

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

(22) Data de pedido: <b>2011.01.21</b>	(73) Titular(es): <b>TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED 1-1 DOSHOMACHI 4-CHOME CHUO-KU OSAKA- SHI, OSAKA 541-0045</b> <b>JP</b>
(30) Prioridade(s): <b>2010.02.03 US 300869 P</b>	
(43) Data de publicação do pedido: <b>2012.12.12</b>	
(45) Data e BPI da concessão: <b>2013.11.20 033/2014</b>	(72) Inventor(es): <b>EDCON CHANG</b> <b>US</b>
	(74) Mandatário: <b>NUNO MIGUEL OLIVEIRA LOURENÇO RUA CASTILHO, Nº 50 - 9º 1269-163 LISBOA</b> <b>PT</b>

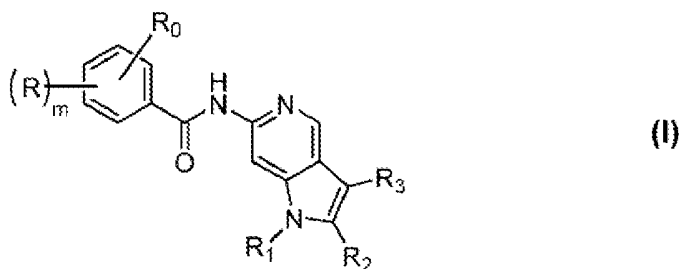
(54) Epígrafe: **INIBIDORES DA CINASE DE REGULAÇÃO DO SINAL DE APOPTOSE 1**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A COMPOSTOS DE INIBIÇÃO DA CINASE DE REGULAÇÃO DO SINAL DE APOPTOSE 1 ( ASK1 ) DA FÓRMULA (I) EM QUE AS VARIÁVEIS SÃO COMO AQUI DEFINIDAS. A INVENÇÃO REFERE-SE TAMBÉM A COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, KITS E ARTIGOS DE FABRICO COMPREENDENDO TAIS COMPOSTOS; MÉTODOS E INTERMEDIÁRIOS ÚTEIS PARA A PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS; E MÉTODOS DE UTILIZAÇÃO DOS REFERIDOS COMPOSTOS.

## RESUMO

### "INIBIDORES DA CINASE DE REGULAÇÃO DO SINAL DE APOPTOSE 1"



A presente invenção refere-se a compostos de inibição da cinase de regulação do sinal de apoptose 1 ("ASK1") da fórmula (I) em que as variáveis são como aqui definidas. A invenção refere-se também a composições farmacêuticas, kits e artigos de fabrico compreendendo tais compostos; métodos e intermediários úteis para a preparação dos compostos; e métodos de utilização dos referidos compostos.

## **DESCRIÇÃO**

### **"INIBIDORES DA CINASE DE REGULAÇÃO DO SINAL DE APOPTOSE 1"**

#### **CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção refere-se a compostos que podem ser utilizados para inibir a cinase de regulação do sinal de apoptose 1 (ASK1) bem como a composições de matéria, kits e artigos de fabrico compreendendo estes compostos. Além disso, a invenção refere-se a métodos de preparação dos compostos da presente invenção, bem como a intermediários úteis em tais métodos. Em particular, a presente invenção refere-se a inibidores de ASK1, composições de matéria, kits e artigos de fabrico compreendendo estes compostos, métodos para inibir a ASK1, e métodos e intermediários úteis para preparar os inibidores.

#### **ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

A cinase de regulação do sinal de apoptose 1 (ASK1) é um membro da família das proteína-cinases ativadas por mitogénio (MAPKs), as quais são membros da família de serina/treonina-cinases. Wang et al. J. Biol. Chem. 1996, 271, 31607-31611, Ichijo et al. Science 1997, 275, 90-94. A ASK1 é também conhecida como cinase da cinase da proteína-cinase ativada por mitogénio 5 (MAPKKK5, MAP3K5), cinase da cinase de MAP/ERK 5 (MEKK5), cinase de MEK 5, MEKK5, cinase da cinase de MAP/ERK 5. A proteína-cinase é constituída por 1375 aminoácidos abrangendo 11 subdomínios de cinase; em particular um domínio de serina/treonina-cinase na parte central da molécula com regiões flanqueadoras NH- e COOH-terminais compridas. Wang et al. J. Biol. Chem. 1996, 271, 31607-31611, Ichijo et al. Science 1997, 275, 90-94;

Tobiume et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997, 239, 905-910; USP nº 6,080,546 e 6,194,187. A sequência de nucleótidos da ASK1 encontra-se acessível nas bases de dados de proteínas através do número de acesso NM\_005923. A ASK1 é ubiquamente expressa com a expressão mais elevada no coração, pâncreas, testículos e ovários.

As MAP-cinases medeiam a transdução de sinal da superfície da célula para o núcleo através de cascatas de fosforilação. Egan e Weinberg Nature 1993, 365, 781-783.

As cascatas de MAPK são vias de sinalização intracelulares multifuncionais que são evolutivamente conservadas em todas as células eucarióticas. Widmann et al. Physiol Rev 1999, 79, 143-180; Kyriakis e Avruch, J. Physiol Rev 2001, 81, 807-869; Ichijo Oncogene 1999, 18:6087-6093. Todas as células eucarióticas possuem múltiplas vias MAPK. Nas células de mamífero foram extensivamente caracterizadas três cascatas MAPK que convergem nas ERKs, cinases N-terminais de c-Jun (JNKs) e p38 MAP-cinases. Egan e Weinberg Nature 1993, 365, 781-783; Boulton et al. Cell 1994, 65, 663-675; e Zhou et al. J. Biol. Chem. 1995, 270, 12665-12669 (o MAPK/ERK via); Derujard et al. Cell 1994, 76, 1025-1037; Galcheva-Gargova et al. Science 1994, 265, 806-808; Minden et al. Mol. Cell. Biol. 1994, 14, 6683-6688 (a via da cinase N-terminal de c-Jun (JNK); e Lee et al. Science 1994, 265, 808-811, (as vias de p38 MAPK). A via da ERK é ativada por vários fatores de crescimento e está estreitamente relacionada com a regulação de ciclo celular. As vias JNK e p38 são preferencialmente ativadas por vários stresses citotóxicos tais como radiação UV, raios X, choque térmico, choque osmótico, stress oxidativo e citocinas pró-inflamatórias tais como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina-1. Tibbles e Woodgett, Cell Mol, Life Sci.

1999, 55:1230-1254. As JNK e p38 são, deste modo, também chamadas proteína-cinases ativadas por stress (SAPKs).

Cada cascata de MAPK envolve três classes de serina/treonina-cinases, MAPK, cinase de MAPK (MAP2K) e cinase de MAP2K (MAP3K). Nas cascatas de sinalização de MAPK, a MAP3K fosforila e desse modo ativa a MAP2K que por sua vez fosforila e ativa a MAPK. A MAPK ativada pode deslocar-se para o núcleo da célula e regular as atividades de fatores de transcrição e, desse modo, controlar a expressão de genes. Sturgill e Wu, *Biochim. Biophys. Acta* 1993, 1092, 350; Nishida e Gotoh, *Trends Biochem. Sci.* 1993, 18, 128; Errede e Levin *Curr. Opin. Cell Biol.* 1993, 5, 254; Marshall *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1994, 82.

As MAP3Ks desempenham papéis essenciais na detecção e sinalização de stress celular e ambiental. As MAP3Ks nas vias de JNK e p38 são altamente divergentes em número e estrutura. Foram identificados pelo menos onze MAP3Ks a montante da JNK, cada uma das quais ativa cascatas de MAPK simples ou múltiplas a jusante. Esta diversidade e complexidade são coerentes com a variedade de estímulos que ativa as vias de MAPK. Kyriakis e Avruch *Physiol. Rev.* 2001, 81, 807-869.

Uma das respostas biológicas importantes mediada por estas vias de MAP-cinase ativadas por stress parece ser a decisão do destino da célula pela regulação da apoptose. Os possíveis papéis da via da JNK na sinalização da pró-apoptose foram demonstrados por estudos em ratos de gene anulado. Yang et al. *Nature* 1997, 389:865-870; Sabapathy et al. *Curr. Biol.* 1999, 9:116-125; Kuan et al. *Neuron* 1999, 22:667-676. Várias linhas de evidência sugeriram também os papéis pró-apoptóticos da via de p38. Xia et al. *Science* 1995, 270:1326-1331; Kawaski et al. *J. Biol. Chem.* 1997,

272:18518-18521; Harper e LoGrasso et al. Cell Signal. 2001, 13:299-310.

A ASK1 foi originariamente identificada como uma MAP3K de indução de apoptose. A ASK1 regula as vias de p38 e JNK fosforilando diretamente e ativando, desse modo, as respectivas MAPKKs, MKK4(SEK1)/MKK7 e MKK3/MKK6. Wang et al. J. Biol. Chem. 1996, 271, 31607-31611; Ichijo et al. Science 1997, 275, 90-94. A atividade da ASK1 está fortemente regulada; uma proteína de redução/oxidação tiorredoxina (Trx) expressa ubiquamente liga-se à extremidade N-terminal e inibe a sua atividade. A ASK1 é ativada por vários stresses citotóxicos incluindo stress oxidativo, stress do retículo endoplasmático (ER) e sobrecarga de cálcio, e por sinais inflamatórios mediados por recetor tais como o fator de necrose tumoral (TNF) e o lipopolissacárido (LPS) endotóxico. Hayakaw et al. Microbes and Infection 2006, 8, 1098-1107; Saitoh et al EMBO J. 1998, 17:2596-2606; Nishitoh et al. Genes Dev. 2002, 16:1345-1355; Takeda et al. EMBO Rep. 2004, 5, 161-166; Nishitoh et al. Mol Cell 1998, 2,389-395; Matsukawa et al. Nat Immunol 2005, 6, 587-592. Foi demonstrado que a ASK1 é necessária para a apoptose induzida por stress oxidativo, TNF e stresses do ER. Nishitoh et al. Genes Dev. 2002, 16:1345-1355; Matsukawa et al. Nat Immunol 2005, 6, 587-592; Tobiume et al. EMBO Rep. 2001, 2:222-228. A sobreexpressão da ASK1 de tipo selvagem ou constitutivamente ativa induz a apoptose em várias células através da ativação da caspase dependente de mitocôndrias. Saitoh et al EMBO J. 1998, 17:2596-2606; Kanamoto et al. Mol. Cell Biol. 2000, 20, 196-204; Hatai et al. J. Biol. Chem. 2000, 275, 26576-26588.

Estudos recentes revelaram que a ASK1 contribui não só para a regulação da morte celular mas tem também diversas funções na decisão do destino da célula tal como as respostas a citocinas, diferenciação celular e respostas imunológicas inatas. Matsukawa et al. J Biochem. (Toyko) 2004, 136, 261-265. Sayama et al. J. Biol. Chem. 2000, 276:999-1004; Takeda et al. J. Biol. Chem. 2000, 275:9805-9813; Sagasti et al. Cell 2001, 105:221-232; Kim et al. Science 2002, 297:623-626; Nishitoh et al. Genes Dev. 2002, 16:1345-1355; Matsukawa et al. Nat Immunol 2005, 6, 587-592; Tobiume et al. EMBO Rep. 2001, 2:222-228; Imoto, et al. Diabetes 2006, 55:1197-1204. A ASK1 constitutivamente ativa induz o crescimento de axónios em células PC12. A ASK1 é ativada pela CaMKII, a qual ativa a via de ASK1-p38 nos neurónios, sugerindo que a ASK1 pode desempenhar papéis críticos na plasticidade sináptica. Além do mais, a via de TRAF6-ASK1-p38 desempenha um papel essencial nas respostas inflamatórias e imunológicas inatas. Hayakawa et al. Microbes and Infection 2006, 8, 1098-1107. Foi também demonstrado que a ASK1 tem um papel na patogénese da resistência à insulina induzida pelo TNF- $\alpha$ . A sobreexpressão da ASK1 de tipo selvagem aumenta a fosforilação de serina do substrato do recetor de insulina (IRS)-1 e diminui a fosforilação da tirosina estimulada pela insulina de IIRS-1, levando a sinalização de insulina enfraquecida. Imoto, et al. Diabetes 2006, 55:1197-1204.

A ASK1 é assim uma componente essencial não só na morte celular induzida por stress mas também numa gama larga de atividades biológicas com o fim de as células se adaptarem ou oporem aos vários stresses. A modulação da atividade de ASK1 tem potencialmente um efeito benéfico no tratamento ou prevenção de uma vasta gama de doenças e condições incluindo, mas não se limitando a, doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias, doenças

autoimunes, distúrbios destrutivos do osso, distúrbios neurodegenerativos e doenças metabólicas tais como a diabetes. Thompson, Science 1995, 267, 1456-1462; Yuan e Yanker Nature 2000, 407, 802-809; Los et al. Immunity 1999, 10, 629-639.

Atualmente, não existem agentes terapêuticos conhecidos que inibam eficazmente a expressão e/ou ativação de ASK1 e, até à data, as estratégias destinadas a modular a função da ASK1 envolveram a utilização de anticorpos, mutantes dominantes negativos e dominantes ativos da proteína.

As Patentes dos Estados Unidos nº 5,981,265 e nº 6,074,861 reivindicam métodos para regular a atividade da proteína MAP3K numa célula transformando ou transfetando a célula com um ácido nucleico que é capaz de hibridizar sob condições estridentes com uma molécula de ácido nucleico que codifica a MAP3K1, MAP3K2, MAP3K3, MAP3K4, MAP3K5 e MAP3K6. São geralmente divulgados oligonucleótidos para serem utilizados em antimensageiro e na formação de hélices triplas, como ribozimas, sondas ou iniciadores e noutras aplicações. A WO 01/07461 divulga composições e métodos antimensageiros para utilizar as composições antimensageiras para modular a expressão de MAP3K5 e tratar as doenças associadas à expressão de MAP3K5.

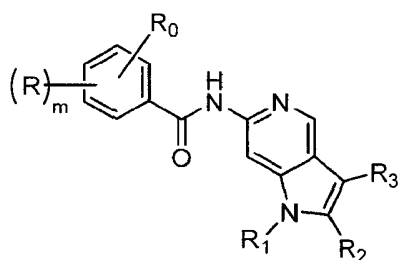
Consequentemente, continua a existir uma necessidade há muito sentida de agentes capazes de modular eficazmente a atividade da ASK1. Um inibidor de molécula pequena pode provar ser um meio eficaz para regular as atividades de ASK1. Outras referências são as EP 2 058 309 e WO 2009/027283.



## SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a compostos que têm atividade para inibir a ASK1. A presente invenção também proporciona composições, artigos de fabrico e kits compreendendo estes compostos. Além disso, a invenção refere-se a métodos de preparação dos compostos da presente invenção, bem como a intermediários úteis em tais métodos.

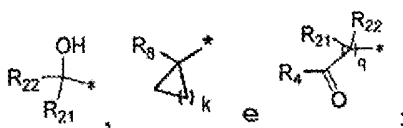
Num aspeto, a invenção é dirigida a compostos possuindo a fórmula:



um seu estereoisómero ou um sal farmaceuticamente aceitável do composto ou estereoisómero, em que

m é 0, 1, ou 2;

R<sub>0</sub> é selecionado do grupo consistindo de



cada R é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), ariloxilo(C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo(C<sub>1-5</sub>), alquilo(C<sub>1-6</sub>), aminoalquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), aril(C<sub>4-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroaril(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes

independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), haloalcoxilo(C<sub>1-6</sub>), amino, alquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), aminoalquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialcoxilo(C<sub>1-6</sub>), haloalcoxilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalcoxilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), R<sub>9</sub>-carbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), R<sub>9</sub>-sulfonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), R<sub>9</sub>-carbonilo e R<sub>9</sub>-sulfonilo;

R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de ciano, alquilo(C<sub>1-6</sub>), alcenilo(C<sub>2-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), cicloalcenilo(C<sub>4-6</sub>), cicloalcenilo(C<sub>4-6</sub>), sulfonilo, heterocicloalcenilo(C<sub>3-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxilo, halo, ciano, amino, carbonilamino, sulfonilamino, cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>), oxicarbonilo, hidroxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, aminossulfonilo, em que o amino, carbonilamino, sulfonilamino, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo e aminossulfonilo são, cada, não substituído ou adicionalmente substituído com 1-2 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalquilo(C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>);

R<sub>2</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), ariloxilo(C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo(C<sub>1-5</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, sulfinilo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>), carbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), tiocarbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), sulfonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), sulfinilalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquil(C<sub>3-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heterocicloalquil(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), aril(C<sub>4-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroaril(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroalquilo(C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e

heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, amino monossubstituído, amino dissustituído, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>) e arilo(C<sub>4-6</sub>), na condição de que quando R<sub>3</sub> é hidrogénio e R<sub>1</sub> é alquilo, R<sub>2</sub> não seja arilo, heteroarilo ou heterocíclico; R<sub>3</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), ariloxilo(C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo(C<sub>1-5</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, sulfinilo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>), carbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), tiocarbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), sulfonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), sulfinilalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquil(C<sub>3-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heterocicloalquil(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), aril(C<sub>4-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroaril(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroalquilo(C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>), e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>);

R<sub>4</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil(C<sub>1-6</sub>)amino, (di-alquil(C<sub>1-6</sub>))amino, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>) e alquilo(C<sub>1-6</sub>);

R<sub>8</sub> é -(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>OH;

R<sub>9</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil(C<sub>1-6</sub>)amino, (di-alquil(C<sub>1-6</sub>))amino, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>) e alquilo(C<sub>1-6</sub>);

R<sub>10</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil(C<sub>1-6</sub>)amino, (di-alquil(C<sub>1-6</sub>))amino, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>) e alquilo(C<sub>1-6</sub>);

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ;

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ );

$k$  é 1, 2, 3 ou 4;

$p$  é 1, 2, 3 ou 4; e

$q$  é 1, 2, 3 ou 4.

Assinale-se, no que se refere a todas as formas de realização acima, que a presente invenção destina-se a abranger todas as formas ionizadas farmaceuticamente aceitáveis (por exemplo, sais) e solvatos (por exemplo, hidratos) dos compostos, independentemente de tais formas ionizadas e solvatos serem, ou não serem, especificados, uma vez que é bem conhecida na técnica a administração de agentes farmacêuticos numa forma ionizada ou solvatada. Assinale-se também que a menos que seja especificada uma estereoquímica particular, a recitação de um composto destina-se a abranger todos os estereoisómeros possíveis (por exemplo, enantiómeros ou diastereómeros dependendo do número de centros quirais), independente de se o composto está presente como um isómero particular ou uma mistura de isómeros. Além disso, salvo especificação em contrário, a recitação de um composto destina-se a abranger todas as formas de ressonância e tautómeros possíveis. No que diz respeito às reivindicações, a linguagem "composto compreendendo a fórmula," "composto possuindo a fórmula" e "composto da fórmula" destina-se a abranger o composto e todas as formas ionizadas e solvatos farmaceuticamente aceitáveis, todos os estereoisómeros possíveis, e todas as formas de ressonância e tautómeros possíveis, a menos que

especificamente especificado de outro modo na reivindicação particular.

Noutro aspeto, a invenção é dirigida a composições farmacêuticas que compreendem um inibidor de ASK1 de acordo com a presente invenção como um ingrediente ativo. As composições farmacêuticas de acordo com a invenção podem compreender opcionalmente 0,001%-100% de um ou mais inibidores desta invenção. Estas composições farmacêuticas podem ser administradas ou coadministradas por um grande variedade de vias, incluindo, por exemplo, por via oral, parentérica, intraperitoneal, intravenosa, intra-arterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, retal, transbucal, intranasal, lipossomal, inalação, vaginal, intraocular, via administração local (por exemplo, por cateter ou endoprótese), por via subcutânea, intra-adiposa, intra-articular ou intratecal. As composições podem ser também administradas ou coadministradas em formas de dosagem de libertação lenta.

Noutro aspeto, a invenção é dirigida a kits e artigos de fabrico para o tratamento de estados patológicos associados a ASK1.

Numa forma de realização, o kit compreende uma composição compreendendo pelo menos um inibidor de ASK1 da presente invenção em associação com instruções. As instruções podem indicar o estado patológico para o qual a composição é para ser administrada, informação sobre a conservação, informação sobre a administração e/ou instruções no que se refere ao modo de administração da composição. O kit pode compreender também materiais de embalagem. O material de embalagem pode compreender um recipiente para alojamento da composição. O kit pode também compreender opcionalmente

componentes adicionais, tais como seringas para administração da composição. O kit pode compreender a composição em formas de dose única ou múltipla.

Noutro aspeto, a invenção é dirigida a artigos de fabrico que compreendem uma composição compreendendo pelo menos um inibidor de ASK1 da presente invenção em associação com materiais de embalagem. O material de embalagem pode compreender um recipiente para alojamento da composição. O recipiente pode compreender opcionalmente uma etiqueta indicando o estado patológico para o qual a composição é para ser administrada, informação sobre a conservação, informação sobre a administração e/ou instruções no que se refere ao modo de administração da composição. O artigo de fabrico pode também compreender opcionalmente componentes adicionais, tais como seringas para administração da composição. O artigo de fabrico pode compreender a composição em formas de dose única ou múltipla.

Ainda noutro aspeto, a invenção é dirigida a métodos para preparar compostos, composições, kits e artigos de fabrico de acordo com a presente invenção. Por exemplo, são aqui proporcionados vários esquemas de síntese para sintetizar compostos de acordo com a presente invenção. Ainda num outro aspeto, a invenção é dirigida a intermediários úteis para a preparação dos compostos, composições, kits e artigos de fabrico de acordo com a presente invenção.

Ainda noutro aspeto, a invenção é dirigida a métodos de utilização dos compostos, composições, kits e artigos de fabrico de acordo com a presente invenção.

Numa forma de realização, os compostos, composições, kits e artigos de fabrico são utilizados para inibir a ASK1.

Noutra forma de realização, os compostos, composições, kits e artigos de fabrico são utilizados para tratar um estado patológico para o qual a ASK1 possui atividade que contribui para a patologia e/ou sintomatologia do estado patológico.

#### **BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

A Figura 1 ilustra as SEQ ID NO:1 e SEQ ID NO: 2 referidas neste pedido.

#### **DEFINIÇÃO**

Salvo indicação em contrário, os seguintes termos utilizados na especificação e reivindicações deverão ter os significados seguintes para os fins deste Pedido.

Assinale-se que, como utilizado na especificação e nas reivindicações apensas, as formas singulares "um," "uma," "o" e "a" incluem os referentes plurais, a menos que o contexto determine claramente em contrário. Além disso, as definições dos termos químicos correntes podem ser encontradas em trabalhos de referência, incluindo Carey e Sundberg "ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 5TH ED." Volumes A (2007) e B (2007), Springer Science and Business Media, New York. De igual modo, salvo indicação em contrário, são utilizados métodos convencionais de espectroscopia de massa, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante e farmacologia, dentro da perícia da técnica.

"Acetilo" significa o radical  $-C(O)CH_3$ .

"Acetilamino" significa o radical  $\text{NR-C(=O)CH}_3$  em que R é hidrogénio ou um outro substituinte.

"Alicíclico" significa uma unidade compreendendo um estrutura em anel não aromática. As unidades alicíclicas podem ser saturadas ou parcialmente insaturadas com uma, duas ou mais ligações duplas ou triplas. As unidades alicíclicas podem também compreender opcionalmente heteroátomos tais como azoto, oxigénio e enxofre. Os átomos de azoto podem estar opcionalmente quaternizados ou oxidados e os átomos de enxofre podem estar opcionalmente oxidados. Os exemplos de unidades alicíclicas incluem, mas não se limitam a unidades com anéis ( $\text{C}_{3-8}$ ) tais como ciclopropilo, ciclo-hexano, ciclopentano, ciclopenteno, ciclopentadieno, ciclo-hexano, ciclo-hexeno, ciclo-hexadieno, ciclo-heptano, ciclo-hepteno, ciclo-heptadieno, ciclooctano, cicloocteno e ciclooctadieno.

"Alifático" significa uma unidade caracterizada por um arranjo em cadeia linear ou ramificada de átomos de carbono constituintes e pode ser saturada ou parcialmente insaturada com uma, duas ou mais ligações duplas ou triplas.

"Alcenilo" significa uma cadeia de carbonos linear ou ramificada que contém pelo menos uma ligação dupla carbono-carbono ( $-\text{CR}=\text{CR}'-$  ou  $-\text{CR}=\text{CR}'\text{R}''$ , em que R, R' e R'' são, cada, independentemente hidrogénio ou outros substituintes). Os exemplos de alcenilo incluem vinilo, alilo, isopropenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, 1-propenilo, 2-butenilo, 2-metil-2-butenilo, e semelhantes. Em formas de realização particulares, "alcenilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcenilo( $\text{C}_{2-20}$ ), um alcenilo( $\text{C}_{2-15}$ ), um alcenilo( $\text{C}_{2-10}$ ), um



alcenilo(C<sub>2-5</sub>) ou um alcenilo(C<sub>2-3</sub>). Alternativamente, "alcenilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcenilo(C<sub>2</sub>), um alcenilo(C<sub>3</sub>) ou um alcenilo(C<sub>4</sub>).

"Alcenileno" significa uma cadeia de carbonos linear ou ramificada, bivalente possuindo uma ou mais ligações duplas carbono-carbono (-CR=CR'-, em que R e R' são, cada, independentemente hidrogénio ou outros substituintes). Os exemplos de alcenileno incluem eteno-1,2-diilo, propeno-1,3-diilo, metileno-1,1-diilo, e semelhantes. Em formas de realização particulares, "alcenileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcenileno (C<sub>2-20</sub>), um alcenileno (C<sub>2-15</sub>), um alcenileno (C<sub>2-10</sub>), um alcenileno (C<sub>2-5</sub>) ou um alcenileno (C<sub>2-3</sub>). Alternativamente, "alcenileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcenileno (C<sub>2</sub>), um alcenileno (C<sub>3</sub>) ou um alcenileno (C<sub>4</sub>).

"Alcoxilo" significa uma unidade de oxigénio possuindo um substituinte alquilo adicional. Os grupos alcoxilo da presente invenção podem estar opcionalmente substituídos.

"Alquilo" representado por si só significa um radical alifático, linear ou ramificado, saturado ou insaturado possuindo uma cadeia de átomos de carbono, estando opcionalmente um ou mais átomos de carbono substituídos com oxigénio (ver "oxaalquilo"), um grupo carbonilo (ver "oxoalquilo"), enxofre (ver "tioalquilo") e/ou azoto (ver "azaalquilo"). São tipicamente utilizados alquilo(C<sub>x</sub>) e alquilo(C<sub>x-y</sub>), em que X e Y indicam o número de átomos de carbono na cadeia. Por exemplo, alquilo(C<sub>1-6</sub>) inclui alquilos que têm uma cadeia entre 1 e 6 carbonos (por exemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-

butilo, isobutilo, *terc*-butilo, vinilo, alilo, 1-propenilo, isopropenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 2-metilalilo, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo e semelhantes). Alquilo representado em conjunto com outro radical (por exemplo, como em arilalquilo, heteroarilalquilo e semelhantes) significa um radical alifático, linear ou ramificado, saturado ou insaturado bivalente possuindo o número de átomos indicado ou quando não são indicados átomos significa uma ligação (por exemplo, aril(C<sub>6-10</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>) inclui, benzilo, fenetilo, 1-feniletilo, 3-fenilpropilo, 2-tienilmetilo, 2-piridinilmetilo e semelhantes). Em formas de realização particulares, "alquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alquilo(C<sub>1-20</sub>), um alquilo(C<sub>1-15</sub>), um alquilo(C<sub>1-10</sub>), um alquilo(C<sub>1-5</sub>) ou um alquilo(C<sub>1-3</sub>). Alternativamente, "alquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alquilo(C<sub>1</sub>), um alquilo(C<sub>2</sub>) ou um alquilo(C<sub>3</sub>).

"Alquileno", salvo indicação em contrário, significa um radical alifático, linear ou ramificado, saturado ou insaturado bivalente. São tipicamente utilizados alquileno(C<sub>X</sub>) e alquileno(C<sub>X-Y</sub>), em que X e Y indicam o número de átomos de carbono na cadeia. Por exemplo, alquileno(C<sub>1-6</sub>) inclui metileno (-CH<sub>2</sub>-), etileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), trimetileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), tetrametileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 2-butenileno (-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>-), 2-metiltetrametileno (-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), pentametileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) e semelhantes. Em formas de realização particulares, "alquileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alquileno(C<sub>1-20</sub>), um alquileno(C<sub>1-15</sub>), um alquileno(C<sub>1-10</sub>), um alquileno(C<sub>1-5</sub>) ou um alquileno(C<sub>1-3</sub>). Alternativamente, "alquileno," sozinho

ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alquilenos( $C_1$ ), um alquilenos( $C_2$ ) ou um alquilenos( $C_3$ ).

"Alquilideno" significa um radical alifático, linear ou ramificado, saturado ou insaturado ligado à molécula parental por uma ligação dupla. São tipicamente utilizados alquilideno( $C_X$ ) e alquilideno( $C_{X-Y}$ ), em que X e Y indicam o número de átomos de carbono na cadeia. Por exemplo, alquilideno( $C_{1-6}$ ) inclui metileno ( $=CH_2$ ), etilideno ( $=CHCH_3$ ), isopropilideno ( $=C(CH_3)_2$ ), propilideno ( $=CHCH_2CH_3$ ), alilideno ( $=CH-CH=CH_2$ ) e semelhantes. Em formas de realização particulares, "alquilideno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alquilideno( $C_{1-20}$ ), um alquilideno( $C_{1-15}$ ), um alquilideno( $C_{1-10}$ ), um alquilideno( $C_{1-5}$ ) ou um alquilideno( $C_{1-3}$ ). Alternativamente, "alquilideno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alquilideno( $C_1$ ), um alquilideno( $C_2$ ) ou um alquilideno( $C_3$ ).

"Alcinilo" significa uma cadeia de carbonos linear ou ramificada que contém pelo menos uma ligação tripla carbono-carbono ( $-C\equiv C-$  ou  $-C\equiv CR$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte). Os exemplos de alcinilo incluem etinilo, propargilo, 3-metil-1-pentinilo, 2-heptinilo e semelhantes. Em formas de realização particulares, "alcinilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcinilo( $C_{2-20}$ ), um alcinilo( $C_{2-15}$ ), um alcinilo( $C_{2-10}$ ), um alcinilo( $C_{2-5}$ ) ou um alcinilo( $C_{2-3}$ ). Alternativamente, "alcinilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcinilo( $C_2$ ), um alcinilo( $C_3$ ) ou um alcinilo( $C_4$ ).

"Alcinileno" significa uma cadeia de carbonos linear ou ramificada, bivalente possuindo uma ou mais ligações

triplos carbono-carbono ( $-\text{CR}=\text{CR}'-$ , em que R e R' são, cada, independentemente hidrogénio ou outros substituintes). Os exemplos de alcínico incluem etino-1,2-diilo, propino-1,3-diilo e semelhantes. Em formas de realização particulares, "alcínico," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcínico ( $\text{C}_{2-20}$ ), um alcínico ( $\text{C}_{2-15}$ ), um alcínico ( $\text{C}_{2-10}$ ), um alcínico ( $\text{C}_{2-5}$ ) ou um alcínico ( $\text{C}_{2-3}$ ). Alternativamente, "alcínico," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um alcínico ( $\text{C}_2$ ), um alcínico ( $\text{C}_3$ ) ou um alcínico ( $\text{C}_4$ ).

"Amido" significa o radical  $-\text{NR}-\text{C}(=\text{O})-$  e/ou  $-\text{NR}-\text{C}(=\text{O})\text{R}'$ , em que cada R e R' são independentemente hidrogénio ou um outro substituinte.

"Amino" significa uma unidade de azoto possuindo dois outros substituintes em que, por exemplo, está ligado um hidrogénio ou átomo de carbono ao azoto. Por exemplo, grupos amino representativos incluem  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHCH}_3$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{NH}(\text{alquilo}(\text{C}_{1-10}))$ ,  $-\text{N}(\text{alquilo}(\text{C}_{1-10}))_2$ ,  $-\text{NH}(\text{arilo})$ ,  $-\text{NH}(\text{heteroarilo})$ ,  $-\text{N}(\text{arilo})_2$ ,  $-\text{N}(\text{heteroarilo})_2$  e semelhantes. Entende-se ainda que os dois substituintes não podem ser tomados em conjunto com o azoto ao qual os substituintes estão ligados para formar um anel. Salvo indicação em contrário, os compostos da invenção contendo unidades amino podem incluir derivados protegidos dos mesmos. Os grupos de proteção adequados para unidades amino incluem acetilo, *terc*-butoxicarbonilo, benziloxicarbonilo e semelhantes.

"Animal" inclui mamíferos humanos, não humanos (por exemplo, cães, gatos, coelhos, gado bovino, cavalos,

ovelhas, cabras, suínos, veados e semelhantes) e não mamíferos (por exemplo, aves e semelhantes).

"Aromático" significa uma unidade em que os átomos constituintes constituem um sistema de anel insaturado, em que todos os átomos no sistema de anel estão hibridizados  $sp^2$  e o número total de eletrões pi é igual a  $4n+2$ . Um anel aromático pode ser de tal forma que os átomos endocíclicos são apenas átomos de carbono ou pode incluir átomos de carbono e diferentes de carbono (ver "heteroarilo").

