção de IL6, em particular doença de Castleman ou glomerulonefrite proliferativa mesangial cujos métodos compreendem administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui.

[000180] Em outro aspecto, a presente invenção fornece um composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de doenças associadas com hipersecreção de IL6, em particular doença de Castleman ou glomerulonefrite proliferativa mesangial.

[000181] Em outro método de aspectos de tratamento, esta invenção fornece métodos de tratamento de um mamífero suscetível à ou sofrendo com rejeição de transplante cujos métodos compreendem administrar uma quantidade eficaz de uma ou mais das composições farmacêuticas ou compostos descritos aqui. Em uma modalidade específica, a invenção fornece métodos de tratamento de rejeição de

transplante de órgão.

[000182] Em outro aspecto, a presente invenção fornece o composto da invenção para uso no tratamento, prevenção ou profilaxia de rejeição de transplante. Em uma modalidade específica, a invenção fornece métodos de tratamento de rejeição de transplante de órgão.

[000183] Como um outro aspecto da invenção é fornecido os presentes compostos para uso como um produto farmacêutico especialmente no tratamento ou prevenção das condições e doenças anteriormente mencionadas. Também fornecido aqui é o uso dos presentes compostos na fabricação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de uma das condições e doenças anteriormente mencionadas.

[000184] Um regime particular do presente método compreende a administração a um indivíduo que está sofrendo de uma doença envolvendo inflamação, de uma quantidade eficaz de um composto da invenção durante um período de tempo suficiente para reduzir o nível de inflamação no paciente, e preferivelmente terminar, o processo responsável pela referida inflamação. Uma modalidade especial do método compreende administrar de uma quantidade eficaz de um composto da invenção a um paciente objeto que está sofrendo de, ou suscetível ao desenvolvimento de artrite reumatoide, durante um período de tempo suficiente para reduzir ou prevenir, respectivamente, inflamação nas articulações do referido paciente, e preferivelmente terminar, os processos responsáveis pela referida inflamação.

[000185] Um outro regime particular do presente método compreende a administração a um indivíduo que está sofrendo de uma doença condição caracterizada pela desgaste da articulação ou cartilagem (por exemplo, osteoartrite) de uma quantidade eficaz de um composto da invenção durante um período de tempo suficiente para reduzir e preferivelmente terminar, os processos de auto-perpetuação

responsáveis pela referida degradação. Uma modalidade especial of the método compreende administrar uma quantidade eficaz de um composto da invenção a um paciente objeto que está sofrendo de ou suscetível ao desenvolvimento de osteoartrite, durante um período de tempo suficiente para reduzir ou prevenir, respectivamente, desgaste da cartilagem nas articulações do referido paciente, e preferivelmente terminar, os processos de auto-perpetuação responsáveis pela referida degradação. Em uma modalidade particular os referidos compostos exibem propriedades anabólicas e/ou anticatabólicas de cartilagem.

[000186] Os níveis de dose de injeção variam de cerca de 0,1 mg/kg/hora a pelo menos 10 mg/kg/hora, todos durante cerca de 1 a cerca de 120 horas e especialmente 24 a 96 horas. Um bolo pré-carregado de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 10 mg/kg ou mais pode também ser administrado para obter níveis de estado estável. Espera-se que a dose total máxima não exceda cerca de 2 g/dia para um paciente humano de 40 a 80 kg.

[000187] Para a prevenção e/ou tratamento de condições de longa duração, tal como condições degenerativas, o regime de tratamento geralmente estende-se durante muitos meses ou anos, de modo que a dosagem oral seja preferida para conveniência e tolerância do paciente. Com a dosagem oral, uma a cinco e especialmente duas a quatro e tipicamente três doses orais por dia são regimes representativos. Usando estes padrões de dosagem, cada dose fornece de cerca de 0,01 a cerca de 20 mg/kg do composto da invenção, com doses particulares cada qual fornecendo cerca de 0,1 a cerca de 10 mg/kg e especialmente cerca de 1 a cerca de 5 mg/kg.

[000188] Doses transdérmicas são geralmente selecionadas para fornecer níveis sanguíneos similares ou menores do que são obtidos usando doses de injeção.

[000189] Quando usados para prevenir o início de uma condição inflamatória, os compostos desta invenção serão administrados a um paciente em risco de desenvolver a condição, tipicamente na informação e sob a supervisão de um clínico, nos níveis de dosagem acima descritos. Pacientes em risco de desenvolver uma condição particular geralmente incluem aqueles que têm uma história de família da condição, ou aqueles que foram identificados por teste genético ou análise ser particularmente suscetíveis a desenvolver a condição.

[000190] Os compostos desta invenção podem ser administrados como o único agente ativo ou eles podem ser administrados em combinação com outros agentes, incluindo outros compostos que demonstram a mesma atividade terapêutica ou uma similar, e que são determinados ser seguros e eficazes para tal administração combinada. Em uma modalidade específica, a coadministração de dois (ou mais) agentes provê doses significativamente menores de cada qual a ser usado, desse modo reduzindo os efeitos colaterais observados.

[000191] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de uma doença envolvendo inflamação; agentes particulares incluem, porém não estão limitados a agentes imunorreguladores, por exemplo, azatioprina, corticosteroides (por exemplo, prednisolona ou dexametasona), ciclofosfamida, ciclosporina A, tacrolimo, Mofetila de Micofenolato, muromonab-CD3 (OKT3, por exemplo, Orthocolone®), ATG, aspirina, acetaminofeno, ibuprofeno, naproxeno, e piroxicam.

[000192] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de artrite (por exemplo, artrite reumatoide); agentes particulares incluem, porém não estão limitados a analgésicos,

fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDS), esteroides, DMARDS sintéticos (por exemplo, porém sem limitação, metotrexato, leflunomida, sulfasalazina, auranofina, aurotiomalato de sódio, penicilamina, cloroquina, hidroxiclороquina, azatioprina, e ciclosporina), e DMARDS biológicos (por exemplo, porém sem limitação Infliximabe, Etanercepte, Adalimumabe, Rituximabe, e Abatacepte).

[000193] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de distúrbios proliferativos; agentes particulares incluem, porém não estão limitados a: metotrexato, leucovorina, adriamicina, prenisona, bleomicina, ciclofosfamida, 5- fluorouracil, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, vinorelbina, doxorubicina, tamoxifeno, toremifeno, acetato de megestrol, anastrozol, goserelina, anticorpo monoclonal anti-HER2 (por exemplo, Herceptin(TM)), capecitabina, cloridrato de raloxifeno, inibidores de EGFR (por exemplo, Iressa (R), Tarceva(TM), Erbitux(TM)), inibidores de VEGF (por exemplo, Avastin(TM)), inibidores de proteassoma (por exemplo, Velcade(TM)), Glivec (R) ou inibidores de hsp90 (por exemplo, 17-AAG). Adicionalmente, um composto da invenção pode ser administrado em combinação com outras terapias incluindo, porém não limitadas à radioterapia ou cirurgia. Em uma modalidade específica os distúrbios proliferativos são selecionados de cânceres, doença mieloproliferativa ou leucemia.

[000194] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de doenças autoimunes, agentes particulares incluem, porém não estão limitados a: glucocorticoides, agentes citostáticos (por exemplo, análogos de purina), agentes de alquilação, (por exemplo, mostardas de nitrogênio (ciclofosfamida), nitrosoureas, compostos de platina, e outros), antimetabólitos (por exemplo,

metotrexato, azatioprina e mercaptopurina), antibióticos citotóxicos (por exemplo, dactinomicina antraciclinas, mitomicina C, bleomicina, e mitramicina), anticorpos (por exemplo, anti-CD20, anti-CD25 ou anti-CD3 (OTK3) anticorpos monoclonais, Atgam® e Thymoglobuline®), ciclosporina, tacrolimo, rapamicina (sirolimo), interferons (por exemplo, IFN- β), proteínas de ligação de TNF (por exemplo, infliximabe (Remicade), etanorcepte (Enbrel), ou adalimumabe (Humira)), micofenolato, Fingolimode, Miriocina.

[000195] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de rejeição de transplante, agentes particulares incluem, porém não estão limitados aos: inibidores de calcineurina (por exemplo, ciclosporina ou tacrolimo (FK506)), inibidores de mTOR (por exemplo, sirolimo, everolimo), antiproliferativos (por exemplo, azatioprina, ácido micofenólico), corticosteroides (por exemplo, prednisolona, hidrocortisona), anticorpos (por exemplo, anticorpos de receptor anti-IL-2R α monoclonais, basiliximabe, daclizumabe), anticorpos anti-célula T policlona (por exemplo, globulina anti-timócito (ATG), globulina anti-linfócito (ALG)).

[000196] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de Asma e/ou Rinite e/ou COPD, agentes particulares incluem, porém não estão limitados aos: agonistas de beta₂-adrenoceptor (por exemplo, salbutamol, levalbuterol, terbutalina e bitolterol.), epinefrina (inalada ou em comprimidos), anticolinérgicos (por exemplo, brometo de ipratrópio), glucocorticoides (orais ou inalados) agonistas β_2 de longa ação (por exemplo, salmeterol, formoterol, bambuterol, e albuterol oral de liberação prolongada), combinações de esteroides inalados e broncodilatadores de longa ação (por exemplo, fluticasona/salmeterol, budesonida/formoterol),

antagonistas de leucotrieno e inibidores de síntese (por exemplo, montelucaste, zafirlucaste e zileuton), inibidores de liberação mediadora (por exemplo, cromoglicato e cetotifeno), reguladores biológicos de resposta de IgE (por exemplo, omalizumabe), anti-histaminas (por exemplo, ceterizina, cinarizina, fexofenadina), vasoconstritores (por exemplo, oximetazolina, xilometazolina, nafazolina e tramazolina).

[000197] Adicionalmente, o composto da invenção pode ser administrado em combinação com terapias de emergência para asma e/ou COPD, tais terapias incluem administração de oxigênio ou hélio, terbutalina ou salbutamol nebulizado (opcionalmente combinado com um anticolinérgico (por exemplo, ipratrópio), esteroides sistêmicos (orais ou intravenosos, por exemplo, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, ou hidrocortisona), salbutamol intravenoso, beta-agonistas não específicos, injetados ou inalados (por exemplo, epinefrina, isoetarina, isoproterenol, metaproterenol), anticolinérgicos (IV ou nebulizados, por exemplo, glicopirrolato, atropina, ipratrópio), metilxantinas (teofilina, aminofilina, bamifilina), anestésicos de inalação que têm um efeito broncodilatador (por exemplo, isoflurano, halotano, enflurano), cetamina, sulfato de magnésio intravenoso.

[000198] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de IBD, agentes particulares incluem, porém não estão limitados aos: glucocorticoides (por exemplo, prednisona, budesonida), modificação da doença de síntese, agentes imunomoduladores (por exemplo, metotrexato, leflunomida, sulfasalazina, mesalazina, azatioprina, 6-mercaptopurina e ciclosporina) e modificação da doença biológica, agentes imunomoduladores (infliximabe, adalimumabe, rituximabe, e abatacepte).

[000199] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de SLE, agentes particulares incluem, porém não estão limitados aos: profármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARDs) tal como antimaláricos (por exemplo, plaquenil, hidroxicloroquina), imunossuppressores (por exemplo, metotrexato e azatioprina), ciclofosfamida e ácido micofenólico; fármacos imunossuppressores e analgésicos, tal como fármacos anti-inflamatórios não esteroidais, opiatos (por exemplo, dextropropoxifeno e co-codamol), opioides (por exemplo, hidrocodona, oxicodona, MS Contin, ou metadona) e o emplastro transdérmico duragésico de fentanila.

[000200] Em uma modalidade, o composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico para o tratamento e/ou prevenção de psoríase, agentes particulares incluem, porém não estão limitados aos: tratamentos tópicos tais como soluções de banho, umectantes, cremes medicinais e unguentos contendo alcatrão de carvão, ditranol (antralina), corticosteroides tipo desoximetasona (Topicort), fluocinonida, análogos de vitamina D₃ (por exemplo, calcipotriol), retinoides de óleo de argan (etretinato, acitretina, tazaroteno), tratamentos sistêmicos tais como metotrexato, ciclosporina, retinoides, tioguanina, hidroxiureia, sulfasalazina, mofetila de micofenolato, azatioprina, tacrolimo, ésteres de ácido fumárico ou biologias tais como Amevive, Enbrel, Humira, Remicade, Raptiva e ustecinumabe (um bloqueador de IL-12 e IL-23). Adicionalmente, um composto da invenção pode ser administrado em combinação com outras terapias incluindo, porém não limitadas à fototerapia, ou fotoquimioterapia (por exemplo, psoraleno e fototerapia com ultravioleta A (PUVA)).

[000201] Por coadministração são incluídos quaisquer meios de liberação de dois ou mais agentes terapêuticos ao paciente como

parte do mesmo regime de tratamento, como será evidente para a pessoa versada. Embora os dois ou mais agentes possam ser administrados simultaneamente em uma única formulação, isto não é essencial. Os agentes podem ser administrados em diferentes formulações e em momentos diferentes.

Procedimentos Sintéticos Gerais

Geral

[000202] Os compostos da invenção podem ser preparados a partir de materiais de partida facilmente disponíveis usando os seguintes métodos e procedimentos gerais. Será apreciado que onde condições de processo típicas ou preferidas (isto é, tempos, temperaturas de reação, relações molares de reagentes, solventes, pressões, etc.) são fornecidas, outras condições de processo possam também ser usadas a menos que de outro modo estabelecido. Condições de reação ideais podem variar com os reagentes particulares ou solventes usados, porém tais condições podem ser determinadas por alguém versado na técnica por procedimentos de otimização de rotina.

[000203] Adicionalmente, como será evidente para aqueles versados na técnica, grupos de proteção convencionais podem ser necessários para prevenir certos grupos funcionais de sofrerem reações indesejadas. A escolha de um grupo de proteção adequado para um grupo funcional particular bem como condições adequadas para proteção e desproteção são bem conhecidas na técnica. Por exemplo, numerosos grupos de proteção, e sua introdução e remoção, são descritos em T. W. Greene e P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Segunda Edição, Wiley, Nova Iorque, 1991, e referências citadas neste.

[000204] Os seguintes métodos são apresentados com detalhes como para preparação de bicicloheteroarilas representativas que foram listadas aqui acima. Os compostos da invenção podem ser

preparados a partir de reagentes e materiais de partida comercialmente disponíveis por alguém versado na técnica de síntese orgânica.

[000205] Todos os reagentes foram de grau comercial e foram usados como recebidos sem purificação, a menos que de outro modo estabelecido. Solventes anidrosos comercialmente disponíveis foram usados para reações conduzidas sob atmosfera inerte. Solventes de grau de reagente foram usados em todos os outros casos, a menos que de outro modo especificado. Cromatografia de coluna foi realizada em sílica-gel 60 (35 a 70 μm). Cromatografia de camada fina foi realizada usando placas de sílica-gel F-254 pré-revestidas (espessura 0,25 mm). Espectros de ^1H RMN foram registrados em um espectrômetro Bruker DPX 400 RMN (400 MHz). Desvios químicos (δ) para os espectros de ^1H RMN são reportados em partes por milhão (ppm) com relação ao tetrametilsilano (δ 0,00) ou ao pico de solvente residual apropriado, isto é, CHCl_3 (δ 7,27), como referência interna. As multiplicidades são fornecidas como singlete (s), duplete (d), tripleto (t), quarteto (q), multiplete (m) e amplo (br). Constantes de acoplamento (J) são fornecidas em Hz. Os espectros de MS de eletrovaporização foram obtidos em um espectrômetro Micromass plataforma LC/MS. Coluna usada para todas as análises de LCMS: Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm , 2,1 mm ID x 50 mm L (Parte nº 186002350)). HPLC preparativa: Waters XBridge Prep C18 5 μm ODB 19 mm ID x 100 mm L (Parte nº 186002978). Todos os métodos são usando gradientes de $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$. H_2O contém TFA a 0,1% ou 0,1% NH_3 .