"Arilo" significa uma unidade de anel monocíclico ou policíclico em que cada anel é aromático ou quando fundido com um ou mais anéis forma uma unidade de anel aromático. Se um ou mais átomos endocíclicos não é carbono (por exemplo, N, S), o arilo é um heteroarilo. São tipicamente utilizados  $\text{arilo}(C_X)$  e  $\text{arilo}(C_{X-Y})$ , em que X e Y indicam o número de átomos de carbono no anel. Em formas de realização particulares, "arilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um  $\text{arilo}(C_{3-14})$ , um  $\text{arilo}(C_{3-10})$ , um  $\text{arilo}(C_{3-7})$ , um  $\text{arilo}(C_{8-10})$  ou um  $\text{arilo}(C_{5-7})$ . Alternativamente, "arilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um  $\text{arilo}(C_5)$ , um  $\text{arilo}(C_6)$ , um  $\text{arilo}(C_7)$ , um  $\text{arilo}(C_8)$ , um  $\text{arilo}(C_9)$  ou um  $\text{arilo}(C_{10})$ .

"Azaalquilo" significa um alquilo, como definido acima, exceto que um ou mais dos átomos de carbono que constituem a cadeia de alquilo estão substituídos com átomos de azoto substituídos ou não substituídos ( $-NR-$  ou  $-NRR'$ , em que R e R' são, cada, independentemente hidrogénio ou outros substituintes). Por exemplo, um  $\text{azaalquilo}(C_{1-10})$  refere-se a uma cadeia compreendendo entre 1 e 10 carbonos e um ou mais átomos de azoto.

"Aza-ciclilo" significa uma unidade de heterociclilo contendo pelo menos um átomo de azoto e o ponto de ligação do ciclilo é através do átomo de azoto.

"Bicicloalquilo" significa uma unidade de anel bicíclico fundida, espiro ou em ponte, saturada ou parcialmente insaturada. Em formas de realização particulares, "bicicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um bicicloalquilo(C<sub>4-15</sub>), um bicicloalquilo(C<sub>4-10</sub>), um bicicloalquilo(C<sub>6-10</sub>) ou um bicicloalquilo(C<sub>8-10</sub>). Alternativamente, "bicicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um bicicloalquilo(C<sub>8</sub>), um bicicloalquilo(C<sub>9</sub>) ou um bicicloalquilo(C<sub>10</sub>).

"Bicicloarilo" significa uma unidade de anel bicíclico fundida, espiro ou em ponte, em que pelo menos um dos anéis que constitui a unidade é aromático. São tipicamente utilizados bicicloarilo(C<sub>x</sub>) e bicicloarilo(C<sub>x-y</sub>), em que X e Y indicam o número de átomos de carbono na unidade de anel bicíclico e diretamente ligados ao anel. Em formas de realização particulares, "bicicloarilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um (um bicicloarilo(C<sub>4-15</sub>), um bicicloarilo(C<sub>4-10</sub>), um bicicloarilo(C<sub>6-10</sub>) ou um bicicloarilo(C<sub>8-10</sub>)). Alternativamente, "bicicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um bicicloarilo(C<sub>8</sub>), um bicicloarilo(C<sub>9</sub>) ou um bicicloarilo(C<sub>10</sub>).

"Anel de ligação em ponte" e "anel em ponte" como aqui utilizado referem-se a um anel que está ligado a outro anel para formar um composto possuindo uma estrutura bicíclica

ou policíclica, em que dois átomos endocíclicos que são comuns a ambos os anéis não estão diretamente ligados um ao outro. Os exemplos não exclusivos de compostos comuns possuindo um anel de ligação em ponte incluem borneol, norbornano, 7-oxabicyclo[2.2.1]heptano e semelhantes. Um ou ambos os anéis do sistema bicyclico podem compreender também heteroátomos.

"Carbamoílo" ou "aminocarboniloxilo" significa o radical  $\text{-OC(O)NRR'}$ , em que R e R' são, cada, independentemente hidrogénio ou outros substituintes.

"Carbociclo" significa um anel consistindo de átomos de carbono.

"Carbonilo" significa o radical  $\text{-C(=O)-}$  e/ou  $\text{-C(=O)R}$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que o radical carbonilo pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar grupos carbonilo diferentes incluindo ácidos, halogenetos de ácido, aldeídos, amidas, ésteres e cetonas.

"Carboxamido" significa o radical  $\text{-C(=O)-NR-}$  e/ou  $\text{-C(=O)-NRR'}$ , em que cada R e R' são independentemente hidrogénio ou um outro substituinte.

"Carboxilo" significa o radical  $\text{-C(=O)-O-}$  e/ou  $\text{-C(=O)-OR}$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que os compostos da invenção contendo unidades carboxilo podem incluir derivados protegidos dos mesmos, isto é, em que o oxigénio está substituído com um grupo de proteção. Os grupos de proteção adequados para as unidades carboxilo incluem benzilo, *terc*-butilo e semelhantes.

"Ciano" significa o radical -CN.

"Cicloalquilo" significa uma unidade de anel monocíclico, bicíclico ou policíclico, saturado ou parcialmente insaturado, não aromático. São tipicamente utilizados cicloalquilo( $C_X$ ) e cicloalquilo( $C_{X-Y}$ ), em que X e Y indicam o número de átomos de carbono na unidade de anel. Por exemplo, cicloalquilo( $C_{3-10}$ ) inclui ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, 2,5-ciclo-hexadienilo, biciclo[2.2.2]octilo, adamantan-1-ilo, deca-hidronaftilo, oxociclo-hexilo, dioxociclo-hexilo, tiociclo-hexilo, 2-oxobiciclo[2.2.1]hept-1-ilo e semelhantes. Em formas de realização particulares, "cicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um cicloalquilo( $C_{3-14}$ ), um cicloalquilo( $C_{3-10}$ ), um cicloalquilo( $C_{3-7}$ ), um cicloalquilo( $C_{8-10}$ ) ou um cicloalquilo( $C_{5-7}$ ). Alternativamente, "cicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um cicloalquilo( $C_5$ ), um cicloalquilo( $C_6$ ), um cicloalquilo( $C_7$ ), um cicloalquilo( $C_8$ ), um cicloalquilo( $C_9$ ) ou um cicloalquilo( $C_{10}$ ).

"Cicloalquileno" significa uma unidade de anel monocíclico, bicíclico ou policíclico, saturado ou parcialmente insaturado, bivalente. São tipicamente utilizados cicloalquileno( $C_X$ ) e cicloalquileno( $C_{X-Y}$ ), em que X e Y indicam o número de átomos de carbono na unidade de anel. Em formas de realização particulares, "cicloalquileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um cicloalquileno( $C_{3-14}$ ), um cicloalquileno( $C_{3-10}$ ), um cicloalquileno( $C_{3-7}$ ), um cicloalquileno( $C_{8-10}$ ) ou um cicloalquileno( $C_{5-7}$ ). Alternativamente, "cicloalquileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um cicloalquileno( $C_5$ ), um cicloalquileno( $C_6$ ), um



cicloalquileno(C<sub>7</sub>), um cicloalquileno(C<sub>8</sub>), um cicloalquileno(C<sub>9</sub>) ou um cicloalquileno(C<sub>10</sub>).

"Ciclilo" significa um radical de anel monocíclico, bicíclico ou policíclico monovalente, em que o anel pode ser aromático, saturado ou parcialmente insaturado, e policíclico, em que os átomos endocíclicos são todos átomos de carbono ou opcionalmente um ou mais dos átomos endocíclicos são heteroátomos.

"Doença" inclui especificamente qualquer condição patológica de um animal ou parte do mesmo e inclui uma condição patológica que pode ser provocada ou relacionada com terapia médica ou veterinária aplicada a esse animal, isto é, a "efeitos secundários" dessa terapia.

"EC<sub>50</sub>" significa a concentração molar de um agonista que produz 50% do efeito máximo possível desse agonista. A ação do agonista pode ser estimuladora ou inibidora.

"Anel fundido" como aqui utilizado refere-se a um anel que está ligado a outro anel para formar um composto possuindo uma estrutura bicíclica, em que os átomos endocíclicos que são comuns a ambos os anéis estão diretamente ligados um ao outro. Os exemplos não exclusivos de anéis fundidos comuns incluem decalina, naftaleno, antraceno, fenantreno, indole, furano, benzofurano, quinolina e semelhantes. Os compostos possuindo sistemas de anéis fundidos podem ser saturados, parcialmente saturados, carbocíclicos, heterocíclicos, aromáticos, heteroaromáticos e semelhantes.

"Halo" significa fluoro, cloro, bromo ou iodo.

"Heteroalquilo" significa alquilo, como definido neste Pedido, na condição de que um ou mais dos átomos na cadeia

alquilo seja um heteroátomo. Em formas de realização particulares, "heteroalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heteroalquilo ( $C_{1-20}$ ), um heteroalquilo ( $C_{1-15}$ ), um heteroalquilo ( $C_{1-10}$ ), um heteroalquilo ( $C_{1-5}$ ), um heteroalquilo ( $C_{1-3}$ ) ou um heteroalquilo ( $C_{1-2}$ ). Alternativamente, "heteroalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heteroalquilo ( $C_1$ ), um heteroalquilo ( $C_2$ ) ou um heteroalquilo ( $C_3$ ).

"Heteroarilo" significa um grupo aromático monocíclico, bicíclico ou policíclico, em que pelo menos um átomo endocíclico é um heteroátomo e os restantes átomos endocíclicos são carbonos. Os grupos heteroarilo monocíclicos incluem, mas não se limitam a, grupos cíclicos aromáticos possuindo cinco ou seis átomos endocíclicos, em que pelo menos um átomo endocíclico é um heteroátomo e os restantes átomos endocíclicos são carbonos. Os átomos de azoto podem estar opcionalmente quaternizados e os átomos de enxofre podem estar opcionalmente oxidados. Os grupos heteroarilo desta invenção incluem, mas não se limitam àqueles derivados de furano, imidazole, isotiazole, isoxazole, oxadiazole, oxazole, 1,2,3-oxadiazole, pirazina, pirazole, piridazina, piridina, pirimidina, pirrolina, tiazole, 1,3,4-tiadiazole, triazole e tetrazole. "Heteroarilo" inclui também, mas não se limita a, anéis bicíclicos ou tricíclicos, em que o anel heteroarilo está fundido com um ou dois anéis independentemente selecionado do grupo consistindo de um anel arilo, um anel cicloalquilo, um anel cicloalcenilo, e outro anel heteroarilo ou heterocicloalquilo monocíclico. Estes heteroarilos bicíclicos ou tricíclicos incluem, mas não se limitam àqueles derivados de benzo[b]furano, benzo[b]tiofeno, benzimidazole, imidazo[4,5-c]piridina,

quinazolina, tieno[2,3-*c*]piridina, tieno[3,2-*b*]piridina,  
 tieno[2,3-*b*]piridina, indolizina, imidazo[1,2-*a*]piridina,  
 quinolina, isoquinolina, ftalazina, quinoxalina,  
 naftiridina, quinolizina, indole, isoindole, indazole,  
 indolina, benzoxazole, benzopirazole, benzotiazole,  
 imidazo[1,5-*a*]piridina, pirazolo[1,5-*a*]piridina,  
 imidazo[1,2-*a*]pirimidina, imidazo[1,2-*c*]pirimidina,  
 imidazo[1,5-*a*]pirimidina, imidazo[1,5-*c*]pirimidina,  
 pirrolo[2,3-*b*]piridina, pirrolo[2,3-*c*]piridina,  
 pirrolo[3,2-*c*]piridina, pirrolo[3,2-*b*]piridina,  
 pirrolo[2,3-*d*]pirimidina, pirrolo[3,2-*d*]pirimidina,  
 pirrolo[2,3-*b*]pirazina, pirazolo[1,5-*a*]piridina,  
 pirrolo[1,2-*b*]piridazina, pirrolo[1,2-*c*]pirimidina,  
 pirrolo[1,2-*a*]pirimidina, pirrolo[1,2-*a*]pirazina,  
 triazo[1,5-*a*]piridina, pteridina, purina, carbazole,  
 acridina, fenazina, fenotiazeno, fenoxazina, 1,2-di-  
 hidropirrolo[3,2,1-*hi*]indole, indolizina, pirido[1,2-  
*a*]indole e 2(1*H*)-piridinona. Os anéis heteroarilo  
 bicíclicos ou tricíclicos podem estar ligados à molécula  
 parental através do próprio grupo heteroarilo ou do grupo  
 arilo, cicloalquilo, cicloalcenilo ou heterocicloalquilo  
 com o qual está fundido. Os grupos heteroarilo desta  
 invenção podem estar substituídos ou não substituídos. Em  
 formas de realização particulares, "heteroarilo," sozinho  
 ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser  
 um heteroarilo(C<sub>1-13</sub>), um heteroarilo(C<sub>2-13</sub>), um  
 heteroarilo(C<sub>2-6</sub>), um heteroarilo(C<sub>3-9</sub>) ou um  
 heteroarilo(C<sub>5-9</sub>). Alternativamente, "heteroarilo," sozinho  
 ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser  
 um heteroarilo(C<sub>3</sub>), um heteroarilo(C<sub>4</sub>), um heteroarilo(C<sub>5</sub>),  
 um heteroarilo(C<sub>6</sub>), um heteroarilo(C<sub>7</sub>), um heteroarilo(C<sub>8</sub>)  
 ou um heteroarilo(C<sub>9</sub>).

"Heteroátomo" refere-se a um átomo que não é um átomo de carbono. Os exemplos particulares de heteroátomos incluem, mas não se limitam a, azoto, oxigénio e enxofre.

"Unidade de heteroátomo" inclui uma unidade em que o átomo através do qual está ligada a unidade não é um carbono. Os exemplos de unidades de heteroátomo incluem  $\text{-NR-}$ ,  $\text{-N}^+(\text{=O}^-)\text{-}$ ,  $\text{-O-}$ ,  $\text{-S-}$  ou  $\text{-S(O)}_2\text{-}$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte.

"Heterobicicloalquilo" significa bicicloalquilo, como definido neste Pedido, na condição de que um ou mais dos átomos no anel seja um heteroátomo. Por exemplo heterobicicloalquilo( $\text{C}_{9-12}$ ) como utilizado neste pedido inclui, mas não se limita a, 3-aza-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo, 2-aza-biciclo[3.1.0]hex-2-ilo, 3-aza-biciclo[3.1.0]hex-3-ilo e semelhantes. Em formas de realização particulares, "heterobicicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterobicicloalquilo( $\text{C}_{1-14}$ ), um heterobicicloalquilo( $\text{C}_{4-14}$ ), um heterobicicloalquilo( $\text{C}_{4-9}$ ) ou um heterobicicloalquilo( $\text{C}_{5-9}$ ). Alternativamente, "heterobicicloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterobicicloalquilo( $\text{C}_5$ ), heterobicicloalquilo( $\text{C}_6$ ), heterobicicloalquilo( $\text{C}_7$ ), heterobicicloalquilo( $\text{C}_8$ ) ou um heterobicicloalquilo( $\text{C}_9$ ).

"Heterobicicloarilo" significa bicicloarilo, como definido neste Pedido, na condição de que um ou mais dos átomos no anel seja um heteroátomo. Por exemplo, heterobicicloarilo( $\text{C}_{4-12}$ ) como utilizado neste Pedido inclui, mas não se limita a, 2-amino-4-oxo-3,4-dihidropteridin-6-ilo, tetra-hidroisoquinolinilo e semelhantes. Em formas de realização particulares,

"heterobiccicloarilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterobiccicloarilo(C<sub>1-14</sub>), um heterobiccicloarilo(C<sub>4-14</sub>), um heterobiccicloarilo(C<sub>4-9</sub>) ou um heterobiccicloarilo(C<sub>5-9</sub>). Alternativamente, "heterobiccicloarilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterobiccicloarilo(C<sub>5</sub>), heterobiccicloarilo(C<sub>6</sub>), heterobiccicloarilo(C<sub>7</sub>), heterobiccicloarilo(C<sub>8</sub>) ou um heterobiccicloarilo(C<sub>9</sub>).

"Heterociccloalquilo" significa ciccloalquilo, como definido neste Pedido, na condição de que um ou mais dos átomos que constituem o anel seja um heteroátomo selecionado, independentemente de N, O ou S. Os exemplos não exclusivos de heterociccloalquilo incluem piperidilo, 4-morfolilo, 4-piperazinilo, pirrolidinilo, per-hidropirrolizininilo, 1,4-diazaper-hidroepinilo, 1,3-dioxanilo, 1,4-dioxanilo e semelhantes. Em formas de realização particulares, "heterociccloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterociccloalquilo(C<sub>1-13</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>1-9</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>1-6</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>5-9</sub>) ou um heterociccloalquilo(C<sub>2-6</sub>). Alternativamente, "heterociccloalquilo," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterociccloalquilo(C<sub>2</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>3</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>4</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>5</sub>), um heterociccloalquilo(C<sub>6</sub>), heterociccloalquilo(C<sub>7</sub>), heterociccloalquilo(C<sub>8</sub>) ou um heterociccloalquilo(C<sub>9</sub>).

"Heterociccloalquileno" significa ciccloalquileno, como definido neste Pedido, na condição de que um ou mais dos átomos de carbono endocíclicos esteja substituído por um heteroátomo. Em formas de realização particulares, "heterociccloalquileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterociccloalquileno(C<sub>1-13</sub>), um heterociccloalquileno(C<sub>1-9</sub>),

um heterocicloalquileno(C<sub>1-6</sub>), um heterocicloalquileno(C<sub>5-9</sub>) ou um heterocicloalquileno(C<sub>2-6</sub>). Alternativamente, "heterocicloalquileno," sozinho ou representado conjuntamente com outro radical, pode ser um heterocicloalquileno(C<sub>2</sub>), um heterocicloalquileno(C<sub>3</sub>), um heterocicloalquileno(C<sub>4</sub>), um heterocicloalquileno(C<sub>5</sub>), um heterocicloalquileno(C<sub>6</sub>), heterocicloalquileno(C<sub>7</sub>), heterocicloalquileno(C<sub>8</sub>) ou um heterocicloalquileno(C<sub>9</sub>).

"Heterociclilo" significa um radical de anel monocíclico, bicíclico ou policíclico monovalente, em que o anel pode ser aromático, saturado ou parcialmente insaturado, e policíclico, em que pelo menos um dos átomos endocíclicos é um heteroátomo.

"Hidroxilo" significa o radical -OH.

"IC<sub>50</sub>" significa a concentração molar de um inibidor que produz 50% de inibição da enzima alvo.

"Imino" significa o radical -CR(=NR') e/ou -C(=NR')-, em que R e R' são, cada, independentemente hidrogénio ou um outro substituinte.

"Derivado de iminocetona" significa um derivado compreendendo a unidade -C(NR)-, em que R é hidrogénio ou um outro substituinte.

"Isómeros" significa compostos possuindo fórmulas moleculares idênticas mas que diferem na natureza ou sequência de ligação dos seus átomos ou no arranjo dos seus átomos no espaço. Os isómeros que diferem no arranjo dos seus átomos no espaço são designados "estereoisómeros." Os estereoisómeros que não são imagens no espelho um do outro são designados "diastereómeros" e os estereoisómeros que

são imagens no espelho não sobreponíveis são designados "enantiómeros" ou por vezes "isómeros óticos." Um átomo de carbono ligado a quatro substituintes não idênticos é designado um "centro quiral." Um composto com um centro quiral tem duas formas enantioméricas de quiralidade oposta. Uma mistura das duas formas enantioméricas é designada uma "mistura racémica." Um composto que tem mais do que um centro quiral tem  $2^{n-1}$  pares enantioméricos, em que  $n$  é o número de centros quirais. Os compostos com mais do que um centro quiral podem existir como um diastereómero individual ou como uma mistura de diastereómeros, designada uma "mistura diastereomérica." Quando está presente um centro quiral, um estereoisómero pode ser caracterizado pela configuração absoluta desse centro quiral. Configuração absoluta refere-se ao arranjo no espaço dos substituintes ligados ao centro quiral. Os enantiómeros são caracterizados pela configuração absoluta dos seus centros quirais e descritos pelas regras de sequenciação *R* e *S* de Cahn, Ingold e Prelog. As convenções para a nomenclatura estereoquímica, os métodos para a determinação da estereoquímica e a separação de estereoisómeros são bem conhecidos na técnica (por exemplo, ver "Advanced Organic Chemistry", 5th edition, March, Jerry, John Wiley & Sons, New York, 2001).

"Grupo de saída" significa o grupo com o significado convencionalmente associado ao mesmo na química orgânica de síntese, isto é, um átomo ou grupo substituível nas condições reacionais (por exemplo, alquilação). Os exemplos de grupos de saída incluem, mas não se limitam a, halo (por exemplo, F, Cl, Br e I), alquilo (por exemplo, metilo e etilo) e sulfoniloxilo (por exemplo, mesiloxilo, etanossulfoniloxilo, benzenossulfoniloxilo e tosilo), tiometilo, tieniloxilo, di-halofosfinoiloxilo, tetra-

halofosfoxilo, benziloxilo, isopropiloxilo, aciloxilo e semelhantes.

"Nitro" significa o radical  $\text{-NO}_2$ .

"Oxaalquilo" significa um alquilo, como definido acima, exceto que um ou mais dos átomos de carbono que constituem a cadeia de alquilo estão substituídos por átomos de oxigénio ( $\text{-O-}$  ou  $\text{-OR}$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte). Por exemplo, um oxaalquilo( $\text{C}_{1-10}$ ) refere-se a uma cadeia compreendendo entre 1 e 10 carbonos e um ou mais átomos de oxigénio.

"Oxoalquilo" significa um alquilo, como definido acima, exceto que um ou mais dos átomos de carbono que constituem a cadeia de alquilo estão substituídos por grupos carbonilo ( $\text{-C(=O)-}$  ou  $\text{-C(=O)-R}$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte). O grupo carbonilo pode ser um aldeído, cetona, éster, amida, ácido ou halogeneto de ácido. Por exemplo, um oxoalquilo( $\text{C}_{1-10}$ ) refere-se a uma cadeia compreendendo entre 1 e 10 átomos de carbono e um ou mais grupos carbonilo.

"Oxi" significa o radical  $\text{-O-}$  ou  $\text{-OR}$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte. Por conseguinte, assinale-se que o radical oxi pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar grupos oxi diferente incluindo hidroxilo, alcóxilo, ariloxilo, heteroariloxilo ou carboniloxilo.

"Farmaceuticamente aceitável" significa aquele que é útil na preparação de uma composição farmacêutica que é geralmente segura, não tóxica e que não é biologicamente de outro modo indesejável e inclui aquele que é aceitável para



utilização veterinária bem como para utilização farmacêutica humana.

"Sais farmaceuticamente aceitáveis" significa sais de compostos da presente invenção que são farmaceuticamente aceitáveis, como definido acima, e que possuem a atividade farmacológica desejada. Tais sais incluem os sais de adição de ácidos preparados com ácidos inorgânicos tais como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico e semelhantes; ou com ácidos orgânicos tais como ácido acético, ácido propiônico, ácido hexanóico, ácido heptanóico, ácido ciclopentanopropiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malônico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido o-(4-hidroxibenzoil)benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanossulfônico, ácido etanossulfônico, ácido 1,2-etanodissulfônico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido p-clorobenzenossulfônico, ácido 2-naftalenossulfônico, ácido p-toluenossulfônico, ácido canforsulfônico, ácido 4-metilbiciclo[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptônico, 4,4'-metilenobis(ácido 3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico), ácido 3-fenilpropiônico, ácido trimetilacético, ácido butil terciário-acético, ácido laurilsulfúrico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido hidroxinaftóico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucônico e semelhantes.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem também os sais de adição de base que podem ser preparados quando os protões ácidos presentes são capazes de reagir com bases inorgânicas ou orgânicas. As bases inorgânicas aceitáveis incluem hidróxido de sódio, carbonato de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de alumínio e hidróxido de cálcio.

As bases orgânicas aceitáveis incluem etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, *N*-metilglucamina e semelhantes.

"Fosfonilo" significa "o radical  $-P(O)(OR)(OR')$ ", em que R e R' são hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que o radical fosfonilo pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar grupos fosfonilo diferentes incluindo ácidos fosfónicos e ésteres de fosfato, e sulfonas.

"Anel policíclico" inclui anéis bicíclicos e multicíclicos. Os anéis individuais que constituem o anel policíclico podem ser anéis fundidos, espiro ou em ponte.

"Derivados protegidos" significa derivados de inibidores nos quais um sítio ou os sítios reativos são bloqueados com grupos de proteção. Os derivados protegidos são úteis na preparação de inibidores ou podem ser eles mesmos ativos como inibidores. Uma lista exaustiva de grupos de proteção adequados pode ser encontrada em P.G.M. Wuts e T.W. Greene, "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th edition, John Wiley & Sons, Inc. 2007.

"Anel" e "unidade de anel" significam um sistema carbocíclico ou heterocíclico e inclui sistemas aromáticos e não aromáticos. O sistema pode ser monocíclico, bicíclico ou policíclico. Além disso, para os sistemas bicíclicos e policíclicos, os anéis individuais que constituem o anel policíclico podem ser anéis fundidos, espiro ou em ponte.

"Indivíduo" e "doente" incluem mamíferos humanos, não humanos (por exemplo, cães, gatos, coelhos, gado bovino, cavalos, ovelhas, cabras, suínos, veados e semelhantes) e não mamíferos (por exemplo, aves e semelhantes).

"Substituído ou não substituído" significa que uma dada unidade pode consistir apenas de substituintes hidrogénio ao longo das valências disponíveis (não substituído) ou pode compreender ainda um ou mais substituintes diferentes de hidrogénio ao longo das valências disponíveis (substituído) que não são especificados de outro modo pelo nome da dada unidade. Por exemplo, isopropilo é um exemplo de uma unidade etileno que está substituída com  $-\text{CH}_3$ . Em geral, um substituinte diferente de hidrogénio pode ser qualquer substituinte que pode estar ligado a um átomo da dada unidade que é especificada como estando substituída. Os exemplos de substituintes incluem, mas não se limitam a, unidades aldeído, alicíclico, alifático, alquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), alquileno, alquilideno, amida, amino, aminoalquilo, aromático, arilo, bicicloalquilo, bicicloarilo, carbamoilo, carbociclilo, carboxilo, grupo carbonilo, cicloalquilo, cicloalquileno, éster, halo, heterobicicloalquilo, heterocicloalquileno, heteroarilo, heterobicicloarilo, heterocicloalquilo, oxo, hidroxilo, iminocetona, cetona, nitro, oxaalquilo e oxoalquilo, cada uma das quais pode estar também opcionalmente substituída ou não substituída. Numa forma de realização particular, os exemplos de substituintes incluem, mas não se limitam a, hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), ariloxilo ( $\text{C}_{4-12}$ ), heteroariloxilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, amino, alquil ( $\text{C}_{1-10}$ ) amino, sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfinilo, fosfonilo, alquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), haloalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), hidroxialquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), carbonilalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), tiocarbonilalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), sulfonilalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), sulfinilalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), fosfonilalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), azaalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), iminoalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), cicloalquil ( $\text{C}_{3-12}$ ) alquilo ( $\text{C}_{1-5}$ ), heterocicloalquil ( $\text{C}_{3-12}$ ) alquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), arilalquilo ( $\text{C}_{1-10}$ ), heteroaril ( $\text{C}_{1-10}$ ) alquilo ( $\text{C}_{1-5}$ ), bicicloaril ( $\text{C}_{9-12}$ ) alquilo ( $\text{C}_{1-5}$ ),

heterobíciccloaril(C<sub>8-12</sub>)alquilo(C<sub>1-5</sub>),      cicloalquilo(C<sub>3-12</sub>),  
heterocíccloalquilo(C<sub>3-12</sub>),      bicíccloalquilo(C<sub>9-12</sub>),  
heterobíciccloalquilo(C<sub>3-12</sub>), arilo(C<sub>4-12</sub>), heteroarilo(C<sub>1-10</sub>),  
bicíccloarilo(C<sub>9-12</sub>) e heterobíciccloarilo(C<sub>4-12</sub>). Além disso,  
o substituinte está ele mesmo opcionalmente substituído com  
um outro substituinte. Numa forma de realização particular,  
os exemplos do outro substituinte incluem, mas não se  
limitam a, hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi,  
hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo(C<sub>1-10</sub>), ariloxilo(C<sub>4-12</sub>),  
heteroariloxilo(C<sub>1-10</sub>),      carbonilo,      oxicarbonilo,  
aminocarbonilo, amino, alquil(C<sub>1-10</sub>)amino, sulfonamido,  
imino,      sulfonilo,      sulfinilo,      alquilo(C<sub>1-10</sub>),  
haloalquilo(C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo(C<sub>1-10</sub>),  
10),      tiocarbonilalquilo(C<sub>1-10</sub>),      sulfonilalquilo(C<sub>1-10</sub>),  
sulfinilalquilo(C<sub>1-10</sub>), azaalquilo(C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo(C<sub>1-10</sub>),  
cicloalquil(C<sub>3-12</sub>)alquilo(C<sub>1-5</sub>),      heterocíccloalquil(C<sub>3-12</sub>)  
12)alquilo(C<sub>1-10</sub>),      arilalquilo(C<sub>1-10</sub>),      heteroaril(C<sub>1-10</sub>)  
10)alquilo(C<sub>1-5</sub>),      bicíccloaril(C<sub>9-12</sub>)alquilo(C<sub>1-5</sub>),  
heterobíciccloaril(C<sub>8-12</sub>)alquilo(C<sub>1-5</sub>),      cicloalquilo(C<sub>3-12</sub>),  
heterocíccloalquilo(C<sub>3-12</sub>),      bicíccloalquilo(C<sub>9-12</sub>),  
heterobíciccloalquilo(C<sub>3-12</sub>), arilo(C<sub>4-12</sub>), heteroarilo(C<sub>1-10</sub>),  
bicíccloarilo(C<sub>9-12</sub>) e heterobíciccloarilo(C<sub>4-12</sub>).

"Sulfamoílo" significa o radical -OS(O)<sub>2</sub>NRR', em que R e R' são, cada, independentemente hidrogénio ou outros substituintes.

"Sulfinilo" significa o radical -SO- e/ou -SO-R, em que R é hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que o radical sulfinilo pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar diferentes grupos sulfinilo incluindo ácidos sulfínicos, sulfinamidas, ésteres de sulfinilo e sulfóxidos.

"Sulfonamido" significa o radical  $-S(O)_2-NR-$  e/ou  $-S(O)_2-NRR'$ ,  $-NR-S(O)_2-$  e/ou  $-NR-S(O)_2R'$ , em que cada R e R' são independentemente hidrogénio ou um outro substituinte.

"Sulfonilo" significa o radical  $-SO_2-$  e/ou  $-SO_2-R$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que o radical sulfonilo pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar diferentes grupos sulfonilo incluindo ácidos sulfónicos, sulfonamidas, ésteres de sulfonato e sulfonas.

"Quantidade terapeuticamente eficaz" significa aquela quantidade que, quando administrada a um animal para o tratamento de uma doença, é suficiente para efetuar esse tratamento da doença.

"Tio" denota substituição de um oxigénio por um enxofre e inclui, mas não se limita a, grupos  $-SR$ , contendo  $-S-$  e  $=S$ .

"Tioalquilo" significa um alquilo, como definido acima, exceto que um ou mais dos átomos de carbono que constituem a cadeia de alquilo estão substituídos com átomos de enxofre ( $-S-$  ou  $-S-R$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte). Por exemplo, um tioalquilo( $C_{1-10}$ ) refere-se a uma cadeia compreendendo entre 1 e 10 carbonos e um ou mais átomos de enxofre.

"Tiocarbonilo" significa o radical  $-C(=S)-$  e/ou  $-C(=S)-R$ , em que R é hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que o radical tiocarbonilo pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar diferentes grupos tiocarbonilo incluindo tioácidos, tioamidas, tioésteres e tiocetonas.

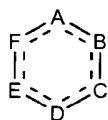
"Tratamento" ou "tratar" significa qualquer administração de um composto da presente invenção e inclui:

- (1) prevenir que a doença ocorra num animal, o qual pode estar predisposto à doença mas ainda não sofre ou não apresenta a patologia ou sintomatologia da doença,
- (2) inibir a doença num animal que sofre ou apresenta a patologia ou sintomatologia da doença (isto é, parar o desenvolvimento posterior da patologia e/ou sintomatologia), ou
- (3) melhorar a doença num animal que sofre ou apresenta a patologia ou sintomatologia da doença (isto é, inverter a patologia e/ou sintomatologia).

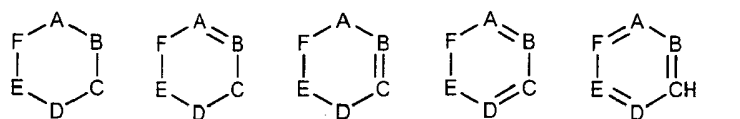
"Ureido" significa os radicais  $\text{-NR-C(O)-NR'-}$  e/ou  $\text{-N-C(O)-N-R''}$ , em que R, R' e R'' são independentemente hidrogénio ou um outro substituinte. Assinale-se que o radical ureido pode estar adicionalmente substituído com uma variedade de substituintes para formar diferentes grupos ureido.

No que se refere a todas as definições aqui proporcionadas, assinale-se que as definições devem ser interpretadas como sendo abertas no sentido de poderem ser incluídos outros substituintes além daqueles especificados. Assim, um alquilo  $\text{C}_1$  indica que existe um átomo de carbono mas não indica quais são os substituintes no átomo de carbono. Assim, um alquilo( $\text{C}_1$ ) compreende metilo (isto é,  $\text{-CH}_3$ ) bem como  $\text{-CRR'R''}$  em que R, R', e R'' pode ser, cada, independentemente hidrogénio ou um outro substituinte em que o átomo ligado ao carbono é um heteroátomo ou ciano. Assim, por exemplo,  $\text{CF}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$  e  $\text{CH}_2\text{CN}$  são todos alquilos( $\text{C}_1$ ). Analogamente, termos tais como alquilamino e semelhantes compreendem dialquilamino e semelhantes.