Lista de abreviações usadas na seção experimental:

DCM	Diclorometano
DiPEA	N, N-di-isopropiletilamina
MeCN	Acetonitrila
BOC	terc-butilóxi-carbonila

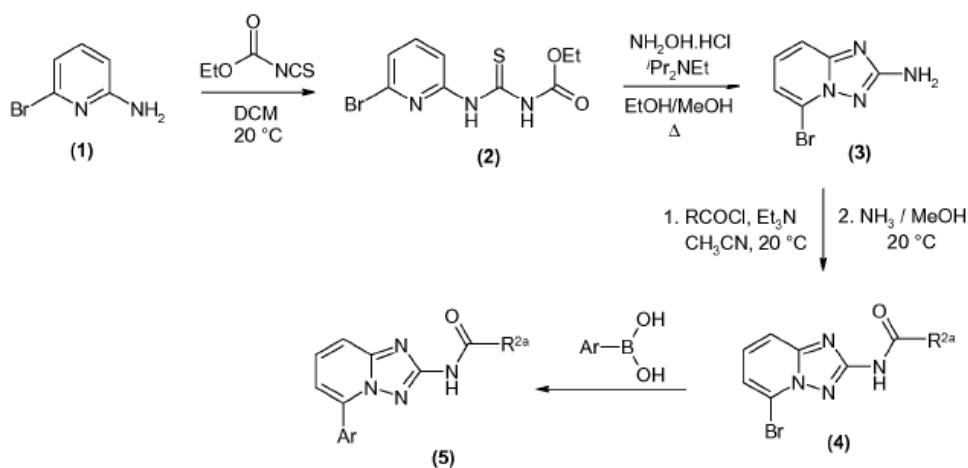
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetra-hidrofurano
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPA	Difenilfosforilazida
LC-MS	Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massa
Ppm	parte-por-milhão
EtOAc	acetato de etila
APCI	Ionização química de pressão atmosférica
Rt	tempo de retenção
S	singleto
br s	singleto amplo
m	multiplete
d	duplete
PdCl ₂ dppf	[1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaládio(II)
TEA	Trietilamina

Preparação Sintética de Compostos da invenção

[000206] Um composto da invenção pode ser produzido de acordo com os seguintes esquemas.

Método Sintético Geral

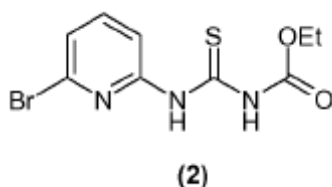
Esquema 1



em que Ar é $\text{Cy1-L1-(CR}^{4b}\text{R}^{4c})_{n1}\text{-R}^{3b}$; e Cy1, L1, n1, R^{2a} , R^{3b} , e R^{4c} , são como descrito aqui.

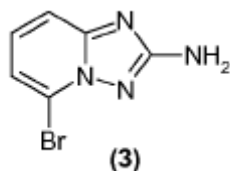
Geral

1.1.1 1-(6-Bromo-piridin-2-il)-3-carboetóxi-tioureia (2)



[000207] A uma solução de 2-amino-6-bromopiridina (**1**) (253,8 g, 1,467 mol) em DCM (2,5 L) resfriadas para 5°C é adicionado isotiocianato de etoxicarbonila (173,0 mL, 1,467 mol) gota a gota durante 15 minutos. A mistura reacional é em seguida deixada aquecer para temperatura ambiente (20°C) e agitada durante 16 horas. A evaporação em vácuo fornece um sólido que pode ser coletado por filtração, completamente lavado com petrol (3 x 600 mL) e seco ao ar para fornecer (**2**). A tioureia pode ser usada como tal para a próxima etapa sem qualquer purificação. ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 12,03 (1H, br s, NH), 8,81 (1H, d, J 7,8 Hz, H-3), 8,15 (1H, br s, NH), 7,60 (1H, t, J 8,0 Hz, H-4), 7,32 (1H, dd, J 1,1 e 0,6 Hz, H-5), 4,31 (2H, q, J 7,1 Hz, CH_2), 1,35 (3H, t, J 7,1 Hz, CH_3).

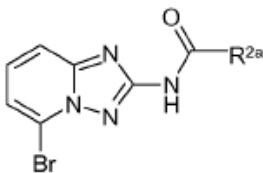
1.1.2 5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-ilamina (3)



[000208] A uma suspensão de cloridrato de hidroxilamina (101,8 g, 1,465 mol) em EtOH/MeOH (1:1, 900 mL) é adicionada *N,N*-diisopropiletilamina (145,3 mL, 0,879 mol) e a mistura é agitada em temperatura ambiente (20°C) durante 1 hora. 1-(6-bromo-piridin-2-il)-3-carboetóxi-tioureia (**2**) (89,0 g, 0,293 mol) pode em seguida ser adicionado e a mistura lentamente aquecida até o refluxo (Nota:

escova branqueadora é requerida para saciar H_2S evoluído). Após 3 horas em refluxo, a mistura é deixada resfriar e filtrada para coletar o sólido precipitado. Outro produto pode também ser coletado por evaporação em vácuo do filtrado, adição de H_2O (250 mL) e filtragem. Os sólidos combinados são lavados sucessivamente com H_2O (250 mL), EtOH/MeOH (1:1, 250 mL) e Et₂O (250 mL) em seguida secos em vácuo para fornecer o derivado de triazolopiridina (**3**) como um sólido. O composto pode ser usado como tal para a próxima etapa sem qualquer purificação. ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,43-7,34 (2H, m, 2 x H aromático), 7,24 (1H, dd, J_{6,8} e 1,8 Hz, aromatic-H), 6,30 (2H, br, NH₂); m/z 213/215 (1:1, M⁺H⁺, 100%).

1.1.3 Procedimento geral para mono-acilação para fornecer o intermediário (4):



[000209] A uma solução de 2-amino-triazolopiridina (**3**) (7,10 g, 33,3 mmols) em CH₃CN seco (150 mL) a 5°C é adicionado Et₃N (11,6 mL, 83,3 mmols) seguido pelo cloreto de ácido apropriado (83,3 mmols). A mistura reacional é em seguida deixada aquecer para temperatura ambiente e agitada até todo o material de partida (**3**) ser consumido. Se requerido, mais Et₃N (4,64 mL, 33,3 mmol) e o cloreto de ácido (33,3 mmols) podem ser adicionados para garantir a conclusão da reação. Seguinte à evaporação do solvente em vácuo o resíduo resultante é tratado com solução de amônia metanólica a 7 N (50 mL) e agitado em temperatura ambiente, (durante 1 a 16 horas) para hidrolisar qualquer produto bis-acilado. O isolamento do produto é feito por remoção de voláteis em vácuo seguido por trituração com Et₂O (50 mL). Os sólidos podem ser coletados por filtragem, lavados com H₂O (2 x 50 mL), acetona (50 mL) e Et₂O (50 mL), em seguida secos em

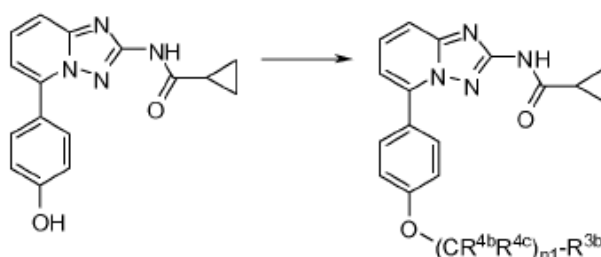
vácuo para fornecer o intermediário de acila requerido (4). Em alguns casos, cromatografia de coluna (petrol/EtOAc) pode ser requerida para obter compostos puros.

Método A

1.1.4 Preparação de compostos da invenção por meio de acoplamento Suzuki (5):

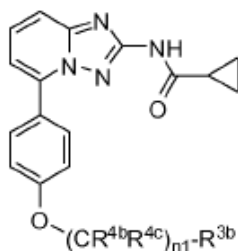
[000210] Um ácido borônico apropriado (2 equivalentes) é adicionado a uma solução de intermediário de bromo (4) em 1,4-dioxano/água (5:1). K_2CO_3 (2 equivalentes) e $PdCl_2dppf$ (5%) são adicionados à solução. A mistura resultante é em seguida aquecida em um micro-ondas a 140 °C durante 30 minutos (esta reação pode também ser realizada por aquecimento tradicional em um banho de óleo a 90°C durante 16 horas sob N_2). Água é adicionada e a solução é extraída com acetato de etila. As camadas orgânicas são secas sobre $MgSO_4$ e evaporadas em vácuo. O composto final é obtido após purificação por cromatografia rápida.

Método C



em que R^{4a} , R^{4b} , R^{4c} , R^{3b} e $n1$ são como descrito aqui.

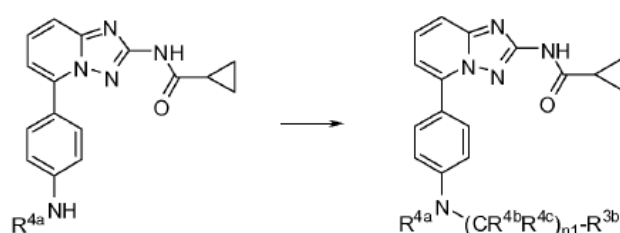
Reação de Alquilação (Método geral)



[000211] [5-(4-hidróxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il]-amida de

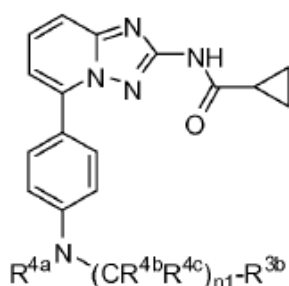
ácido ciclopropanocarboxílico (1,1 equivalente) obtido pelo Método A e K_2CO_3 (5 equivalentes) (ou $AgCO_3$) são dissolvidos em DMF sob N_2 e o agente de alquilação apropriado (1,1 equivalente) é adicionado gota a gota. A suspensão resultante é aquecida a $50^\circ C$ durante 16 horas. Após este tempo, a reação é concluída. O composto é extraído com EtOAc e água, lavado com salmoura e seco sobre $MgSO_4$. As camadas orgânicas são filtradas e evaporadas. O composto final é isolado por HPLC preparativa. HPLC preparativa: Waters XBridge Prep C18 5 μm ODB 19 mm ID x 100 mm L (Parte nº 186002978). Todos os métodos são usando gradientes de MeCN/ H_2O . H_2O contém TFA a 0,1% ou NH_3 a 0,1%.

Método E



em que R^{4a} , R^{4b} , R^{4c} , R^{3b} e n_1 são como descrito aqui.

Aminação reductiva (Método geral)

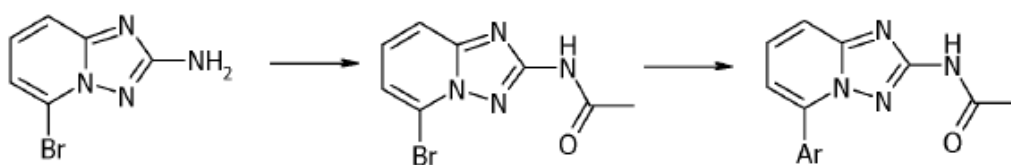


[000212] O aldeído apropriado (2 equivalentes), o derivado de anilina (1 equivalente) obtido pelo Método A e $Ti(OPr)_4$ são misturados e agitados em temperatura ambiente durante 3 horas. A mistura é diluída em etanol e $Na(CN)BH_3$ (1 equivalente) foi adicionado. A solução resultante é agitada em temperatura ambiente durante 16 horas. A mistura é diluída em água e filtrada. O filtrado é lavado com etanol. As fases de solvente combinadas são evaporadas sob vácuo.

O composto final é isolado por HPLC preparativa.

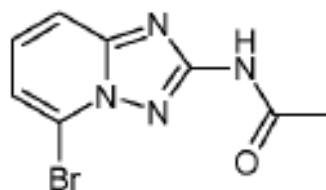
[000213] HPLC preparativa: Waters XBridge Prep C18 5 µm ODB 19 mm ID x 100 mm L (Parte nº 186002978). Todos os métodos são usando gradientes de MeCN/H₂O. H₂O contém TFA a 0,1% ou NH₃ a 0,1%.

Método F

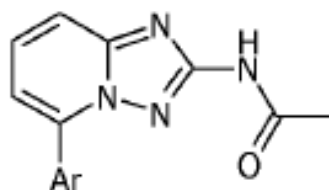


em que Ar é e Cy1, L1, n1, R^{3b}, R^{4b}, e R^{4c} são como descrito aqui.

N-(5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)-acetamida

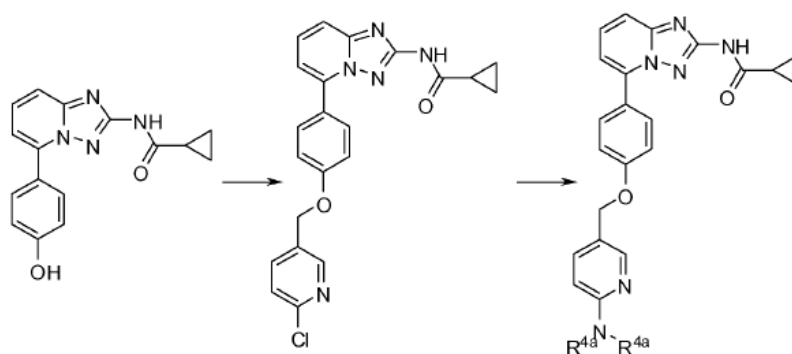


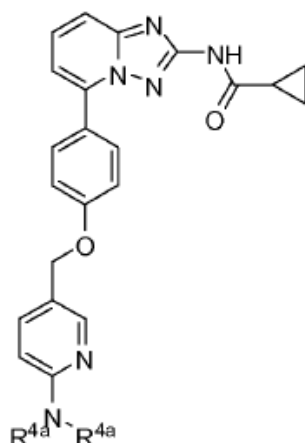
[000214] A uma solução do 5-bromo-2-amino-triazolopiridina (1 equivalente) em CH₃CN seco a 5°C é adicionado Et₃N (2,5 equivalentes) seguido por cloreto de acetila (2,5 equivalentes). A mistura reacional é em seguida deixada aquecer para temperatura ambiente e agitada até todo o material de partida ser consumido. Se requerido, mais Et₃N (1 equivalente) e cloreto de ácido (1 equivalente) são adicionados para garantir a conclusão da reação. Seguinte à evaporação do solvente em vácuo o resíduo resultante é tratado com solução de amônia metabólica a 7 N e agitado em temperatura ambiente, (durante 16 horas) para hidrolisar qualquer produto bis-acilado. O isolamento do produto é feito por remoção de voláteis em vácuo seguido por adição de água e extração com acetato de etila. A fase orgânica é em seguida seco sobre MgSO₄, evaporada em vácuo. O composto é usado sem outra purificação.

Reação Suzuki (Método geral)

[000215] Ácidos borônicos (2 equivalentes) são adicionados a uma solução de N-(5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)-acetamida em 1,4-dioxano/água (5:1). K_2CO_3 (2 equivalentes) e $Pd(dppf)Cl_2$ (5%) (dppf = 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno) são adicionados à solução. A mistura resultante é em seguida aquecida em um forno de micro-ondas (descoberta CEM) em um tubo selado a 140°C durante 30 minutos. Água é adicionada e a solução é extraída com acetato de etila. As camadas orgânicas são secas sobre $MgSO_4$ e evaporadas em vácuo. O composto final é obtido após purificação por HPLC preparativa. Analítico: Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm , 2,1 mm ID x 50 mm L (Parte nº 186002350).

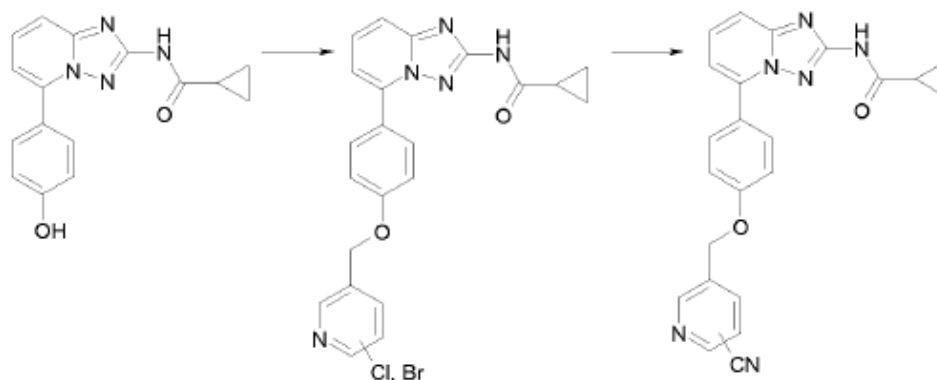
[000216] HPLC preparativa: Waters XBridge Prep C18 5 μm ODB 19 mm ID x 100 mm L (Parte nº 186002978). Todos os métodos são usando gradientes de MeCN/ H_2O . H_2O contém TFA a 0,1% ou NH_3 a 0,1%.

Método LL.1 Substituição de nucleofílico aromático (método geral)

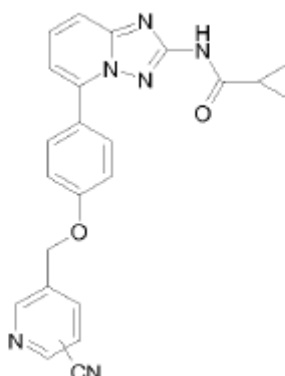


[000217] {5-[4-(6-cloro-piridin-3-ilmetóxi)-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico preparado pelo Método C (1 equivalente), uma amina apropriada, (1,5 equivalente) são misturados em DMSO em um tubo selado. A reação é aquecida a 100 °C durante 24 horas. Visto que todo o SM desapareceu por LCMS, água é adicionada à mistura reacional e os orgânicos são extraídos com acetato de etila. A camada orgânica é seca sobre MgSO_4 e evaporada sob vácuo. O composto final é isolado por HPLC preparativa. Analítico: Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm , 2,1 mm ID x 50 mm L (Parte nº 186002350) [00216] HPLC preparativa: Waters XBridge Prep C18 5 μm ODB 19 mm ID x 100 mm L (Parte nº 186002978). Todos os métodos são usando gradientes de MeCN/ H_2O . H_2O contém TFA a 0,1% ou NH_3 a 0,1%.

Método N



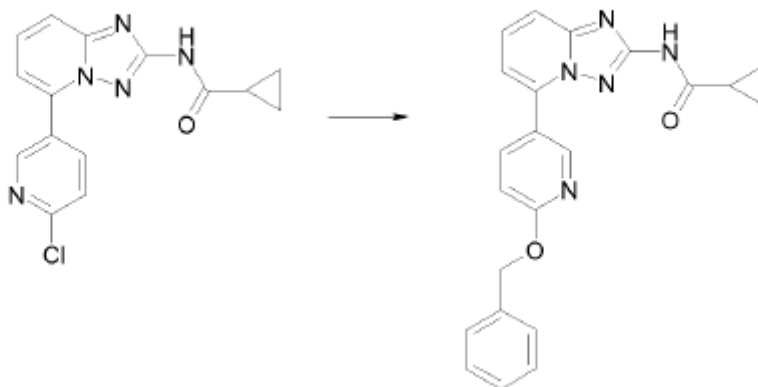
N.1 {5-[4-(nitril-arilmetóxi)-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida

de ácido ciclopropanocarboxílico

[000218] $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,04 mmol) é adicionado à solução degaseificada de {5-[4-(haloaril-3-ilmetóxi)-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico preparado pelo Método B (0,24 mmol) e $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (0,24 mmol) em DMF (1 mL). A mistura reacional é exposta à radiação por micro-ondas (W: 150 W; T: 150°C) durante 30 minutos. A mistura é diluída com acetato de etila e lavada com água. A camada orgânica é seca sobre MgSO_4 , filtrada e o solvente é removido sob vácuo. O composto é purificado por HPLC preparativa para fornecer o produto (30 % a 50 %).

Síntese de compostos representativos da invenção

Composto 57: [5-(6-benzilóxi-piridin-3-il)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il]-amida de ácido ciclopropanocarboxílico

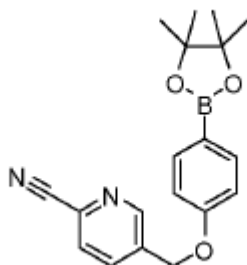


[000219] A 0°C e sob atmosfera de N_2 , benzil álcool (2 equivalentes) em uma solução de THF foi tratado com NaH a 60 % em óleo mineral

(4 equivalentes) durante 30 minutos em seguida [5-(6-cloro-piridin-3-il)-[1,2,4] triazolo [1,5-a]piridin-2-il]-amida de ácido ciclopropanocarboxílico preparado pelo Método A foi adicionado à solução e a mistura foi agitada a 70°C durante 3 horas. A reação foi concluída. A mistura reacional foi extinguida com água e o composto foi extraído com EtOAc. O composto foi lavado com salmoura, seco sobre MgSO₄, filtrado e concentrado. Composto foi purificado em HPLC preparativa.

Composto 176: *N*-(5-(4-((6-cianopiridin-3-il)metóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a] piridin-2- il)ciclopropanocarboxamida

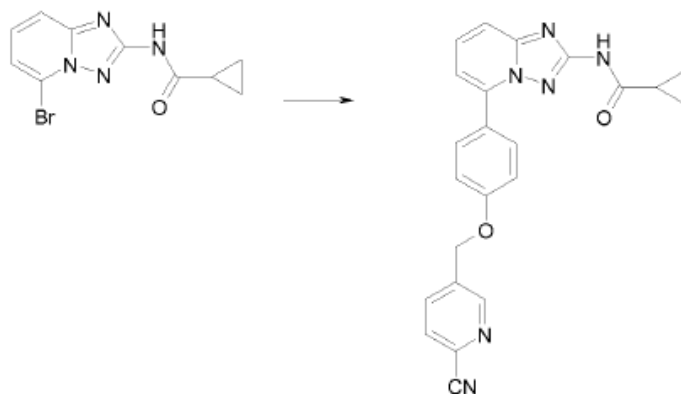
176.1: Síntese de 5-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenoximetil] -piridina-2-carbonitrila



[000220] Ao pinacol éster de ácido 4-hidroxifenilborônico (25 g; 0,11 mol; 1,0 equivalente A) em acetona (250 mL) em temperatura ambiente foram adicionado sob argônio, 5-clomometil-piridina-2-carbonitrila (19 g; 0,12 mol; 1.1 equivalentes) e carbonato de céσιο (73,9 g, 0,22 mol; 2 equivalentes). A mistura reacional foi aquecida durante 4 horas em refluxo. A mistura foi em seguida resfriada para temperatura ambiente, a acetona foi evaporada. Água (200 mL) foi adicionada e o produto foi extraído com EtOAc (3 x 200 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, filtrada e concentrada até a secura. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (petrol:EtOAc 10:1) para fornecer o boronato esperado como um sólido branco.

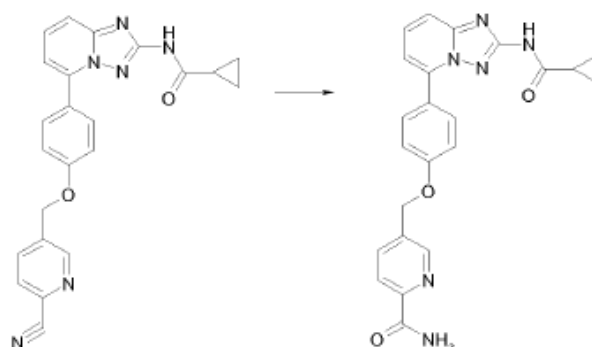
176.2: Síntese de 5-[4-(6-ciano-piridin-3-ilmetóxi)-fenil-

[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida de ácido
ciclopropanocarboxílico



[000221] 5-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenoximetil]-piridina-2-carbonitrila (10 g, 0,03 mol, 1,1 equivalente) foi adicionado a uma solução de (5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)-amida de ácido ciclopropanocarboxílico (7,6 g, 0,027 mol) em 1,4-dioxano/água (4: 1; 70 mL). K₂CO₃ (7,45, 0,054 mol, 2 equivalente) e PdCl₂dppf (5%) foram adicionados à solução. A mistura resultante foi em seguida aquecida em um banho de óleo a 90°C sob N₂ até a conclusão (monitorada por LCMS). 1,4-dioxano foi removido sob vácuo, e água/EtOAc foram adicionado e o sólido foi filtrado. O sólido obtido foi dissolvido em metanol/DCM, seco sobre MgSO₄ e o composto final foi obtido após purificação por cromatografia rápida, eluído com EtOAc puro como um sólido branco

Composto 192: Amida de ácido 5-{4-[2-(ciclopropanocarbonil-amino)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-5-il]-fenoximetil}-piridina-2-carboxílico



[000222] A uma solução de {5-[4-(6-ciano-piridin-3-ilmetóxi)-fenil]-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico (30 mg, 0,073 mmol, 1 equivalente) e K_2CO_3 (10 mg, 0,073 mmol, 1 equivalente) em DMSO (0,2 mL) a 10°C, H_2O_2 a 30% (17 μ L, 0,146 mmol, 2 equivalentes) foi adicionado gota a gota. Após agitação em temperatura ambiente da mistura durante 4 horas, ela foi diluída com DMSO e filtrada. O filtrado foi submetido à purificação por HPLC preparativa: sistema UPLC (coluna XBridge® Prep C18, 5 μ m, 19 x 100 mm); LC de 8 minutos; fluxo: 20 mL/minutos; gradiente: de 30% a 70% de acetonitrila em água 0,1 % de TFA; isolando o produto puro final.

[000223] Os compostos exemplares que foram ou podem ser preparados de acordo com os métodos sintéticos descritos aqui são listados na tabela abaixo.

[000224] Os dados espectrais de RMN de alguns compostos representativos da invenção são fornecidos na tabela II.

Tabela I

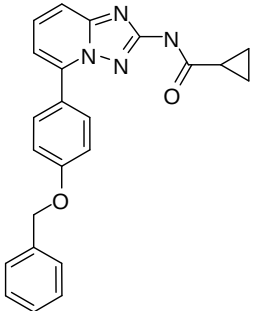
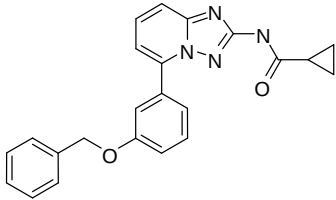
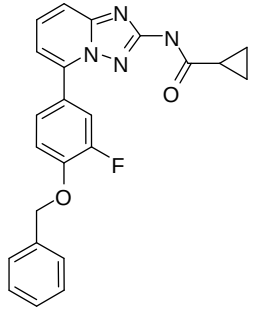
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
12		N-(5-(4-(benzilóxi)fenil)- [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	A	384.44	385.10
14		N-(5-(3--(benzilóxi)fenil)- [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida;	A	384.44	385.20
15		N-(5-(4-(benzilóxi)-3-fluorofenil)-[1,2,4] triazolo [1,5-a]piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida;	A	402.43	403.10

Tabela I -continuação-

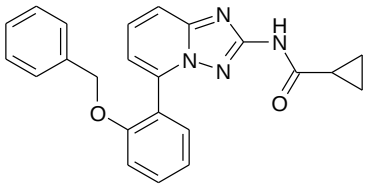
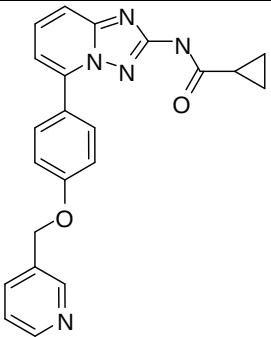
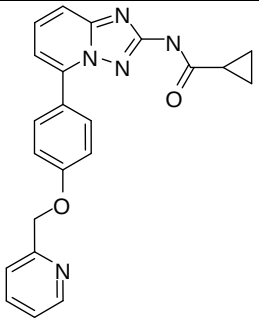
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
16		N-(5-(2-(benzilóxi)fenil)- [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2- il)ciclopropanocarboxamida;	A	384.44	385.20
36		N-(5-(4-(piridin-3-ilmetóxi)-[1,2,4]triazolo [1,5-a]piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida;	C	385.43	408.0 (M ⁺ +Na)
37		N-(5-(4-(piridin-3-ilmetóxi)fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-2- il)ciclopropanocarboxamida;	C	385.43	408.0 (M ⁺ +Na)

Tabela I -continuação-

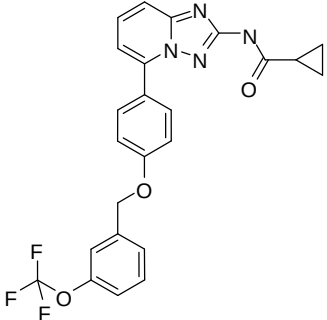
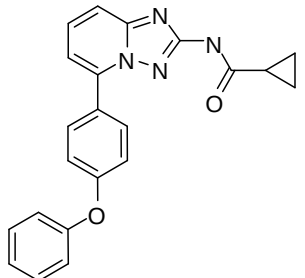
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
38		N-(5-(4-(3-(trifluorometóxi)benzilóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	C	468.44	469.00
46		N-(5-(4-fenoxifenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	A	370.41	371.00

Tabela I -continuação-

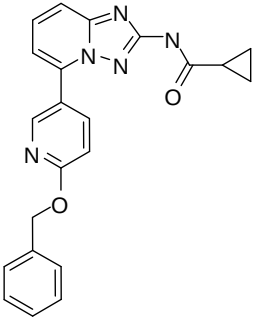
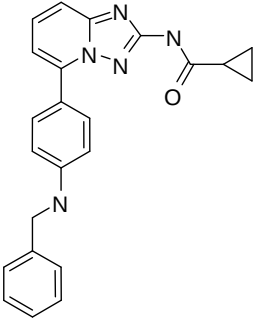
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
57		N-(5-(6-benzilóxi)piridin-3-il)- [1,2,4] triazolo [1,5-a]piridin-2- il)ciclopropanocarboxamida;	Descrito acima	385.43	386.00
72		N-(5-(4-((6-(trifluorometil)piridin- 3-il)metóxi)fenil)- [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)- ciclopropanocarboxamida;	E	383.46	384.00