Um composto possuindo uma fórmula que é representada por uma ligação a tracejado pretende incluir as fórmulas possuindo opcionalmente zero, uma ou mais ligações duplas, como exemplificado e mostrado abaixo:



representa



etc.

Além disso, os átomos que constituem os compostos da presente invenção destinam-se a incluir todas as formas isotópicas desses átomos. Os isótopos, como aqui utilizados, incluem aqueles átomos que têm o mesmo número atômico mas diferentes números de massa. A título de exemplo geral e sem limitação, os isótopos de hidrogénio incluem trítio e deutério, e os isótopos de carbono incluem  $^{13}\text{C}$  e  $^{14}\text{C}$ .

#### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

A presente invenção refere-se a compostos que podem ser utilizados para inibir a ASK1. A presente invenção refere-se também a composições farmacêuticas, kits e artigos de fabrico compreendendo tais compostos. Além disso, a presente invenção refere-se a métodos e intermediários úteis para preparar os compostos. Além disso, a presente

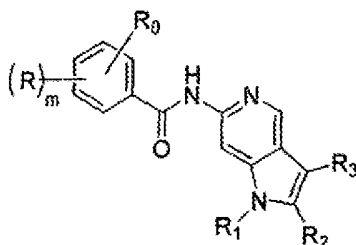
invenção refere-se a métodos de utilização dos referidos compostos.

Assinale-se que os compostos da presente invenção podem possuir também atividade para outros membros da mesma família de proteínas e podem, por isso, ser utilizados para abordar estados patológicos associados a estes outros membros da família.

### Compostos da Invenção

Num dos seus aspetos, a presente invenção refere-se a compostos que são úteis como inibidores de ASK1.

Numa forma de realização, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



um seu estereoisómero ou um sal farmacêuticamente aceitável do composto ou estereoisómero, em que  $m$  é 0, 1 ou 2;

$R_0$  é selecionado do grupo consistindo de



cada  $R$  é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcóxido ( $C_{1-6}$ ),



ariloxilo(C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo(C<sub>1-5</sub>), alquilo(C<sub>1-6</sub>), aminoalquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), aril(C<sub>4-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroaril(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), haloalcoxilo(C<sub>1-6</sub>), amino, alquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), aminoalquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialcoxilo(C<sub>1-6</sub>), haloalcoxilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalcoxilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), R<sub>9</sub>-carbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), R<sub>9</sub>-sulfonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), R<sub>9</sub>-carbonilo e R<sub>9</sub>-sulfonilo;

R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de ciano, alquilo(C<sub>1-6</sub>), alcenilo(C<sub>2-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), cicloalcenilo(C<sub>4-6</sub>), sulfonilo, heterocicloalcenilo(C<sub>3-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxilo, halo, ciano, amino, carbonilamino, sulfonilamino, cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>), oxicarbonilo, hidroxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, aminossulfonilo, em que o amino, carbonilamino, sulfonilamino, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo e aminossulfonilo estão, cada, não substituídos ou adicionalmente substituídos com 1-2 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), per-haloalquilo(C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>);

R<sub>2</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), ariloxilo(C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo(C<sub>1-5</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, sulfinilo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>), carbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>),

tiocarbonilalquilo ( $C_{1-6}$ ), sulfonilalquilo ( $C_{1-6}$ ),  
 sulfinilalquilo ( $C_{1-6}$ ), cicloalquil ( $C_{3-6}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ),  
 heterocicloalquil ( $C_{1-5}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ), aril ( $C_{4-6}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ),  
 heteroaril ( $C_{1-5}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ), heteroalquilo ( $C_{1-5}$ ),  
 cicloalquilo ( $C_{3-6}$ ), heterocicloalquilo ( $C_{1-5}$ ), arilo ( $C_{4-6}$ ) e  
 heteroarilo ( $C_{1-5}$ ), cada não substituído ou substituído com  
 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente  
 selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não  
 substituído, amino monossustituído, amino dissustituído,  
 alquilo ( $C_{1-6}$ ), haloalquilo ( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo ( $C_{3-6}$ ) e  
 arilo ( $C_{4-6}$ ), na condição de que quando  $R_3$  é hidrogénio e  $R_1$   
 é alquilo,  $R_2$  não seja arilo, heteroarilo ou heterocíclico;  
 $R_3$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo,  
 nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo,  
 alcoxilo ( $C_{1-6}$ ), ariloxilo ( $C_{4-6}$ ), heteroariloxilo ( $C_{1-5}$ ),  
 carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo,  
 sulfinilo, alquilo ( $C_{1-6}$ ), haloalquilo ( $C_{1-6}$ ),  
 hidroxialquilo ( $C_{1-6}$ ), carbonilalquilo ( $C_{1-6}$ ),  
 tiocarbonilalquilo ( $C_{1-6}$ ), sulfonilalquilo ( $C_{1-6}$ ),  
 sulfinilalquilo ( $C_{1-6}$ ), cicloalquil ( $C_{3-6}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ),  
 heterocicloalquil ( $C_{1-5}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ), aril ( $C_{4-6}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ),  
 heteroaril ( $C_{1-5}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ), heteroalquilo ( $C_{1-5}$ ),  
 cicloalquilo ( $C_{3-6}$ ), heterocicloalquilo ( $C_{1-5}$ ), arilo ( $C_{4-6}$ ) e  
 heteroarilo ( $C_{1-5}$ ), cada não substituído ou substituído com  
 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente  
 selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, halo,  
 alquilo ( $C_{1-6}$ ), haloalquilo ( $C_{1-6}$ ), per-haloalquilo ( $C_{1-6}$ ),  
 cicloalquilo ( $C_{3-6}$ ), heterocicloalquilo ( $C_{1-5}$ ), arilo ( $C_{4-6}$ ) e  
 heteroarilo ( $C_{1-5}$ );  
 $R_4$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino  
 não substituído, alquil ( $C_{1-6}$ ) amino, (di-alquil ( $C_{1-6}$ )) amino,  
 alcoxilo ( $C_{1-6}$ ) e alquilo ( $C_{1-6}$ );  
 $R_8$  é  $-(CR_{23}R_{23}')_pOH$ ;

$R_9$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ;

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ );

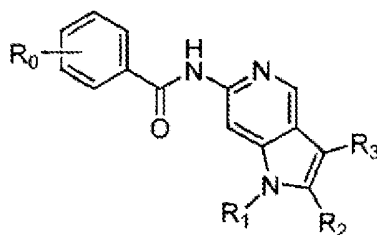
$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ );

$k$  é 1, 2, 3 ou 4;

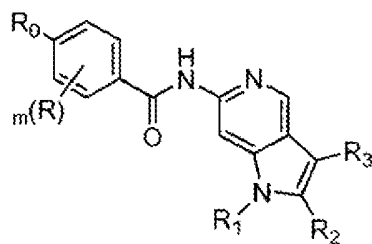
$p$  é 1, 2, 3 ou 4; e

$q$  é 1, 2, 3 ou 4.

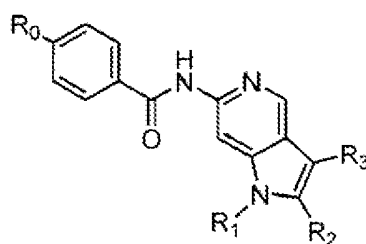
Numa variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



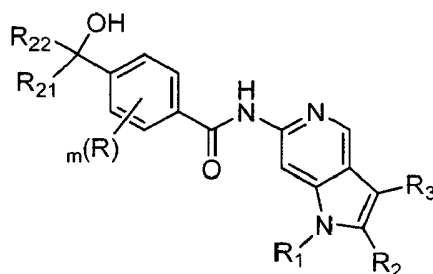
Noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



Ainda noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



Ainda noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

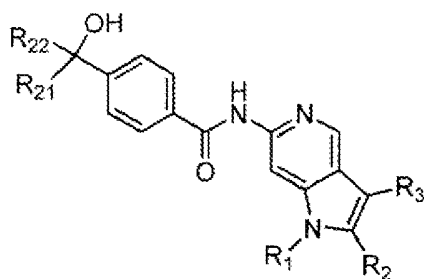
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Numa outra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

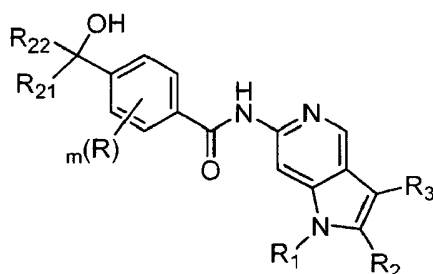
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda numa outra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

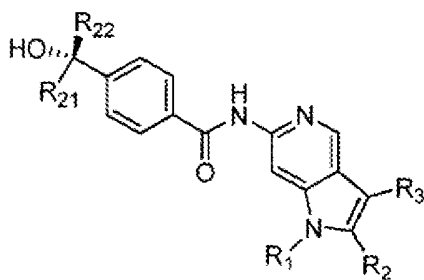
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda numa outra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

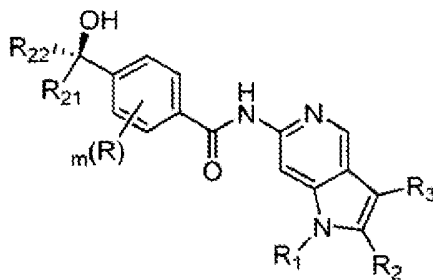
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxido( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

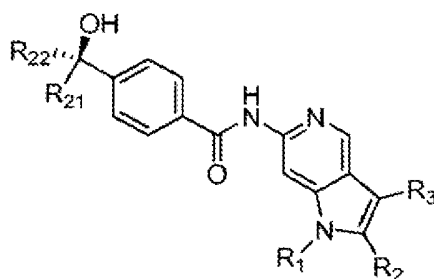
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxido( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

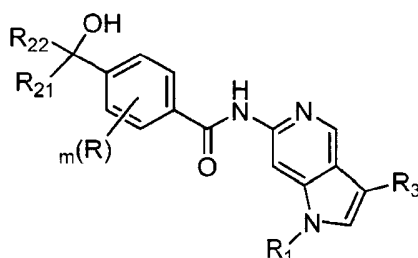
$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.



Ainda noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

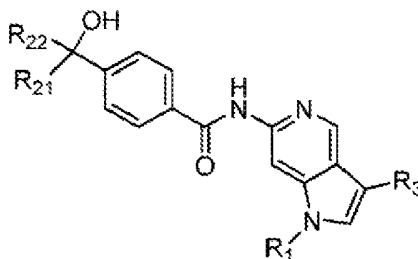
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Numa outra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

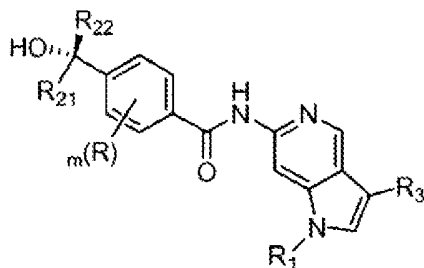
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda numa outra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

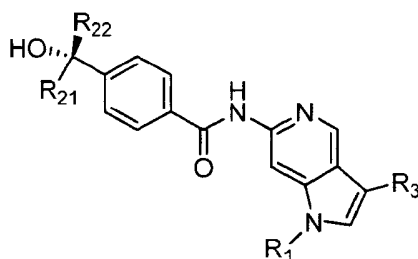
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda numa outra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

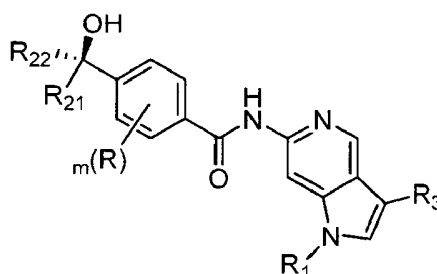
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxido( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

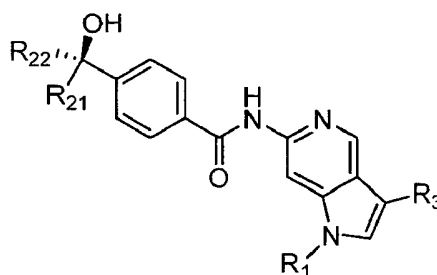
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda noutra variação da forma de realização acima, os inibidores de ASK1 da presente invenção têm a fórmula:



em que

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  
 $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxido( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

$p$  é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, cada  $R$  é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcóxido( $C_{1-6}$ ), alquilo( $C_{1-6}$ ), aminoalquilo( $C_{1-6}$ ), haloalquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{3-6}$ ), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alcóxido( $C_{1-6}$ ), haloalcóxido( $C_{1-6}$ ), amino, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), haloalquilo( $C_{1-6}$ ), per-haloalquilo( $C_{1-6}$ ), aminoalquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialcóxido( $C_{1-6}$ ), haloalcóxido( $C_{1-6}$ ), per-haloalcóxido( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ),  $R_9$ -carbonilalquilo( $C_{1-6}$ ),  $R_9$ -sulfonilalquilo( $C_{1-6}$ ),  $R_9$ -carbonilo e  $R_9$ -sulfonilo; e  $R_9$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxido( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ ).

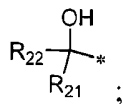
Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, cada  $R$  é independentemente

selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcoxilo ( $C_{1-6}$ ), haloalcoxilo ( $C_{1-6}$ ), alquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo ( $C_{1-6}$ ), aminoalquilo ( $C_{1-6}$ ), haloalquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxihaloalquilo ( $C_{1-6}$ ) e halo ( $C_{1-6}$ ) alcoxialquilo ( $C_{1-6}$ ).

Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, cada R é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcoxilo ( $C_{1-6}$ ),  $-OCHF_2$ ,  $-OCF_3$ , alquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo ( $C_{1-6}$ ),  $-CHF_2$ ,  $-CF_3$ ,  $-C(CH_3)(OH)CF_3$ ,  $-CH_2OCH_2CF_3$ ,  $-C(O)OCH_3$ ,  $-OCH(CH_3)_2$ , aminoalquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxicarbonilaminoalquilo ( $C_{1-6}$ ), alcoxil ( $C_{1-6}$ ) carbonilaminoalquilo ( $C_{1-6}$ ), e alquil ( $C_{1-6}$ ) carbonilaminoalquilo ( $C_{1-6}$ ).

Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,

$R_0$  é



$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,

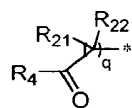
$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil ( $C_{1-6}$ ) amino, (di-alquil ( $C_{1-6}$ )) amino, alcoxilo ( $C_{1-6}$ ) e alquilo ( $C_{1-6}$ );

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo ( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo ( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído;

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo,

alquilo(C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cada substituído ou não substituído; e  
 p é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  
 R<sub>0</sub> é



q é 1, 2, 3 ou 4;

R<sub>21</sub> é selecionado do grupo consistindo de -C(R<sub>23</sub>)<sub>3</sub>,  
 -(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>-C(R<sub>23</sub>)<sub>3</sub>, -(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>OH, -(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>C(O)R<sub>10</sub>,  
 -(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>S(O)<sub>2</sub>R<sub>10</sub> e -O(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>OH,

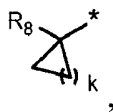
R<sub>10</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil(C<sub>1-6</sub>)amino, (di-alquil(C<sub>1-6</sub>))amino, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>) e alquilo(C<sub>1-6</sub>);

R<sub>22</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>) e haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cada substituído ou não substituído;

R<sub>23</sub> e R<sub>23'</sub> são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo(C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cada substituído ou não substituído; e

p é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  
 R<sub>0</sub> é



k é 1, 2, 3 ou 4;

$R_8$  é  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ;

$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcóxido( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído; e

p é 0, 1, 2, 3 ou 4.

Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_0$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(CH_3)(CH_2OH)OH$ ,  $-C(CH_3)(CH_2CH_2OH)OH$ ,  $-C(CH_3)(CH(CH_3)OH)OH$ ,  $-C(CH_3)(CH(CH_2CH_3)OH)OH$ ,  $-C(CH_3)(CH(ciclopropil)OH)OH$ ,  $-C(CF_3)(CH_2OH)OH$ ,  $-C(CF_3)(CH_2CH_2OH)OH$ ,  $-C(CF_3)(CH(CH_3)OH)OH$ ,  $-C(CF_3)(CH(CH_2CH_3)OH)OH$ ,  $-C(CF_3)(CH(ciclopropil)OH)OH$ ,  $-CH(CH_2OH)OH$ ,  $-CH(CH_2CH_2OH)OH$ ,  $-C(CH_3)(C(O)OH)(OH)$ ,  $-C(CH_3)(C(O)NH_2)(OH)$ ,  $-C(CH_3)(S(O)_2NH_2)(OH)$  e  $-C(CH_3)(S(O)_2NH_2)(OH)$ . Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_0$  é  $-C(CH_3)(CH_2OH)OH$ . Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_0$  é  $-C(CH_3)_2OH$ .

Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_1$  é selecionado do grupo consistindo de ciano, alquilo( $C_{1-6}$ ), alcenilo( $C_{2-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialcenilo( $C_{2-6}$ ), di-hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquil( $C_{3-6}$ )alquilo( $C_{1-6}$ ), alquil( $C_{1-6}$ )sulfonilo, hidroxicarbonilalquilo( $C_{1-6}$ ), aminocarbonilalquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxissulfonilalquilo( $C_{1-6}$ ) e aminossulfonilalquilo( $C_{1-6}$ ), alquil( $C_{1-6}$ )carbonilaminoalquilo( $C_{1-6}$ ), alquil( $C_{1-6}$ )sulfonilaminoalquilo( $C_{1-6}$ ), em que o amino de aminocarbonilalquilo( $C_{1-6}$ ), aminossulfonilalquilo( $C_{1-6}$ ),



alquil(C<sub>1-6</sub>)carbonilaminoalquilo(C<sub>1-6</sub>), e  
 alquil(C<sub>1-6</sub>)sulfonilaminoalquilo(C<sub>1-6</sub>) estão, cada, não  
 substituídos ou substituídos com mono- ou di-alquilo(C<sub>1-6</sub>).

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de alquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), cicloalquil(C<sub>3-6</sub>)alquilo(C<sub>1-6</sub>) e alquil(C<sub>1-6</sub>)sulfonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), cada não substituído ou substituído com mono- ou di-alquilo(C<sub>1-6</sub>). Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de ciano, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, vinilo, propenilo, butenilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, fenilmetilo, metilsulfonilmetilo, 2-hidroxipropan-2-ilo e 1,2-dihidroxietilo. Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de metilo, etilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo e metilsulfonilmetilo, cada não substituído ou substituído com 1-3 dos referidos substituintes. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de metilo, etilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo e metilsulfonilmetilo. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de metilo e etilo. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de metilo, etilo e ciclopropilo.

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>2</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, halo, nitro, ciano, tio, oxi,

carboniloxilo,                    alcoxilo (C<sub>1-6</sub>),                    ariloxilo (C<sub>4-6</sub>),  
heteroariloxilo (C<sub>1-5</sub>),    sulfonilo,    sulfinilo,    alquilo (C<sub>1-6</sub>),  
haloalquilo (C<sub>1-6</sub>),                    hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>),  
carbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>),                    tiocarbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>),  
sulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>),                    sulfinilalquilo (C<sub>1-6</sub>),  
cicloalquil (C<sub>3-6</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>),  
heterocicloalquil (C<sub>1-5</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>),    aril (C<sub>4-6</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>),  
heteroaril (C<sub>1-5</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>),                    cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>)                    e  
heterocicloalquilo (C<sub>1-5</sub>),    cada    não    substituído    ou  
substituído com 1-3 substituintes, cada um dos quais é  
independentemente selecionado do grupo consistindo de  
hidroxilo, halo, amino não substituído, alquil (C<sub>1-6</sub>) amino,  
(di-alquil (C<sub>1-6</sub>)) amino,    alquilo (C<sub>1-6</sub>),    haloalquilo (C<sub>1-6</sub>),  
cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>) e arilo (C<sub>4-6</sub>).

Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>2</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, alquilo (C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>), em que o alquilo (C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>) estão, cada, independentemente não substituídos ou substituídos com 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, halo, amino não substituído, alquil (C<sub>1-6</sub>) amino, (di-alquil (C<sub>1-6</sub>)) amino, cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>) e arilo (C<sub>4-6</sub>). Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, R<sub>2</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, halo, ciano, alquilo (C<sub>1-6</sub>), alcenilo (C<sub>2-6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>),                    hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>),  
hidroxialcenilo (C<sub>2-6</sub>),                    di-hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>),  
cicloalquil (C<sub>3-6</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>),                    alquil (C<sub>1-6</sub>) sulfonilo,  
hidroxicarbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>),                    aminocarbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>),  
hidroxissulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>) e aminossulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>),  
em que o amino dos aminocarbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>) e aminossulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>) estão, cada, não substituídos ou substituídos com mono- ou di-alquilo (C<sub>1-6</sub>).

Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_2$  é seleccionado do grupo consistindo de ciano, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, vinilo, propenilo, butenilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, fenilmetilo, metilsulfonilmetilo, 2-hidroxipropan-2-ilo e 1,2-dihidroxietilo. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_2$  é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, ciano, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), haloalquilo( $C_{1-6}$ ), aminoalquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ) e cicloalquil( $C_{3-6}$ )alquilo( $C_{1-3}$ ). Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_2$  é halo. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_2$  é hidrogénio. Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_2$  é ciano. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_2$  é alquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ) e cicloalquil( $C_{3-6}$ )alquilo( $C_{1-3}$ ).

Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, alquilo( $C_{1-6}$ ), alcenilo( $C_{2-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{3-6}$ ), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente seleccionado do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alquilo( $C_{1-6}$ ), haloalquilo( $C_{1-6}$ ), perhaloalquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ), heterocicloalquilo( $C_{1-5}$ ), arilo( $C_{4-6}$ ) e heteroarilo( $C_{1-5}$ ). Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, alquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ) e cicloalquil( $C_{3-6}$ )alquilo( $C_{1-3}$ ). Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio, cloro,

bromo, metilo, etilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo e fenilmetilo. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, em que  $R_3$  é alquilo( $C_{1-6}$ ). Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é hidrogénio. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é halo. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é cloro. Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é bromo. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_3$  é metilo.

Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima:

$R_1$  é selecionado do grupo consistindo de alquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ), cicloalquil( $C_{3-6}$ )alquilo( $C_{1-3}$ ) e alquil( $C_{1-3}$ )sulfonilalquilo( $C_{1-3}$ );

$R_2$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, hidroxilo, halo, ciano, alquilo( $C_{1-6}$ ), alcenilo( $C_{2-6}$ ), cicloalquilo( $C_{3-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialcenilo( $C_{2-6}$ ), di-hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), cicloalquil( $C_{3-6}$ )alquilo( $C_{1-3}$ ), alquil( $C_{1-6}$ )sulfonilo, hidroxicarbonilalquilo( $C_{1-6}$ ), aminocarbonilalquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxissulfonilalquilo( $C_{1-6}$ ) e aminossulfonilalquilo( $C_{1-6}$ ); e

$R_3$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo e alquilo( $C_{1-6}$ ).

Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_4$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino e (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino.

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_8$  é  $-CH_2OH$ .

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima, em que  $R_9$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, e (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino.

Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ), amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino e (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino.

Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de alquilo( $C_{1-6}$ ) e hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é metilo. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é  $-CH_2OH$ . Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é  $-CH_2CH_2OH$ . Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é hidroxilo. Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2CH_2OH$ ,  $-CH(\text{ciclopropil})OH$ ,  $-CH(CH_3)OH$ ,  $-CH(CH_2CH_3)OH$ ,  $-O(CH_2)CH(OH)CH_2OH$ ,  $-C(O)OH$ ,  $-C(O)NH_2$  e  $-S(O)_2NH_2$ . Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{21}$  é hidroximetilo.

Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, alquilo( $C_{1-3}$ ) e hidroxialquilo( $C_{1-3}$ ), cada substituído ou não substituído. Numa outra variação de cada

uma das formas de realização e variações acima,  $R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ ), cada substituído ou não substituído. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de alquilo( $C_{1-3}$ ) e hidroxialquilo( $C_{1-3}$ ), cada substituído ou não substituído. Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{22}$  é hidrogénio. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{22}$  é metilo. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{22}$  é  $CF_3$ .

Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{23}$  é hidrogénio. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{23}$  é halo. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{23}$  é um alquilo( $C_{1-3}$ ) substituído ou não substituído. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $R_{23}$  é metilo.

Numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $m$  é 0. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $m$  é 1. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $p$  é 1, 2, 3 ou 4. Ainda numa outra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $p$  é 1. Noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $k$  é 1. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $k$  é 2. Ainda noutra variação de cada uma das formas de realização e variações acima,  $q$  é 1.

Os exemplos particulares de compostos de acordo com a presente invenção incluem, mas não se limitam a:

N-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-bromo-1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida;

N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida;

N-(1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

4-(2-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida;

N-(3-bromo-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;  
 4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-3-metilbenzamida;  
 N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)benzamida;  
 N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida;  
 N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida; e  
 N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-3-metilbenzamida.

Assinale-se que os compostos da presente invenção podem estar na forma de um sal farmaceuticamente aceitável, éster bio-hidrolisável, amida bio-hidrolisável, carbamato bio-hidrolisável, solvato, hidrato ou profármaco do mesmo. Por exemplo, o composto compreende opcionalmente um substituinte que pode ser convertido *in vivo* num substituinte diferente tal como hidrogénio.

Assinale-se ainda que o composto pode estar presente como uma mistura de estereoisómeros, ou o composto pode estar presente como um estereoisómero individual.

Noutro dos seus aspetos, é proporcionada uma composição farmacêutica compreendendo como um ingrediente ativo um composto de acordo com qualquer uma das formas de realização e variações acima e um excipiente farmacêutico. Numa variação particular, a composição é uma formulação sólida adaptada para administração oral. Noutra variação particular, a composição é uma formulação líquida adaptada para administração oral. Ainda noutra variação particular, a composição é um comprimido. Ainda noutra variação



particular, a composição é uma formulação líquida adaptada para administração parentérica.

A presente invenção proporciona também uma composição farmacêutica compreendendo um composto de acordo com qualquer uma das formas de realização e variações acima, em que a composição está adaptada para administração por uma via selecionado do grupo consistindo de via oral, parentérica, intraperitoneal, intravenosa, intra-arterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, retal, transbucal, intranasal, lipossomal, inalação, vaginal, intraocular, administração local (por exemplo, por cateter ou endoprótese), subcutânea, intra-adiposa, intra-articular e intratecal.

Ainda noutro dos seus aspetos, é proporcionado um kit compreendendo um composto de qualquer uma das formas de realização e variações acima; e instruções, as quais compreendem uma ou mais formas de informação selecionadas do grupo consistindo de indicação de um estado patológico para o qual a composição é para ser administrada, informação sobre a conservação da composição, informação sobre a administração e instruções no que se refere ao modo de administração da composição. Numa variação particular, o kit compreende o composto numa forma de dose múltipla.

Ainda noutro dos seus aspetos, é proporcionado um artigo de fabrico compreendendo um composto de qualquer uma das formas de realização e variações acima; e materiais de embalagem. Numa variação, o material de embalagem compreende um recipiente para alojamento do composto. Numa variação particular, o recipiente compreende uma etiqueta indicando um ou mais membros do grupo consistindo de um estado patológico para o qual o composto é para ser administrado, informação sobre a conservação, informação

sobre a administração e/ou instruções no que se refere ao modo de administração do composto. Noutra variação, o artigo de fabrico compreende o composto numa forma de dose múltipla.

Ainda noutro dos seus aspetos, a presente invenção refere-se a medicamentos para o tratamento de um estado patológico. Particularmente, um medicamento para o tratamento de doenças e condições para as quais a ASK1 possui atividade que contribui para a patologia e/ou sintomatologia do estado patológico. Mais particularmente, medicamentos para o tratamento dos estados patológicos que são descritos nos métodos de utilização dos compostos da invenção.

#### **Sais e Hidratos de Inibidores de ASK1**

Deve reconhecer-se que os compostos da presente invenção podem estar presentes e opcionalmente administrados na forma de sais e hidratos que são convertidos *in vivo* nos compostos da presente invenção. Por exemplo, está no âmbito da presente invenção converter os compostos da presente invenção e utilizá-los na forma dos seus sais farmacologicamente aceitáveis derivados de vários ácidos e bases orgânicos e inorgânicos de acordo com procedimentos bem conhecidos na técnica.

Quando os compostos da presente invenção possuem uma forma de base livre, os compostos podem ser preparados como um sal de adição de ácido farmacologicamente aceitável fazendo reagir a forma de base livre do composto com um ácido inorgânico ou orgânico farmacologicamente aceitável, por exemplo, hidro-halogenetos tais como cloridrato, bromidrato, iodidrato; outros ácidos minerais e seus sais

correspondentes tais como sulfato, nitrato, fosfato, etc.; e alquilo e monoarilsulfonatos tais como etanossulfonato, toluenossulfonato e benzenossulfonato; e outros ácidos orgânicos e seus sais correspondentes tais como acetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato e ascorbato. Outros sais de adição de ácido da presente invenção incluem, mas não se limitam a: adipato, alginato, arginato, aspartato, bissulfato, bissulfito, brometo, butirato, canforato, canforsulfonato, caprilato, cloreto, clorobenzoato, ciclopentanopropionato, digluconato, di-hidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, fumarato, galacterato (do ácido múcico), galacturonato, gluco-heptonato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemi-succinato, hemi-sulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, cloridrato, bromidrato, iodidrato, 2-hidroxietanossulfonato, iodeto, isetionato, iso-butirato, lactato, lactobionato, malato, malonato, mandelato, metafosfato, metanossulfonato, metilbenzoato, mono-hidrogenofosfato, 2-naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, pamoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato e ftalato. Deve reconhecer-se que, tipicamente, as formas de base livre diferirão algo das suas respectivas formas de sal em termos de propriedades físicas tais como solubilidade em solventes polares, mas sob outros aspetos os sais são equivalentes às suas respectivas formas de base livre para os fins da presente invenção.

Quando os compostos da presente invenção possuem uma forma de ácido livre, um sal de adição de base farmacêuticamente aceitável pode ser preparado fazendo reagir a forma de ácido livre do composto com uma base inorgânica ou orgânica farmacêuticamente aceitável. Os exemplos de tais bases são hidróxidos de metais alcalinos incluindo hidróxidos de potássio, sódio e lítio; hidróxidos de metais

alcalinoterrosos tais como hidróxidos de bário e cálcio; alcóxidos de metais alcalinos, por exemplo, etanolato de potássio e propanolato de sódio; e várias bases orgânicas tais como hidróxido de amônio, piperidina, dietanolamina e N-metilglutamina. São também incluídos os sais de alumínio dos compostos da presente invenção. Outros sais de base da presente invenção incluem, mas não se limitam a: sais de cobre, férrico, ferroso, lítio, magnésio, mangânico, manganoso, potássio, sódio e zinco. Os sais de bases orgânicas incluem, mas não se limitam a, sais de aminas primárias, secundárias e terciárias, aminas substituídas incluindo aminas substituídas naturais, aminas cíclicas e resinas de troca iônica básicas, por exemplo, arginina, betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenziletilenodiamina (benzatina), diciclo-hexilamina, dietanolamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina e tris-(hidroximetil)-metilamina (trometamina). Deve reconhecer-se que, tipicamente, as formas de ácido livre diferirão algo das suas respectivas formas de sal em termos de propriedades físicas tais como a solubilidade em solventes polares, mas sob outros aspectos os sais são equivalentes às suas respectivas formas de ácido livre para os fins da presente invenção.

Os compostos da presente invenção que compreendem grupos contendo azotos básicos podem ser quaternizados com agentes tais como halogenetos de alquilo ( $C_{1-4}$ ), por exemplo, cloretos, brometos e iodetos de metilo, etilo, isopropilo e

terc-butilo; sulfatos de di-alquilo ( $C_{1-4}$ ), por exemplo, sulfatos de dimetilo, dietilo e diamilo; halogenetos de alquilo ( $C_{10-18}$ ), por exemplo, cloretos, brometos e iodetos de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo e estearilo; e halogenetos de aril-alquilo ( $C_{1-4}$ ), por exemplo, cloreto de benzilo e brometo de fenetilo. Estes sais permitem a preparação de compostos da presente invenção solúveis em água e solúveis em óleo.

Os *N*-óxidos dos compostos de acordo com a presente invenção podem ser preparados por métodos conhecidos para os técnicos médios na matéria. Por exemplo, os *N*-óxidos podem ser preparados tratando uma forma não oxidada do composto com um agente oxidante (por exemplo, ácido trifluoroperacético, ácido permaleico, ácido perbenzóico, ácido peracético, ácido meta-cloroperoxibenzóico ou semelhantes) num solvente orgânico inerte adequado (por exemplo, um hidrocarboneto halogenado tal como diclorometano) a aproximadamente 0 °C. Alternativamente, os *N*-óxidos dos compostos podem ser preparados a partir do *N*-óxido de um material de partida apropriado.

Podem ser também preparados derivados protegidos dos compostos da presente invenção. Os exemplos de técnicas aplicáveis à criação de grupos de proteção e sua remoção podem ser encontrados em P.G.M. Wuts e T.W. Greene em "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis" 4th edition, John Wiley and Sons, 2007.

Os compostos da presente invenção podem ser também convenientemente preparados, ou formados durante o processo da invenção, como solvatos (por exemplo, hidratos). Os hidratos dos compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados por recristalização a partir de

uma mistura aquosa/solvente orgânico, utilizando solventes orgânicos tais como dioxina, tetra-hidrofurano ou metanol.

Um "sal farmaceuticamente aceitável", como aqui utilizado, destina-se a abranger qualquer composto de acordo com a presente invenção que é utilizado na forma de um seu sal, especialmente nos casos em que o sal confere ao composto propriedades farmacocinéticas melhoradas em comparação com a forma livre do composto ou uma forma de sal diferente do composto. A forma de sal farmaceuticamente aceitável pode também conferir inicialmente propriedades farmacocinéticas desejáveis ao composto que ele não possuía anteriormente e pode, até mesmo, afetar positivamente a farmacodinâmica do composto em relação à sua atividade terapêutica no corpo. Um exemplo de uma propriedade farmacocinética que pode ser afetada favoravelmente é o modo pelo qual o composto é transportado através das membranas celulares, o que, por sua vez, pode afetar direta e positivamente a absorção, distribuição, biotransformação e excreção do composto. Embora a via de administração da composição farmacêutica seja importante, e vários fatores anatômicos, fisiológicos e patológicos possam afetar de maneira crítica a biodisponibilidade, a solubilidade do composto é geralmente dependente do caráter da forma particular do seu sal que é utilizado. Um especialista na técnica aperceber-se-á que uma solução aquosa do composto proporcionará a absorção mais rápida do composto no corpo de um indivíduo a ser tratado, enquanto as soluções e suspensões lipídicas, bem como as formas de dosagem sólidas, resultarão numa absorção menos rápida do composto.

### **Utilizações para os compostos da Invenção**

A ASK1 ativa as vias pró-apoptóticas de p38 e JNK em resposta a stresses ambientais. Wang et al. J. Biol. Chem. 1996, 271, 31607-31611; Ichijo et al. Science 1997, 275, 90-94. A ASK1 induz a apoptose através de cascatas de ASK1-p38/JNK em resposta a stresses pró-apoptóticos (por exemplo stress oxidativo e TNF) e stresses patogénicos (por exemplo stress do ER, produção de ROS induzida por GPCR e A $\beta$ ). A sobreexpressão da ASK1 de tipo selvagem ou constitutivamente ativa induz a apoptose em várias células através da ativação da caspase dependente de mitocôndrias. Saitoh et al EMBO J. 1998, 17:2596-2606; Kanamoto et al. Mol. Cell Biol. 2000, 20, 196-204; Hatai et al. J. Biol. Chem. 2000, 275, 26576-2658.

A apoptose desempenha um papel essencial no desenvolvimento normal e na homeostasia do tecido; de tal forma que quando desregulada, ela contribui para múltiplas doenças incluindo, mas não se limitando a, amiloidose, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, cancros, doenças inflamatórias, doenças autoimunes, distúrbios destrutivos do osso, doenças infecciosas, doenças neurodegenerativas, reperfusão/isquemia no acidente vascular cerebral, hipertrofia cardíaca, doenças respiratórias, doenças metabólicas, doenças gastroenterológicas, doenças hematológicas e doenças urológicas. Thompson, Science 1995, 267, 1456-1462; Yuan e Yanker Nature 2000, 407, 802-809; Los et al. Immunity 1999, 10, 629-639; Aridor e Balch, Nat. Med. 1999, 5, 745-751; Kopito e Ron, Nat. Cell Biol. 2000, 2, E207-E209; Nakagawa et al. Nature 2000, 403, 98-103; Imai et al. Cell 2001, 105, 891-902; Harding et al. Mol Cell 2001, 7, 1153-1163; e Nishitoh et al. Genes Dev. 2002, 16, 1345-1355.

Estudos recentes revelaram que a ASK1 contribui não só para a regulação da morte celular mas tem também várias funções na decisão do destino da célula tais como as respostas a citocinas, diferenciação celular e respostas imunológicas inatas. Matsukawa et al. J Biochem. (Toyko) 2004, 136, 261-265. Sayama et al. J. Biol. Chem. 2000, 276:999-1004; Takeda et al. J. Biol. Chem. 2000, 275:9805-9813; Sagasti et al. Cell 2001, 105:221-232; Kim et al. Science 2002, 297:623-626; Nishitoh et al. Genes Dev. 2002, 16:1345-1355; Matsukawa et al. Nat Immunol 2005, 6, 587-592; Tobiume et al. EMBO Rep. 2001, 2:222-228; Imoto, et al. Diabetes 2006, 55:1197-1204. A ASK1 constitutivamente ativa induz o crescimento de axónios em células PC12. A ASK1 é ativada pela CaMKII, a qual ativa a via ASK1-p38 em neurónios, sugerindo que a ASK1 pode desempenhar papéis críticos na plasticidade sináptica. Além do mais, a via TRAF6-ASK1-p38 desempenha um papel essencial nas respostas inflamatórias e imunológicas inatas. Hayakawa et al. Microbes and Infection 2006, 8, 1098-1107. Foi também demonstrado que a ASK1 tem um papel na patogénese da resistência à insulina induzida pelo TNF- $\alpha$ . A sobreexpressão de ASK1 de tipo selvagem aumenta a fosforilação da serina do substrato do recetor de insulina (IRS)-1 e diminui a fosforilação da tirosina estimulada pela insulina do IRS-1, levando a uma sinalização de insulina enfraquecida. Imoto, et al. Diabetes 2006, 55:1197-1204.

Por conseguinte, a modulação da atividade de ASK1 pelos compostos da invenção teria impacto numa multiplicidade de doenças e condições; em particularmente, doenças metabólicas, doenças inflamatórias, doenças neurodegenerativas, doenças autoimunes, distúrbios destrutivos do osso, doenças infecciosas, doenças e condições que são mediados pelas proteínas pró-inflamatórias indutíveis, reperfusão/isquemia no acidente



vascular cerebral, hipertrofia cardíaca, doenças respiratórias, ataques de coração, isquemia do miocárdio, hipoxia de órgão, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca, isquemia hepática, doença hepática, insuficiência cardíaca congestiva, respostas imunológicas patológicas, agregação de plaquetas induzida pela trombina, doenças gastroenterológicas, doenças hematológicas e doenças urológicas.

As doenças metabólicas que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, diabetes, particularmente, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia diabética, tolerância reduzida à glucose (IGT), glicemia em jejum anormal (IFG), acidose metabólica, cetose, regulação do apetite, obesidade e complicações associadas à diabetes incluindo neuropatia diabética, retinopatia diabética, doença inflamatória do intestino, doença de Crohn, enterite induzida por quimioterapia, mucosite oral, Síndrome do Intestino Encurtado e doença renal. As condições mediadas pelos inibidores de ASK1 da invenção incluem ainda hiperlipidemia tal como hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipoHDLemia e hiperlipidemia pós-prandial; arteriosclerose; hipertensão; enfarte do miocárdio, angina de peito, enfarte cerebral, apoplexia cerebral e síndrome metabólica.

As doenças inflamatórias que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, pancreatite aguda, pancreatite crónica, asma, alergias, doença pulmonar obstrutiva crónica, síndrome de insuficiência respiratória do adulto.

As doenças neurodegenerativas que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, doença de Alzheimer (Nakagawa et al. Nature

2000, 403, 98-103), doença de Parkinson (Imai et al. Cell 2001, 105, 891-902), esclerose lateral amiotrófica (ALS), epilepsia, ataques apopléticos, doença de Huntington, doenças de poliglutamina (Nishitoh et al. Genes Dev. 2002, 16, 1345-1355), lesão traumática cerebral, acidente vascular cerebral isquémico e hemorrágico, isquemias cerebrais ou doença neurodegenerativa, incluindo doença neurodegenerativa induzida por apoptose, provocada por lesão traumática, hipoxia aguda, isquemia ou neurotoxicidade de glutamato.

As doenças autoimunes que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, glomerulonefrite, artrite reumatoide, lúpus eritematoso disseminado, esclerodermia, tiroidite crónica, doença de Graves, gastrite autoimune, diabetes, anemia hemolítica autoimune, neutropenia autoimune, trombocitopenia, dermatite atópica, hepatite ativa crónica, miastenia grave, esclerose múltipla, doença inflamatória do intestino, colite ulcerosa, doença de Crohn, psoríase, doença do enxerto contra o hospedeiro, esclerose múltipla ou síndrome de Sjogren.

Os distúrbios destrutivos do osso que podem ser tratados ou prevenidos pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, osteoporose, osteoartrite e distúrbio ósseo relacionado com mieloma múltiplo.

As doenças infecciosas que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, septicemia, choque séptico e Shigellose.

As doenças e condições que são mediadas por proteínas pró-inflamatórias indutíveis que podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não

se limitam a, edema, analgesia, febre e dor, tal como dor neuromuscular, dor de cabeça, dor do cancro, dor de dentes e dor da artrite.

Outras condições que são mediadas pela ASK1 e podem ser tratadas ou prevenidas pelos compostos desta invenção incluem, mas não se limitam a, isquemia/reperfusão no acidente vascular cerebral, ataques de coração, isquemia do miocárdio, hipoxia de órgão, hiperplasia vascular, hipertrofia cardíaca, isquemia hepática, doença hepática, insuficiência cardíaca congestiva, respostas imunológicas patológicas tais como as provocadas pela ativação de células T e agregação de plaquetas induzida pela trombina.

### **Terapia de Associação**

Uma grande variedade de agentes terapêuticos pode ter um efeito terapêutico aditivo ou sinérgico com inibidores de ASK1 de acordo com a presente invenção. Pode ser utilizadas terapias de associação que compreendem um ou mais compostos da presente invenção com um ou mais outros agentes terapêuticos, por exemplo, para: 1) melhorar o(s) efeito(s) terapêutico(s) do um ou mais compostos da presente invenção e/ou do um ou mais outros agentes terapêuticos; 2) reduzir os efeitos secundários apresentados pelo um ou mais compostos da presente invenção e/ou pelo um ou mais outros agentes terapêuticos; e/ou 3) reduzir a dose eficaz do um ou mais compostos da presente invenção e/ou do um ou mais outros agentes terapêuticos. Assinale-se que a terapia de associação destina-se a abranger quando os agentes são administrados antes ou depois um do outro (terapia sequencial) bem como quando os agentes são administrados ao mesmo tempo.

A presente invenção refere-se, em particular, à utilização dos compostos da invenção em associação com um ou mais outros agentes antidiabéticos. Os exemplos desses outros agentes antidiabéticos incluem, mas não se limitam a moduladores da via de sinalização de insulina, como os inibidores da proteína tirosina-fosfatase (PTPase) e os inibidores da glutamina-frutose-6-fosfato amidotransferase (GFAT); compostos que influenciam uma produção hepática desregulada de glucose, como os inibidores de glucose-6-fosfatase (G6Pase), inibidores de frutose-1,6-bisfosfatase (F-1,6-BPase), inibidores da glicogénio-fosforilase (GP), antagonistas do recetor de glucagina e inibidores da fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK); inibidores da piruvato desidrogenase-cinase (PDHK); intensificadores da sensibilidade à insulina (sensibilizadores à insulina); intensificadores da secreção de insulina (secretagogos de insulina); inibidores de alfa-glucosidase; inibidores de esvaziamento gástrico; ativadores de glucocinase, agonistas do recetor de GLP-1, agonistas do recetor de GLP-2, moduladores de UCP, moduladores de RXR, inibidores de GSK-3, moduladores de PPAR, metformina, insulina; e antagonistas adrenérgicos  $\alpha_2$ . Os inibidores de ASK1 podem ser administrados com pelo menos esse outro composto antidiabético simultaneamente como uma dose única, ao mesmo tempo como doses separadas ou sequencialmente (isto é, no caso de um ser administrado antes ou depois do outro ser administrado).

Os exemplos de inibidores de PTPase que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados nas Patentes U.S. n° 6,057,316, 6,001,867, e Publicações PCT n° WO 99/58518, WO 99/58522, WO 99/46268, WO 99/46267, WO 99/46244, WO 99/46237, WO 99/46236 e WO 99/15529.

Os exemplos de inibidores de GFAT que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados em Mol. Cell. Endocrinol. 1997, 135(1), 67-77.

Os exemplos de inibidores de G6Pase que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados nas Publicações PCT n° WO 00/14090, WO 99/40062 e WO 98/40385, Publicação de Patente Europeia n° EP682024 e Diabetes 1998, 47,1630-1636.

Os exemplos de inibidores de F-1,6-BPase que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados nas Publicações PCT n° WO 00/14095, WO 99/47549, WO 98/39344, WO 98/39343 e WO 98/39342.

Os exemplos de inibidores de GP que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados na Patente U.S. n° 5,998,463, Publicações PCT n° WO 99/26659, WO 97/31901, WO 96/39384 e WO9639385 e Publicações de Patente Europeia n° EP 978279 e EP 846464.

Os exemplos de antagonistas do recetor de glucagina que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados na Patentes U.S. n° 5,880,139 e 5,776,954, Publicações PCT n° WO 99/01423, WO 98/22109, WO 98/22108, WO 98/21957, WO 97/16442 e WO 98/04528 e aqueles descritos em Bioorg Med. Chem. Lett 1992, 2, 915-918, J. Med. Chem. 1998, 41, 5150-5157 e J. Biol Chem. 1999, 274, 8694-8697.

Os exemplos de inibidores de PEPCK que podem ser utilizados

em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados na Patente U.S. nº 6,030,837 e Mol. Biol. Diabetes 1994, 2, 283-99.

Os exemplos de inibidores de PDHK que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam àqueles divulgados em J. Med. Chem. 1999, 42, 2741-2746.

Os exemplos de intensificadores da sensibilidade à insulina que podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limitam aos inibidores de GSK-3, agonistas do recetor retinoide X (RXR), agonistas de AR Beta-3, moduladores de UCP, tiazolidinadionas (glitazonas) antidiabéticas, agonistas de PPAR gama de tipo não glitazona, agonistas duplos de PPAR gama/PPAR alfa, compostos antidiabéticos contendo vanádio e biguanidas tais como metformina.

Os exemplos de inibidores de GSK-3 incluem, mas não se limitam àqueles divulgados nas Publicações PCT nº WO 00/21927 e WO 97/41854.

Os exemplos de moduladores de RXR incluem, mas não se limitam àqueles divulgados nas Patentes U.S. nº 4,981,784, 5,071,773, 5,298,429 e 5,506,102 e Publicações PCT nº WO89/05355, WO91/06677, WO92/05447, WO93/11235, WO95/18380, WO94/23068 e WO93/23431.

Os exemplos de agonistas de AR Beta-3 incluem, mas não se limitam a CL-316,243 (Lederle Laboratories) e aqueles divulgados na Patente U.S. nº 5,705,515 e Publicações PCT nº WO 99/29672, WO 98/32753, WO 98/20005, WO 98/09625, WO 97/46556 e WO 97/37646.

Os exemplos de moduladores de UCP incluem os agonistas de UCP-1, UCP-2 e UCP-3. Os exemplos de moduladores de UCP incluem, mas não se limitam àqueles divulgados em Vidal-Puig et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997, 235(1), 79-82.

Os exemplos de tiazolidinadionas (glitazonas) antidiabéticas, moduladoras de PPAR incluem, mas não se limitam a, (S)-((3,4-di-hidro-2-(fenil-metil)-2H-1-benzopiran-6-il)metil-tiazolidina-2,4-diona (englitazona), 5-{[4-(3-(5-metil-2-fenil-4-oxazolil)-1-oxo-propil)-fenil]-metil}-tiazolidina-2,4-diona (darglitazona), 5-{[4-(1-metil-ciclo-hexil)metoxi)-fenil]metil}-tiazolidina-2,4-diona (ciglitazona), 5-{[4-(2-(1-indolil)etoxi)fenil]metil}-tiazolidina-2,4-diona (DRF2189), 5-{4-[2-(5-metil-2-fenil-4-oxazol)-etoxi]benzil}-tiazolidina-2,4-diona (BM-13,1246), 5-(2-naftilsulfonil)-tiazolidina-2,4-diona (AY-31637), bis{4-[(2,4-dioxo-5-tiazolidinil)-metil]fenil}metano (YM268), 5-{4-[2-(5-metil-2-fenil-4-oxazolil)-2-hidroxietoxi]-benzil}-tiazolidina-2,4-diona (AD-5075), 5-[4-(1-fenil-1-ciclopropanocarbonilamino)-benzil]-tiazolidina-2,4-diona (DN-108) 5-{[4-(2-(2,3-di-hidroindol-1-il)etoxi)fenilmetil]-tiazolidina-2,4-diona, 5-[3-(4-clorofenil)]-2-propinil]-5-fenilsulfonil)tiazolidina-2,4-diona, 5-[3-(4-clorofenil)]-2-propinil]-5-(4-fluorofenil-sulfonil)tiazolidina-2,4-diona, 5-{[4-(2-(metil-2-piridinil-amino)-etoxi)fenil]metil}-tiazolidina-2,4-diona (rosiglitazona), 5-{[4-(2-(5-etil-2-piridil)etoxi)fenil]-metil}-tiazolidina-2,4-diona (pioglitazona; comercializada sob a marca comercial ACTOS™), 5-[6-(2-fluoro-benziloxi)-naftalen-2-ilmetil]-tiazolidina-2,4-diona (MCC555), 5-([2-(2-naftil)-benzoxazol-5-il]-metil)tiazolidina-2,4-diona (T-174), edaglitazona (BM-13-1258), rivoglitazona (CS-011) e

5-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-2-metoxi-N-(4-trifluorometil-benzil)benzamida (KRP297).

Os exemplos de agonistas de PPAR gama de tipo não glitazona incluem, mas não se limitam a análogos de N-(2-benzoilfenil)-L-tirosina, tais como GI-262570, reglixano (JTT501), e FK-614 e metaglidaseno (MBX-102).

Os exemplos de agonistas duplos de PPAR gama/PPAR alfa incluem, mas não se limitam a omega-[(oxoquinazolinilalcoxi)fenil]alcanoatos e análogos dos mesmos incluindo aqueles descritos na Publicação PCT nº WO 99/08501 e Diabetes 2000, 49(5), 759-767; tesaglitazar, muraglitazar e naveglitazar.

Os exemplos de compostos antidiabéticos contendo vanádio incluem, mas não se limitam àqueles divulgados na Patente U.S. nº 5,866,563.

A metformina (dimetildiguanida) e o seu sal de cloridrato são comercializados sob a marca comercial GLUCOPHAGE™.

Os exemplos de intensificadores da secreção de insulina incluem mas não se limitam aos antagonistas do recetor de glucagina (como descritos acima), derivados de sulfonilureia, hormonas de incretina ou seus miméticos, especialmente péptido 1 análogo a glucagina (GLP-1) ou agonistas de GLP-1, antagonistas do recetor de imidazolina de células beta e secretagogos de insulina de ação curta, como os derivados de ácido fenilacético antidiabéticos, derivados de D-fenilalanina antidiabéticos e mitiglinida e seus sais farmacêuticos aceitáveis.

Os exemplos de derivados de sulfonilureia incluem, mas não se limitam a, glisoxepid, gliburida, glibenclamida, aceto-



hexamida, cloropropamida, glibomurida, tolbutamida, tolazamida, glipizida, carbutamida, gliquidona, glihexamida, fenbutamida, tolciclāmida; glimepirida e gliclazida. As tolbutamida, glibenclamida, gliclazida, glibomurida, gliquidona, glisoxepid e glimepirida podem ser administradas na forma em que são comercializadas sob as marcas comerciais RASTINON HOECHST™, AZUGLUCON™, DIAMICRON™, GLUBORID™, GLURENORM™, PRO-DIABAN™ e AMARYL™, respectivamente.

Os exemplos de agonistas de GLP-1 incluem, mas não se limitam àqueles divulgados nas Patentes U.S. nº 5,120,712, 5,118,666 e 5,512,549, e Publicação PCT nº WO 91/11457. Em particular, os agonistas de GLP-1 incluem aqueles compostos como a GLP-1 (7-37), em cujo composto a funcionalidade amida carboxi-terminal de Arg<sup>36</sup> está substituída por Gly na 37<sup>a</sup> posição da molécula de GLP-1 (7-36)NH<sub>2</sub> e variantes e análogos das mesmas incluindo GLN<sup>9</sup>-GLP-1 (7-37), D-GLN<sup>9</sup>-GLP-1 (7-37), acetil LYS<sup>9</sup>-GLP-1 (7-37), LYS<sup>18</sup>-GLP-1 (7-37) e, em particular, GLP-1 (7-37)OH, VAL<sup>8</sup>-GLP-1 (7-37), GLY<sup>8</sup>-GLP-1(7-37), THR<sup>8</sup>-GLP-1 (7-37), GLP-1 (7-37) e 4-imidazopropionil-GLP-1.

Um exemplo particular de um agonista de GLP-1 é a Exendatide, uma amida peptídica com 39 aminoácidos, a qual é comercializada sob a marca comercial BYETTA™. A extendatide tem a fórmula empírica C<sub>184</sub>H<sub>282</sub>N<sub>50</sub>O<sub>60</sub>S e peso molecular de 4186,6 Daltons. A sequência de aminoácidos para a Extendatide é como se segue: H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH<sub>2</sub>.

Os exemplos de agonistas do péptido-2 tipo glucagina (GLP-2) ou de GLP-2 incluem, mas não se limitam àqueles

divulgados na Patente U.S. nº 7,056,886 e Publicações PCT nº WO 00/53208, WO 01/49314 e WO 03/099854. Um exemplo particular de um agonista de GLP-2 é a TEDUGLUTIDE™, uma amida peptídica com 39 aminoácidos (NPS Pharmaceuticals, Inc.).

Os exemplos de antagonistas do recetor de imidazolina de células beta incluem, mas não se limitam àqueles descritos na Publicação PCT nº WO 00/78726 e J. Pharmacol. Exp. Ther. 1996, 278, 82-89.

Um exemplo de um derivado de ácido fenilacético antidiabético é a repaglinida e seus sais farmacologicamente aceitáveis.

Os exemplos de derivados de D-fenilalanina antidiabéticos incluem, mas não se limitam a nateglinida (N-[(trans-4-isopropilciclo-hexil)-carbonil]-D-fenilalanina, EP 196222 e EP 526171) e repaglinida (ácido (S)-2-etoxi-4-{2-[[3-metil-1-[2-(1-piperidinil)fenil]butil]-amino]-2-oxoetil}benzóico, EP 0 147 850 A2 e EP 0 207 331 A1). A nateglinida pretende incluir as formas cristalinas particulares (polimorfos) divulgadas na Patente U.S. nº 5,488,510 e na Publicação de Patente Europeia nº EP 0526171 B1. A repaglinida e a nateglinida podem ser administradas na forma como são comercializadas sob as marcas comerciais NOVONORM™ e STARLIX™, respetivamente.

Os exemplos de inibidores de alfa-glucosidase incluem, mas não se limitam a, acarbose, N-(1,3-di-hidroxi-2-propil)valiolamina (voglibose) e o derivado de 1-desoxinojirimicina, miglitol. A acarbose é 4",6"-didesoxi-4'-[(1S)-(1,4,6/5)-4,5,6-tri-hidroxi-3-hidroximetil-2-ciclo-hexenilamino)maltotriose. A estrutura da acarbose pode ser também descrita como O-4,6-didesoxi-4-

{[1S,4R,5S,6S]-4,5,6-tri-hidroxi-3-(hidroximetil)-2-ciclohexen-1-il]-amino)-alfa-D-glucopiranosil-(1-4)-O-alfa-D-glucopiranosil-(1-4)-D-glucopiranoze. (Patente U.S. n° 4,062,950 e Publicação de Patente Europeia n° EP 0 226 121). A acarbose e o miglitol podem ser administrados nas formas como são comercializados sob as marcas comerciais GLUCOBAY™ e DIASTABOL 50™, respetivamente.

Os exemplos de inibidores de esvaziamento gástrico que não a GLP-1 incluem, mas não se limitam àqueles divulgados em J. Clin. Endocrinol. Metab. 2000, 85(3), 1043-1048, e Diabetes Care 1998, 21, 897-893, especialmente Amilina e análogos da mesma tais como a pramlintida. A amilina é descrita em Diabetologia, 1996, 39, 492-499.

Os exemplos de antagonistas adrenérgicos  $\alpha_2$  incluem, mas não se limitam a midaglizole, o qual é descrito em Diabetes 1987, 36, 216-220. A insulina que pode ser utilizada em associação com os inibidores de ASK1 da invenção incluem, mas não se limita a preparações de insulina animal extraída do pâncreas de bovino e porco; preparações de insulina humana sintetizada geneticamente utilizando *Escherichia coli* ou levedura; insulina de zinco; protamina de insulina de zinco; fragmento ou derivado de insulina (por exemplo, INS-1) e uma preparação de insulina oral.

Numa forma de realização particular, o composto antidiabético administrado em associação com os inibidores de ASK1 da invenção é selecionado do grupo consistindo de nateglinida, mitiglinida, repaglinida, metformina, extendatide, rosiglitazona, tesaglitazar, pioglitazona, glisoxepid, gliburida, glibenclamida, aceto-hexamida, cloropropamida, glibomurida, tolbutamida, tolazamida, glipizida, carbutamida, gliquidona, gli-hexamida,

fenbutamida, tolciclamida, glimepirida e gliclazida, incluindo quaisquer dos seus sais farmacologicamente aceitáveis.

Exemplos da preparação e formulação de inibidores de PTPase, inibidores de GSK-3, compostos miméticos de molécula não pequena, inibidores de GFAT, inibidores de G6Pase, antagonistas do recetor de glucagina, inibidores de PEPCK, inibidores de F-1,6-BPase, inibidores de GP, moduladores de RXR, agonistas de AR Beta-3, inibidores de PDHK, inibidores de esvaziamento gástrico e moduladores de UCP são divulgados nas patentes, pedidos e referências aqui proporcionados.

No caso da terapia de associação com o Composto I, o outro composto antidiabético pode ser administrado (por exemplo, via e forma de dosagem) de um modo conhecido per se para esse composto. Os inibidores de ASK1 da invenção e o outro composto antidiabético podem ser administrados sequencialmente (isto é, em alturas separadas) ou ao mesmo tempo, quer um após o outro separadamente em duas formas de dosagem separadas quer numa forma de dosagem única, associada. Numa forma de realização particular, o outro composto antidiabético é administrado com os inibidores de ASK1 da invenção como uma única forma de dosagem associada. A dose do composto antidiabético pode ser seleccionada da gama conhecida como sendo clinicamente utilizada para esse composto. Quaisquer compostos terapêuticos para complicações diabéticas, compostos anti-hiperlipidémicos, compostos anti-obesidade ou compostos anti-hipertensores podem ser utilizados em associação com os inibidores de ASK1 da invenção do mesmo modo que os compostos antidiabéticos acima. Os exemplos de compostos terapêuticos para complicações diabéticas incluem, mas não se limitam a, inibidores da aldose-redutase tais como tolrestat,

epalrestat, zenarestat, zopolrestat, minalrestat, fidarestat, CT-112 e ranirestat; fatores neurotróficos e compostos que aumentam os mesmos tais como NGF, NT-3, BDNF e promotores da produção-secreção de neurotrofina descritos em WO01/14372 (por exemplo, 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazole); estimuladores da neurogênese tais como Y-128; inibidores de PKC tais como mesilato de ruboxistaurina; inibidores de AGE tais como ALT946, pimagedina, brometo de N-fenaciltiazólio (ALT766), ALT-711, EXO-226, piridorina e piridoxamina; armadilhas de oxigénio reativo tais como ácido tióctico; vasodilatadores cerebrais tais como tiaprida e mexiletina; agonistas do recetor de somatostatina tais como BIM23190; e inibidores da cinase de regulação do sinal de apoptose-1 (ASK-1). Os exemplos de compostos anti-hiperlipidémicos incluem, mas não se limitam a, inibidores da HMG-CoA-redutase tais como pravastatina, simvastatina, lovastatina, atorvastatina, fluvastatina, rosuvastatina e pitavastatina; inibidores da esqualeno-sintase tais como os compostos descritos em WO97/10224 (por exemplo, ácido N-[[[(3R,5S)-1-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-7-cloro-5-(2,3-dimetoxifenil)-2-oxo-1,2,3,5-tetra-hidro-4,1-benzoxazepin-3-il]acetil]piperidina-4-acético); compostos de fibrato tais como bezafibrato, clofibrato, sinfibrato e clinofibrato; inibidores de ACAT tais como avasimibe e eflucimibe; resinas de troca aniónica tais como colestiramina; probucol; fármacos de ácido nicotínico tais como nicomol e niceritrol; icosapentato de etilo; e esteróis vegetais tais como esteróis de soja e  $\gamma$ -orizanol. Os exemplos de compostos anti-obesidade incluem, mas não se limitam a, dexfenfluramina, fenfluramina, fentermina, sibutramina, anfepramona, dexanfetamina, mazindol, fenilpropanolamina, clobenzorex; antagonistas do recetor de MCH tais como SB-568849 e SNAP-7941; antagonistas do

neuropéptido Y tais como CP-422935; antagonistas do recetor de canabinóides tais como SR-141716 e SR-147778; antagonista de grelina; inibidores de  $11\beta$ -hidroxiesteróide-desidrogenase tais como BVT-3498; inibidores da lipase pancreática tais como orlistato e ATL-962; agonistas de AR Beta-3 tais como AJ-9677; anorexígenos peptídicos tais como leptina e CNTF (Fator Neurotrófico Ciliar); agonistas de colecistocinina tais como lintitript e FPL-15849; e supressor do apetite tal como P-57. Os exemplos dos compostos anti-hipertensores incluem inibidores da enzima de conversão da angiotensina tais como captopril, enalapril e delapril; antagonistas de angiotensina II tais como candesartan cilexetil, losartan, eprosartan, valsartan, telmisartan, irbesartan, olmesartan medoxomil, tasosartan e ácido  $1-[[2'-(2,5\text{-di-hidro-5-oxo-4H-1,2,4-oxadiazol-3-il})\text{bifenil-4-il}] \text{metil}]-2\text{-etoxi-1H-benzimidazole-7-carboxílico}$ ; bloqueadores do canal de cálcio tais como manidipina, nifedipina, nicardipina, amlodipina e efonidipina; abridores de canal de potássio tais como levcromakalim, L-27152, AL0671 e NIP-121; e clonidina.

A estrutura dos agentes ativos aqui identificados pelos números de código, nomes comuns ou comerciais pode ser retirada da edição atual do compêndio de referência "The Merck Index" ou de bases de dados, por exemplo Patents International (por exemplo IMS World Publications). O conteúdo correspondente do mesmo é aqui incorporado por referência. Qualquer especialista na técnica está completamente capacitado para identificar os agentes ativos e, com base nestas referências, igualmente capacitado para fabricar e testar as indicações e propriedades farmacêuticas em modelos de ensaio correntes, tanto in vitro como in vivo.

### **Composições Compreendendo Inibidores de ASK1**

Um grande variedade de composições e métodos de administração pode ser utilizada em conjunto com os compostos da presente invenção. Tais composições podem incluir, além dos compostos da presente invenção, excipientes farmacêuticos convencionais e outros agentes farmacêuticamente inativos convencionais. Além disso, as composições podem incluir agentes ativos além dos compostos da presente invenção. Estes agentes ativos adicionais podem incluir compostos de acordo com a invenção adicional e/ou um ou mais outros agentes farmacêuticamente ativos.

As composições podem estar na forma gasosa, líquida, semilíquida ou sólida, formuladas de um modo adequado para a via de administração a ser utilizada. Para administração oral, são tipicamente utilizados cápsulas e comprimidos. Para administração parentérica, é tipicamente utilizada a reconstituição de um pó liofilizado, preparado como aqui descrito.

As composições compreendendo os compostos da presente invenção podem ser administradas ou coadministradas por via oral, parentérica, intraperitoneal, intravenosa, intra-arterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, retal, transbucal, intranasal, lipossomal, inalação, vaginal, intraocular, administração local (por exemplo, por cateter ou endoprótese), subcutânea, intra-adiposa, intra-articular ou intratecal. Os compostos e/ou composições de acordo com a invenção podem ser também administrados ou coadministrados em formas de dosagem de libertação lenta.

Os inibidores de ASK1 e as composições compreendendo os mesmos podem ser administrados ou coadministrados em qualquer forma de dosagem convencional. Coadministração no

contexto desta invenção pretende significar a administração de mais do que um agente terapêutico, um dos quais inclui um inibidor de ASK1, no decurso de um tratamento coordenado para conseguir um resultado clínico melhorado. Uma tal coadministração pode ser também coextensiva, isto é, ocorrer durante períodos de tempo sobrepostos.

As soluções ou suspensões utilizadas para aplicação parentérica, intradérmica, subcutânea ou tópica podem incluir opcionalmente uma ou mais das seguintes componentes: um diluente estéril, tal como água para preparação injetável, soro fisiológico, óleo fixo, polietileno glicol, glicerina, propileno glicol ou outro solvente sintético; agentes antimicrobianos, tais como álcool benzílico e metilparabenos; antioxidantes, tais como ácido ascórbico e bissulfito de sódio; agentes quelantes, tais como ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA); tampões, tais como acetatos, citratos e fosfatos; agentes para a adaptação da tonicidade tal como cloreto de sódio ou dextrose, e agentes para ajustar a acidez ou alcalinidade da composição, tais como agentes de alcalinização ou acidificação ou tampões como carbonatos, bicarbonatos, fosfatos, ácido clorídrico e ácidos orgânicos como acético e ácido cítrico. As preparações parentéricas podem estar opcionalmente encerradas em ampolas, seringas descartáveis ou frascos de dose única ou múltipla feitos em vidro, plástico ou outro material adequado.

Quando os compostos de acordo com a presente invenção exibem solubilidade insuficiente, podem ser utilizados métodos para solubilizar os compostos. Tais métodos são conhecidos dos especialistas nesta técnica e incluem, mas não se limitam a, utilização de co-solventes, tais como dimetilsulfóxido (DMSO), utilização de tensioativos, tais como TWEEN, ou dissolução em bicarbonato de sódio aquoso.



Podem ser também utilizados derivados dos compostos, tais como pró-fármacos dos compostos na formulação de composições farmacêuticas eficazes.

Ao misturar ou adicionar os compostos de acordo com a presente invenção a uma composição pode formar-se uma solução, suspensão, emulsão ou semelhantes. A forma da composição resultante dependerá de um número de fatores, incluindo o modo de administração pretendido e a solubilidade do composto no transportador ou veículo selecionado. A concentração eficaz necessária para melhorar a doença a ser tratada pode ser determinada empiricamente.