Tabela I -continuação-

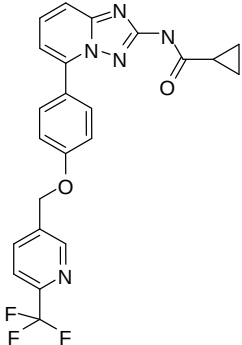
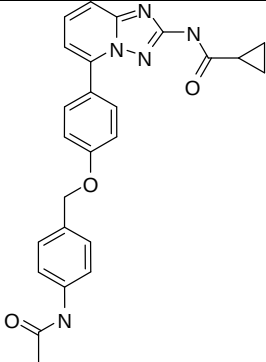
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
78		N-(5-(4((6-trifluorometil)piridin-3-il)metóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida;	C	453.43	454.00
92		N-(5-(4-(4-acetamidobenzilóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	C	441.49	442.00

Tabela I -continuação-

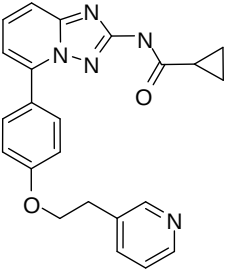
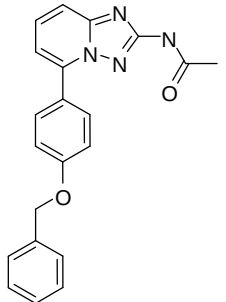
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
127		N-(5-(4-(2-(piridin-3-il)etóxi)fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	C	399.45	400.0
163		N-(5-(4-(benzilóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a] piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	F	358.40	359.0

Tabela I -continuação-

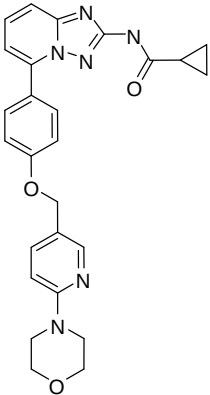
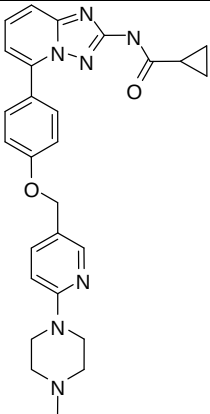
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
165		N-(5-(4-((6-morfolinopiridin-3-il)metóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	L	470.53	471.1
167		N-(5-(4-((6-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-3-il)metóxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	L	483.58	484.1

Tabela I -continuação-

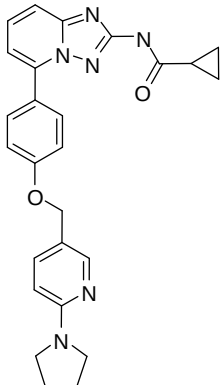
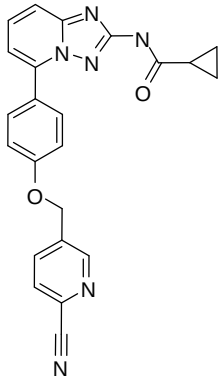
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
174		N-(5-(4-((6-(pirrolidin-1-il)piridin-3-il)metóxi) fenil) -[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida;	L	454.53	455.1
176		N-(5-(4-((6-cianopiridin-3-il)metóxi)fenil) -[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida;	Método Descrito acima	410.44	411.0

Tabela I -continuação-

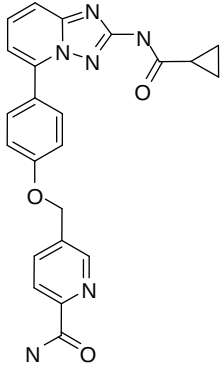
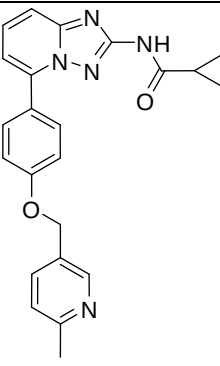
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
192		5-((4-(2-(ciclopropanocarboxamido)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-5-il)fenilciclopropanocarboxamido)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-5-il)fenóxi)metil)picolinamida, Acima descrito;	Descrito acima	428.45	429.1
197		{5-[4-(6-metil-piridin-3-ilmetóxi)fenil][1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico;	C	399.45	400.1

Tabela I -continuação-

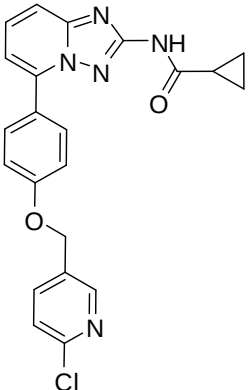
Composto #	Estrutura	Nome	Método	MW	MS Mes'd
198		{5-[4-(6-cloro-piridin-3-ilmetóxi)fenil][1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-2-il}-amida de ácido ciclopropanocarboxílico.	C	419.87	420.0

Tabela II: Dados de RMN de Compostos Representativos da Invenção

Composto #	Dados de RMN (δ),
12	(^1H , CDCl_3) 8,70 (1H, b, NH), 7,97 (2H, d, ArH), 7,60-7,30 (7H, m, ArH), 7,15 (2H, m, ArH), 7,07 (1H, m, ArH), 5,17 (2H, s, CH_2), 1,60 (1H, pico submerso, CH), 1,21 (2H, m, CH_2), 0,94 (2H, m, CH_2)
15	(^1H , DMSO) 11,04 (1H, br, NH), 8,08 (1H, d, ArH), 7,88 (1H, d, ArH), 7,68 (2H, m, ArH), 7,51 (2H, d, ArH), 2,48-7,30 (5H, m, ArH), 5,32 (2H, s, CH_2), 2,02 (1H, br, CH), 0,83 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
36	(^1H , DMSO) 11,03 (1H, br, NH), 8,62 (1H, m, ArH), 8,02 (2H, d, ArH), 7,89 (1H, m, ArH), 7,66 (2H, m, ArH), 7,58 (1H, d, ArH), 7,40 (1H, dd, ArH), 7,27 (1H, d, ArH), 7,21 (2H, d, ArH), 5,31 (2H, s, CH_2), 2,02 (1H, br, CH), 0,83 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
37	(^1H , DMSO) 11,01 (1H, br, NH), 8,04 (2H, d, ArH), 7,68 (2H, m, ArH), 7,55 (2H, m, ArH), 7,50 (1H, s, ArH), 7,38 (1H, d, ArH), 7,28 (1H, d, ArH), 7,20 (2H, d, ArH), 5,30 (2H, s, CH_2), 2,02 (1H, br, CH), 0,82 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
38	(^1H , DMSO) 11,01 (1H, br, NH), 8,00 (2H, d, ArH), 7,69 (2H, d, ArH), 7,69 (1H, dd, ArH), 7,64 (1H, d, ArH), 7,26 (1H, d, ArH), 7,11 (2H, d, ArH), 4,07 (2H, d, CH_2), 2,78 (1H, m, CH), 2,2-1,8 (7H, m, CH, $3\times\text{CH}_2$), 0,83 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
57	(^1H , DMSO) 11,18 (1H, br, NH), 8,01 (2H, d, ArH), 7,68 (2H, m, ArH), 7,26 (1H, d, ArH), 7,09 (2H, d, ArH), 4,12 (2H, t, CH_2), 2,86 (2H, t, CH_2), 2,28 (6H, s, $2\times\text{CH}_3$), 2,02 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$).
72	(^1H , DMSO) 10,95 (1H, br, NH), 7,85 (2H, d, ArH), 7,61 (1H, dd, ArH), 7,51 (1H, d, ArH), 7,40 (4H, m, ArH), 7,36 (1H, m, ArH), 7,24 (1H, d, ArH), 7,09 (4H, m, ArH), 6,88 (1H, m, ArH), 6,70 (2H, d, ArH), 4,37 (2H, d, CH_2), 2,02 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
73	(^1H , DMSO) 11,05 (1H, s, NH), 8,09 (2H, d, ArH), 8,02 (2H, d, ArH), 7,3-7,56 (7H, m, ArH), 7,36 (1H, m, ArH), 4,54 (1H, b, CH), 3,80 (2H, m, CH_2), 3,06 (1H, br, CH), 2,02-1,80 (4H, br, $2\times\text{CH}$, CH_2), 1,58 (2H, m, CH_2), 0,81 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
78	(^1H , DMSO) 11,05 (1H, s, NH), 8,09 (2H, d, ArH), 8,02 (2H, d, ArH), 7,3-7,56 (7H, m, ArH), 7,36 (1H, m, ArH), 4,54 (1H, b, CH), 3,80 (2H, m, CH_2), 3,06 (1H, br, CH), 2,02-1,80 (4H, br, $2\times\text{CH}$, CH_2), 1,58 (2H, m, CH_2), 0,81 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)
92	(^1H , DMSO) 11,03 (1H, br, NH), 10,01 (1H, br, NH), 8,00 (2H, d, ArH), 7,65 (4H, m, ArH), 7,41 (2H, d, ArH), 7,27 (1H, m, ArH), 7,17 (2H, d, ArH), 5,15 (2H, s, CH_2), 2,04 (4H, m, CH_3 , CH), 0,82 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$).
127	(^1H , DMSO), 10,98 (1H, s, NH), 8,63 (1H, s, ArH), 8,51 (1H, m, ArH), 8,00 (2H, d, ArH), 7,91 (1H, d, ArH), 7,64 (2H, m, ArH), 7,46 (1H, m, ArH), 7,24 (1H, m, ArH), 7,13 (2H, m, ArH), 4,36 (2H, t, CH_2), 3,14 (2H, t, CH_2), 2,04 (1H, br, CH), 0,82 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$).
163	(^1H , DMSO) 10,72 (1H, br, NH), 7,99 (2H, m, ArH), 7,65 (2H, b, ArH), 7,48 (4H, b, ArH), 7,18 (2H, m, ArH), 5,21 (2H, d, CH_2), 2,12 (3H, br, CH_3)
165	(^1H , DMSO) 8,26 (1H, d, ArH), 8,01 (2H, d, ArH), 7,68 (2H, m, ArH), 7,62 (1H, d, ArH), 7,26 (1H, d, ArH), 7,17 (2H, d, ArH), 6,87 (1H, d, ArH), 5,10 (2H, s, CH_2), 3,69 (4H, t, $2\times\text{CH}_2$), 3,46 (4H, t, $2\times\text{CH}_2$), 2,07 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, $2\times\text{CH}_2$)

Composto #	Dados de RMN (δ),
167	(¹ H, DMSO) 11,00 (1H, br, NH), 10,03 (1H, br, NH), 8,31 (1H, d, ArH), 8,03 (2H, d, ArH), 7,76 (1H, d, ArH), 7,69 (1H, m, ArH), 7,63 (1H, d, ArH), 7,26 (1H, m, ArH), 7,18 (2H, m, ArH), 7,00 (1H, d, ArH), 5,12 (2H, s, CH ₂), 4,41 (2H, br, CH ₂), 3,49 (2H, br, CH ₂), 3,15 (4H, br, 2xCH ₂), 2,84 (3H, s, CH ₃), 2,04 (1H, br, CH), 0,82 (4H, m, 2xCH ₂)
174	(¹ H, DMSO) 11,02 (1H, br, NH), 8,14 (1H, s, ArH), 8,03 (3H, m, ArH), 7,66 (2H, m, ArH), 7,27 (1H, d, ArH), 7,20 (2H, dd, ArH), 7,10 (1H, d, ArH), 5,17 (2H, s, CH ₂), 3,53 (4H, t, 2xCH ₂), 2,02 (5H, t, 2xCH ₂ ,CH), 0,82 (4H, m, 2xCH ₂).
176	(¹ H, DMSO) 11,01 (1H, br, NH), 8,89 (1H, s, ArH), 8,16 (1H, d, ArH), 8,09 (1H, d, ArH), 8,04 (2H, d, ArH), 7,67 (2H, m, ArH), 7,27 (1H, d, ArH), 7,23 (2H, d, ArH), 5,41 (2H, s, CH ₂), 2,04 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, 2xCH ₂).
182	(¹ H, DMSO) 10,94 (1H, b, NH), 8,62 (1H, s, ArH), 8,46 (1H, d, ArH), 7,86 (2H, d, ArH), 7,78 (1H, d, ArH), 7,62 (1H, dd, ArH), 7,51 (1H, d, ArH), 7,37 (1H, m, ArH), 6,89 (1H, m, NH), 6,73 (2H, d, ArH), 6,57 (1H, s, ArH), 4,42 (2H, d, CH ₂), 2,05 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, 2xCH ₂).
190	(¹ H, DMSO) 11,04 (1H, br, NH), 9,11 (1H, s, ArH), 8,38 (1H, d, ArH), 8,02 (2H, d, ArH), 7,69 (3H, m, ArH), 7,22 (3H, m, ArH), 5,41 (2H, s, ArH), 3,90 (3H, s, ArH), 2,04 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, 2xCH ₂).
192	(¹ H, DMSO) 11,07 (1H, b, NH), 8,76 (1H, s, ArH), 8,16 (1H, br, ArH), 8,09 (2H, s, ArH), 8,03 (2H, d, ArH), 7,68 (3H, m, ArH), 7,28 (1H, d, ArH), 7,23 (2H, d, ArH), 5,38 (2H, s, CH ₂), 2,02 (1H, br, CH), 0,81 (4H, m, 2xCH ₂).
197	(¹ H, DMSO) 10,99 (1H, b, NH), 8,57 (1H, d, ArH), 8,02 (2H, d, ArH), 7,79 (1H, dd, ArH), 7,69 (1H, dd, ArH), 7,63 (1H, dd, ArH), 7,29 (1H, d, ArH), 7,26 (1H, dd, ArH), 7,20 (2H, d, ArH), 5,22 (2H, s, CH ₂), 2,50 (3H, s, CH ₃), 2,03 (1H, b, CH), 0,81 (4H, m, CH ₂).
198	(¹ H, DMSO) 10,99 (1H, b, NH), 8,56 (1H, m, ArH), 8,03 (2H, d, ArH), 7,99 (1H, dd, ArH), 7,69 (1H, dd, ArH), 7,63 (1H, dd, ArH), 7,58 (1H, d, ArH), 7,27 (1H, dd, ArH), 7,21 (2H, d, ArH), 5,29 (2H, s, CH ₂), 2,04 (1H, b, CH), 0,81 (4H, m, CH ₂).