São opcionalmente proporcionadas composições de acordo com a presente invenção para administração em humanos e animais em formas de dosagem unitária, tais como comprimidos, cápsulas, pílulas, pós, pós secos para inaladores, granulados, soluções ou suspensões parentéricas estéreis, e soluções ou suspensões orais, e emulsões óleo-água contendo quantidades adequadas dos compostos, particularmente dos sais farmacêuticamente aceitáveis, preferencialmente dos sais de sódio, dos mesmos. Os compostos farmacêuticos e terapeuticamente ativos e seus derivados são tipicamente formulados e administrados em formas de dosagem unitária ou formas de dosagem múltipla. Formas de dosagem unitária, como aqui utilizado, refere-se a unidades fisicamente discretas adequadas para indivíduos humanos e animais e embaladas individualmente como é conhecido na técnica. Cada dose unitária contém uma quantidade predeterminada do composto terapeuticamente ativo suficiente para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com o transportador, veículo ou diluente farmacêutico necessário. Os exemplos de formas de dosagem unitárias incluem ampolas e seringas, comprimidos ou cápsulas embalados individualmente. As formas de dosagem unitárias podem ser

administradas em frações ou múltiplos das mesmas. Uma forma de dosagem múltipla é uma multiplicidade de formas de dosagem unitária idênticas embaladas num único recipiente para serem administradas numa forma de dosagem unitária segregada. Os exemplos de formas de dosagem múltipla incluem frasquinhos, frascos de comprimidos ou cápsulas ou frascos de quartilho ou galões. Assim, a forma de dosagem múltipla é um múltiplo de doses unitárias que não estão segregadas em embalagens.

Além de um ou mais compostos de acordo com a presente invenção, a composição pode compreender: um diluente tal como lactose, sacarose, fosfato dicálcico ou carboximetilcelulose; um lubrificante, tal como estearato de magnésio, estearato de cálcio e talco; e um aglutinante tal como amido, gomas naturais, tais como goma-arábica, gelatina, glucose, melaço, polivinilpirrolidina, celuloses e seus derivados, povidona, crospovidonas e outros aglutinantes deste tipo conhecidos dos especialistas na técnica. As composições farmacêuticamente administráveis líquidas podem ser preparadas, por exemplo, dissolvendo, dispersando ou misturando de outro modo um composto ativo como definido acima e adjuvantes farmacêuticos opcionais num transportador, tal como, por exemplo, água, soro fisiológico, dextrose aquosa, glicerol, glicóis, etanol e semelhantes, para formar uma solução ou suspensão. Se desejado, a composição farmacêutica a ser administrada pode conter também quantidades mais pequenas de substâncias auxiliares tais como humectantes, emulsionantes ou solubilizantes, agentes tampão de pH e semelhantes, por exemplo, acetato, citrato de sódio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitano, trietanolamina, acetato de sódio, oleato de trietanolamina, e outros agentes desse tipo. Os métodos efetivos de preparação dessas formas de dosagem são conhecidos na técnica, ou

serão evidentes, para os especialistas nesta técnica; por exemplo, ver Remington: The Science and Practices of Pharmacy, Lippincott Williams, and Wilkins Publisher, 21st edition, 2005. Em qualquer caso, a composição ou formulação a ser administrada conterá uma quantidade suficiente de um inibidor da presente invenção para reduzir a atividade ASK1 *in vivo*, tratando desse modo o estado patológico do indivíduo.

As formas de dosagem ou composições podem compreender opcionalmente um ou mais compostos de acordo com a presente invenção na gama de 0,005% a 100% (peso/peso) compreendendo a diferença substâncias adicionais tais como aquelas aqui descritas. Para administração oral, uma composição farmacologicamente aceitável pode compreender opcionalmente qualquer um ou mais excipientes geralmente utilizados, tais como, por exemplo tipos farmacêuticos de manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, talco, derivados de celulose, croscarmellose de sódio, glucose, sacarose, carbonato de magnésio, sacarina sódica, talco. Tais composições incluem soluções, suspensões, comprimidos, cápsulas, pós, pós secos para inaladores e formulações de libertação prolongada, tais como, mas não se limitando a, implantes e sistemas de administração microencapsulados, e polímeros biodegradáveis, biocompatíveis, tais como colagénio, acetato de etileno vinilo, polianidridos, poli(ácido glicólico), poliortoésteres, poli(ácido láctico) e outros. Os métodos para preparar estas formulações são conhecidos dos especialistas na técnica. As composições podem conter opcionalmente 0,01%-100% (peso/peso) de um ou mais inibidores de ASK1, opcionalmente 0,1-95% e opcionalmente 1-95%.

Os sais, preferencialmente sais de sódio, dos inibidores podem ser preparados com transportadores que protegem o

composto contra a eliminação rápida a partir do corpo, tais como formulações ou revestimentos de libertação programada. As formulações podem incluir ainda outros compostos ativos para obter combinações desejadas de propriedades.

#### **A. Formulações para Administração Oral**

As formas de dosagem farmacêutica orais podem estar como um sólido, gel ou líquido. Os exemplos de formas de dosagem sólidas incluem, mas não se limitam a comprimidos, cápsulas, granulados e pós a granel. Os exemplos mais específicos de comprimidos orais incluem pastilhas e comprimidos prensados, para mastigar que podem ser revestidos de forma entérica, revestidos com açúcar ou revestidos com película. Os exemplos de cápsulas incluem cápsulas de gelatina dura ou mole. Os granulados e pós podem ser proporcionados em formas não efervescentes ou efervescentes. Cada um pode ser combinado com outros ingredientes conhecidos dos especialistas na técnica.

Em certas formas de realização, os compostos de acordo com a presente invenção são proporcionados como formas de dosagem sólidas, preferencialmente cápsulas ou comprimidos. Os comprimidos, pílulas, cápsulas, trociscos e semelhantes podem conter opcionalmente um ou mais dos seguintes ingredientes ou compostos de uma natureza semelhante: um aglutinante; um diluente; um desintegrante; um lubrificante; um deslizante; um edulcorante; e um aromatizante.

Os exemplos de aglutinantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, celulose microcristalina, goma tragacanta, solução de glucose, goma-arábica, mucilagem, solução de gelatina, sacarose e pasta de amido.

Os exemplos de lubrificantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, talco, amido, estearato de magnésio ou cálcio, licopódio e ácido esteárico.

Os exemplos de diluentes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, lactose, sacarose, amido, caulino, sal, manitol e fosfato dicálcico.

Os exemplos de deslizantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, dióxido de silício coloidal.

Os exemplos de desintegrantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, croscarmelose de sódio, amidoglicolato de sódio, ácido algínico, amido de milho, amido de batata, bentonite, metilcelulose, ágar e carboximetilcelulose.

Os exemplos de corantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, qualquer um dos corantes FD e C solúveis em água certificados, aprovados, misturas dos mesmos; e corantes FD e C insolúveis em água suspensos em hidrato de alumina.

Os exemplos de edulcorantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, sacarose, lactose, manitol e edulcorantes artificiais tais como ciclamato de sódio e sacarina, e qualquer número de aromas secos por pulverização.

Os exemplos de aromatizantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, aromas naturais extraídos de plantas tais como frutos e misturas sintéticas de compostos que produzem uma sensação agradável, tais como, mas não se limitando a hortelã-pimenta e salicilato de metilo.

Os exemplos de humectantes que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, monoestearato de propileno glicol, monooleato de sorbitano, monolaurato de dietileno glicol e éter laurílico de polioxietileno.

Os exemplos de revestimentos antieméticos que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, ácidos gordos, gorduras, ceras, goma-laca, goma-laca amoniacal e acetato ftalato de celulosas.

Os exemplos de revestimentos por película que podem ser utilizados incluem, mas não se limitam a, hidroxietilcelulose, carboximetilcelulose sódica, polietileno glicol 4000 e acetato ftalato de celulose.

Se for pretendida administração oral, o sal do composto pode ser opcionalmente proporcionado numa composição que o protege do ambiente ácido do estômago. Por exemplo, a composição pode ser formulada com um revestimento entérico que mantém a sua integridade no estômago e liberta o composto ativo no intestino. A composição pode ser também formulada em associação com um antiácido ou outro ingrediente desse tipo.

Quando a forma unitária de dosagem é uma cápsula, ela pode compreender opcional e adicionalmente um transportador líquido tal como um óleo gordo. Além disso, as formas unitárias de dosagem podem compreender opcional e adicionalmente vários outros materiais que modificam a forma física da unidade de dosagem, por exemplo, revestimentos de açúcar e outros agentes entéricos.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser também administrados como uma componente de um elixir,

suspensão, xarope, hóstia, formulação para pulverização, pastilha elástica ou semelhantes. Um xarope pode compreender opcionalmente, além dos compostos ativos, sacarose como um edulcorante e certos conservantes, corantes e colorantes e aromas.

Os compostos da presente invenção podem ser também misturados com outros materiais ativos que não comprometam a ação desejada ou com materiais que complementem a ação desejada, tais como antiácidos, bloqueadores de  $H_2$ , « e diuréticos. Por exemplo, se um composto é utilizado para o tratamento de asma ou hipertensão, ele pode ser utilizado com outros broncodilatadores e agentes anti-hipertensores, respetivamente.

Os exemplos de transportadores farmacêuticamente aceitáveis que podem ser incluídos nos comprimidos compreendendo compostos da presente invenção incluem, mas não se limitam a aglutinantes, lubrificantes, diluentes, desintegrantes, corantes, aromatizantes e humectantes. Os comprimidos com revestimento entérico, devido ao revestimento entérico, resistem à ação do ácido no estômago e dissolvem-se ou desintegram-se nos intestinos neutros ou alcalinos. Os comprimidos revestidos com açúcar podem ser comprimidos prensados, nos quais são aplicadas várias camadas de substâncias farmacêuticamente aceitáveis. Os comprimidos revestidos com película podem ser comprimidos prensados que foram revestidos com polímeros ou outro revestimento adequado. Os comprimidos prensados múltiplos podem ser comprimidos prensados preparados por mais do que um ciclo de compressão utilizando as substâncias farmacêuticamente aceitáveis anteriormente mencionadas. Podem ser também utilizados corantes nos comprimidos. Podem ser utilizados aromatizantes e edulcorantes nos comprimidos, e são

especialmente úteis na preparação de comprimidos e pastilhas para mastigar.

Os exemplos de formas de dosagem orais líquidas que podem ser utilizadas incluem, mas não se limitam a, soluções, emulsões, suspensões aquosas, soluções e/ou suspensões reconstituídas a partir de granulados não efervescentes e preparações efervescentes reconstituídas a partir de granulados efervescentes.

Os exemplos de soluções aquosas que podem ser utilizadas incluem, mas não se limitam a, elixires e xaropes. Como aqui utilizado, elixires referem-se a preparações hidroalcoólicas, transparentes, dulcificadas. Os exemplos de transportadores farmacologicamente aceitáveis que podem ser utilizados nos elixires incluem, mas não se limitam a solventes. Os exemplos particulares de solventes que podem ser utilizados incluem glicerina, sorbitol, álcool etílico e xarope. Como aqui utilizado, xaropes referem-se a soluções aquosas concentradas de um açúcar, por exemplo, sacarose. Os xaropes podem compreender ainda opcionalmente um conservante.

As emulsões referem-se a sistemas difásicos nos quais um líquido está disperso na forma de pequenos glóbulos ao longo do outro líquido. As emulsões podem ser opcionalmente emulsões de óleo em água ou água em óleo. Os exemplos de transportadores farmacologicamente aceitáveis que podem ser utilizados em emulsões incluem, mas não se limitam a líquidos não aquosos, emulsionantes e conservantes.

Os exemplos de substâncias farmacologicamente aceitáveis que podem ser utilizadas em granulados não efervescentes, para



serem reconstituídos numa forma de dosagem oral líquida, incluem diluentes, edulcorantes e humectantes.

Os exemplos de substâncias farmacêuticamente aceitáveis que podem ser utilizadas em granulados efervescentes, para serem reconstituídas numa forma de dosagem oral líquida, incluem ácidos orgânicos e uma fonte de dióxido de carbono.

Em todas as formas de dosagem acima podem ser opcionalmente utilizados corantes e aromatizantes.

Os exemplos particulares de conservantes que podem ser utilizados incluem glicerina, metilo e propilparabeno, ácido benzóico, benzoato de sódio e álcool.

Os exemplos particulares de líquidos não aquosos que podem ser utilizados em emulsões incluem óleo mineral e óleo de semente de algodão.

Os exemplos particulares de emulsionantes que podem ser utilizados incluem gelatina, goma-arábica, tragacanta, bentonite e tensioativos tais como monooleato de polioxietileno sorbitano.

Os exemplos particulares de agentes de suspensão que podem ser utilizados incluem carboximetilcelulose sódica, pectina, tragacanta, Veegum e goma-arábica. Os diluentes incluem lactose e sacarose. Os edulcorantes incluem sacarose, xaropes, glicerina e edulcorantes artificiais tais como ciclamato de sódio e sacarina.

Os exemplos particulares de humectantes que podem ser utilizados incluem monoestearato de propileno glicol,

monooleato de sorbitano, monolaurato de dietileno glicol, e éter laurílico de polioxietileno.

Os exemplos particulares de ácidos orgânicos que podem ser utilizados incluem ácido cítrico e tartárico.

As fontes de dióxido de carbono que podem ser utilizadas em composições efervescentes incluem bicarbonato de sódio e carbonato de sódio. Os corantes incluem qualquer um dos corantes FD e C solúveis em água certificados, aprovados e misturas dos mesmos.

Os exemplos particulares de aromatizantes que podem ser utilizados incluem aromas naturais extraídos de plantas tais como frutos, e misturas sintéticas de compostos que produzem uma sensação de sabor agradável.

Para uma forma de dosagem sólida, a solução ou suspensão, por exemplo, em carbonato de propileno, óleos vegetais ou triglicéridos, é preferencialmente encapsulada numa cápsula de gelatina. Essas soluções, e a preparação e encapsulamento das mesmas, são divulgadas nas Patentes U.S. nº 4,328,245; 4,409,239; e 4,410,545. Por exemplo, para uma forma de dosagem líquida, a solução, *por exemplo*, num polietileno glicol, pode ser diluída com uma quantidade suficiente de um transportador farmacêuticamente aceitável líquido, por exemplo, água, para ser facilmente medida para administração.

Alternativamente, as formulações orais líquidas ou semissólidas podem ser preparadas dissolvendo ou dispersando o composto ativo ou sal em óleos vegetais, glicóis, triglicéridos, ésteres propileno glicólicos (por exemplo, carbonato de propileno) e outros transportadores

desse tipo, e encapsulando estas soluções ou suspensões em invólucros de cápsulas de gelatina dura ou mole. Outras formulações úteis incluem aquelas definidas nas Patentes U.S. n° Re 28,819 e 4,358,603.

## **B. Injetáveis, Soluções e Emulsões**

A presente invenção é dirigida também a composições concebidas para administrar os compostos da presente invenção por administração parentérica, geralmente caracterizada por injeção subcutânea, intramuscular ou intravenosa. Os injetáveis podem ser preparados em qualquer forma convencional, por exemplo como soluções ou suspensões líquidas, formas sólidas adequadas para solubilização ou suspensão num líquido antes da injeção, ou como emulsões.

Os exemplos de excipientes que podem ser utilizados em conjunto com os injetáveis de acordo com a presente invenção incluem, mas não se limitam a água, soro fisiológico, dextrose, glicerol ou etanol. As composições injetáveis podem também compreender opcionalmente quantidades mais pequenas de substâncias auxiliares não tóxicas tais como humectantes ou emulsionantes, agentes tampão de pH, estabilizantes, intensificadores de solubilidade e outros agentes desse tipo, tais como, por exemplo, acetato de sódio, monolaurato de sorbitano, oleato de trietanolamina e ciclodextrinas. É também aqui considerada implantação de um sistema de libertação lenta ou libertação prolongada, para que seja mantido um nível de dosagem constante (ver, por exemplo, Patente U.S. n° 3,710,795). A percentagem de composto ativo contida em tais composições parentéricas é altamente dependente da natureza específica do mesmo, bem como da atividade do composto e das necessidades do indivíduo.

A administração parentérica das formulações inclui as administrações intravenosa, subcutânea e intramuscular. As preparações para administração parentérica incluem soluções estéreis prontas para injeção, produtos solúveis secos estéreis, tais como os pós liofilizados aqui descritos, prontos para serem combinados com um solvente imediatamente antes da utilização, incluindo comprimidos hipodérmicos, suspensões estéreis prontas para injeção, produtos insolúveis secos estéreis prontos para serem combinados com um veículo imediatamente antes da utilização e emulsões estéreis. As soluções podem ser aquosas ou não aquosas.

Quando administradas por via intravenosa, os exemplos de transportadores adequados incluem, mas não se limitam a soro fisiológico ou soro fisiológico tamponado com fosfato (PBS), e soluções contendo espessantes e solubilizantes, tais como glucose, polietileno glicol e polipropileno glicol, e misturas dos mesmos.

Os exemplos de transportadores farmacologicamente aceitáveis que podem ser opcionalmente utilizados em preparações parentéricas incluem, mas não se limitam a veículos aquosos, veículos não aquosos, agentes antimicrobianos, agentes isotônicos, tampões, antioxidantes, anestésicos locais, agentes de suspensão e dispersantes, emulsionantes, sequestrantes ou agentes quelantes e outras substâncias farmacologicamente aceitáveis.

Os exemplos de veículos aquosos que podem ser opcionalmente utilizados incluem Cloreto de Sódio Injetável, Ringers Injetável, Dextrose Isotônica Injetável, Água Estéril Injetável, Dextrose e Ringers com Lactato Injetável.

Os exemplos de veículos parentéricos não aquosos que podem ser opcionalmente utilizados incluem óleos fixos de origem vegetal, óleo de semente de algodão, óleo de milho, óleo de sésamo e óleo de amendoim.

Podem ser adicionados agentes antimicrobianos em concentrações bacteriostáticas ou fungistáticas às preparações parentéricas, particularmente quando as preparações são embaladas em recipientes de dose múltipla e são, assim, concebidos para serem conservados e retiradas múltiplas alíquotas. Os exemplos de agentes antimicrobianos que podem ser utilizados incluem fenóis ou cresóis, mercuriais, álcool benzílico, clorobutanol, ésteres metílicos e propílicos do ácido *p*-hidroxibenzóico, timerosal, cloreto de benzalcónio e cloreto de benzetónio.

Os exemplos de agentes isotónicos que podem ser utilizados incluem cloreto de sódio e dextrose. Os exemplos de tampões que podem ser utilizados incluem fosfato e citrato. Os exemplos de antioxidantes que podem ser utilizados incluem bissulfato de sódio. Os exemplos de anestésicos locais que podem ser utilizados incluem cloridrato de procaína. Os exemplos de agentes de suspensão e dispersantes que podem ser utilizados incluem carboximetilcelulose sódica, hidroxipropilmetilcelulose e polivinilpirrolidona. Os exemplos de emulsionantes que podem ser utilizados incluem Polissorbato 80 (TWEEN 80). Um sequestrante ou agente quelante de iões metálicos inclui EDTA.

Os transportadores farmacêuticos podem incluir também opcionalmente álcool etílico, polietileno glicol e propileno glicol para veículos miscíveis com água e hidróxido de sódio, ácido clorídrico, ácido cítrico ou ácido láctico para ajuste do pH.

A concentração de um inibidor na formulação parentérica pode ser ajustada de forma que uma injeção administre uma quantidade farmacologicamente eficaz suficiente para produzir o efeito farmacológico desejado. A concentração exata de um inibidor e/ou dosagem a ser utilizada dependerá, em última análise, da idade, peso e condição do doente ou animal como é conhecido na técnica.

As preparações parentéricas de dose unitária podem ser embaladas numa ampola, um frasco ou uma seringa com uma agulha. Todas as preparações para administração parentérica devem ser estéreis, como é conhecido e praticado na técnica.

Os injetáveis podem ser concebidos para administração local e sistêmica. Tipicamente, uma dosagem terapeuticamente eficaz é formulada para conter uma concentração de pelo menos cerca de 0,1 % p/p até cerca de 90% p/p ou mais, preferencialmente mais do que 1% p/p do inibidor de ASK1 para o(s) tecido(s) tratado(s). O inibidor pode ser administrado de uma única vez, ou pode ser dividido num número de doses mais pequenas a serem administradas em intervalos de tempo. Entende-se que a dosagem e duração de tratamento exatas serão uma função da localização onde a composição é administrada por via parentérica, do transportador e de outras variáveis que podem ser determinadas empiricamente utilizando protocolos de avaliação conhecidos ou por extrapolação a partir de dados de ensaio *in vivo* ou *in vitro*. Refira-se que as concentrações e valores de dosagem podem variar também com a idade do indivíduo tratado. Entende-se ainda que para qualquer indivíduo particular, os regímenes de dosagem específicos podem ter de ser ajustados ao longo do tempo de acordo com as necessidades individuais e a avaliação

profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das formulações. Assim, as gamas de concentração aqui definidas destinam-se a ser ilustrativas e não se destinam a limitar o âmbito ou prática das formulações reivindicadas.

O inibidor de ASK 1 pode ser opcionalmente suspenso na forma micronizada ou outra forma adequada ou pode ser derivatizado para produzir um produto ativo mais solúvel ou para produzir um profármaco. A forma da mistura resultante depende de um número e fatores, incluindo o modo de administração pretendido e a solubilidade do composto no transportador ou veículo selecionado. A concentração eficaz é suficiente para melhorar os sintomas do estado patológico e pode ser determinada empiricamente.

### **C. Pós Liofilizados**

Os compostos da presente invenção podem ser também preparados como pós liofilizados, os quais podem ser reconstituído para administração como soluções, emulsões e outras misturas. Os pós liofilizados podem ser também formulados como sólidos ou geles.

O pó liofilizado estéril pode ser preparado dissolvendo o composto numa solução tampão de fosfato de sódio contendo dextrose ou outro excipiente adequado. A filtração estéril posterior da solução, seguida de liofilização sob condições correntes conhecidas dos especialistas na técnica proporcionam a formulação desejada. Resumidamente, o pó liofilizado pode ser opcionalmente preparado dissolvendo cerca de 1-20%, preferencialmente cerca de 5 a 15% de dextrose, sorbitol, frutose, xarope de milho, xilitol, glicerina, glucose, sacarose ou outro agente adequado, num

tampão adequado, tal como citrato, fosfato de sódio ou potássio ou outro tampão desse tipo, conhecido dos especialistas na técnica, tipicamente, a cerca de pH neutro. Em seguida, é adicionado um inibidor de ASK1 à mistura resultante, preferencialmente acima da temperatura ambiente, mais preferencialmente a cerca de 30-35 °C, e agitada até se dissolver. A mistura resultante é diluída adicionando mais tampão até uma concentração desejada. A mistura resultante é esterilizada por filtração ou tratada para remover partículas e para assegurar a esterilidade, e distribuída em frascos para liofilização. Cada frasco pode conter uma única dosagem ou múltiplas dosagens do inibidor.

#### **D. Formulação para Administração Tópica**

Os compostos da presente invenção podem ser também administrados como misturas tópicas. As misturas tópicas podem ser utilizadas para administração local e sistémica. A mistura resultante pode ser uma solução, suspensão, emulsão ou semelhantes e é formulada como cremes, geles, pomadas, emulsões, soluções, elixires, loções, suspensões, tinturas, pastas, espumas, aerossóis, irrigações, formulações para pulverização, supositórios, ligaduras, adesivos dérmicos ou quaisquer outras formulações adequadas para administração tópica.

Os inibidores de ASK1 podem ser formulados como aerossóis para aplicação tópica, tal como por inalação (ver, Patentes U.S. n° 4,044,126, 4,414,209 e 4,364,923, as quais descrevem aerossóis para a administração de um esteroide útil para o tratamento de doenças inflamatórias, particularmente asma). Estas formulações para administração no aparelho respiratório pode estar na forma de um aerossol ou solução para um nebulizador, ou como um pó microfino



para insuflação, sozinho ou em associação com um transportador inerte tal como lactose. Neste caso, as partículas da formulação terão tipicamente diâmetros de menos de 50 micrones, preferencialmente menos de 10 micrones.

Os inibidores podem ser também formulados para aplicação local ou tópica, tal como para aplicação tópica à pele e membranas da mucosa, tal como no olho, na forma de geles, cremes e loções e para aplicação no olho ou para aplicação intracisternal ou intraespinal. A administração tópica é considerada para administração transdérmica e também para administração nos olhos ou mucosa, ou para terapias de inalação. Podem ser também administradas soluções nasais do inibidor de ASK1 sozinho ou em associação com outros excipientes farmacologicamente aceitáveis.

#### **E. Formulações para Outras Vias de Administração**

Dependendo do estado patológico a ser tratado, podem ser também utilizadas outras vias de administração, tais como a aplicação tópica, adesivos transdérmicos e administração retal. Por exemplo, as formas de dosagem farmacêutica para administração retal são supositórios retais, cápsulas e comprimidos para efeito sistémico. Os supositórios retais como aqui utilizados significam corpos sólidos para inserção no reto que fundem ou amolecem à temperatura do corpo libertando um ou mais ingredientes farmacologicamente ou terapeuticamente ativos. As substâncias farmacologicamente aceitáveis utilizadas nos supositórios retais são bases ou veículos e agentes para aumentar o ponto de fusão. Os exemplos de bases incluem manteiga de cacau (óleo de teobroma), glicerina-gelatina, carbowax, (polioxietileno glicol) e misturas apropriadas de mono-,

di- e triglicéridos de ácidos gordos. Pode ser utilizadas associações de várias bases. Os agentes para aumentar o ponto de fusão de supositórios incluem espermacete e cera. Os supositórios retais podem ser preparados pelo método de compressão ou por moldagem. O peso típico de um supositório retal é de cerca de 2 a 3 g. Os comprimidos e cápsulas para administração retal podem ser fabricados utilizando a mesma substância farmacologicamente aceitável e pelos mesmos métodos que as formulações para administração oral.

#### **F. Exemplos de Formulações**

O que se segue são exemplos particulares de formulações orais, intravenosas e em comprimidos que podem ser opcionalmente utilizadas com os compostos da presente invenção. Assinale-se que estas formulações podem ser modificadas dependendo do composto particular a ser utilizado e da indicação para a qual a formulação vai ser utilizada.

##### FORMULAÇÃO ORAL

Composto da Presente Invenção	10-100 mg
Mono-hidrato de Ácido Cítrico	105 mg
Hidróxido de Sódio	18 mg
Aromatizante	
Água	q.b. para 100 mL

##### FORMULAÇÃO INTRAVENOSA

Composto da Presente Invenção	0,1-10 mg
Mono-hidrato de Dextrose	q.b. para tornar isotónica
Cítrico Ácido Mono-hidrato	1,05 mg
Hidróxido de sódio	0,18 mg
Água para Preparação Injetável	q.b. para 1,0 mL

##### FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDOS

Composto da Presente Invenção	1%
-------------------------------	----

## FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDOS

Celulose Microcristalina	73%
Ácido Esteárico	25%
Sílica Coloidal	1%.

**Dosagem, Hospedeiro e Segurança**

Os compostos da presente invenção são estáveis e podem ser utilizados em segurança. Em particular, os compostos da presente invenção são úteis como inibidores de ASK1 para uma variedade de indivíduos (por exemplo, mamíferos humanos, não humanos e não mamíferos).

A dose ótima pode variar dependendo de condições tais como, por exemplo, o tipo de indivíduo, o peso corporal do indivíduo, da gravidade da condição, da via de administração e das propriedades específicas do composto particular a ser utilizado. Em geral, as doses diárias aceitáveis e eficazes são quantidades suficientes para abrandar ou eliminar eficazmente a condição a ser tratada. Tipicamente, a dose diária para administração oral num adulto (peso corporal de cerca de 60 kg) é de cerca de 1 a 1000 mg, cerca de 3 a 300 mg, ou cerca de 10 a 200 mg. Entender-se-á que a dose diária pode ser dada numa única administração ou em múltiplas (por exemplo, 2 ou 3) porções por dia.

**Kits e Artigos de Fabrico Compreendendo Inibidores de ASK1**

A invenção é também dirigida a kits e outros artigos de fabrico para o tratamento de doenças associadas a ASK1. Assinale-se que doenças destina-se a abranger todas as condições para as quais a ASK1 possui uma atividade que contribui para a patologia e/ou sintomatologia da condição.

Numa forma de realização, é proporcionado um kit que compreende uma composição compreendendo pelo menos um inibidor da presente invenção em associação com instruções. As instruções podem indicar o estado patológico para o qual a composição é para ser administrada, informação sobre a conservação, informação sobre a administração e/ou instruções no que se refere ao modo de administração da composição. O kit pode compreender também materiais de embalagem. O material de embalagem pode compreender um recipiente para alojamento da composição. O kit pode compreender também opcionalmente componentes adicionais, tais como seringas para administração da composição. O kit pode compreender a composição nas formas de dose única ou múltipla.

Noutra forma de realização, é proporcionado um artigo de fabrico que compreende uma composição compreendendo pelo menos um inibidor da presente invenção em associação com materiais de embalagem. O material de embalagem pode compreender um recipiente para alojamento da composição. O recipiente pode compreender opcionalmente uma etiqueta que indica o estado patológico para o qual a composição é para ser administrada, informação sobre a conservação, informação sobre a administração e/ou instruções no que se refere ao modo de administração da composição. O kit pode compreender também opcionalmente componentes adicionais, tais como seringas para administração da composição. O kit pode compreender a composição nas formas de dose única ou múltipla.

Assinale-se que o material de embalagem utilizado nos kits e artigos de fabrico de acordo com a presente invenção pode formar uma multiplicidade de recipientes divididos tais como um frasco dividido ou uma embalagem em folha dividida. O recipiente pode estar em qualquer feitio ou forma

convencional como conhecido na técnica, o qual é feito de um material farmacêuticamente aceitável, por exemplo uma caixa de papel ou cartão, um frasco ou boião de vidro ou plástico, um saco resselável (por exemplo, para conservar uma "recarga" de comprimidos para ser colocada num recipiente diferente), ou uma embalagem blister com doses individuais a serem removidas por pressão da embalagem de acordo com um plano terapêutico. O recipiente que é utilizado dependerá da forma de dosagem exata envolvida, por exemplo, uma caixa de cartão convencional não seria geralmente utilizada para manter uma suspensão líquida. É possível utilizar mais do que um recipiente em conjunto numa única embalagem para comercializar uma única forma de dosagem. Por exemplo, os comprimidos podem estar contidos num frasco que, por sua vez, está contido numa caixa. Tipicamente, o kit inclui instruções para a administração das componentes separadas. A forma de kit é particularmente vantajosa quando as componentes separadas são preferencialmente administradas em formas de dosagem diferentes (por exemplo, oral, tópica, transdérmica e parentérica), são administradas em intervalos de administração diferentes ou quando é desejada uma titulação das componentes individuais da associação pelo médico prescritor.

Um exemplo particular de um kit de acordo com a presente invenção é a chamada embalagem blister. As embalagens blister são bem conhecidas na indústria de acondicionamento e são muito utilizadas para o acondicionamento de formas de dosagem unitárias farmacêuticas (comprimidos, cápsulas e semelhantes). As embalagens blister consistem geralmente de uma lâmina de material relativamente duro coberta com uma folha de um material plástico preferencialmente transparente. Durante o processo de embalagem são formadas reentrâncias na folha de plástico. As reentrâncias têm o

tamanho e forma dos comprimidos ou cápsulas individuais a serem embalados ou podem ter um tamanho e forma para acomodar múltiplos comprimidos e/ou cápsulas a serem embalados. A seguir, os comprimidos ou cápsulas são colocados nas reentrâncias em conformidade e a lâmina de material relativamente duro é selada contra a folha de plástico na superfície da folha que está oposta à direção em que foram formadas as reentrâncias. Como um resultado, os comprimidos ou cápsulas são selados individualmente ou selados coletivamente, consoante desejado, nas reentrâncias entre a folha de plástico e a lâmina. Preferencialmente, a resistência da lâmina é de tal forma que os comprimidos ou cápsulas podem ser removidos da embalagem blister aplicando manualmente pressão nas reentrâncias, formando-se uma abertura na lâmina no local da reentrância. O comprimido ou cápsula pode ser depois removido através da referida abertura.

Outra forma de realização específica de um kit é um distribuidor concebido para fornecer as doses diárias uma de cada vez pela ordem da sua utilização pretendida. Preferencialmente, o distribuidor está munido de um auxiliar de memória, de forma a facilitar ainda mais a adesão ao regime. Um exemplo de um auxiliar de memória desse tipo é um contador mecânico que indica o número de doses diárias que foram fornecidas. Outro exemplo de um auxiliar de memória desse tipo é uma memória microchip alimentada por pilha acoplada a um leitor de cristal líquido, ou sinal de aviso sonoro o qual, por exemplo, lê a data em que foi tomada a última dose diária e/ou avisa quando deve ser tomada a dose seguinte.

### **Preparação de Inibidores de ASK1**

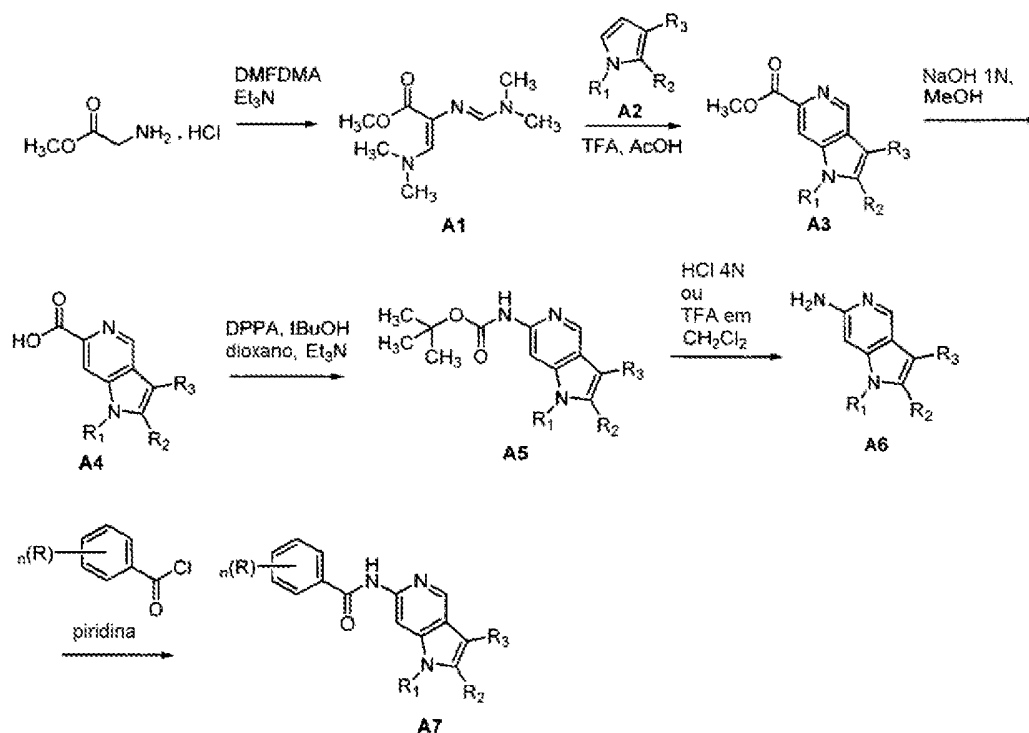
Podem ser desenvolvidos vários métodos para sintetizar os compostos de acordo com a presente invenção. Nos Exemplos são proporcionados métodos representativos para sintetizar estes compostos. No entanto, refira-se que os compostos da presente invenção podem ser também sintetizados por outras vias sintéticas que outros possam conceber.

### **Esquemas de Síntese para os Compostos da Presente Invenção**

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser sintetizados de acordo com os esquemas reacionais mostrados abaixo. Outros esquemas reacionais podem ser facilmente concebidos pelos especialistas na técnica. Entender-se-á também que uma variedade de solventes, temperaturas e outras condições reacionais diferentes podem ser modificadas para otimizar os rendimentos das reações.

Nas reações descritas a seguir pode ser necessário proteger grupos funcionais reativos, por exemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio ou carboxilo, quando estes são desejados no produto final, para impedir a sua participação indesejada nas reações. Os grupos de proteção convencionais podem ser utilizados de acordo com a prática corrente, para exemplos ver P.G.M. Wuts e T.W. Greene em "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis" 4th edition, John Wiley and Sons, 2007.

**Esquema A: Via Geral de Síntese I**

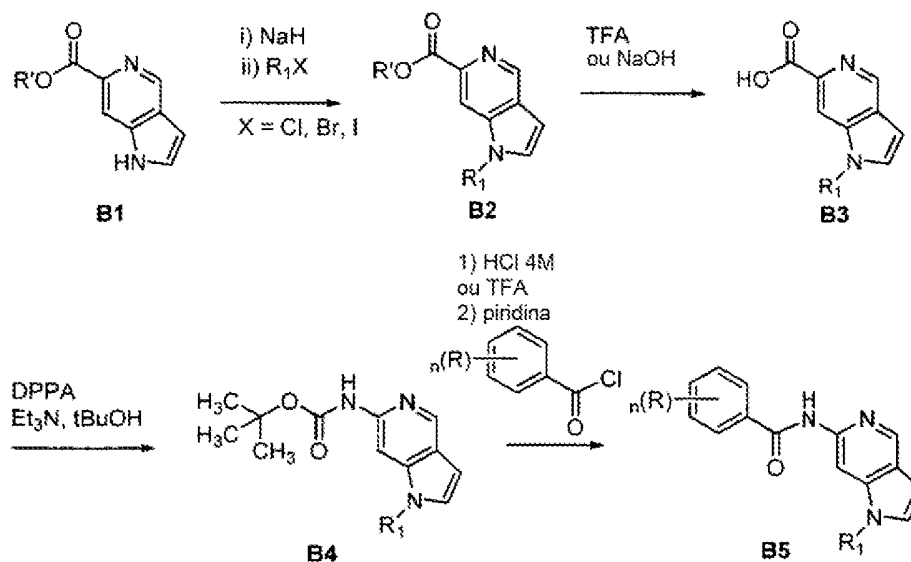


Uma via geral de síntese para produzir os compostos da presente invenção é mostrada no Esquema A. A reação do sal de HCl do éster metílico de glicina comercialmente disponível com DMFDMA na presença de trietilamina proporciona o aminoacrilato **A1**. A cicloadição de **A1** com o pirrole apropriadamente substituído **A2** dá o pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo **A3**. Depois de o éster ter sido hidrolisado para dar o ácido **A4**, o intermediário foi submetido a condições de rearranjo de Curtius para dar a amina **A5** protegida com Boc. Alternativamente, poderiam ser utilizados outros álcoois (por exemplo, álcool benzílico) para proporcionar grupos de proteção diferentes (por exemplo, CBZ). O grupo Boc de **A5** pode ser em seguida removido por HCl aquoso ou TFA em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para dar o correspondente sal de amina **A6**. Este intermediário pode ser

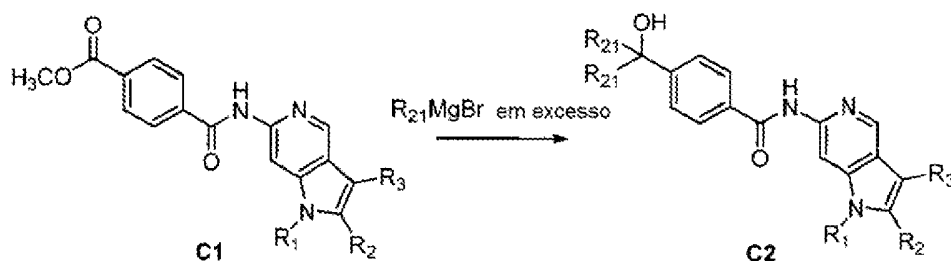


acilado com cloreto de benzoílo, substituído ou não substituído, em piridina para dar a amida **A7**.

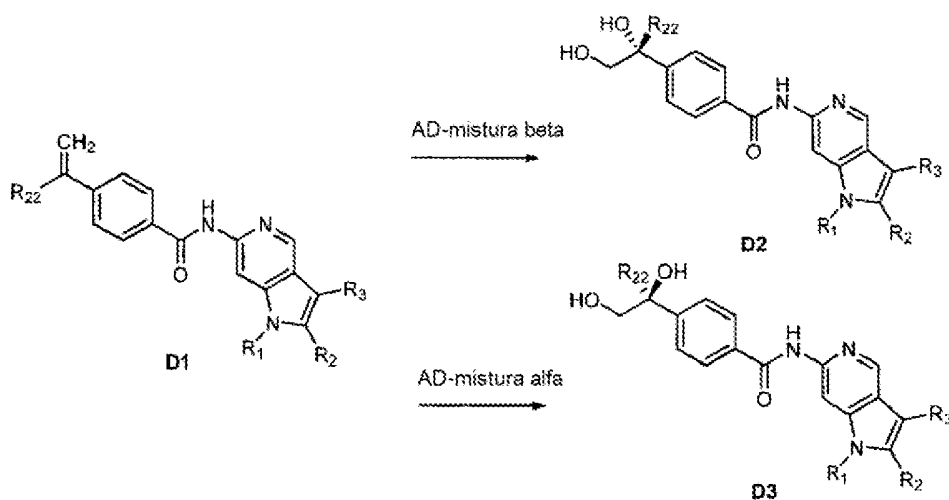
**Esquema B: Via Geral de Síntese II**



Outro via geral de síntese para produzir os compostos da presente invenção é mostrada no Esquema B. A 6-carboxi-pirrólo[3,2-c]piridina **B1** pode ser N-alkilada com um halogeneto de alquilo para dar **B2**. Após hidrólise do éster **B2** para formar o ácido **B3**, o intermediário foi submetido a condições do rearranjo de Curtius para dar o **B4** protegido com Boc. Alternativamente, poderiam ser utilizados outros álcoois (por exemplo, álcool benzílico) para proporcionar grupos de proteção diferentes (por exemplo, CBZ). A desproteção do grupo Boc seguida de acilação com cloreto de benzoílo substituído dá a amida **B5** desejada.

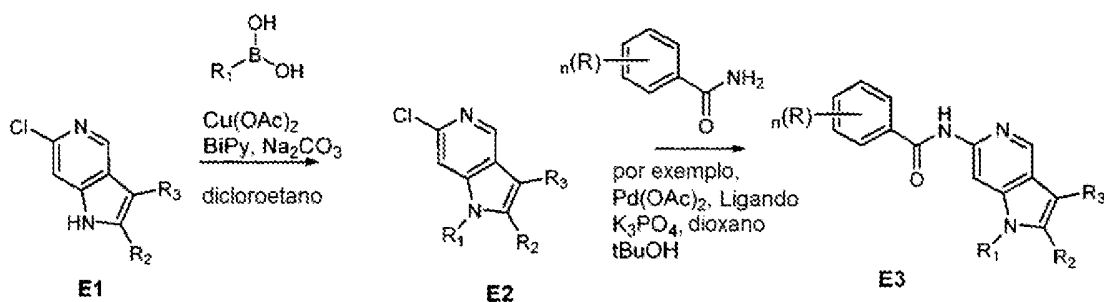
**Esquema C: Via Geral de Síntese III**

Alternativamente, os compostos da presente invenção podem ser preparados como se mostra no Esquema C. O éster **C1** é feito reagir com Grignard de alquilo ou alcenilo em excesso para dar o álcool terciário **C2**.

**Esquema D: Via Geral de Síntese IV**

Alternativamente, os compostos da presente invenção podem ser preparados como se mostra no Esquema D. O éster **D1** é feito reagir com AD-mistura beta ou AD-mistura alfa para dar o diol correspondente **D2** e **D3**, respectivamente.

**Esquema E: Via Geral de Síntese V**



Alternativamente, os compostos da presente invenção podem ser preparados como se mostra no Esquema E. A 6-cloropirrólo[3,2-c]piridina **E1** é N-alquilada por acoplamento mediado por cobre com um ácido borónico ou éster para dar **E2** (em que  $R_1$  é alquilo, cicloalquilo, alcenilo ou alcinilo). A amida **E3** desejada é obtida por acoplamento catalisado por paládio com benzamida substituída.

### Procedimentos Gerais

Será prontamente reconhecido que certos compostos de acordo com a presente invenção têm átomos com ligações a outros átomos que conferem uma estereoquímica particular ao composto (por exemplo, centros quirais). Reconhece-se que a síntese dos compostos de acordo com a presente invenção pode resultar na criação de misturas de diferentes estereoisómeros (isto é, enantiómeros e diastereómeros). A menos que seja especificada uma estereoquímica particular, a recitação de um composto destina-se a abranger todos os estereoisómeros diferentes possíveis.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser também preparados como os seus estereoisómeros individuais fazendo reagir uma mistura racémica do composto com um agente de resolução opticamente ativo para formar um par de

compostos diastereoisoméricos, separando os diastereómeros e recuperando o enantiómero opticamente puro. Embora a resolução de enantiómeros possa ser realizada utilizando derivados diastereoméricos covalentes dos compostos são preferidos os complexos dissociáveis (por exemplo, sais diastereoisoméricos cristalinos).

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser também preparados como um sal de adição de ácido farmaceuticamente aceitável fazendo reagir a forma de base livre do composto com um ácido inorgânico ou orgânico farmaceuticamente aceitável. Alternativamente, um sal de adição de base farmaceuticamente aceitável de um composto pode ser preparado fazendo reagir a forma de ácido livre do composto com uma base inorgânica ou orgânica farmaceuticamente aceitável. Os ácidos e bases inorgânicos e orgânicos adequados para a preparação dos sais farmaceuticamente aceitáveis dos compostos são definidos na secção de definições deste Pedido. Alternativamente, as formas de sal dos compostos podem ser preparadas utilizando sais dos materiais de partida ou intermediários.

As formas de ácido livre ou base livre dos compostos podem ser preparadas a partir da forma correspondente de sal de adição de base ou sal de adição de ácido. Por exemplo, um composto numa forma de sal de adição de ácido pode ser convertido na base livre correspondente tratando com uma base adequada (por exemplo, solução de hidróxido de amónio, hidróxido de sódio e semelhantes). Um composto numa forma de sal de adição de base pode ser convertido no ácido livre correspondente tratando com um ácido adequado (por exemplo, ácido clorídrico, etc).

Os *N*-óxidos dos compostos de acordo com a presente invenção podem ser preparados por métodos conhecidos dos técnicos

médios na matéria. Por exemplo, os *N*-óxidos podem ser preparados tratando uma forma não oxidada do composto com um agente oxidante (por exemplo, ácido trifluoroperacético, ácido permaleico, ácido perbenzóico, ácido peracético, ácido meta-cloroperoxibenzóico ou semelhantes) num solvente orgânico inerte adequado (por exemplo, um hidrocarboneto halogenado tal como diclorometano) a aproximadamente 0 °C. Alternativamente, os *N*-óxidos dos compostos podem ser preparados a partir do *N*-óxido de um material de partida apropriado.

Os compostos numa forma não oxidada podem ser preparados a partir dos *N*-óxidos dos compostos tratando com um agente de redução (por exemplo, enxofre, dióxido de enxofre, trifenilfosfina, boro-hidreto de lítio, boro-hidreto de sódio, tricloreto de fósforo, tribrometo ou semelhantes) num solvente orgânico inerte adequado (por exemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano aquoso ou semelhantes) a 0 até 80 °C.

Os derivados protegidos dos compostos podem ser preparados por métodos conhecidos dos técnicos médios na matéria. Uma descrição detalhada das técnicas aplicáveis à criação de grupos de proteção e sua remoção pode ser encontrada em P.G.M. Wuts e T.W. Greene, "Greene's Protecting Groups in Organic Syntheses", 4th edition, John Wiley & Sons, Inc. 2007.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser convenientemente preparados ou formados durante o processo da invenção como solvatos (por exemplo, hidratos). Os hidratos dos compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados por recristalização de uma

mistura aquosa/solvente orgânico, utilizando solventes orgânicos tais como dioxina, tetra-hidrofurano ou metanol.

Como aqui utilizados, os símbolos e convenções utilizados nestes processos, esquemas e exemplos são coerentes com os utilizados na literatura científica contemporânea, por exemplo, o Journal of the American Chemical Society ou o Journal of Biological Chemistry. As abreviaturas padrão de uma letra ou três letras são geralmente utilizadas para designar os resíduos de aminoácidos, os quais se assume que estão na configuração L, salvo indicação em contrário. Salvo indicação em contrário, todos os materiais de partida foram obtidos de fornecedores comerciais e utilizados sem mais purificação. Especificamente, as seguintes abreviaturas podem ser utilizadas nos exemplos e ao longo da especificação:

μL (microlitros)	Ac (acetilo)
atm (atmosfera)	ATP (Adenosina Trifosfatase)
BOC (terc-butiloxycarbonilo)	BOP (cloreto bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico)
BSA (Albumina de Soro Bovino)	CBZ (benziloxycarbonilo)
CDI (1,1-carbonildiimidazole)	DCC (diciclohexilcarbodiimida)
DCE (dicloroetano)	DCM (diclorometano)
DMAP (4-dimetilaminopiridina)	DME (1,2-dimetoxietano)
DMF (N,N-dimetilformamida)	DMPU (N,N'-dimetilpropilenoureia)
DMSO (dimetilsulfóxido)	EDCI (cloridrato de etilcarbodiimida)
EDTA (Ácido etilenodiaminotetraacético)	Et (etilo)
Et <sub>2</sub> O (éter dietílico)	AcOEt (acetato de etilo)
Fmoc (9-fluorenilmetoxycarbonilo)	g (grama)
h (horas)	AcOH ou HOAc (ácido acético)

HOBT (1-hidroxibenzotriazole)	HOSu (N-hidroxiissuccinimida)
HPLC (cromatografia líquida de alta pressão)	Hz (Hertz)
i.v. (intravenosa)	IBCF (cloroformato de isobutilo)
i-PrOH (isopropanol)	L (litros)
M (molar)	mCPBA (ácido meta-cloroperbenzóico)
Me (metilo)	MeOH (metanol)
mg (miligramas)	MHz (megahertz)
min (minutos)	mL (mililitros)
mM (milimolar)	mmol (milimoles)
mol (moles)	MOPS (Ácido morfolinopropanossulfônico)
pf (ponto de fusão)	NaOAc (acetato de sódio)
OMe (metoxilo)	psi (libras por polegada quadrada)
RP (fase inversa)	t.a. (temperatura ambiente)
SPA (Ensaio de Proximidade de Cintilação)	TBAF (fluoreto de tetra-n-butilamônio)
TBS (t-butildimetilsililo)	tBu (terc-butilo)
TEA (triethylamina)	TFA (ácido trifluoroacético)
TFAA (anidrido trifluoroacético)	THF (tetra-hidrofurano)
TIPS (triisopropilsililo)	TLC (cromatografia em camada fina)
TMS (trimetilsililo)	TMSE (2-(trimetilsilil)etilo)
Tr (tempo de retenção)	Brij35 (éter de dodecilo e polioxietilenoglicol)

Todas as referências a éter ou Et<sub>2</sub>O são a éter dietílico; e salmoura refere-se a uma solução aquosa saturada de NaCl. Salvo indicação em contrário, todas as temperaturas são expressadas em °C (graus centígrados). Todas as reações são realizadas sob uma atmosfera inerte à TA, salvo indicação em contrário.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram registados num Bruker Avance 400. Os desvios químicos são expressos em partes por milhão (ppm). As constantes de acoplamento são em unidades de Hertz (Hz). Os padrões de divisão descrevem multiplicidades aparentes e são designados como s (singlete), d (duplete), t (triplete), q (quarteto), m (multiplete), l (largo).

Os espectros de massa (MS) de baixa resolução e os dados de pureza do composto foram adquiridos num sistema de quadupolo simples ZQ LC/MS da Waters munido de uma fonte de ionização por eletropulverização (ESI), detetor de UV (220 e 254 nm) e detetor de dispersão de luz evaporativo (ELSD). A cromatografia em camada fina foi realizada sobre placas de sílica gel de 0,25 mm de E. Merck (60F-254), visualizadas com luz UV, ácido fosfomolibdico etanólico a 5%, solução de orpanisalaldeído Ninidrina. A cromatografia em coluna flash foi realizada sobre sílica gel (malha 230-400, Merck).

Os materiais de partida e reagentes utilizados na preparação destes compostos estão disponíveis em fornecedores comerciais tais como a Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI), Bachem (Torrance, CA), Sigma (St. Louis, MO) ou podem ser preparados por métodos bem conhecidos para um técnico médio na matéria, seguindo procedimentos descritos em referências padrão tais como Fieser e Fieser's Reagents for Organic Synthesis, volumes 1-23, John Wiley and Sons, New York, NY, 2006; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, volumes 1-5 e suplementos, Elsevier Science Publishers, 1998; Organic Reactions, volumes 1-68, John Wiley e Sons, New York, NY, 2007; March J.: Advanced Organic Chemistry, 5th ed., 2001, John Wiley e Sons, New York, NY; e Larock: Comprehensive Organic Transformations, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, 1999. As divulgações completas de todos os documentos



citados ao longo deste pedido são aqui incorporadas por referência.

Na técnica são conhecidos vários métodos para separar misturas de diferentes estereoisômeros. Por exemplo, uma mistura racêmica de um composto pode ser feita reagir com um agente de resolução oticamente ativo para formar um par de compostos diastereoisoméricos. Os diastereómeros podem ser depois separados para recuperar os enantiômeros oticamente puros. Podem ser também utilizados complexos dissociáveis para resolver os enantiômeros (por exemplo, sais diastereoisoméricos cristalinos). Os diastereómeros têm tipicamente propriedades físicas suficientemente distintas (por exemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade, *etc.*) e podem ser facilmente separados tirando partido destas diferenças. Por exemplo, os diastereómeros podem ser tipicamente separados por cromatografia ou por técnicas de separação/resolução baseadas em diferenças de solubilidade. Uma descrição mais detalhada das técnicas que podem ser utilizadas para resolver os estereoisômeros de compostos da sua mistura racêmica pode ser encontrada em Jean Jacques, Andre Collet, e Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

Os diastereómeros têm propriedades físicas distintas (por exemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade, *etc.*) e podem ser facilmente separados tirando partido destas diferenças. Os diastereómeros podem ser separados por cromatografia ou, preferencialmente, por técnicas de separação/resolução baseadas em diferenças de solubilidade. O enantiômero oticamente puro é em seguida recuperado, juntamente com o agente de resolução, por qualquer meio prático que não resulte em racemização. Uma descrição mais detalhada das

técnicas aplicáveis à resolução de estereoisómeros de compostos a partir das suas misturas racémicas pode ser encontrada em Jean Jacques, Andre Collet e Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

As componentes quirais podem ser separadas e purificadas utilizando qualquer uma de uma diversidade de técnicas conhecidas dos especialistas na técnica. Por exemplo, as componentes quirais podem ser purificadas utilizando cromatografia de fluido supercrítico (SFC). Numa variação particular, as análises por SFC/MS analítica quiral são realizadas utilizando um sistema de SFC analítico Berger (AutoChem, Newark, DE), o qual consiste de um módulo de controlo de fluidos de dupla bomba Berger SFC com uma bomba de fluido supercrítico Berger FCM 1100/1200 e uma bomba de fluido modificador FCM 1200, um forno Berger TCM 2000 e um amostrador automático Alcott 718. O sistema integrado pode ser controlado pelo software BI-SFC Chemstation versão 3.4. A deteção pode ser realizada com um detetor ZQ 2000 da Waters a funcionar no modo positivo com uma interface ESI e uma gama de varrimento desde 200-800 Da com 0,5 segundos por varrimento. As separações cromatográficas podem ser realizadas numa coluna ChiralPak AD-H, ChiralPak AS-H, ChiralCel OD-H ou ChiralCel OJ-H (5 $\mu$ , 4,6  $\times$  250 mm; Chiral Technologies, Inc. West Chester, PA) com 10 a 40% de metanol como o modificador e com ou sem acetato de amónio (10 mM). Pode utilizar-se qualquer um de uma diversidade de caudais incluindo, por exemplo, 1,5 ou 3,5 mL/min com uma pressão de entrada ajustada a 100 bar. Adicionalmente, pode utilizar-se uma diversidade de condições de injeção da amostra incluindo, por exemplo, injeções de amostra de 5 ou 10 $\mu$ L em metanol a 0,1 mg/mL de concentração.

Noutra variação, as separações quirais preparativas são realizadas utilizando um sistema de purificação MultiGram II SFC de Berger. Por exemplo, as amostras podem ser carregadas numa coluna ChiralPak AD (21 × 250 mm, 10 $\mu$ ). Em variações particulares, o caudal para a separação pode ser de 70 mL/min, o volume de injeção até 2 mL e a pressão de entrada ajustada a 130 bar. Pode aplicar-se injeções em cascata para aumentar a eficiência.

As descrições das sínteses de compostos particulares de acordo com a presente invenção com base nos esquemas reacionais acima e variações dos mesmos são definidas na secção de Exemplos.

#### **Avaliação da Atividade Biológica dos Compostos da Invenção**

O efeito inibidor do composto da invenção sobre a ASK1 pode ser avaliado por uma variedade de ensaios de ligação e ensaios funcionais.

A proteína ASK1 para o ensaio pode ser preparada por clonagem por PCR padrão e expressão num vetor. O Exemplo A divulga um método de preparação desse tipo da enzima. No entanto, deve referir-se que a ASK1 está comercialmente disponível através da Millipore (Cat. #14-606).

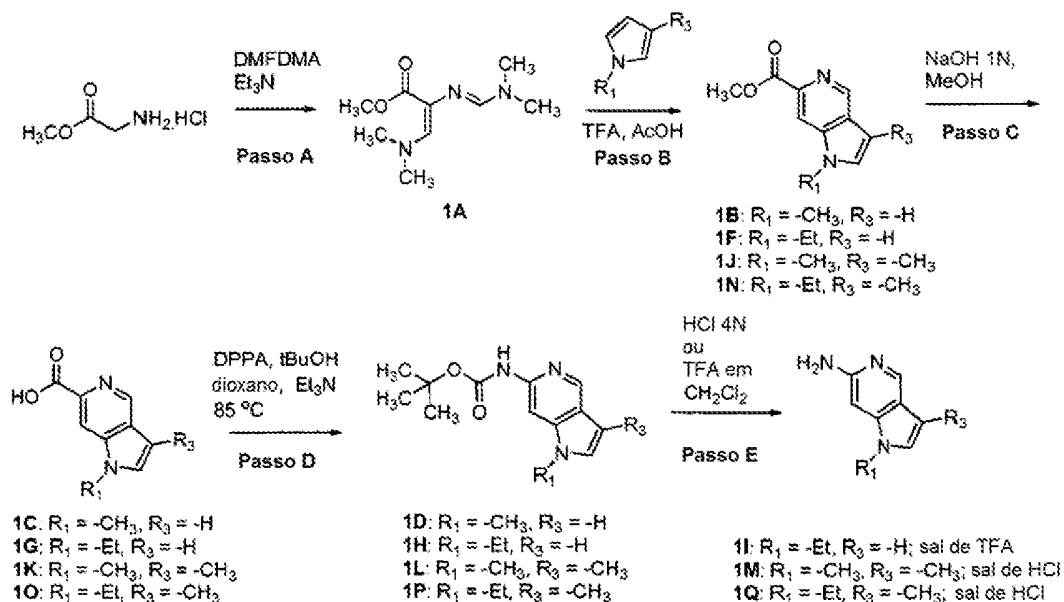
O efeito inibidor do composto da invenção sobre a ASK1 pode ser avaliado, avaliando a atividade de fosforilação da enzima num substrato conhecido com ou sem a presença do composto de ensaio. O Exemplo B proporciona um ensaio desse tipo onde é utilizada a proteína básica de mielina (Wako) como substrato e a deteção é por contagem de cintilação. Deve entender-se que podem ser utilizados outros substratos e mecanismos de deteção. Um kit comercialmente disponível,

kit Cisbio's HTRF<sup>®</sup> KinEASE<sup>™</sup> STK, mostrou ser útil para avaliar a atividade da ASK1. O ensaio utiliza um anticorpo anti-fosfossérico específico, marcado com Eu<sup>3+</sup>-Criptato para marcar o produto fosforilado da ASK1 num substrato de cinase biotinilado e a detecção é por fluorescência resolvida no tempo utilizando estreptavidina marcada com XL665. A intensidade de fluorescência é proporcional à quantidade de formação de produto. O Exemplo C proporciona o protocolo de ensaio.

Os valores de IC<sub>50</sub> de compostos da invenção selecionados foram medidos utilizando o ensaio descrito no Exemplo B. Alguns dos compostos exemplificados mostraram ter IC<sub>50</sub> superiores a 1 µM, alguns outros inferiores a 1 µM e a maioria dos restantes compostos têm um valor de IC<sub>50</sub> inferior a cerca de 0,1 µM. Os valores de IC<sub>50</sub> de compostos selecionados da presente invenção são dados no Quadro 1.

Será evidente para os especialistas na técnica que podem ser feitas várias modificações e variações nos compostos, composições, kits e métodos da presente invenção sem que se saia do espírito ou âmbito da invenção. Assim, pretende-se que a presente invenção abranja as modificações e variações desta invenção na condição de que elas estejam dentro do âmbito das reivindicações apensas e seus equivalentes.

## EXEMPLOS

**Exemplo 1: Preparação de intermediários 11, 1M e 1Q**

**Passo A:** Num vaso de pressão em vidro com tampa selada, redondo de 200 mL foram combinados cloridrato de 2-aminoacetato de metilo (8,2 g, 80 mmol) e dimetilo acetal de dimetilformamida (43 mL, 400 mmol) e, em seguida, foi adicionada  $Et_3N$  (18 mL, 160 mmol). A mistura foi aquecida até 135 °C de um dia para o outro. Depois de arrefecer e ser transferida para um balão de fundo redondo, os voláteis foram removidos *in vacuo* da mistura reacional e diluída com diclorometano (100 mL) e éter dietílico (50 mL). O sal precipitado,  $Et_3N \cdot HCl$ , foi filtrado e lavado com 50 mL de diclorometano. O filtrado foi evaporado e o produto em bruto resultante, 3-(dimetilamino)-2-((dimetilamino)metilenoamino)acrilato de metilo (**1A**), como um líquido gomoso escuro foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**Passo B: 1B:** Num balão de fundo redondo de 500 mL, 3-(dimetilamino)-2-((dimetilamino)metilenoamino)acrilato de metilo (**1A**, 24 g, 120 mmol) foi dissolvido em ácido acético (60 mL) e TFA (20 mL). Foi adicionado 1-metil-1H-pirrole (10,56 mL, 119 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante uma hora e a 110 °C durante 4 horas até a reação estar concluída. Os voláteis foram então evaporados da mistura reacional, o resíduo foi arrefecido num banho de gelo. Foi lentamente adicionado ao mesmo solução saturada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gelada (~ 200 mL). A mistura foi extraída com AcOEt (3 × 250 mL). As camadas orgânicas combinadas foram em seguida lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O produto em bruto foi purificado em coluna de sílica utilizando hexano-AcOEt (0-100%). O produto desejado 1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1B**, 8,5 g, 38%) foi obtido como um óleo espesso castanho.

**1F:** Num balão de fundo redondo de 500 mL, foi dissolvido 3-(dimetilamino)-2-((dimetilamino)metilenoamino)acrilato de metilo (**1A**, 24 g, 120 mmol) em ácido acético (60 mL) e TFA (20 mL). Foi adicionado 1-etil-1H-pirrole (11 g, 120 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante uma hora e a 110 °C durante 4 horas até a reação estar concluída. Os voláteis foram então evaporados da mistura reacional, o resíduo foi arrefecido num banho de gelo e foi lentamente adicionado ao mesmo solução saturada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gelada (~ 200 mL). A mistura foi extraída com AcOEt (3 × 250 mL). As camadas orgânicas combinadas foram em seguida lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O produto em bruto foi purificado numa coluna de sílica utilizando hexano-AcOEt (0-100%). Foi obtido o produto desejado 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato

(**1F**, 8,6 g, 35%). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, CLOROFÓRMIO- $d$ )  $\delta$  ppm 1,51 (t,  $J=7,33$  Hz, 2 H) 2,76 (s, 3 H) 4,04 (s, 2 H) 4,25 (q,  $J=7,33$  Hz, 1 H) 7,33 (s, 1 H) 8,22 (s, 1H) 8,92 (s, 1 H).

**1J**: Num balão de fundo redondo de 500 mL, foi dissolvido 3-(dimetilamino)-2-((dimetilamino)metilenoamino)acrilato de metilo (**1A**, 12 g, 61 mmol) em ácido acético (45 mL) e TFA (15 mL). Foi adicionado 1,3-dimetil-1H-pirrole (5,8 g, 61 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante uma hora e em seguida a 110 °C durante 4 horas. Os voláteis foram então evaporados da mistura reacional, o resíduo foi arrefecido num banho de gelo e foi lentamente adicionada ao mesmo solução saturada de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  gelada (~200 mL). A mistura foi extraída com AcOEt (3 × 250 mL). As camadas orgânicas combinadas foram em seguida lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O produto em bruto foi purificado numa coluna de sílica utilizando hexano-AcOEt (0-100%). Foi obtido o produto desejado 1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1J**, 6,8 g, 55%).

**1N**: Num balão de fundo redondo de 500 mL, foi dissolvido 3-(dimetilamino)-2-((dimetilamino)metilenoamino)acrilato de metilo (**1A**, 12 g, 61 mmol) em ácido acético (45 mL) e TFA (15 mL). Foi adicionado 1-etil-3-metil-1H-pirrole (6,7 g, 61 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante uma hora e em seguida a 110 °C durante 4 horas. Os voláteis foram então evaporados da mistura reacional, o resíduo foi arrefecido num banho de gelo e foi lentamente adicionada ao mesmo solução saturada de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  gelada (-200 mL). A mistura foi extraída com AcOEt (3 × 250 mL). As camadas orgânicas combinadas foram em seguida lavadas com

solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e evaporadas. O produto em bruto foi purificado numa coluna de sílica utilizando hexano-AcOEt (0-100%). As frações puras foram combinadas e evaporadas para dar o produto 1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1N**, 6,1 g, 46 % de rendimento). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,34 (t,  $J=7,20$  Hz, 3 H) 2,34 (d,  $J=1,01$  Hz, 3 H) 3,88 (s, 3 H) 4,26 (q,  $J=7,24$  Hz, 2 H) 7,48 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 8,20 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 8,85 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H).