Exemplos Biológicos

Exemplo 1 – Ensaios *in vitro*

Exemplo 1.1 Ensaio de inibição de JAK1

[000225] Domínio catalítico de JAK1 humano recombinante (aminoácidos 850-1154; número de catálogo 08-144) foi adquirido de Carna Biosciences. 10 ng de JAK1 foram incubados com 12,5 µg de substrato poliGT (Sigma número de catálogo P0275) em tampão de reação de cinase (Tris-HCl a 15 mm, pH 7,5, DTT a 1 mm, Tween-20 a 0,01%, MgCl₂ a 10 mm, 2 µm de ATP não radioativo, 0,25 µCi de 33P-gama-ATP (GE Healthcare, número de catálogo AH9968)

concentrações finais) com ou sem 5 µL contendo composto do teste ou veículo (DMSO, 1% de concentração final), em um volume total de 25 µL, em uma placa de 96 cavidades de polipropileno (Greiner, fundo em V). Após 45 minutos a 30°C, as reações foram interrompidas por adição de 25 µL/cavidade de ácido fosfórico a 150 mM. Toda a reação de cinase terminada foi transferida para placas de filtro de 96 cavidades (ácido fosfórico a 75 mM) pré-lavadas (Perkin Elmer número de catálogo 6005177) usando uma colheitadeira de célula (Perkin Elmer). As placas foram lavadas 6 vezes com 300 µL por cavidade de uma solução de ácido fosfórico a 75 mM e o fundo das placas foi selado. 40 µL/cavidade de Microscint-20 foram adicionados, o topo das placas foi selado e a leitura foi realizada usando o Topcount (Perkin Elmer). A atividade de cinase foi calculada subtraindo as contagens por minuto (cpm) obtidas na presença de um inibidor de controle positivo (10 µM de estaurosporina) de cpm obtida na presença de veículo. A capacidade de um composto do teste inibir esta atividade foi determinada como:

[000226] Porcentagem de inibição = $\left(\frac{\text{cpm determinada para a amostra com composto do teste presente} - \text{cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo}}{\text{cpm determinada na presença de veículo} - \text{cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo}} \right) * 100\%$.

[000227] Dose séries de diluição foram preparadas para os compostos permitindo o teste dos efeitos de resposta de dose no ensaio de JAK1 e o cálculo do IC₅₀ para cada composto. Cada composto foi rotineiramente testado em concentração de 20 µM seguido por uma diluição em série de 1/3, 8 pontos (20 µM – 6,67 µM – 2,22 µM – 740 nM – 247 nM – 82 nM – 27 nM – 9 nM) em uma concentração final de DMSO a 1%. Quando a potência de série de composto aumentou, mais diluições foram preparadas e/ou a

concentração máxima foi diminuída (por exemplo, 5 µM, 1 µM).

Escore semi-quantitativo:

* > 501 nM

** 101-500 nM

*** 0,1 - 100 nM

TABELA III: Valores IC₅₀ de JAK1 de Compostos

Cpd #	JAK1
12	***
14	**
15	***
36	***
37	***
38	**
57	***
72	***
78	***
92	***
127	**

G100833

G106233

Cpd #	JAK1
163	***
165	**
167	**
174	*
176	***
182	***
190	***
192	***
197	***
198	***

Exemplo 1.2 Ensaio de inibição de JAK2

[000228] Domínio catalítico de JAK2 humano recombinante (aminoácidos 808-1132; número de catálogo PV4210) foi adquirido de Invitrogen. 0,025 mU de JAK2 foi incubado com 2,5 µg de substrato poliGT (Sigma número de catálogo P0275) no tampão de reação de cinase (MOPS a 5 mM, pH 7,5, MgAc a 9 mM, EDTA a 0,3 mM, 0,06% de Brij e DTT a 0,6 mM, 1 µM de ATP não radioativo, 0,25 µCi de ³³P-gama-ATP (GE Healthcare, número de catálogo AH9968) concentrações finais) com ou sem 5 µL contendo composto do teste ou veículo (DMSO, 1% de concentração final), em um volume total de 25 µL, em uma placa de 96 cavidades de polipropileno (Greiner, fundo em V). Após 90 minutos a 30°C, as reações foram interrompidas por adição de 25 µL/cavidade de ácido fosfórico a 150 mM. Toda a reação de cinase terminada foi transferida para placas de filtro de 96 cavidades (ácido fosfórico a 75 mM) pré-lavadas (Perkin Elmer número de catálogo 6005177) usando

uma colheitadeira de célula (Perkin Elmer). As placas foram lavadas 6 vezes com 300 µL por cavidade de uma solução de ácido fosfórico a 75 mm e o fundo das placas foi selado. 40 µL/cavidade de Microscint-20 foram adicionados, o topo das placas foi selado e a leitura foi realizada usando o Topcount (Perkin Elmer). A atividade de cinase foi calculada subtraindo as contagens por minuto (cpm) obtidas na presença de um inibidor de controle positivo (10 µm de estaurosporina) de cpm obtida na presença de veículo.

[000229] A capacidade de um composto do teste inibir esta atividade foi determinada como:

[000230] Porcentagem de inibição = ((cpm determinada para a amostra com composto do teste presente - cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo) dividida por (cpm determinada na presença de veículo

- cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo)) * 100% .

[000231] Dose séries de diluição foram preparadas para os compostos permitindo o teste dos efeitos de resposta de dose no ensaio de JAK2 e o cálculo do IC₅₀ para cada composto. Cada composto foi rotineiramente testado em concentração de 20 µm seguido por uma diluição em série de 1/3, 8 pontos (20 µm – 6,67 µm – 2,22 µm - 740 nM – 247 nM – 82 nM – 27 nM – 9 nM) em uma concentração final de DMSO a 1%. Quando a potência de série de composto aumentou, mais diluições foram preparadas e/ou a concentração máxima foi diminuída (por exemplo, 5 µm, 1 µM).

[000232] Escore semi-quantitativo:

* > 501 nM

** 101-500 nM

*** 1 - 100 nM

TABELA IV: Valores IC₅₀ de JAK2 de Compostos

Composto #	JAK2
12	###
14	#
36	###
37	###
57	###
72	###
78	###
92	##
163	####
176	###
197	###
198	###

Exemplo 1.3 Ensaio de inibição de JAK3

[000233] Domínio catalítico de JAK3 humano recombinante (aminoácidos 781-1124; número de catálogo PV3855) foi adquirido de Invitrogen. 0,025 mU de JAK3 foi incubado com 2,5 µg de substrato poliGT (Sigma número de catálogo P0275) no tampão de reação de cinase (Tris a 25 mm, pH 7,5, 0,5 mm EGTA, Na₃VO₄ a 0,5 mm, b-glicerolfosfato a 5 mm, Triton X-100 a 0,01%, 1 µm de ATP não radioativo, 0,25 µCi de 33P- gama-ATP (GE Healthcare, número de catálogo AH9968) concentrações finais) com ou sem 5 µL contendo composto do teste ou veículo (DMSO, 1% de concentração final), em um volume total de 25 µL, em uma placa de 96 cavidades de polipropileno (Greiner, fundo em V). Após 105 minutos a 30°C, as reações foram interrompidas por adição de 25 µL/cavidade de ácido fosfórico a 150 mm. Toda a reação de cinase terminada foi transferida para placas de filtro de 96 cavidades (ácido fosfórico a 75 mm) pré-lavadas (Perkin Elmer número de catálogo 6005177) usando uma colheitadeira de célula (Perkin Elmer). As placas foram lavadas 6 vezes com 300 µL por cavidade de uma solução de ácido fosfórico a 75 mm e o fundo das placas foi selado. 40 µL/cavidade de Microscint-20 foram adicionados, o topo das placas foi selado e a leitura foi

realizada usando o Topcount (Perkin Elmer). A atividade de cinase foi calculada subtraindo as contagens por minuto (cpm) obtidas na presença de um inibidor de controle positivo (10 µm de estaurosporina) de cpm obtida na presença de veículo. A capacidade de um composto do teste inibir esta atividade foi determinada como:

[000234] Porcentagem de inibição = ((cpm determinada para a amostra com composto do teste presente - cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo) dividida por (cpm determinada na presença de veículo - cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo)) * 100%.

[000235] Dose séries de diluição foram preparadas para os compostos permitindo o teste dos efeitos de resposta de dose no ensaio de JAK3 e o cálculo do IC₅₀ para cada composto. Cada composto foi rotineiramente testado em concentração de 20 µm seguido por uma diluição em série de 1/3, 8 pontos (20 µm – 6,67 µm – 2,22 µm – 740 nM – 247 nM – 82 nM – 27 nM – 9 nM) em uma concentração final de DMSO a 1%. Quando a potência de série de composto aumentou, mais diluições foram preparadas e/ou a concentração máxima foi diminuída (por exemplo, 5 µm, 1 µM).

Escore semi-quantitativo:

JAK 3

+ > 501 nM

++ 101-500 nM

+++ 1 - 100 nM

TABELA V: Valores IC₅₀ de JAK3 de Compostos

Cpd #	JAK3
12	+++
15	++
36	++
37	+
57	+
72	+
78	++

Cpd #	JAK3
163	++
176	+++

Exemplo 1.4 Ensaio de inibição de TYK2

[000236] Domínio catalítico de TYK2 humano recombinante (aminoácidos 871-1187; número de catálogo 08-147) foi adquirido de Carna biosciences. 5 ng de TYK2 foram incubados com 12,5 µg de substrato poliGT (Sigma número de catálogo P0275) no tampão de reação de cinase (Hepes a 25 mm pH 7,5, NaCl a 100 mm, Na₃VO₄ a 0,2 mm, NP-40 a 0,1%, 0,1 µM de ATP não radioativo, 0,125 µCi de ³³P-gama-ATP (GE Healthcare, número de catálogo AH9968) concentrações finais) com ou sem 5 µL contendo composto do teste ou veículo (DMSO, 1% de concentração final), em um volume total de 25 µL, em uma placa de 96 cavidades de polipropileno (Greiner, fundo em V). Após 90 minutos a 30°C, as reações foram interrompidas por adição de 25 µL/cavidade de ácido fosfórico a 150 mm. Toda a reação de cinase terminada foi transferida para placas de filtro de 96 cavidades (ácido fosfórico a 75 mm) pré-lavadas (Perkin Elmer número de catálogo 6005177) usando uma colheitadeira de célula (Perkin Elmer). As placas foram lavadas 6 vezes com 300 µL por cavidade de uma solução de ácido fosfórico a 75 mm e o fundo das placas foi selado. 40 µL/cavidade de Microscint-20 foram adicionados, o topo das placas foi selado e a leitura foi realizada usando o Topcount (Perkin Elmer). A atividade de cinase foi calculada subtraindo as contagens por minuto (cpm) obtidas na presença de um inibidor de controle positivo (10 µM de estaurosporina) de cpm obtida na presença de veículo. A capacidade de um composto do teste inibir esta atividade foi determinada como:

[000237] Porcentagem de inibição = ((cpm determinada para a

amostra com composto do teste presente - cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo) dividida por (cpm determinada na presença de veículo - cpm determinada para a amostra com inibidor de controle positivo)) * 100%.

[000238] Dose séries de diluição foram preparadas para os compostos permitindo o teste dos efeitos de resposta de dose no ensaio de TYK2 e o cálculo do IC₅₀ para cada composto. Cada composto foi rotineiramente testado em concentração de 20 µm seguido por uma diluição em série de 1/3, 8 pontos (20 µm – 6,67 µm – 2,22 µm – 740 nM – 247 nM – 82 nM - 27 nM – 9 nM) em uma concentração final de DMSO a 1%. Quando a potência de série de composto aumentou, mais diluições foram preparadas e/ou a concentração máxima foi diminuída (por exemplo, 5 µm, 1 µM).

Escore semi-quantitativo:

* > 1001 nM

**501-1000 nM

*** 101-500 nM

**** 1 - 100 nM

TABELA VI: Valores IC₅₀ de TYK2 de Compostos

Composto #	TYK2
15	*
36	***
37	**
57	*
72	*
92	*
163	*
176	****

Exemplo 2. Ensaios Celulares

Exemplo 2.1 Ensaio de sinalização de JAK-STAT:

[000239] As células HeLa foram mantidas em Meio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) contendo 10% soro de bezerro fetal

inativado por calor, 100 U/mL penicillin e 100 µg/mL de estreptomicina. Células HeLa foram usadas em confluência a 70 % para transfecção. 20.000 células em 87 µL de meio de cultura celular foram transitoriamente transfectadas com 40 ng de repórter de STAT1(2)-luciferase (Panomics), 8 ng de repórter LacZ como repórter de controle interno e 52 ng de pBSK usando 0,32 µL de Jet-PEI (Polyplus) como reagente de transfecção por cavidade em formato de placa de 96 cavidades. Após incubação durante a noite a 37°C, CO₂ a 10%, o meio de transfecção foi removido. 75 µL de DMEM + soro de bezerro fetal inativado por calor a 1,5% foram adicionados. 15 µL de composto em concentração de 6,7x foram adicionados durante 60 minutos e em seguida 10 µL de OSM humano (Peprotech) em 33 ng/mL de concentração final.

[000240] Todos os compostos foram testados em duplicata partindo de 20 µm seguido por uma diluição em série de 1/3, 8 doses no total (20 µm – 6,6 µm – 2,2 µm - 740 nM - 250 nM - 82 nM - 27 nM - 9 nM) em uma concentração final de DMSO a 0,2%.

[000241] Após incubação durante a noite a 37°C, CO₂ a 10%, as células foram lisadas em 100 µL de tampão de lise/cavidade (PBS, CaCl₂ a 0,9 mM, MgCl₂ a 0,5 mM, Trehalose a 5%, Tergitol NP9 a 0,025%, BSA a 0,15%).

[000242] 40 µL de lisado celular foram usados para ler a atividade de β-galactosidase adicionando 180 µL de solução de βGal (30 µl de ONPG 4mg/mL + 150 µL de tampão de β-galactosidase (Na₂HPO₄ a 0,06 M, NaH₂PO₄ a 0,04 M, MgCl₂ a 1 mM)) durante 20 minutos. A reação foi interrompida por adição de 50 µL de Na₂CO₃ a 1 M. A absorvência foi lida a 405 nm.

[000243] A atividade de luciferase foi avaliada usando 40 µL de lisado celular mais 40 µl de Steadilite® como descrito pelo fabricante (Perkin Elmer), no Envision (Perkin Elmer).

[000244] 10 µm de um inibidor de pan-JAK foram usados como um controle positivo (100% de inibição). Como um controle negativo DMSO a 0,5% (0% de inibição) foi usado. Os controles positivos e negativos foram usados para calcular os valores de z' e 'porcentagem de inibição' (PIN).

[000245] Porcentagem de inibição = ((fluorescência determinada na presença de veículo - fluorescência determinada para a amostra com composto do teste presente) dividida por (fluorescência determinada na presença de veículo - fluorescência determinada para a amostra sem gatilho)) * 100 %.

[000246] Os valores PIN foram plotados para compostos testados em resposta de dose e valores de EC₅₀ foram derivados.