**Passo C: 1C:** Num balão em pera de 500 mL foi adicionado 1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1B**, 14 g, 71 mmol) em metanol (71,0 mL). A 0 °C foi adicionada solução de hidróxido de sódio 1N (140 mL, 140 mmol). Esta foi em seguida agitada a 0 °C durante 1h, altura em que a reação estava concluída. Foi adicionada solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e o metanol foi removido *in vacuo*. A mistura aquosa foi lavada duas vezes com AcOEt. A camada aquosa foi então acidificada até pH 4; o precipitado resultante foi recolhido num funil de vidro sinterizado e seco de um dia para o outro sob uma corrente de azoto para dar o produto desejado, ácido 1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**1C**, 10 g, 83 % de rendimento) como um pó esbranquiçado. Este foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**1G:** Num balão em pera de 1 L foram adicionados 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1F**, 16 g, 79 mmol) em metanol (99 mL). A 0 °C foi adicionada solução de hidróxido de sódio 1N (200 mL, 200 mmol). Esta foi então agitada a 0 °C durante 1h. Foi adicionada água e o metanol foi removido *in vacuo*. O resíduo aquoso foi lavado duas vezes com AcOEt e em seguida acidificado até pH 4. A



mistura foi extraída duas vezes com AcOEt e a camada aquosa foi então reduzida até cerca de 200 mL *in vácuo*, antes de ser seca por congelação durante 4 dias. O pó resultante contendo o ácido 1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**1G**) foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**1K:** Num balão de fundo redondo de 200 mL foi dissolvido 1,3-dimetil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1J**, 1,9 g, 9,30 mmol) em THF (20 mL) e à mistura foi adicionada uma solução de NaOH 2M (9,30 mL, 18,61 mmol). A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h. Depois de concluída, os voláteis foram removidos e o resíduo foi arrefecido num banho de gelo e neutralizado com HCl diluído até pH = 4,0-4,5. O produto precipitado, ácido 1,3-dimetil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**1K**, 1,7 g, 97%), foi recolhido por filtração, seco e utilizado no passo seguinte sem mais purificação. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 2,40 (s, 3 H) 3,95 (s, 3 H) 7,69 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 8,42 (s, 1 H) 9,02 (s, 1 H).

**10:** Num balão de fundo redondo de 200 mL foi dissolvido 1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1N**, 6,0 g, 28 mmol) em THF (50 mL). À mistura foi adicionada uma solução de NaOH 2M (28 mL, 55 mmol). A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h. Depois de concluída, os voláteis foram removidos e o resíduo foi arrefecido num banho de gelo e neutralizado com HCl diluído até pH = 4,0-4,5. A mistura aquosa foi lavada com acetato de etilo (2  $\times$  100 mL) e, em seguida, liofilizada para dar o produto em bruto, ácido 1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**10**), o qual é utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**Passo D: 1D:** Num balão de fundo redondo de 500 mL foram dissolvidos ácido 1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**1B**, 10 g, 57 mmol), azida de difenilfosforilo (16 mL, 74 mmol) e TEA (10 mL, 74 mmol) em THF (60 mL) e foi adicionado t-BuOH (60 mL) e aquecido num banho de óleo a 85°C durante 3 horas. Os voláteis foram removidos in vacuo a partir da mistura reacional e o resíduo foi ainda lavado com água (150 mL) e extraído para acetato de etilo (3 × 150 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas sobre sulfato de sódio e concentradas utilizando um evaporador rotativo. O resíduo foi purificado utilizando cromatografia em coluna com misturas de hexano-acetato de etilo (0-100%). As frações de produto puro foram recolhidas e concentradas para obter o produto (**1D**, 10,5 g, 74,8%) como um sólido amarelo claro. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,49 (s, 9 H) 3,73 (s, 3 H) 6,48 (dd, *J*=3,16, 0,88 Hz, 1 H) 7,29 (d, *J*=3,28 Hz, 2 H) 7,78 (s, 1 H) 8,49 (d, *J*=1,01 Hz, 1 H) 9,44 (s, 1 H)

**1H:** Num balão em pera de 500 mL foi adicionado ácido 1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**1G**, assumido como 30,4 mmol) em dioxano (90 mL) e t-butanol (90 mL) para dar uma suspensão castanha. A esta foi então adicionada trietilamina (5,5 mL, 40 mmol) e a mistura foi em seguida aquecida até 85 °C. Após 7 horas, a reação não mudou muito da conversão de 25% conseguida nas primeiras duas horas. Foram adicionados mais 4,3 mL de azida de difenilfosforilo (0,65 eq.) na manhã seguinte e após 5 horas, a reação progrediu significativamente. Foi adicionada solução aquosa saturada de cloreto de sódio e a mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas. O produto em bruto foi purificado por cromatografia em coluna

(SiO<sub>2</sub>, eluindo com um gradiente de 20-30% AcOEt/hexanos) para dar 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1H**, 3,6 g, 45 %).

**1L:** Num vaso de pressão em vidro com tampa selada de 100 mL foram dissolvidos ácido 1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**1K**, 1,7 g, 9,0 mmol), azida de difenilfosforilo (2,1 mL, 9,8 mmol) e TEA (2,5 mL, 18 mmol) em THF (10 mL). A esta mistura foi adicionado t-BuOH (10 mL) e com a tampa selada, a mistura foi aquecida num banho de óleo a 85°C durante 4 h. Depois de arrefecer, a mistura foi transferida para um balão de fundo redondo utilizando THF, concentrada *in vacuo* e purificada utilizando cromatografia em coluna (hexanos-acetato de etilo (0-100%)). As frações de produto puro foram recolhidas e os solventes foram evaporados para obter o produto 1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1L**, 1,3 g, 56%) como um sólido branco fofo. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,49 (s, 9 H) 2,25 (d, J=1,01 Hz, 3 H) 3,66 (s, 3 H) 7,02 (d, J=1,01 Hz, 1 H) 7,59 - 7,78 (m, 1 H) 8,43 (d, J=1,01 Hz, 1 H) 9,40 (s, 1 H).

**1P:** Num vaso de vidro de tampa selada de 50 mL foram dissolvidos ácido 1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**10**, 1,75 g, 8,57 mmol), Azida de difenilfosforilo (2,408 mL, 11,14 mmol) e TEA (2,389 mL, 17,14 mmol) em THF (Proporção: 1,000, Volume: 6,00 mL) e adicionado t-BuOH (Proporção: 1,000, Volume: 6 mL) e a tampa selada e aquecido num banho de óleo a 85°C durante 2 h. Em seguida, transferida para um balão de fundo redondo utilizando THF, a mistura reacional evaporada e purificada utilizando cromatografia em coluna (misturas de Hexano-Acetato de etilo). As frações de produto puro foram recolhidas e concentradas para obter o produto, 1-etil-3-

metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1P**, 0,9 g, 38 % de rendimento) como um sólido branco fofo. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,32 (t,  $J=7,20$  Hz, 3 H) 1,49 (s, 9 H) 2,26 (d,  $J=1,26$  Hz, 3 H) 4,06 (q,  $J=7,24$  Hz, 2 H) 7,10 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 7,73 (s, 1 H) 8,33 - 8,51 (m, 1 H) 9,49 (s. l., 1 H).

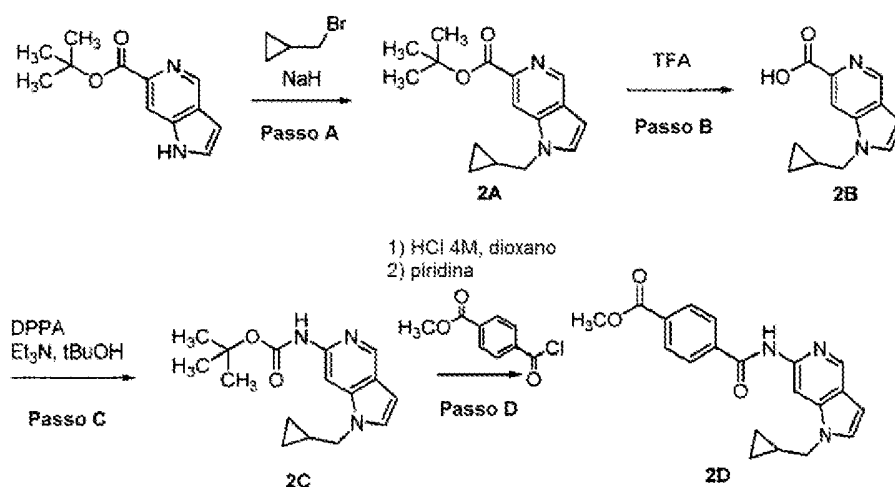
**Passo E: 1I:** Num balão em pera de 200 mL foi adicionado 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1H**, 1 g, 3,83 mmol) em diclorometano (20 mL). A 0 °C, foi adicionado TFA (5 mL) e a mistura foi conservada no frigorífico de um dia para o outro, após o que, a reação estava concluída de acordo com a análise por UPLC. A mistura foi então concentrada *in vacuo*. Ao resíduo foi adicionado tolueno e a mistura foi concentrada *in vacuo* mais uma vez; este procedimento foi repetido mais uma vez, antes de o resíduo ter sido triturado com Et<sub>2</sub>O para dar o sal de TFA do produto desejado, 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-amina **1I** como um sólido vermelho-violáceo, o qual é então utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**1M:** Num balão de fundo redondo de 125 mL foi dissolvido 1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1L**, 0,7 g, 2,7 mmol) em HCl 4N (15 mL) e prosseguiu à temperatura ambiente durante 3 h. Depois de concluída, a mistura reacional foi concentrada até à secura e o resíduo contendo o sal de HCl do produto desejado, 1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-amina **1M**, foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**1Q:** Num balão de fundo redondo de 125 mL foi dissolvido 1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1P**, 0,65 g, 2,4 mmol) em HCl 4N (15 mL) e

prosseguiu à temperatura ambiente durante 3h. Depois de concluída, a mistura reacional foi concentrada até à secura e o resíduo contendo o sal de HCl do produto desejado, 1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-amina **1Q**, foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

### Exemplo 2: Preparação dos Intermediários 2C e 2D



**Passo A: 2A** A uma mistura de 1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (1,0 g, 4,6 mmol) em DMF (20 mL) foi adicionado hidreto de sódio (60% em óleo) (0,4 g, 10 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 3 h. À mistura foi adicionada (bromometil)ciclopropano (1,2 g, 9,2 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 2h. A mistura reacional foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, hexanos:AcOEt = 50:50) para dar 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (**2A**, 1,1 g, 4,0 mmol, 88 % de rendimento) como um óleo amarelo. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CLOROFÓRMIO-*d*) δ ppm 0,16 - 0,23 (m, 2 H) 0,44 - 0,51 (m, 2 H) 0,99 - 1,11 (m, 1 H) 1,48 (s, 9 H)

3,84 (d,  $J=7,07$  Hz, 2 H) 6,45 - 6,47 (m, 1 H) 7,19 (d,  $J=3,03$  Hz, 1 H) 7,96 (s, 1 H) 8,79 (s, 1 H).

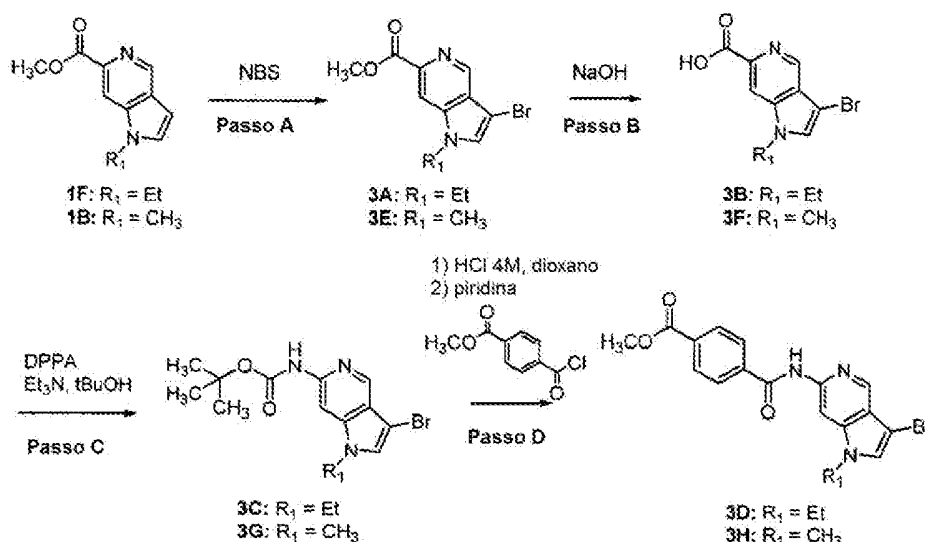
**Passo B: 2B** Uma mistura de 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (**2A**, 1,1 g, 4,0 mmol) em DCM (5 mL) e TFA (5 mL) foi agitada a 50 °C durante 15 h. A mistura foi concentrada in vacuo para dar o ácido 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**2B**, 0,9 g, 4,0 mmol) como um óleo castanho. O material foi utilizado na reação seguinte sem mais purificações. ESI-MS:  $m/z$  217,1 ( $M+H$ )<sup>+</sup>.

**Passo C: 2C** Uma mistura de azida de difenilfosforilo (1,7 g, 6,2 mmol), Et<sub>3</sub>N (2,9 mL, 21 mmol) e ácido 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**2B**, 0,9 g, 4,0 mmol) em 2-metilpropan-2-ol (10 g, 140 mmol) foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e 80 °C durante 3h. A mistura foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, hexanos:AcOEt = 50:50) para dar 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**2C**, 300 mg, 25 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CLOROFÓRMIO-*d*)  $\delta$  ppm 0,35 - 0,44 (m, 2 H) 0,57 - 0,70 (m, 2 H) 1,19 - 1,33 (m, 1 H) 1,57 (s, 9 H) 3,97 (d,  $J=6,82$  Hz, 2 H) 6,52 - 6,54 (m, 1 H) 7,19 (d,  $J=3,28$  Hz, 1 H) 7,59 (s. l., 1 H) 7,93 (s, 1 H) 8,56 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H).

**Passo D: 2D** Uma mistura de 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**2C**, 260 mg, 0,91 mmol) em HCl 4M em dioxano (3 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 15 h. A mistura foi

concentrada in vacuo e dissolvida em piridina (3 mL, 37 mmol). À mistura foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (270 mg, 1,4 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 3 horas. A mistura foi extraída com AcOEt. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{MgSO}_4$  e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia ( $\text{NH-SiO}_2$ , AcOEt) para dar 4-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (2D, 270 mg, 0,77 mmol, 85 % de rendimento) como um pó branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 0,39 - 0,47 (m, 2 H) 0,50 - 0,59 (m, 2 H) 1,17 - 1,33 (m, 1 H) 3,89 (s, 3 H) 4,06 (d,  $J=7,07$  Hz, 2 H) 6,57 - 6,59 (m, 1 H) 7,52 (d,  $J=3,28$  Hz, 1 H) 8,03 - 8,09 (m, 2 H) 8,14 - 8,19 (m, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 8,65 (s, 1 H) 10,86 (s, 1 H). ESI-MS:  $m/z$  350,0 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

### **Exemplo 3: Preparação dos Intermediários 3D e 3H**



**Passo A: 3A** A uma solução arrefecida em gelo de 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1F**, 700 mg, 3,43 mmol) em DCM (5 mL) foi adicionada NBS (610 mg, 3,43

mmol). A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 10 min. A mistura reacional foi concentrada in vacuo e purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, AcOEt) para dar 3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**3A**, 950 mg, 3,36 mmol, 98 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CLOROFÓRMIO-d) δ ppm 1,52 (t, J=7,33 Hz, 3 H) 4,04 (s, 3 H) 4,25 (q, J=7,33 Hz, 2 H) 7,33 (s, 1 H) 8,22 (d, J=0,76 Hz, 1 H) 8,92 (d, J=1,01 Hz, 1 H).

**3E** Num balão de fundo redondo de 125 mL, 1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**1B**, 6,0 g, 31,5 mmol) foi dissolvido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) e a mistura foi arrefecida até 0 °C num banho de gelo. Em seguida foi lentamente adicionada N-bromossuccinimida (5,6 g, 32 mmol) a esta mistura reacional e a agitação prosseguiu durante 30 min para garantir a conclusão da reação. Em seguida, a solução foi evaporada e o resíduo foi extraído com diclorometano (2 × 150 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e evaporadas para dar o produto 3-bromo-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**3E**, 8,4 g, 99%) como um sólido castanho.

**Passo B: 3B** Uma mistura de 3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**3A**, 3,0 g, 11 mmol) em EtOH (10 mL) e NaOH 1N (10 mL) foi agitada a 80 °C durante 5 dias. A mistura reacional foi acidificada com HCl 1N, concentrada in vacuo e seca para dar ácido 3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**3B**, 2,8 g, 10 mmol, 98 % de rendimento) como um pó castanho pálido. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,42 (t, J=7,20 Hz, 3 H) 4,49 (q, J=7,33 Hz, 2 H) 8,35 (s, 1 H) 8,65 (s, 1 H) 8,91 (s, 1 H).



**3F** Num balão de fundo redondo de 200 mL, 3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de metilo (**3E**, 8,5 g, 32 mmol) foi dissolvido em THF (50 mL), foi adicionada uma solução de NaOH (32 mL, 63 mmol) à mistura e a agitação prosseguiu à temperatura ambiente de um dia para o outro. Foi adicionado outro equivalente de base e a mistura foi aquecida num banho de água para completar a reação. Os voláteis foram removidos in vacuo e o resíduo foi arrefecido num banho de gelo e neutralizado com HCl diluído até pH 4,0-4,5. O produto precipitado foi recolhido por filtração para dar o produto, ácido 3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**3F**, 7,3 g, 91 %).

**Passo C: 3C** Uma mistura de azida de difenilfosforilo (4,3 g, 16 mmol), Et<sub>3</sub>N (7,3 mL, 52 mmol) e ácido 3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**3B**, 2,8 g, 10 mmol) em DMF (30 mL) foi agitada a 0 °C durante 1 h. A mistura foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi dissolvida em tolueno (30 mL) e adicionado 2-metilpropan-2-ol (3,9 g, 52 mmol). A mistura foi agitada a 70 °C durante 2h. A mistura foi concentrada in vacuo e purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, hexanos:AcOEt = 1:1) para dar 3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**3C**, 340 mg, 0,99 mmol, 9,5 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,35 (t, J=7,20 Hz, 3 H) 1,49 (s, 9 H) 4,14 (q, J=7,33 Hz, 2 H) 7,60 (s, 1 H) 7,83 (d, J=0,76 Hz, 1 H) 8,36 (d, J=0,76 Hz, 1 H) 9,59 (s, 1 H).

**3G** Num vaso de vidro de tampa selada de 50 mL, ácido 3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**3F**, 4,0 g, 15,68 mmol), azida de difenilfosforilo (3,73 mL,

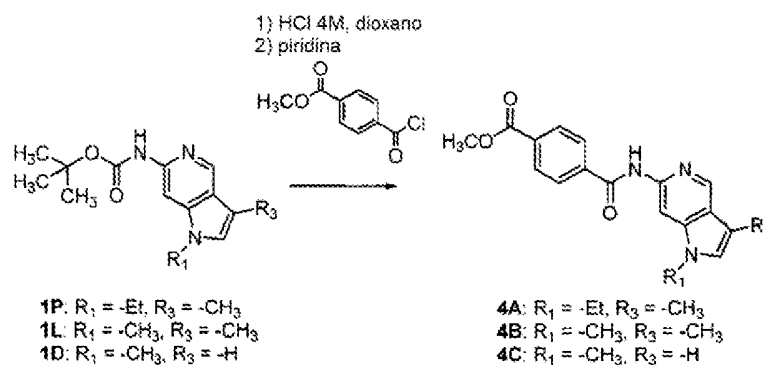
17,25 mmol) e TEA (4,37 mL, 31,4 mmol) foram dissolvidos em THF (15 mL) e t-BuOH (15 mL). O vaso foi selado e aquecido em banho de óleo a 85°C durante 2 h. A mistura foi transferida para um balão de fundo redondo com THF, concentrada e purificada utilizando cromatografia em coluna (misturas de hexanos/AcOEt). As frações de produto puro foram recolhidas e concentradas in vacuo para obter o produto 3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**3G**, 1,3 g, 24%) como um sólido branco fofo.

**Passo D: 3D** Uma mistura de 3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**3C**, 340 mg, 0,99 mmol) em HCl 4M em dioxano (3 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e 70 °C, durante 2 h. A mistura foi concentrada in vacuo e dissolvida em piridina (3 mL). À mistura foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (220 mg, 1,1 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 3 h. A mistura foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub> básica, hexanos:AcOEt = 3:1) para dar 4-(3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**3D**, 350 mg, 0,87 mmol, 87 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,40 (t, J=1,00 Hz, 3 H) 3,90 (s, 3 H) 4,21 (q, J=7,16 Hz, 2 H) 7,72 (s, 1 H) 7,99 - 8,11 (m, 2 H) 8,11 - 8,20 (m, 2 H) 8,35 (d, J=0,76 Hz, 1 H) 8,52 (d, J=1,01 Hz, 1 H) 10,96 (s, 1 H).

**3H** Num balão de fundo redondo de 125 mL, 3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**3G**, 0,6 g, 1,839 mmol) foi dissolvido em HCl 4N (15 mL) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 3h.

Depois de concluída, os voláteis foram evaporados e a mistura foi redissolvido em DMA (10 mL). A esta foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (0,44 g, 2,2 mmol) e a mistura foi agitada a 50 °C durante cinco horas. A reação foi vertida para água gelada. O produto precipitado foi recolhido e seco para obter o produto 4-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**3H**, 0,6 g, 84%). Foi observada uma pequena quantidade de produto dibromado.

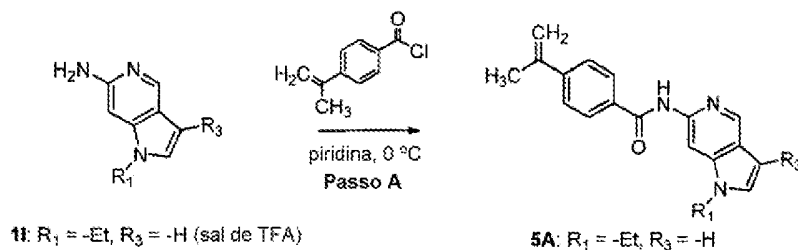
#### **Exemplo 4: Preparação dos Intermediários 4A, 4B**



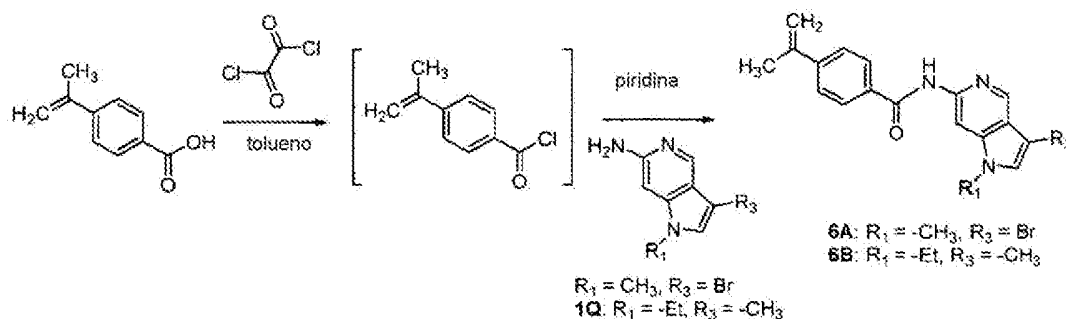
**4A** Num balão de fundo redondo de 125 mL, 1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1P**, 0,65 g, 2,4 mmol) foi dissolvido em HCl 4N (15 mL) e a agitação prosseguida à temperatura ambiente durante 3 h. Depois de concluída, os voláteis foram evaporados da mistura reacional. O resíduo foi redissolvido em DMA (10 mL) e foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (0,56 g, 2,8 mmol). A reação foi prosseguida a 50 °C durante três horas e, em seguida, a mistura reacional foi vertida para água gelada. O produto precipitado, 4-(1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**4A**, 630 mg, 78%), foi recolhido, seco e utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**4B** Num balão de fundo redondo de 125 mL, 1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1L**, 0,7 g, 2,7 mmol) foi dissolvido em HCl 4N (15 mL) e a agitação prosseguida à temperatura ambiente durante 3 h. Depois de concluída, os voláteis foram evaporados da mistura reacional. O resíduo foi redissolvido em DMA (10 mL) e foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (0,638 g, 3,21 mmol). A reação foi prosseguida a 50 °C durante três horas e, em seguida, a mistura reacional foi vertida para água gelada. O produto precipitado, 4-(1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**4B**, 800 mg, 92%), foi recolhido, seco e utilizado no passo seguinte sem mais purificação. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 2,35 (d, J=1,26 Hz, 1 H) 3,88 (t, J=12,63 Hz, 7 H) 8,05 (s, 4 H) 8,08 - 8,20 (m, 2 H) 8,29 (d, J=8,59 Hz, 1 H)

**4C** Num balão de fundo redondo de 500 mL, 1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**1D**, 11 g, 43 mmol) foi dissolvido em HCl 4N (75 mL) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h. Depois de concluída, os voláteis foram evaporados da mistura reacional e o resíduo foi redissolvido em DMA (10 mL). A este foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (10 g, 51mmol) e a mistura foi agitada a 50 °C durante cinco horas. A mistura reacional foi então vertida para água gelada e o precipitado foi recolhido por filtração e seco para obter o produto, o qual é utilizado sem mais purificação.

**Exemplo 5: Preparação do Intermediário 5A**

**5A:** Num balão em pera de 50 mL foram adicionados 1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-amina, TFA (**1I**, 5,2 g, 19 mmol) em piridina (200 mL). A 0 °C foi adicionado cloreto de 4-(prop-1-en-2-il)benzoílo (3,8 g, 21 mmol). Após 15 minutos foi adicionado hidreto de sódio (0,53 g, 13 mmol) e a reação foi agitada à temperatura ambiente durante quatro horas. A 0 °C foram adicionados mais 0,55 equivalentes de cloreto de 4-(prop-1-en-2-il)benzoílo e a mistura reacional foi deixada agitar durante mais 15 horas à temperatura ambiente. A reação foi desativada adicionando NaHCO<sub>3</sub> saturado a 0 °C e agitada durante 30 minutos. Os voláteis foram removidos in vacuo e o resíduo foi extraído duas vezes com acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas. A mistura em bruto foi então purificada por cromatografia em coluna de fase normal (SiO<sub>2</sub>, eluindo com 20-50% de AcOEt) para dar o produto desejado, N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**5A**, 4,7 g, 15 mmol, 81 % de rendimento). RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 10,61 (s, 4H), 8,64 (s, 4H), 8,32 (s, 4H), 8,04 - 8,10 (m, 9H), 7,62 - 7,67 (m, 9H), 7,47 (d, J = 3,3 Hz, 4H), 6,57 (dd, J = 3,2, 0,9 Hz, 5H), 5,58 (s, 4H), 5,23 (t, J = 1,4 Hz, 4H), 4,21 (q, J = 7,2 Hz, 9H), 2,16 (d, J = 0,5 Hz, 13H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3H); p.f. 125-8 °C.

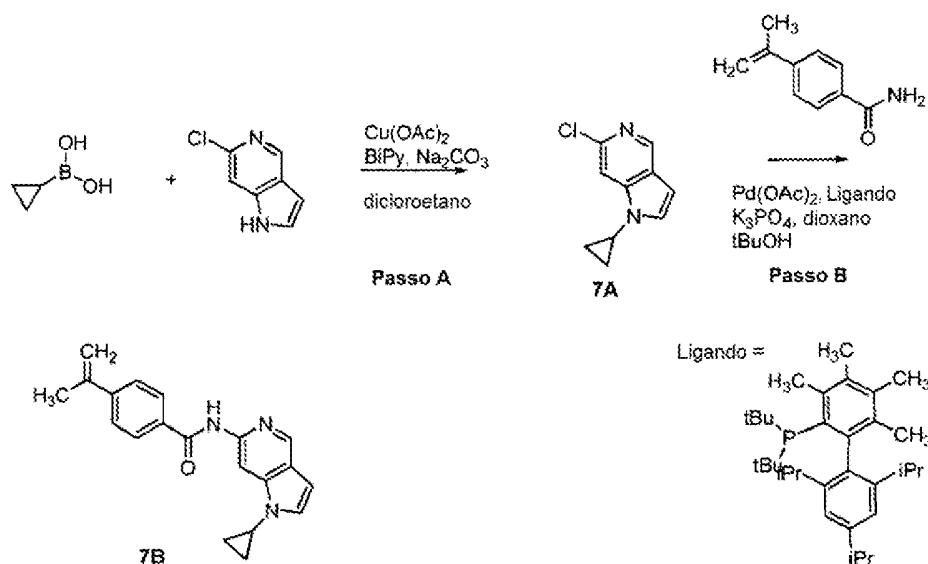
**Exemplo 6: Preparação dos Intermediários 6A e 6B**

**6A** Num balão de fundo redondo de 50 mL, ácido 4-(prop-1-en-2-il)benzóico (580 mg, 3,6 mmol) foi dissolvido em 15 mL de tolueno e foi lentamente adicionado cloreto de oxalilo 2,0 M em diclorometano (3,6 mL, 7,2 mmol). A agitação foi prosseguida durante 3 horas e, em seguida, os voláteis foram evaporados da mistura reacional. Ao resíduo foram adicionados 5 mL de tolueno e a mistura foi concentrada in vacuo para remover azeotropicamente água residual. O resíduo foi então dissolvido em DMA (12 mL) e foi adicionada 3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-amina (400 mg, 1,8 mmol). A agitação foi prosseguida a 50 °C durante mais 3 horas. A mistura foi então vertida para água gelada. O precipitado foi recolhido e seco para obter o produto N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**6A**, 440 mg, 67%). Este foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**6B** Num balão de fundo redondo de 50 mL, ácido 4-(prop-1-en-2-il)benzóico (1,0 g, 6,3 mmol) foi dissolvido em 15 mL de tolueno e foi lentamente adicionado dicloreto de oxalilo 2,0 M (6,3 mL, 13 mmol) em diclorometano. A agitação foi prosseguida durante 3 horas e, em seguida, os voláteis foram evaporados da mistura reacional. Ao resíduo foram adicionados 5 mL de tolueno e a mistura foi concentrada in vacuo para remover azeotropicamente a água residual. O

resíduo foi então dissolvido em DMA (10 mL) e foi adicionada 1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-amina (**1Q**, 550 mg, 3,14 mmol). A agitação foi prosseguida a 50 °C de um dia para o outro. A mistura foi então vertida para água gelada. O precipitado foi recolhido e seco para obter o produto N-(1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**6B**, 820 mg, 82%). Este foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

### **Exemplo 7: Preparação dos Intermediários 7**



**Passo A: 7A** Num balão de fundo redondo de 2L foram adicionados acetato de cobre(II) (8,9 g, 49 mmol) e 2,2'-bipiridina (7,8 g, 49 mmol) em 1,2-dicloroetano (240 mL). Esta foi aquecida até 70 °C. Separadamente foram suspensos 6-cloro-1H-pirrólo[3,2-c]piridina (15 g, 98 mmol) e ácido ciclopropilborónico (17 g, 200 mmol) em 1,2-dicloroetano (240 mL). À primeira mistura aquecida foi adicionado carbonato de sódio (21 g, 200 mmol), seguido da segunda mistura e a mistura resultante mudou de cor verde para vermelha escura. A mistura foi aquecida a 70 °C de um dia para o outro. No dia seguinte, a conversão era de ~50% e

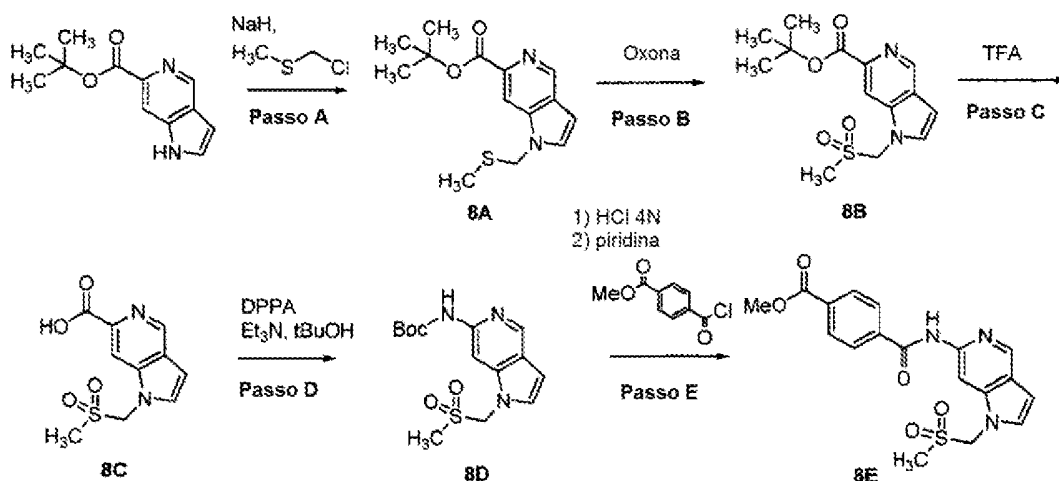
foram adicionados mais 0,25 equivalentes de  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$  (4,5g), 0,25 equivalentes de BiPy (3,9g) e 1,0 equivalentes de ácido ciclopropilborónico (8,5g). A mistura foi prosseguida em agitação a 70 °C durante 12 h. Depois de arrefecer até à temperatura ambiente foram adicionados 250 mL de solução aquosa saturada de cloreto de sódio e 250 mL de AcOEt. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída duas vezes com AcOEt (2 × 150mL). O sal de cobre foi filtrado das camadas orgânicas, as quais foram em seguida secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas para obter o produto em bruto como um óleo preto espesso. Dissolvido em MeOH, o produto em bruto foi carregado sobre sílica antes da cromatografia em coluna sobre sílica. As frações recolhidas foram misturadas e concentradas para dar um óleo espesso amarelo contendo biperidina. A este óleo foram adicionados 100 mL de AcOEt e 100 mL de solução aquosa saturada de  $\text{CuSO}_4$ . As camadas foram separadas e a camada aquosa foi separada para remover o sal de cobre azul. O filtrado foi então extraído duas vezes com AcOEt (2 × 50mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, filtradas e concentradas para obter o produto 6-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina (**7A**, 11 g, 57%) como um sólido amarelo claro.