TABELA VII: Valores EC₅₀ de sinalização de JAK-STAT

* > 1001 nM

**501-1000 nM

*** 101-500 nM

**** 1- 100 nM

Composto #	EC ₅₀ (nM)
12	***
14	*
15	***
36	***
37	**
57	*
72	*
78	*
92	*
163	*
176	****
182	*

Composto #	EC ₅₀ (nM)
190	*
192	***
197	***
198	***

Exemplo 2.2 Ensaio de sinalização OSM/IL-1 β

[000247] OSM e IL- 1 β mostraram super-regular sinergisticamente os níveis de MMP13 na linhagem celular de condrossarcoma humano SW1353. As células foram semeadas em placas de 96 cavidades em 15.000 células/cavidades em um volume de 120 μ L de DMEM (Invitrogen) contendo 10% (volume/volume) de FBS e 1% de penicillin/estreptomicina (Invitrogen) incubado a 37°C CO₂ a 5%. As células foram pré-incubadas com 15 μ L de composto em meio M199 com DMSO a 2% 1 hora antes de iniciar com 15 μ L de OSM e IL-1 β para alcançar 25 ng/mL de OSM e 1 ng/mL de IL-1 β , e os níveis de MMP13 foram avaliados em um meio condicionado 48 horas após o início. A atividade de MMP13 foi avaliada usando um ensaio de captura de atividade de anticorpo. Para este propósito, placas de 384 cavidades (NUNC, 460518, MaxiSorb pretas) foram revestidas com 35 μ L de uma solução de 1.5 μ g/mL de anticorpo MMP13 anti-humano (R&D Systems, MAB511) durante 24 horas a 4°C. Após lavar as cavidades 2 vezes com PBS + Tween a 0,05%, os sítios de ligação restantes foram bloqueados com 100 μ L de leite em pó desnatado a 5% (Santa Cruz, sc-2325, Blotto) em PBS durante 24 horas a 4°C. A seguir, as células foram lavadas 2 vezes com PBS + Tween a 0,05% e 35 μ L de diluição de 1/10 de sobrenadante de cultura contendo MMP13 em tampão de bloqueio diluído 100 vezes foram adicionados e incubados durante 4 horas em temperatura ambiente. A seguir, as células foram lavadas duas vezes com PBS + Tween a 0,05% seguido por ativação de MMP13 por adição de 35 μ L de uma solução

de acetato 4-aminofenilmercúrico a 1,5 mM (APMA) (Sigma, A9563) e incubação a 37°C durante 1 hora. As células foram lavadas novamente com PBS + 0,05% Tween e 35 µL de substrato MMP13 (Biomol, P-126, substrato fluorogênico OmniMMP) foram adicionados. Após incubação durante 24 horas a 37°C a fluorescência do substrato convertido foi avaliada em um leitor Perkin Elmer Wallac Envision 2102 Multilabel (excitação de comprimento de onda: 320 nm, emissão de comprimento de onda: 405 nm).

[000248] Porcentagem de inibição = ((fluorescência determinada na presença de veículo - fluorescência determinada para a amostra com composto do teste presente) dividida por (fluorescência determinada na presença de veículo - fluorescência determinada para a amostra sem gatilho)) * 100 %.

* > 1001 nM

**501-1000 nM

*** 1-500 nM

TABELA VIII: Valores EC₅₀ de MMP13

Composto #	EC₅₀ (nM)
12	*
15	*
36	**
37	*
57	*
72	**
78	**
163	*
176	***
182	*
192	*
197	*
198	*

Exemplo 2.3 Ensaio de proliferação de PBL

[000249] Linfócitos sanguíneos periféricos humanos (PBL) foram estimulados com IL-2 e a proliferação avaliada usando um ensaio de incorporação BrdU. Os PBL foram primeiro estimulados durante 72 horas com PHA para induzir o receptor de IL-2, jejuados durante 24 horas para interromper a proliferação celular seguido por estimulação de IL-2 durante mais 72 horas (incluindo 24 horas de rotulagem de BrdU). As células foram pré-incubadas com compostos do teste 1 hora antes da adição de IL-2. As células foram cultivadas em RPMI 1640 contendo FBS a 10% (volume/volume).

Exemplo 3. Modelos *in vivo*Exemplo 3.1 Modelo de CIA3.1.1 Materiais

[000250] Adjuvante de Freund Completo (CFA) e Adjuvante de Freund Incompleto (IFA) foram adquiridos de Difco. Colágeno bovino tipo II (CII), lipopolissacarídeo (LPS), e Enbrel foram obtidos de Chondrex (Isle d'Abeau, França); Sigma (P4252, L'Isle d'Abeau, França), Whyett (seringa injetável de 25 mg, França) Acros Organics (Palo Alto, CA), respectivamente. Todos os outros reagentes foram usados de grau de reagente e todos os solventes foram de grau analítico.

3.1.2 Animais

[000251] Ratos de Agouti escuro (machos, 7 a 8 semanas de idade) foram obtidos de Harlan Laboratories (Maison-Alfort, França). Os ratos foram mantidos em um ciclo de luz/escuro de 12 horas (0700 - 1900). A temperatura foi mantida a 22°C, e água e comida foram fornecidos à vontade.

3.1.3 Artrite Induzida por Colágeno (CIA)

[000252] Um dia antes do experimento, solução de CII (2 mg/mL) foi preparada com ácido acético a 0,05 M e armazenada a 4°C.

Exatamente antes da imunização, volumes iguais de adjuvante (IFA) e CII foram misturados por um homogeneizador em uma garrafa de vidro pré-resfriada em um banho de água gelada. Adjuvante extra e homogeneização prolongada podem ser requeridos se uma emulsão não for formada. 0,2 mL da emulsão foi injetado intradermicamente na base do rabo de cada rato no dia 1, uma segunda injeção intradérmica de reforço (solução de CII a 2 mg/mL em CFA 0,1 mL de salina) foi realizada no dia 9. Este método de imunização foi modificado a partir dos métodos publicados (Sims e outros, 2004; Jou e outros, 2005).

3.1.4 Projeto de estudo

[000253] Os efeitos terapêuticos dos compostos do teste foram testados no modelo de CIA de rato. Os ratos foram randomicamente divididos em grupos iguais e cada grupo continha 10 ratos. Todos os ratos foram imunizados no dia 1 e reforçados no dia 9. A dosagem terapêutica durou do dia 16 ao dia 30. O grupo de controle negativo foi tratado com veículo (MC a 0,5%) e o grupo de controle positivo com Enbrel (10 mg/kg, 3 vezes por semana, s.c). Um composto de interesse foi tipicamente testado em 3 doses, por exemplo, 3, 10, 30 mg/kg, p.o.

3.1.5 Avaliação Clínica de Artrite

[000254] Artrite foi classificada de acordo com o método de Khachigian 2006, Lin e outros, 2007 e Nishida e outros, 2004). A tumefação de cada uma das quatro patas foi classificada com a classificação artrítica como segue: 0- nenhum sintoma; 1- vermelhidão branda, porém definitiva e inchaço de um tipo de articulação tal como o tornozelo ou punho, ou vermelhidão aparente e inchaço limitada aos dígitos individuais, independentemente do número de dígitos afetados; 2- vermelhidão moderada e inchaço de dois ou mais tipos de articulação; 3- vermelhidão severa e inchaço da pata inteira incluindo os dígitos; 4- membros inflamados ao máximo com

envolvimento das múltiplas articulações (escore de artrite clínica cumulativa máxima 16 por animal) (Nishida e outros, 2004).

3.1.6 Mudança no Peso Corporal (%) Após o Início de Artrite

[000255] Clinicamente, a perda de peso corporal está associada com artrite (Shelton e outros, 2005; Argiles e outros, 1998; Rail, 2004; Walsmith e outros, 2004). Portanto, mudanças no peso corporal após o início da artrite podem ser usadas como um objetivo não específico para avaliar o efeito de produtos terapêuticos no modelo de rato. A mudança no peso corporal (%) após o início de artrite foi calculada como segue:

$$\begin{aligned} \text{Camundongos: } & \frac{\text{Peso corporal}_{(\text{semana6})} - \text{Peso corporal}_{(\text{semana5})}}{\text{Peso corporal}_{(\text{semana5})}} \times 100\% \\ \text{Ratos: } & \frac{\text{Peso corporal}_{(\text{semana4})} - \text{Peso corporal}_{(\text{semana3})}}{\text{Peso corporal}_{(\text{semana3})}} \times 100\% \end{aligned}$$

3.1.7 Radiologia

[000256] Fotos de raio X foram tiradas das patas traseiras de cada animal individual. Um número de identidade cega aleatória foi designado para cada uma das fotos, e a gravidade da erosão óssea foi classificada por julgadores independentes com o sistema de classificação de Larsen radiológica como segue: 0- normal com os delineamentos ósseos intactos e espaço da articulação normal; 1- ligeira anormalidade com qualquer um ou dois dos ossos metatársicos exteriores mostrando leve erosão óssea; 2- anormalidade precoce definitiva com qualquer um dos três a cinco ossos mostrando erosão óssea; 3- anormalidade destrutiva media com todos os ossos metatársicos interiores bem como qualquer um ou dois dos ossos metatársicos interiores mostrando erosões ósseas definitivas; 4- anormalidade destrutiva grave com todos os ossos metatársicos mostrando erosão óssea definitiva e pelo menos uma das articulações metatársicos completamente desgastada deixando alguns

delineamentos da articulação óssea parcialmente preservada; 5-anormalidade mutilante sem delineamentos ósseos. Este sistema de classificação é uma modificação de Salvemini e outros, 2001; Bush e outros, 2002; Sims e outros, 2004; Jou e outros, 2005.

3.1.8 Histologia

[000257] Após análise radiológica, as patas traseiras dos camundongos foram fixadas em formalina tamponada po fosfato a 10% (pH 7,4), decalcificadas com decalcificante de osso rápidos para histologia fina (Laboratories Eurobio) e embebecidas em parafina. Para garantir avaliação extensiva das articulações artríticas, pelo menos quatro seções seriais (5 µm de espessura) foram cortadas e cada série de seções tinha de 100 µm entre elas. As seções foram manchadas com hematoxilina e eosina (H&E). Exames histológicos para inflamação sinovial e lesão óssea e da cartilagem foram realizados duplo cego. Em cada pata, quatro parâmetros foram avaliados usando uma escala de quatro pontos. Os parâmetros foram infiltração celular, gravidade do pano, erosão da cartilagem e erosão óssea. A classificação foi realizada como segue: 1- normal, 2- branda, 3- moderada, 4-acentuada. Estes quatro escores foram somados juntamente e representados como um escore adicional, a saber o "escore total de RA"

3.1.9 Análise de tomografia microcomputadorizada (µCT) de calcâneos (osso do calcanhar):

[000258] O desgaste ósseo observado em RA ocorre especialmente no osso cortical e pode ser revelado por análise de µCT (Sims NA e outros, 2004; Oste L e outros, ECTC Montreal 2007). Após varredura e reconstrução de volume em 3D do osso calcâneo, o desgaste ósseo foi avaliado como o número de objetos discretos presentes por *slide*, isolado em sílico perpendicular ao eixo longitudinal do osso. Quanto mais o osso foi desgastado, mais objetos discretos foram medidos.

1000 fatias, uniformemente distribuídos ao longo do calcâneo (espaçadas em aproximadamente 10,8 µm), são analisadas.

3.1.10 Resultados

[000259] O composto 176 foi eficaz em todas as leituras realizadas no estudo CIA de rato. Significância estatística é obtida para 3 mg/kg no escore clínico e leituras de inchaço da pata. Compostos adicionais selecionados foram também testados no estudo CIA de rato, o composto 36 foi ativo em 30 mg/kg, o composto 37 foi ativo em 10 mg/kg.

Exemplo 3.2 Modelo de Choque Séptico

[000260] Injeção de lipopolissacárideo (LPS) induz uma rápida liberação de fator de necrose de tumor solúvel (TNF-alfa) na periferia. Este modelo é usado para analisar bloqueadores prospectivos de liberação de TNF *in vivo*.

[000261] Seis camundongos BALB/cJ fêmeas (20 g) por grupo foram tratados na dosagem pretendida uma vez, po.

[000262] Trinta minutos depois, LPS (15 µg/kg; *E. Coli* serotipo 0111:B4) foi injetado ip. Noventa minutos depois, os camundongos foram eutanizados e o sangue foi coletado. Os níveis de TNF alfa circulante foram determinados usando *kits* ELISA comercialmente disponíveis. Dexametasona (5 µg/kg) foi usada como um composto anti-inflamatório de referência.

[000263] Os compostos selecionados são testados em uma ou múltiplas doses, por exemplo, 3 e/ou 10 e/ou 30 mg/kg, po.

[000264] O composto 176 exibiu uma redução estatisticamente significativa na liberação de TNF (>50%) a 3,10 e 30 mg/kg po.

[000265] Os compostos adicionais selecionados foram também testados no modelo de choque séptico, o composto 36 foi ativo em 30 mg/kg, o compostos 37 e 197 foram ativo em 3 mg/kg,

Exemplo 3.3 Modelo de MAB

[000266] O modelo de MAB permite uma rápida avaliação da modulação de uma resposta inflamatória tipo RA por produtos terapêuticos (Kachigian LM. Nature Protocols (2006) 2512-2516: Collagen antibody-induced arthritis). Os camundongos DBA/J foram injetados i.v. com um coquetel de mAbs direcionado contra colágeno II. Um dia depois, o tratamento com o composto foi iniciado (veículo: HPβCD a 10% (volume/volume)). Três dias depois, os camundongos receberam uma injeção de LPS i.p. (50 µg/camundongo), resultando em um início rápido de inflamação. O tratamento com o composto foi continuado até 10 dias após a injeção de mAb. A inflamação foi lida avaliando-se a inchaço da pata e registrando o escore clínico de cada pata. O escore de artrite clínica cumulative de quatro membros foi apresentado para mostrar a gravidade da inflamação. Um sistema de classificação é aplicado a cada membro usando uma escala de 0 a 4, com 4 sendo a inflamação mais severa.

0 Livre de sintoma

1 branda, porém vermelhidão definitiva e inchaço de um tipo de articulação tal como o tornozelo ou punho, ou vermelhidão aparente e inchaço limitada aos dígitos individuais, independente dos dígitos afetados

2 Vermelhidão moderada e inchaço de dois ou mais tipos de articulações

3 Vermelhidão severa e inchaço da pata inteira incluindo os dígitos

4 Membro maximamente inflamado com envolvimento de múltiplas articulações

[000267] O composto 176, dosado p.o. em 10 e 30 mg/kg reduziu o escore clínico com significância estatística em 30 mg/kg e reduziu significativamente a inflamação tanto em doses de 10 quanto 30 mg/kg.

[000268] Compostos adicionais selecionados foram também testados

no modelo de MAB, os compostos 36 e 37 foram ativos em 30 mg/kg.

Exemplo 3.4 Modelos de Oncologia

[000269] Modelos *in vivo* para validar a eficácia de pequenas moléculas com respeito às doenças mieloproliferativas reguladas por JAK2 são descritos por Wernig e outros, Cancer Cell 13, 311, 2008 e Geron e outros, Cancer Cell 13, 321, 2008.

Exemplo 3.5 Modelo de IBD de Camundongo

[000270] Modelos *in vitro* e *in vivo* para validar a eficácia de pequenas moléculas com respeito ao IBD são descritos por Wirtz e outros, 2007.

Exemplo 3.6 Modelo de Asma de Camundongo

[000271] Modelos *in vitro* e *in vivo* para validar a eficácia de pequenas moléculas com respeito à asma são descritos por Nials e outros, 2008; Ip e outros, 2006; Pernis e outros, 2002; Kudlacz e outros, 2008.

Exemplo 4: Modelos de Toxicidade, DMPK e Segurança

Exemplo 4.1 Solubilidade Termodinâmica

[000272] Uma solução de 1 mg/mL do composto do teste é preparada em um tampão de fosfato a 0,2M, pH 7,4 ou um tampão de citrato a 1M pH 3,0 em temperatura ambiente em um frasco de vidro.

[000273] As amostras são giradas em um Rotator drive STR4 (Stuart Scientific, Bibby) na velocidade 3.0 em temperatura ambiente durante 24 horas.

[000274] Após 24 horas, 800 µL da amostra são transferidos para um tubo eppendorf e centrifugados durante 5 minutos a 14.000 rpm. 200 µL do sobrenadante da amostra são em seguida transferidos para uma Placa de Solubilidade MultiscreenR (Millipore, MSSLBPC50) e o sobrenadante é filtrado (10 a 12" Hg) com o auxílio de um tubo a vácuo em uma placa de 96 avidades de fundo em V de polipropileno

Greiner limpa (Cat nº 651201). 5 µL do filtrado são diluídos em 95 µL (F20) do mesmo tampão usado para incubar em uma placa contendo a curva padrão (Greiner, Cat nº 651201).

[000275] A curva padrão para o composto é preparada recentemente em DMSO iniciando de um fator 2 diluído em solução de estoque de DMSO a 10 mM (5000 µM) e em seguida também diluído em DMSO até 19,5 µM. 3 µL das séries de diluição como de 5000 µm são em seguida transferidos para uma mistura de acetronitrila-tampão de 97 µL (50/50).

A faixa de concentração final é de 2,5 a 150 µM.

[000276] A placa é selada com esteiras de selagem (MA96RD-04S, www.kinesis.co.uk) e as amostras são avaliadas em temperatura ambiente em LCMS (ZQ 1525 de Waters) sob condições otimizadas usando Quanoptimize para determinar a massa apropriada da molécula.

[000277] As amostras são analisadas em LCMS com uma taxa de fluxo de 1 mL/minuto. O solvente A é amônia a 15 mm e o solvente B é acetonitrila. A amostra é conduzida sob spray de íon positivo em uma coluna XBridge C18 3,5 µm (2,1 x 30 mm), de Waters. O gradiente de solvente tinha um tempo de realização de 2 minutos e faixas de 5% de B a 95% de B.

[000278] As áreas de pico são analisadas com o auxílio do pacote de *software* Masslynx e as áreas de pico das amostras são plotadas contra a curva padrão para obter a solubilidade do composto composto.

[000279] Os valores de solubilidade são reportados em µm ou µg/mL.

Exemplo 4.2 Solubilidade Aquosa

[000280] Iniciando de uma matéria-prima a 10 mm em DMSO, uma diluição serial do composto é preparada em DMSO. As séries de

diluição são transferidas para uma placa de fundo em F 96 NUNC Maxisorb (Cat nº 442404) e tampão de fosfato a 0,2 M pH 7,4 ou tampão de citrato a 0,1 M pH 3,0 em temperatura ambiente é adicionado.

[000281] A concentração final variou de 200 µm a 2,5 µm em 5 etapas de diluição iguais. A concentração de DMSO final não excederia 2%. 200 µm de Pireno são adicionados aos pontos angulares de cada placa de 96 cavidades e servem como um ponto de referência para o calibre do eixo Z do microscópio.

[000282] As placas são seladas e incubadas durante 1 hora a 37°C ao mesmo tempo que agitando a 230 rpm. As placas são em seguida escaneadas sob um microscópio de luz branca, produzindo imagens individuais do precipitado por concentração. O precipitado é analisado e convertido em um número que é plotado em um gráfico. A primeira concentração em que o composto aparece completamente dissolvido é a concentração reportada, entretanto, a concentração real situa-se em algum lugar entre esta concentração e uma etapa de diluição superior.

[000283] Os valores de solubilidade são reportados em µg/mL

Exemplo 4.3 *Ligação de Proteína de Plasma (Diálise de Equilíbrio)*

[000284] Uma solução de matéria-prima a 10 mM do composto em DMSO é diluída com um fator 5 em DMSO. Esta solução é também diluída em plasma humano, de rato, camundongo ou cachorro recentemente descongelado (BioReclamation INC) com um concentração final de 10 µM e concentração final de DMSO a 0,5% (5,5 µl em 1094,5 µl de plasma em uma placa de 96 cavidades PP-Masterblock (Greiner, Cat nº 780285))

[000285] Uma placa Pierce Red Device com inserções (ThermoScientific, Cat no. 89809) é preparada e carregada com 750 µL de PBS na câmara de tampão e 500 µL do plasma reforçado na câmara de plasma. A placa é incubada durante 4 horas a 37°C ao

mesmo tempo que agitando a 230 rpm. Após incubação, 120 µL de ambas as câmaras são transferidas para 360 µL de acetonitrila em uma placa de cavidades fundas PP, de fundo redondo de 96 cavidades (Nunc, Cat nº 278743) e selada com tampa de folha de alumínio. As amostras são misturadas e colocadas em gelo durante 30 minutos. Esta placa é em seguida centrifugada durante 30 minutos a 1200 rcf a 4°C e o sobrenadante é transferido para uma placa PP de fundo em V de 96 cvidades (Greiner, 651201) para análise em LCMS.

[000286] A placa é selada com esteira de selagem (MA96RD-04S) de www.kinesis.co.uk e as amostras são avaliadas em temperatura ambiente em LCMS (ZQ 1525 de Waters) sob condições otimizadas usando Quanoptimize para determinar a massa apropriada da molécula.

[000287] As amostras são analisadas em LCMS com uma taxa de fluxo de 1mL/minuto. O solvente A foi amônia a 15 mm e o solvente B foi acetonitrila. A amostra foi conduzida sob *spray* de íon positivo em uma coluna XBridge C18 3,5 µm (2,1 x 30 mm), de Waters. O gradiente de solvente tem um tempo de realização de 2 minutos e faixas de 5% de B a 95% de B.

[000288] A área de pico do composto na câmara de tampão e na câmara de plasma foi considerada ser 100% de composto. A porcentagem ligada ao plasma foi derivada a partir destes resultados e foi reportada para o LIMS como porcentagem ligada ao plasma.

[000289] A solubilidade do composto na concentração teste final em PBS foi inspecionada por microscópio para indicar se a precipitação é observada ou não.

Exemplo 4.4 Risco quanto à Prolongação

[000290] O potencial quanto à prolongação de QT foi avaliado no ensaio de grampo de emplastro hERG.

4.4.1 Grampo de emplastro de célula total convencional

[000291] Os registros do grampo de emplastro de célula total foram realizados usando um aplicador EPCIO controlado pelo *software* Pulse v8.77 (HEKA). A resistência das séries foi tipicamente menor do que 10 MΩ e compensadas em mais do que 60%, os registros não foram subtraídos por perda. Os eletrodos foram fabricados a partir de vidro de pipeta GC 150TF (Harvard), a resistência ficou entre 2 e 3 MΩ.

[000292] A solução de banho externo continha: NaCl a 135 mm, KCl a 5 mm, CaCl₂ a 1,8 mm, Glicose a 5 mM, HEPES a 10 mm, pH 7,4.

[000293] A solução de pipeta de emplastro interno continha: Kgliconato a 100 mm, KCl a 20 mm, CaCl₂ a 1 mm, MgCl₂ a 1 mm, Na₂ATP a 5 mm, Glutathione a 2 mm, EGTA a 11 mm, HEPES a 10 mm, pH 7,2.

[000294] Os fármacos foram perfundidos usando um sistema de rápida perfusão Biologic MEV-9/EVH-9.

[000295] Todos os registros foram realizados em canais de hERG estavelmente expressando células HEK293. As células foram cultivadas em lamínulas redondas de 12 mm (German glass, Bellco) ancoradas na câmara de registro usando dois bastões de platina (Goodfellow). As correntes de hERG foram evocadas usando um pulso de ativação de +40 mV durante 1000 ms seguido por um pulso da corrente traseira de -50 mV durante 2000 ms, o potencial de retenção foi de -80 mV. Os pulsos foram aplicados a cada 20 segundos e todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente.

4.4.2 Análise de Dados

[000296] Os valores IC₅₀ e IC₂₀ foram calculados para cada composto testado. O grau de diferença entre o IC₂₀ e as concentrações C_{max} não ligadas do composto do teste obtidas em doses terapêuticas relevantes como determinado pelos resultados de modelo de CIA foi calculada.

[000297] Para as curvas de concentração - resposta, a amplitude da corrente traseira máxima foi avaliada durante a etapa de voltagem para -50 mV. Ajuste da curva de concentração-dados de resposta foi realizado usando a equação:

$$y = a + [(b - a) / (1 + 10^{-(\log c - x) d})]$$

[000298] Onde a é a resposta mínima, b é a resposta máxima e d é a inclinação, esta equação pode ser usada para calcular tanto o IC₅₀ (onde y = 50 e c é o valor IC₅₀) quanto IC₂₀ (onde y = 20 e c é o valor IC₂₀). O *software* GraphPad® Prism® (Graphpad® Software Inc.) foi usado para todo o ajuste de curva.

[000299] A tabela IX sumaria os resultados obtidos para os compostos selecionados que foram testados.

TABELA IX

Composto	Dose	Grau diferença
7	10	7
176	3	37
176	10	182

[000300] Um grau de diferença de 100 vezes ou mais indica um baixo potencial para prolongação QT. Portanto pode ser visto que comparado ao composto 37, o composto 176 tem um resultado de prolongação de QT potencial muito mais baixo.

Exemplo 4.5 Estabilidade microssômica

[000301] Uma solução de matéria-prima a 10 mM de composto em DMSO foi diluída 1000 vezes em um tampão de fosfato a 182 mM de pH 7,4 in uma placa de 96 cavidades profundas (Greiner, Cat nº 780285) e pré-incubada a 37°C.

[000302] 40 µL de água desionizada foram adicionados a uma cavidade de um tubo de estocagem rotulado de Matrix 2D barcode de polipropileno (Thermo Scientific) e pré-incubados a 37°C.

[000303] Uma solução de matéria-prima de trabalho de glicose-6-

fosfato-desidrogenase (G6PDH) foi preparada em 182 mm de tampão de fosfato de pH 7,4 e colocada em gelo antes do uso. Um co-fator contendo MgCl_2 , glicose-6- fosfato e NADP^+ foi preparado em água desionizada e colocada em gelo antes do uso.

[000304] Uma solução de trabalho final contendo microsomas de fígado (Xenotech) de uma espécie de interesse (humano, camundongo, rato, cachorro), do G6PDH anteriormente descrito e cofatores foi preparada e esta mistura foi incubada durante não mais do que 20 minutos em temperatura ambiente.

[000305] 30 μL da diluição de composto pré-aquecida foram adicionados a 40 μL de água pré-aquecida nos tubos Matrix e 30 μL da mistura microsomal foram adicionados. Concentrações de reação finais foram 3 μM de composto, 1 mg de microsomas, 0,4U/mL de G6PDH, 3,3 mM de MgCl_2 , 3,3 mM de glicose-6-fosfato e 1,3 mM de NADP^+ .

[000306] Para medir a porcentagem de resíduo de composto em tempo zero MeOH ou ACN foi adicionado (1 :1) à cavidade antes de adicionar a mistura microsomal. As placas foram seladas com Matrix Sepra sealsTM (Matrix, Cat. nº 4464) e agitadas durante alguns segundos para assegurar a mistura completa de todos os componentes.

[000307] As amostras que não foram interrompidas são incubadas a 37°C, 300 rpm e após 1 hora de incubação a reação foi interrompida com MeOH ou ACN (1 :1).

[000308] Após interrupção da reação as amostras foram misturadas e colocadas em gelo durante 30 minutos para precipitar as proteínas. As placas foram em seguida centrifugadas durante 30 minutos a 1200 rcf a 4°C e o sobrenadante foi transferido para uma placa PP de fundo em V de 96 cavidades (Greiner, 651201) para análise em LCMS.

[000309] Estas placas foram seladas com esteiras de selagem

(MA96RD-04S) de www.kinesis.co.uk e as amostras foram avaliadas em temperatura ambiente em LCMS (ZQ 1525 from Waters) sob condições otimizadas usando Quanoptimize para determinar a massa apropriada da molécula origem.

[000310] As amostras foram analisadas em LCMS com uma taxa de fluxo de 1mL/min. O solvente A foi 15 mM de amônia e o solvente B foi metanol ou acetonitrila, dependendo da solução de interrupção usada. As amostras foram realizadas sob *spray de íon* positivo em uma coluna XBridge C18 3,5 µm (2,1 x 30 mm), de Waters. O gradiente de solvente teve um tempo de realização de 2 minutos e faixas de 5% de B a 95% de B.

[000311] A área de pico do composto origem em tempo 0 foi considerada ser 100% de resíduo. O resíduo de porcentagem após 1 hora de incubação foi calculado do tempo 0 e foi calculado como a porcentagem de resíduo. A solubilidade do composto na concentração teste final no tampão é inspecionada por microscopo e os resultados são reportados.

[000312] Os dados sobre estabilidade microssômica são expressos como uma porcentagem da quantidade total de composto que permanece após 60 minutos.

TABELA X - Estabilidade Microssômica

Composto #	Humano (%)	Rato (%)
12	70	94
15	43	14
36	11,65	72,41
37	70,98	79,47
57	42,75	34,5
72	4,88	2,2
78	78,21	93,85
92	30,21	23,6

163	53,64	39,78
176	157,1	90,21
182	19,33	19,23
190	2,13	25,64
192	127,2	77,62
197	46,6	59,41
198	65,8	72,45

Exemplo 4,6 Permeabilidade Caco2

[000313] Os ensaios de Caco-2 bidirecionais foram realizados como descrito abaixo. As células Caco-2 foram obtidas de European Collection of Cell Cultures (ECACC, cat 86010202) e usados após uma cultura de célula de 21 dias em placas Transwell de 24 cavidades (Fisher TKT-545-020B).

[000314] 2×10^5 células/cavidades foram semeadas em meio de revestimento que consiste em DMEM + GlutaMAXI + 1% de NEAA + 10% de FBS (FetalClone II) + 1% de Pen/Strep. O meio foi permutado a cada 2 - 3 dias.

[000315] Os compostos do teste e de referência (propranolol e rodamina 123 ou vinblastina, todos adquiridos de Sigma) foram preparados em Solução de Sal Equilibrada de Hank contendo 25 mM de HEPES (pH 7,4) e adicionados a câmaras apicais (125 μ L) ou basolaterais (600 μ L) da montagem de placa Transwell em uma concentração de 10 μ M com uma concentração de DMSO final de 0,25%.

[000316] 50 μ M de Amarelo lúifer (Sigma) foram adicionados ao tampão doador em todas as cavidades para avaliar a integridade das camadas celulares por monitoramento de permeação de Amarelo Lúifer. Como o Amarelo lúifer (LY) não pode livremente permear barreiras lipofílicas, um alto grau de transporte de LY indica integridade fraca da camada celular.

[000317] Após a 1 hora de incubação a 37°C ao mesmo tempo em que agitando em um agitador orbital a 150 rpm, 70 µL de alíquotas foram tiradas tanto das câmaras apicais (A) quanto basais (B) e adicionados à solução de acetonitrila:água de 50:50 a 100 µL contendo padrão interno analítico (0,5 µm de carbamazepina) em uma placa de 96 cavidades.

[000318] Amarelo lúcer foi avaliado com um Spectramax Gemini XS (Ex 426 nm e Em 538 nm) em uma placa de 96 cavidades limpa contendo 150 µL de líquido de lado basolateral e apical.

[000319] As concentrações de composto nas amostras foram avaliadas por espectroscopia de cromatografia/massa – líquida de alta performance (LC-MS/MS).

[000320] Os valores de permeabilidade evidentes (P_{app}) foram calculados da relação:

$$P_{app} = \frac{[\text{composto}]_{\text{receptor final}} \times V_{\text{receptor}}}{([\text{composto}]_{\text{doador inicial}} \times V_{\text{doador}}) / T_{\text{inc}} \times V_{\text{doador}}} / \text{área de superfície} \times 60 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$$

V = volume de câmara

T_{inc} = tempo de incubação.

Área de superfície = 0,33cm

[000321] As relações de efluxo, como uma indicação de efluxo ativo da superfície celular apical, foram calculadas usando a relação de P_{app} B>A/ P_{app} A>B.

[000322] Os seguintes critérios de aceitação de ensaio foram usados:

Propranolol: P_{app} (A>B) valor $\geq 20 (x10^{-6} \text{ cm/s})$

Rodamina 123 ou Vinblastina: P_{app} (A>B) valor $< 5 (x10^{-6} \text{ cm/s})$ com relação de efluxo >5 .

Permeabilidade de amarelo lúcer: $\leq 100 \text{ nm/s}$

Tabela XI – Taxa de efluxo de Caco2

Composto #	P_{app} A>B (x10⁻⁶ cm/sec)	Relação de efluxo
12	23.3	0.82
15	25.8	0.91
36	36.55	0.89
37	23	0.85
72	14.93	1.31
78	2	1.5
163	13.4	0.85
176	10.6	0.8
192	12.5	2

Exemplo 4.7 Estudo farmacocinético em roedores

4.7.1 Estudo farmacocinético

[000323] Os compostos são formulados em PEG200/salina fisiológica ou misturas de PEG400/DMSO/salina fisiológica para a rotina intravenosa e em 0,5% de metilcelulose ou 10 a 30% de hidroxilpropil-β-ciclodextrina de pH 3 ou pH 7,4 para a rotina oral. Os compostos do testes são oralmente dosados como uma gavagem esofágica única em 5 a 10 mg/kg e intravenosamente dosados como um bolo por meio da veia da caudal em 1 mg/kg. Cada grupo consiste em 3 ratos. As amostras de sangue são coletadas por meio da veia jugular usando ratos canulados ou no seio retro-orbital com heparina de lítio como anticoagulante no momento das seguintes faixas: 0,05 a 8 horas (rotina intravenosa), e 0,25 a 6 ou 24 horas (rotina oral). Todas as amostras de sangue são centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos e as amostras de plasma resultantes são estocadas a -20°C até a análise.

4.7.2 Quantificação de níveis de composto em plasma

[000324] As concentrações de plasma de cada composto do teste são determinadas por um método de LC-MS/MS em que o

espectrômetro de massa é operado no modo de eletrovaporização positiva.

4.7.3 Determinação de parâmetros farmacocinéticos

Os parâmetros farmacocinéticos são calculados usando Winnonlin® (Pharsight®, United)

Exemplo 4.8 Estudo de toxicidade de rato de 7 dias

[000325] Um estudo de toxicidade de rato de 7 dias com compostos do testes foi realizado em ratos Sprague-Dawley machos para avaliar seu potencial tóxico e os toxocinéticos, em doses diárias de 100, 300 e 500 mg/kg/dia, por gavagem, no volume de dosagem constante de 5 mL/kg/dia.

[000326] Os compostos do testes foram formulados em 30% (volume/ volume) de HP β CD em água purificada. Cada grupo incluía 5 ratos machos principais bem como 3 animais satélites para toxicocinéticos. Um quarto grupo foi administrado com 30% (volume/volume) de HP β CD em água apenas, na mesma frequência, no volume de dosagem e pela mesma rotina de administração, e funcionou como o grupo de controle de veículo.

[000327] O objetivo do estudo foi determinar a menor dose que não resultou em nenhum evento adverso sendo identificado (nenhum nível de efeito adverso observável - NOAEL). Os compostos 37 e 176 foram testados neste protocolo.

[000328] Os níveis de NOAEL para compostos 37 e 176 foram ambos estimulados em 500 mg/kg.

[000329] Será apreciado por aquele versado na técnica que as descrições antecedentes sejam de natureza exemplar e explanatória na natureza, como a indicação pretendida para ilustrar a invenção e suas modalidades preferidas. Através do experimento de rotina, um técnico reconhecerá evidentes modificações e variações que podem ser feitas sem afastamento do espírito da invenção. Desse modo, a

invenção é entendida para ser definida não pela descrição acima, porém pelas reivindicações seguintes e seus equivalentes.

REFERÊNCIAS

Choy EH, Panayi GS. (2001). N Engl J Med. 344: 907-16.

Chubinskaya S e Kuettner KE (2003). Regulation of osteogenic proteins by chondrocytes. The international journal of biochemistry & cell biology 35(9)1323-1340,

Clegg DO e outros, (2006) N Engl J Med. 2006 354:795-808. Glucosamina, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. Firestein GS. (2003). Nature. 423:356-61.

Kachigian LM. (2006) Collagen antibody-induced arthritis, Nature Protocols 2512-2516:

Lee DM, Weinblatt ME (2001). Lancet. 358: 903-11.

Legendre F, Dudhia J, Pujol J-P, Bogdanowicz P. (2003) JAK/STAT but not ERK1/ERK2 pathway mediates interleukin (IL)-6/soluble IL-6R down-regulation of type II collagen, aggrecan core, and link protein transcription in articular chondrocytes. J Biol Chem. 278(5)2903-2912.

Li WQ, Dehnade F, Zafarullah M. (2001) Oncostatin M-induced matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 genes expression in chondrocytes requires janus kinase/STAT signaling pathway.

(2001) J Immunol 166:3491-3498.

O'Dell JR. (2004) Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 350(25):2591-602. Osaki M, Tan L, Choy BK, Yoshida Y, Cheah KSE, Auron PE, Goldring MB. (2003) The TATA-conatining core promoter of the type II collagen gene (COL2A1) is the target of interferon-gamma-mediated

inhibition in human chondrocytes: requirement for STAT1alpha, JAK1 and JAK2. Biochem J 369:103-115.

Oste L e outros, ECTC Montreal 2007: A high throughput

method of measuring bone architectural disturbance in a murine CIA model by micro-CT morfometry

Otero M, Lago R, Lago F, Gomez Reino JJ, Gualillo O. (2005) Signalling pathway involved in nitric oxide synthase type II activation in chondrocytes: synergistic effect of leptin com interleukin-1. *Arthritis Research & Terapia* 7:R581-R591.

Rodig SJ, Meraz MA, White JM, Lampe PA, Riley JK, Arthur CD, King KL, Sheehan KCF, Yin L, Pennica D, Johnson EM, Schreiber RD. (1998) Disruption of the JAK1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the jaks in cytokine-induced biologic responses *Cell* 93: 373-383.

Sims NA e outros, (2004) Targeting osteoclasts com zoledronic acid prevents bone destruction in collagen-induced arthritis, *Arthritis Rheum.* 50 2338-2346:

Smolen JS, Steiner G. (2003). *Nat Rev Drug Discov.* 2: 473-88.

Wernig e outros, (2008) Efficacy of TGI 01348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera, *Cancer Cell* 13(4), 311-320 Geron e outros, (2008) Selective inhibition of JAK2-driven erythroid differentiation of polycythemia vera progenitors *Cancer Cell* 13 (4), 321-30 Wieland HA, Michaelis M, Kirschbaum BJ, Rudolphi KA. (2005). *Nat Rev Drug Discov.* 4:331-44. Osteoartrite - an untreatable disease?

Wirtz e outros, (2007) Mouse Models of Inflammatory Bowel Disease, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007, 1073-1083:

Tam, L., McGlynn, L.M., Traynor, P., Mukherjee, R., Bartlett, J.M.S., Edwards, J. (2007) *British Journal of cancers*, 97, 378-383

Constantinescu e outros, 2007, *Trends in Biochemical Sciences* 33(3): 122-131

Tetsuji Naka, Norihiro Nishimoto and Tadamitsu Kishimoto,

Arthritis Res 2002, 4 (suplemento 3):S233-S242

O'Shea, J.J., Pesu, M., Borie, D.C., Changelian, P.S., Nature Reviews, 2004, 555-564 Nials e outros, (2008) Mouse Models of Allergic Asma: Acute and Chronic Allergen Challenge, Disease Models & Mechanisms, 213-220,

Ip e outros, (2006) Interleukin (IL)-4 e IL- 13 up-regulate monocyte chemoattractant protein- 1 expression in human bronchial epithelial cells: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase, extracellular signal- regulated kinase 1/2 and Janus kinase-2 but not c-Jun NH2-terminal kinase 1/ 2 signalling pathways, Clin. Exp. Immun, 162-172.

Pernis e outros, (2002) JAK-STAT signaling in asthma J. Clin. Invest. 1279.

Kudlacz e outros, (2008) The JAK-3 inhibitor CP-690550 is a potent anti-inflammatory agent in a murine model of pulmonary eosinophilia, Eur J Pharmacol 154-161.

Mullighan CG, Zhang J, Harvey RC, Collins-Underwood JR, Schulman BA, Phillips LA, Tasian SK, Loh ML, Su X, Liu W, Devidas M, Atlas SR, Chen I-M, Clifford RJ, Gerhard DS, Carroll WL, Reaman GH, Smith M, Downing JR, Hunger SP Willmane CL; (2009) JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia, PNAS May 22. [Epub ahead of print]

Argiles JM, Lopez-Soriano FJ. (1998)Catabolic proinflammatory cytokines. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 1:245-51.

Bush KA, Farmer KM, Walker JS, Kirkham BW. (2002) Reduction of joint inflamação e bone erosion in rat adjuvant arthritis by treatment com interleukin-17 receptor IgG1 Fc fusion protein. Arthritis Rheum.

46: 802-5.

Jou IM, Shiau AL, Chen SY, Wang CR, Shieh DB, Tsai CS, Wu CL. (2005) Thrombospondin 1 as an effective gene therapeutic strategy in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 52:339-44.

Nishida K, Komiyama T, Miyazawa S, Shen ZN, Furumatsu T, Doi H, Yoshida A, Yamana J, Yamamura M, Ninomiya Y, Inoue H, Asahara H. (2004) Histone deacetylase inhibitor suppression of autoantibody-mediated arthritis in mice por meio de regulation of p16INK4a e p21(WAF1/Cip1) expression. *Arthritis Rheum.* 10: 3365-76.

Rall LC, Roubenoff R.(2004) Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanisms and interventions.

Rheumatology; 10:1219-23.

Salvemini D, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, De Sarro A, Caputi AP, Cuzzocrea S. (2001) Amelioration of joint disease in a rat model of collagen-induced arthritis by M40403, a superóxido dismutase mimetic.

Arthritis Rheum. 44:2909-21.

Shelton DL, Zeller J, Ho WH, Pons J, Rosenthal A. (2005) Nerve growth factor mediates hyperalgesia and cachexia in autoimmune arthritis. *Pain.* 116:8-16.

Sims NA, Green JR, Glatt M, Schlicht S, Martin TJ, Gillespie MT, Romas E. (2004) Targeting osteoclasts with zoledronic acid prevents bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 50:2338-46.

Walsmith J, Abad L, Kehayias J, Roubenoff R. (2004) Tumor necrosis factor-alpha production is associated with less body cell mass in women com rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.*; 31:23-9.

Khachigian, L. M. Collagen antibody-induced arthritis. (2006) *Nature Protocols* 1, 2512-6.

Lin HS, Hu CY, Chan HY, Liew YY, Huang HP, Lepescheux

L, Bastianelli E, Baron R, Rawadi G, Clementerc-Lacroix P. (2007) Anti-rheumatic activities of histone deacetylase (HDAC) inhibitors *in vivo* in collagen-induced arthritis in rodents. Br J Pharmacol. Abril; 150 (7):829-31.

[000330] Todas as publicações, incluindo, porém não limitadas às patentes e pedidos de patentes citados nesta especificação, são aqui incorporadas por referência como se cada publicação individual fosse especificamente e individualmente indicada ser incorporada por referência aqui como se mencionada na íntegra.

[000331] A partir da descrição anterior, várias modificações e mudanças nas composições e métodos desta invenção ocorrerão para aqueles versados na técnica. Todas as tais modificações que se incluem no escopo das reivindicações anexas destinam-se a ser incluídas aqui.

[000332] Deve-se entender que fatores tais como a capacidade de penetração celular diferencial dos vários compostos podem contribuir para as discrepâncias entre a atividade dos compostos nos ensaios celulares e bioquímicos *in vitro*.

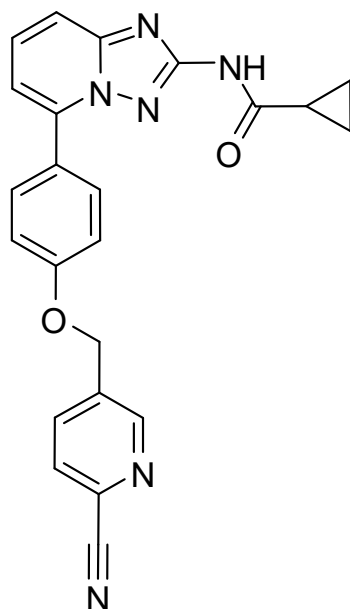
[000333] Pelo menos alguns dos nomes químicos de compostos da invenção como fornecido e mencionado neste pedido, podem ter sido gerados em uma base automatizada por uso de um programa de *software* de nomeação química comercialmente disponível, e não foram independentemente verificados. Programas representativos que realizam esta função incluem a ferramenta de nomeação Lexichem vendida por Open Eye Software, Inc. e a ferramenta Autonom Software vendida por MDL, Inc. No caso onde o nome químico indicado e uma estrutura representada diferem, a estrutura representada prevalecerá.

[000334] As estruturas químicas mostradas aqui foram preparadas usando ChemDraw[®] ou ISIS[®] /DRAW.

[000335] Qualquer valência aberta que aparece no átomo de carbono, oxigênio ou nitrogênio nas estruturas aqui indica a presença de um átomo de hidrogênio. Onde um centro quiral existe em uma estrutura, porém nenhuma estereoquímica específica é mostrada para o centro quiral, ambos os enantiômeros associados com a estrutura quiral são abrangidos pela estrutura.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que é de acordo com a fórmula VIa:



VIa

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

2. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável e uma quantidade farmaceuticamente eficaz de um composto como definido na reivindicação 1.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que compreende um ou mais outros agentes ativos.

4. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o tratamento, prevenção ou profilaxia de doenças envolvendo desgaste da cartilagem, desgaste ósseo e/ou da articulação, por exemplo, osteoartrite; e/ou condições envolvendo inflamação ou respostas imunes, tais como doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, doença alérgica das vias aéreas (por exemplo, asma, rinite), artrite idiopática juvenil, colite, doenças inflamatórias do intestino,

estados de doença regulados por endotoxina (por exemplo, complicações após cirurgia de desvio (*bypass*) ou estados de endotoxina crônicos contribuindo para, por exemplo, insuficiência cardíaca crônica), doenças envolvendo comprometimento da regeneração de cartilagem (por exemplo, doenças envolvendo a estimulação anabólica de condrócitos), malformações de cartilagem congênitas, doenças associadas com hipersecreção de IL6 e rejeição de transplante (por exemplo, rejeição de transplante de órgão).

5. Uso de um composto como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o tratamento de osteoartrite.

6. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 ou 5, caracterizado pelo fato de que o medicamento é para administração com um ou mais outros agentes ativos.

7. Uso de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o um ou mais outros agentes ativos são agentes terapêuticos para o tratamento de uma doença envolvendo inflamação, artrite, distúrbios proliferativos, doenças autoimunes, rejeição de transplantes, asma e/ou rinite e/ou COPD, IBD, SLE, ou psoríase.