**Passo B: 7B** Num vaso de pressão de 500 mL foram adicionados 6-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridina (**7A**, 6,2 g, 32 mmol), 4-(prop-1-en-2-il)benzamida (6,2 g, 39 mmol), acetato de paládio (II) (0,29 g, 1,3 mmol) e 2-di-terc-butilfosfino-3,4,5,6-tetrametil-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenilo (2,2 g, 3,9 mmol). Foi então adicionado fosfato de potássio tribásico triturado (15 g, 45 mmol), seguido de 1,4-dioxano (130 mL) e t-butanol (32 mL). O vaso foi purgado com azoto durante 30 min, antes de ser selado e aquecido a 130°C durante 24 h. Depois de arrefecer foram



sucessivamente adicionados 250 mL de água e 250 mL de AcOEt. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída mais uma vez com 200 mL de AcOEt. As camadas orgânicas combinadas foram secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtradas e concentradas. O produto em bruto foi purificado por cromatografia em coluna de fase normal eluindo com AcOEt (10-40%) em hexanos. As frações contendo produto foram combinadas e concentradas para obter o produto, N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**7B**, ~4,2 g, 41%) como um sólido amarelo.

### **Exemplo 8: Preparação do Intermediário 8**



**Passo A: 8A** A uma mistura de 1H-pirrólo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (1,0 g, 4,6 mmol) em DMF (20 mL) foi adicionado hidreto de sódio (60% em óleo) (0,41g, 10 mmol) e agitado à temperatura ambiente durante 3 h. À mistura foi adicionado (clorometil)(metil)sulfano (0,89 g, 9,2 mmol) e agitado à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura reacional foi extraída com AcOEt/ $\text{H}_2\text{O}$ . A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{MgSO}_4$  e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , hexanos:AcOEt = 50:50) para dar 1-(metiltiometil)-1H-

pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (**8A**, 920 mg, 3,3 mmol, 72 % de rendimento) como um óleo amarelo. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, CLOROFÓRMIO- $d$ )  $\delta$  ppm 1,61 (s, 9 H) 1,94 (s, 3 H) 5,15 (s, 2 H) 6,64 (d,  $J=3,28$  Hz, 1 H) 7,34 (d,  $J=3,28$  Hz, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,93 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H).

**Passo B: 8B** Uma mistura de 1-(metiltiometil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (**8A**, 920 mg, 3,3 mmol) e Oxona (4,2 g, 6,8 mmol) em MeOH:H<sub>2</sub>O=1:1 (20 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura foi extraída com AcOEt:H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, AcOEt) para dar 1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (**8B**, 820 mg, 80 % de rendimento) como um amorfo incolor. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, CLOROFÓRMIO)  $\delta$  ppm 1,70 (s, 9 H) 2,75 (s, 3 H) 5,40 (s, 2 H) 6,88 (dd,  $J=3,41$ , 0,88 Hz, 1 H) 7,50 (d,  $J=3,54$  Hz, 1 H) 8,21 (s, 1 H) 9,09 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H).

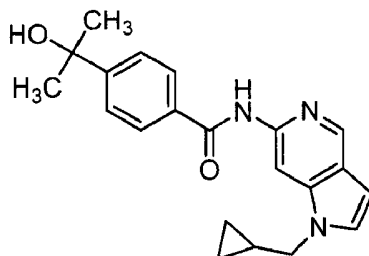
**Passo C: 8C** Uma mistura de 1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxilato de terc-butilo (**8B**, 820 mg, 2,7 mmol) em DCM (5 mL) e TFA (5 mL) foi agitada a 50°C durante 15 h. A mistura foi concentrada in vacuo para dar ácido 1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-carboxílico (**8C**, 650 mg, 2,6 mmol, 97 % de rendimento) como um óleo castanho. O material foi utilizado para a reação seguinte sem mais purificações. ESI-MS:  $m/z$  255,1 (M+H)<sup>+</sup>.

**Passo D: 8D** Uma mistura de azida de difenilfosforilo (1,1 g, 3,8 mmol), Et<sub>3</sub>N (1,8 mL, 13 mmol) e ácido 1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridina-6-

carboxílico (**8C**, 650 mg, 2,6 mmol) em 2-metilpropan-2-ol (10 g, 140 mmol) foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e, em seguida, a 80°C durante 3h. A mistura foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, hexano : AcOEt = 50:50) para dar 1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**8D**, 410 mg, 1,3 mmol, 50 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CLOROFÓRMIO-*d*) δ ppm 0,35 - 0,44 (m, 2 H) 0,57 - 0,70 (m, 2 H) 1,19 - 1,33 (m, 1 H) 1,57 (s, 9 H) 3,97 (d, *J*=6,82 Hz, 2 H) 6,52 - 6,54 (m, 1 H) 7,19 (d, *J*=3,28 Hz, 1 H) 7,59 (s. l., 1 H) 7,93 (s, 1 H) 8,56 (d, *J*=1,01 Hz, 1 H).

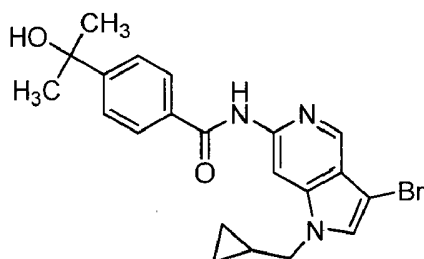
**Passo E: 8E** Uma mistura de 1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamato de terc-butilo (**8D**, 420 mg, 1,3 mmol) em HCl 4M em dioxano (3 mL) foi agitada a 50 ° C durante 3 h. A mistura foi concentrada in vacuo e o resíduo resultante foi dissolvido em piridina (3 mL, 37,1 mmol). À mistura foi adicionado 4-(clorocarbonil)benzoato de metilo (385 mg, 1,936 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 3 h. A mistura foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (NH-SiO<sub>2</sub>, AcOEt) para dar 4-(1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**8E**, 160 mg, 0,40 mmol, 31 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 3,02 (s, 3 H) 3,90 (s, 3 H) 5,88 (s, 2 H) 6,73 (d, *J*=2,78 Hz, 1 H) 7,49 (d, *J*=3,28 Hz, 1 H) 8,01 - 8,12 (m, 2 H) 8,12 - 8,19 (m, 2 H) 8,46 (s, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 10,93 (s, 1 H).

**Exemplo 9:** N-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida



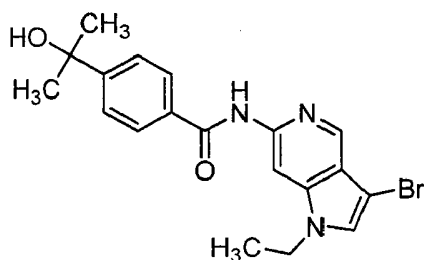
A uma solução arrefecida em gelo de 4-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)carbamóil)benzoato de metilo (**2D**, 270 mg, 0,773 mmol) em THF (5 mL) foi adicionada solução de brometo de metilmagnésio 3 M em THF (1,288 mL, 3,86 mmol). A mistura reacional foi agitada a 0 °C durante 30 min. A mistura foi extraída com AcOEt/H<sub>2</sub>O, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada *in vacuo*. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia (NH-SiO<sub>2</sub>, AcOEt). As frações foram concentradas *in vacuo* para dar o composto em epígrafe N-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida (110 mg, 0,32 mmol, 40 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 0,39 - 0,45 (m, 2 H) 0,51 - 0,58 (m, 2 H) 1,20 - 1,31 (m, 1 H) 1,46 (s, 6 H) 4,05 (d, *J*=7,07 Hz, 2 H) 5,16 (s, 1 H) 6,57 (d, *J*=3,03 Hz, 1 H) 7,50 (d, *J*=3,28 Hz, 1 H) 7,59 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,01 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,35 (s, 1 H) 8,63 (d, *J*=1,01 Hz, 1 H) 10,51 (s, 1 H); p.f. 156-157°C.

**Exemplo 10:** N-(3-bromo-1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida



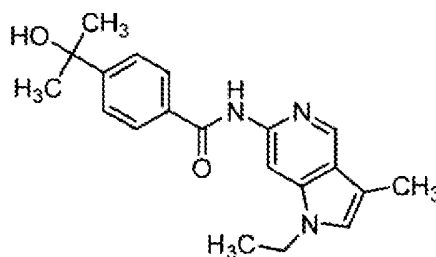
A uma solução arrefecida em gelo de N-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida (Exemplo 9, 75 mg, 0,215 mmol) em DCM (4 mL) foi adicionada NBS (38,2 mg, 0,215 mmol). A mistura reacional foi agitada a 50 °C durante 1h e, em seguida, submetida a cromatografia (NH-SiO<sub>2</sub>, AcOEt). As frações foram concentradas *in vacuo* e purificadas por HPLC preparativa para dar o composto em epígrafe, N-(3-bromo-1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida (60 mg, 0,14 mmol, 65 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,40 - 0,48 (m, 2 H) 0,52 - 0,59 (m, 2 H) 1,20 - 1,32 (m, 1 H) 1,46 (s, 6 H) 4,05 (d, J=7,07 Hz, 2 H) 5,17 (s, 1 H) 7,59 (d, J=8,59 Hz, 2 H) 7,74 (s, 1 H) 8,02 (d, J=8,59 Hz, 2 H) 8,40 (s, 1 H) 8,51 (s, 1 H) 10,69 (s, 1 H); p.f. 193-194°C.

**Exemplo 11:** N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida



A uma solução arrefecida em gelo de 4-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**3D**, 300 mg, 0,75 mmol) em THF (5 mL) foi adicionada solução de MeMgS 3M em THF (2,5 mL, 7,5 mmol) a 0°C. A mistura reacional foi agitada a 0 °C durante 2h. A mistura foi desativada com NH<sub>4</sub>Cl aquoso saturado e extraída com AcOEt. A camada orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada in vacuo. A mistura em bruto foi cristalizada de AcOEt para dar o composto em epígrafe, N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida (290 mg, 0,72 mmol, 97 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,40 (t, *J*=14,40 Hz, 3 H) 1,47 (s, 6 H) 4,22 (q, *J*=7,07 Hz, 2 H) 5,13 (s, 1 H) 7,60 (d, *J*=8,34 Hz, 2 H) 7,71 (s, 1 H) 8,02 (d, *J*=8,34 Hz, 2 H) 8,37 (d, *J*=0,76 Hz, 1 H) 8,51 (s, 1 H) 10,63 (s, 1 H); p.f. 209-210°C.

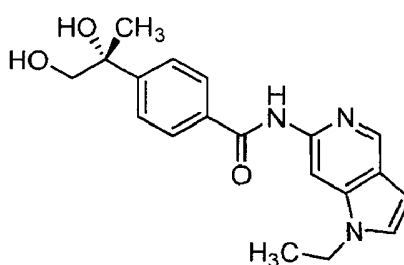
**Exemplo 12:** N-(1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 50 mL, 4-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoil)benzoato de metilo (**4A**, 530 mg, 1,571 mmol) foi dissolvido em THF (Volume: 12 mL) e a solução foi arrefecida a 0°C num banho de gelo. Foi então adicionada gota a gota brometo de metil-magnésio (2,6 mL, 7,9 mmol, solução 3M em éter). A mistura foi então deixada aquecer até à temperatura ambiente durante uma hora. A

reação foi em seguida desativada com solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a  $0^\circ\text{C}$  e a mistura foi extraída com  $\text{AcOEt}$  ( $3 \times 50 \text{ mL}$ ). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio e concentradas. O produto em bruto foi purificado utilizando HPLC preparativa (modo TFA, 20-55%). As frações puras foram evaporadas até uma quantidade mínima e basificadas com  $\text{NaHCO}_3$  saturado. A mistura foi extraída com  $\text{AcOEt}$  ( $2 \times 75 \text{ mL}$ ). As camadas orgânicas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio e concentradas para obter o produto em epígrafe (**12**, 160 mg, 30%) como um sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,36 (t,  $J=7,20 \text{ Hz}$ , 3 H) 1,46 (s, 5 H) 2,30 (d,  $J=0,76 \text{ Hz}$ , 3 H) 3,29 (s, 1 H) 4,12 (q,  $J=7,24 \text{ Hz}$ , 2 H) 5,12 (s, 1 H) 7,19 (d,  $J=1,01 \text{ Hz}$ , 1 H) 7,59 (m,  $J=8,59 \text{ Hz}$ , 2 H) 8,01 (m,  $J=8,34 \text{ Hz}$ , 2 H) 8,16 - 8,32 (m, 1 H) 8,57 (s, 1 H) 10,44 (s, 1 H); p.f.  $198-200^\circ\text{C}$ .

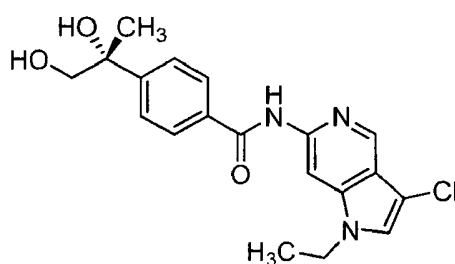
**Exemplo 13:** (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 300 mL foram adicionados N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (4,7 g, 15 mmol) e metanossulfonamida (**5A**, 1,5 g, 15 mmol) em t-butanol (77 mL). A esta, a  $0^\circ\text{C}$ , foi adicionada água (77 mL) e AD-mistura beta (27 g). Esta foi vigorosamente agitada de um dia para o outro num banho de gelo com aquecimento gradual. A UPLC mostrou conversão

total no produto desejado. A esta mistura foi adicionado sulfito de sódio (2,4 g, 19 mmol) e esta foi agitada à temperatura ambiente durante 30 min. A mistura reacional foi partilhada entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio e acetato de etilo, e a camada aquosa foi extraída mais uma vez com acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas duas vezes com NaOH 2N, secas sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtradas e concentradas. O produto em bruto foi recristalizado de AcOEt e éter para dar o produto em epígrafe, (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (**13**, 3,8 g, 11 mmol, 73 % de rendimento) como um sólido amarelo claro. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 10,52 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,02 (s, 2H), 7,58 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 7,47 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1H), 6,57 (dd,  $J = 3,3, 0,8$  Hz, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,77 (t,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 4,21 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 3,46 (dd,  $J = 5,7, 2,4$  Hz, 2H), 1,43 (s, 4H), 1,36 - 1,42 (m, 3H) ; ESI-MS:  $m/z$  340 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

**Exemplo 14:** (R)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida

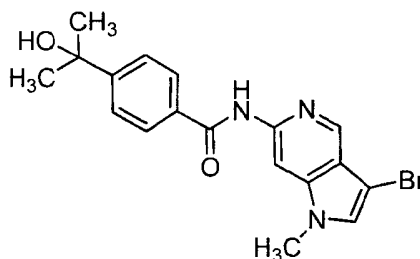


Num balão em pera de 200 mL foi adicionada (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (**13**, 3,2 g, 7,1 mmol) em DMF anidra (45 mL) para dar uma suspensão castanha. À temperatura ambiente, foi adicionada N-clorossuccinimida (0,94 g, 7,1 mmol) e a mistura foi aquecida até 60 °C durante 4 horas. Foram



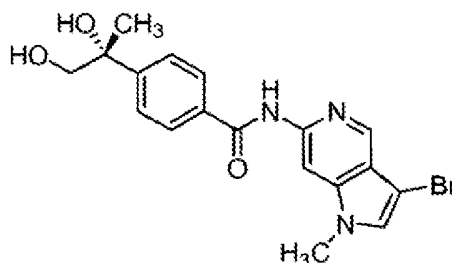
adicionados mais 0,2 equivalentes de N-clorossuccinimida à temperatura ambiente. Após mais 1,5 horas de aquecimento a 60 °C, a mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente. Foi adicionada solução aquosa saturada de cloreto de sódio e a mistura foi extraída duas vezes com acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas até se ter formado um precipitado. Foi adicionado éter e o sólido vermelho foi recolhido num filtro sinterizado, enquanto o filtrado foi concentrado. O óleo foi então purificado por cromatografia em coluna (SiO<sub>2</sub>, 75-100% de AcOEt/hexanos +0,25% de MeOH). As frações contendo produto foram combinadas e concentradas. O resíduo foi combinado com o sólido vermelho recolhido anteriormente e a mistura foi ressuspensa numa mistura de AcOEt/metanol quente. Depois de arrefecer, o sólido com uma cor muito mais clara foi recolhido num filtro de vidro sinterizado sob azoto e lavado com Et<sub>2</sub>O para remover a maioria das impurezas coradas para dar o composto em epígrafe, (R)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-dihidroxiopropan-2-il)benzamida (**14**, 1,7 g, 64 % de rendimento) como um sólido cor-de-rosa claro. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 10,68 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,01 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 5,05 (s, 1H), 4,76 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,19 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,40 - 3,50 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,38 (t, J = 7,3 Hz, 3H); ESI-MS: m/z 374 (M+H)<sup>+</sup>; p.f. 224,4-225,1 °C

**Exemplo 15:** N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 125 mL foi dissolvido 4-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)carbamoil)benzoato de metilo (**3H**, 400 mg, 1,0 mmol) em THF (Volume: 20 mL) e a mistura foi arrefecida até 0°C num banho de gelo. Foi adicionado, gota a gota, solução de brometo de metil-magnésio (1,7 mL, 5,2 mmol) 3M em éter. A mistura foi deixada até à temperatura ambiente e a agitação foi prosseguida durante 2 h. A reação foi desativada com solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl a 0°C e a mistura foi extraída com AcOEt (3 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio e concentradas in vacuo. O produto foi purificado utilizando HPLC preparativa (eluindo com TFA 15-65%). As frações puras foram concentradas até uma quantidade mínima e basificadas com NaHCO<sub>3</sub> saturado. A mistura aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 75 mL), lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar o composto em epígrafe (**15**, 80%, 320 mg) como um sólido branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,46 (s, 6 H) 3,80 (s, 3 H) 5,13 (s, 1 H) 7,51 - 7,69 (m, 3 H) 8,02 (d, J=8,08 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 8,50 (s, 1 H) 10,62 (s. l., 1 H).

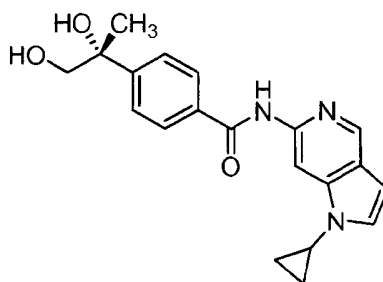
**Exemplo 16:** (R)-N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão em pera de 50 mL foram adicionadas N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**6A**, 400 mg, 1,1 mmol) e metanossulfonamida (100 mg, 1,1 mmol) em t-butanol (5 mL) para dar uma solução amarela. Depois de ter sido adicionada água (5 mL), a mistura foi arrefecida até 0 °C e foi então adicionada AD-mistura beta (1,9 g). A mistura difásica laranja foi mantida num banho de gelo com aquecimento gradual de um dia para o outro. Em seguida, a reação foi desativada com sulfito de sódio (180 mg, 1,4 mmol) a 0 °C. Após 15 minutos, foram adicionados solução aquosa saturada de cloreto de sódio e AcOEt e as camadas foram separadas; a camada aquosa foi extraída com AcOEt mais uma vez. Os combinados orgânicos foram lavados com solução KOH 2N e, em seguida, com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, antes de ter sido seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada. O produto em bruto foi purificado por um método de HPLC preparativa (TFA 15-65%). As frações puras foram recolhidas e concentradas até uma quantidade mínima. O resíduo foi liofilizado para dar o composto em epígrafe, (R)-N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida (**16**, 52 mg, 11,3 % de rendimento) e registada como um sal de TFA. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,43 (s, 3 H) 3,46 (d, J=2,78 Hz, 2 H) 3,83 (s, 3H) 4,06 (d, J=8,84 Hz, 1 H) 4,23 (d, J=8,84 Hz, 1

H) 7,62 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 7,77 (s, 1H) 8,01 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 8,23 (s, 1H) 8,62 (s, 1H) 10,92 (s, 1H); ESI-MS:  $m/z$  406 (M+H)<sup>+</sup>.

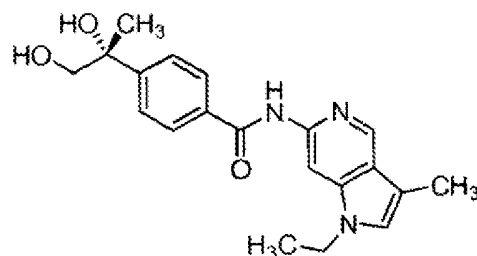
**Exemplo 17:** (R)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 1 litro foram adicionadas N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**7B**, 8,3 g, 26 mmol) e metanossulfonamida (2,5 g, 26 mmol) em t-BuOH (130 mL), e a mistura foi arrefecida num banho de gelo. Foram adicionadas água (130 mL) e AD-mistura beta (46 g) e formou-se uma solução laranja difásica. A reação foi agitada em banho de gelo durante 3,5 h, altura em que a reação estava concluída e desativada com sulfito de sódio (4,29 g, 34,0 mmol) em banho de gelo durante 30 min. Foi adicionada solução aquosa saturada de cloreto de sódio (200 mL) e a mistura foi extraída com AcOEt (2 × 200mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas uma vez com KOH 2N (100mL), seguida de solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL). As camadas orgânicas foram secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas para obter um semissólido. O produto em bruto foi carregado numa coluna de sílica gel eluída com 10-40% de AcOEt em hexanos. No entanto, o produto não era muito solúvel e a maior parte foi recuperada do topo da coluna. O sólido recuperado foi

lavado com AcOEt e recolhido por filtração para obter o produto (R)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida (**17**) como um sólido esbranquiçado. O filtrado foi concentrado e o resíduo sólido foi lavado com AcOEt e recolhido num filtro para obter mais 0,91 g de **17** como um sólido esbranquiçado. Os sólidos foram combinados (4,9 g, 53%) e utilizados no passo seguinte. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 0,94 - 1,02 (m, 2 H) 1,07 - 1,14 (m, 2 H) 1,43 (s, 3 H) 3,42 - 3,51 (m, 3 H) 4,71 (t,  $J=5,81$  Hz, 1 H) 4,99 (s, 1 H) 6,51 (dd,  $J=3,28$ , 1,01 Hz, 1 H) 7,37 (d,  $J=3,28$  Hz, 1 H) 7,55 - 7,62 (m, 2 H) 8,01 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 8,46 (t,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 8,60 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 10,45 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  352 (M+H) $^+$ ; 90,8% ee.

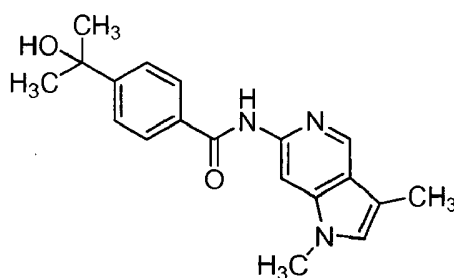
**Exemplo 18:** (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida



Num balão em pera de 50 mL foram adicionadas N-(1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (**6B**, 640 mg, 2,0 mmol) e metanossulfonamida (190 mg, 2,0 mmol) em t-butanol (12 mL) para dar uma solução amarela. Depois de ter sido adicionada água (12 mL), a mistura foi arrefecida até 0 °C e foi então adicionada AD-mistura beta (3,5 g). A mistura difásica laranja foi mantida em banho de gelo com aquecimento gradual de um dia para o outro. Para desativar a reação, foi adicionado sulfito de sódio (330 mg, 2,6 mmol) a 0 °C.

Após 15 minutos, foram adicionados solução aquosa saturada de cloreto de sódio e AcOEt e as camadas foram separadas; a camada aquosa foi extraída com AcOEt mais uma vez. Os orgânicos combinados foram lavados com solução de KOH 2N e, em seguida, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, antes de terem sido secos sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrados e concentrados. O produto em bruto foi purificado utilizando HPLC preparativa de fase inversa (modo de TFA, 10-45% de ACN em água). As frações puras foram combinadas, concentradas até uma quantidade mínima e secas por congelamento para dar o composto em epígrafe, (R)-4-(1,2-dihidroxiopropan-2-il)-N-(1-etil-3-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (**18**, 58 mg, 8,2 % de rendimento) como um sal de TFA. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,33 - 1,46 (m, 5 H) 2,27 - 2,43 (m, 3 H) 3,34 - 3,57 (m, 2 H) 4,11 - 4,36 (m, 2 H) 7,53 - 7,77 (m, 3 H) 7,85 - 8,07 (m, 3 H) 8,92 (s. l., 1 H) 11,37 (s. l., 1 H); ESI-MS: m/z 354 (M+H)<sup>+</sup>.

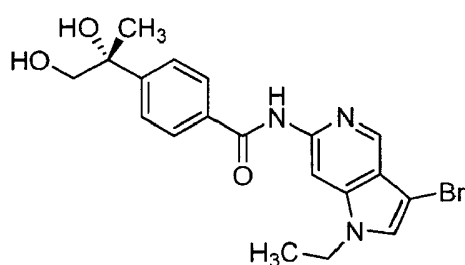
**Exemplo 19:** N-(1,3-dimetil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 50 mL, 4-(1,3-dimetil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamoyl)benzoato de metilo (**4B**, 530 mg, 1,571 mmol) foi dissolvido em THF (12 mL) e a mistura foi arrefecida até 0°C num banho de gelo. Foi então adicionada, gota a gota, solução de brometo de metil-magnésio (2,6 mL, 7,9 mmol) 3M em éter. A mistura foi então

deixada aquecer até à temperatura ambiente e a agitação prosseguida durante 2 h. A reação foi então desativada com solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a  $0^\circ\text{C}$  e a aquosa foi extraída com  $\text{AcOEt}$  ( $3 \times 50 \text{ mL}$ ). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (modo de TFA, 20-55% de  $\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ ). As frações puras foram concentradas até uma quantidade mínima e basificadas com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . A mistura aquosa foi extraída com  $\text{AcOEt}$  ( $2 \times 75 \text{ mL}$ ). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas sobre sulfato de sódio e concentradas para obter o produto em epígrafe (**19**, 160 mg, 20%) como um sólido branco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,46 (s, 6 H) 2,30 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 5,12 (s, 1 H) 7,11 (s, 1 H) 7,59 (m,  $J=8,34 \text{ Hz}$ , 2 H) 8,01 (m,  $J=8,34 \text{ Hz}$ , 2 H) 8,22 (s, 1 H) 8,57 (s, 1 H) 10,44 (s, 1 H); p.f.  $196-197^\circ\text{C}$ .

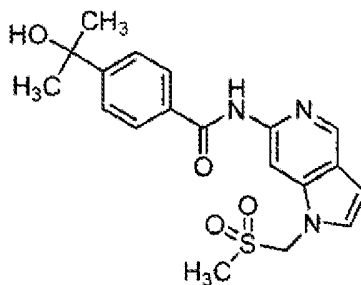
**Exemplo 20:** (R)-N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão em pera de 50 mL foi adicionada (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (**13**, 125 mg, 0,368 mmol) em diclorometano (3,7 mL). A  $0^\circ\text{C}$  foi adicionada 1-bromopirrolidina-2,5-diona (66 mg, 0,37 mmol) à mistura e a mistura foi mantida no frigorífico durante o fim de semana. Após concentração in vacuo, o produto em bruto foi purificado por HPLC

preparativa (modo de TFA, 15-65% de ACN/água). As frações combinadas foram neutralizadas com  $\text{NaHCO}_3$ , concentradas e extraídas para AcOEt. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtradas e concentradas. O resíduo foi então ressuspensão em ACN e água e, em seguida, seco por congelamento para dar o produto desejado, (R)-N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-dihidroxiopropan-2-il)benzamida (**20**, 10 mg, 7%) como um pó laranja claro. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  10,62 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,97 - 8,05 (m, 2H), 7,70 (s, 1H), 7,54 - 7,61 (m, 2H), 5,00 (s, 1H), 4,71 (t,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 4,21 (d,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 3,46 (dd,  $J = 5,8, 2,3$  Hz, 2H), 1,42 (s, 4H), 1,39 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H); ESI-MS:  $m/z$  418 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

**Exemplo 21:** 4-(2-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida

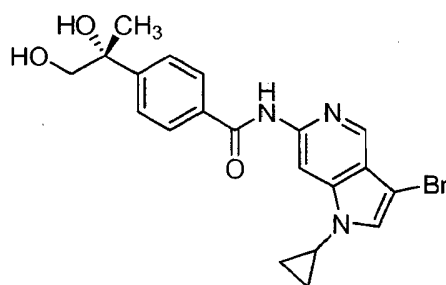


A uma solução arrefecida em gelo de 4-(1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)carbamoyl)benzoato de metilo (**8E**, 160 mg, 0,40 mmol) em THF (20 mL) foi adicionada solução de brometo de metilmagnésio 3M em THF (0,67 mL, 2,0 mmol). A mistura reacional foi agitada a 0 °C durante 30 min. A mistura foi extraída com AcOEt/ $\text{H}_2\text{O}$ , lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{MgSO}_4$  e concentrada in



vacuo. A mistura em bruto foi submetida a cromatografia (NH-SiO<sub>2</sub>, AcOEt). As frações foram concentradas *in vacuo* e purificadas por HPLC preparativa para dar 4-(2-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-(metilsufonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (**21**, 1,1 mg, 3,9 µmol, 0,96 % de rendimento) como um pó branco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,28 (s, 6 H) 2,85 (s, 3 H) 4,99 (s, 1 H) 5,69 (s, 2 H) 6,54 (s, 1 H) 7,29 (s, 1 H) 7,42 (d, *J*=7,58 Hz, 2 H) 7,84 (d, *J*=7,07 Hz, 2 H) 8,30 (s, 1 H) 8,51 (s, 1 H) 10,41 (s. l., 1 H); ESI-MS: *m/z* 387 (M+H)<sup>+</sup>.

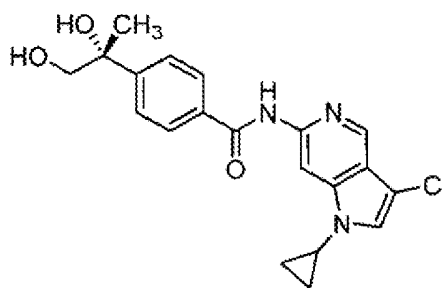
**Exemplo 22:** (R)-N-(3-bromo-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 250 mL foi adicionada (R)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida (**17**, 3,2 g, 9,2 mmol) em N,N-dimetilformamida (31 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo, seguida de adição de N-bromossuccinimida (1,477 g, 8,30 mmol) em porções. A mistura foi agitada num banho de gelo durante 30 min, altura em que permanecia cerca de ~10% do material de partida. Foram adicionados mais 0,1 equivalentes (160 mg) de N-bromossuccinimida à mistura reacional, a qual foi agitada num banho de gelo durante mais 30 min. Foi adicionada solução aquosa saturada de cloreto de sódio (200 mL), seguida de extração com AcOEt (2 × 200mL). As camadas orgânicas foram combinadas. Após

secagem e filtração foi obtida uma suspensão após concentração. O sólido foi recolhido num filtrado e, em seguida, lavado com 10 mL de AcOEt. Os 2 g resultantes de sólido filtrado foram purificados por cromatografia em coluna sobre sílica gel, eluindo com 5-10% de MeOH em AcOEt. As frações contendo produto foram combinadas e concentradas para produzir um sólido, o qual foi lavado duas vezes com AcOEt (2x10mL). O composto em epígrafe (**22**, 0,62 g, 16%) foi obtido como um sólido cor-de-rosa. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 0,98 - 1,04 (m, 2 H) 1,05 - 1,13 (m, 2 H) 1,42 (s, 3 H) 3,42 - 3,54 (m, 3 H) 4,71 (t,  $J=5,81$  Hz, 1 H) 4,99 (s, 1 H) 7,58 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 7,62 (s, 1 H) 8,01 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 8,48 (d,  $J=0,76$  Hz, 2 H) 8,51 (d,  $J=0,76$  Hz, 2 H) 10,63 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  432 (M+H) $^+$ . Foram obtidas quantidades adicionais do composto em epígrafe combinando os filtrados e repurificando-os por cromatografia em coluna sobre sílica gel.

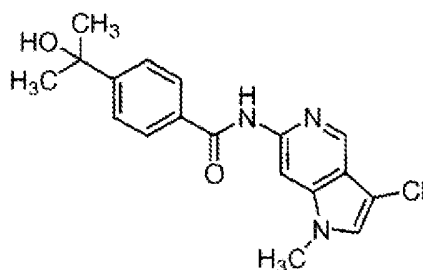
**Exemplo 23:** (R)-N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão de fundo redondo de 100 mL foi adicionada (R)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida (200 mg, 0,57 mmol) em N,N-dimetilformamida (2,8 mL) para dar uma solução amarela clara. Esta foi seguida da adição de N-clorossuccinimida (76 mg, 0,57 mmol) à temperatura ambiente e a mistura foi

aquecida até 60 °C. Após 4 h foram adicionados mais 0,1 equivalentes de N-clorossuccinimida e a mistura foi aquecida durante mais uma hora. A mistura foi diretamente carregada numa coluna de sílica gel, eluindo com 20-70% de AcOEt em hexanos para purificação. As frações contendo produto foram combinadas e formou-se um sólido rosado após evaporação dos solventes. O sólido foi recolhido e lavado com 5 mL de AcOEt para dar o composto em epígrafe (**23**, 71 mg, 32%) como um produto cor-de-rosa claro. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 0,99 - 1,06 (m, 2 H) 1,10 (dd,  $J=7,07$ , 4,55 Hz, 2 H) 1,43 (s, 3 H) 3,42 - 3,54 (m, 3 H) 4,72 (s. l., 1 H) 5,00 (s, 1 H) 7,56 - 7,62 (m, 3 H) 8,02 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 8,52 (d,  $J=0,76$  Hz, 1 H) 8,56 - 8,60 (m, 1 H) 10,64 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  386 ( $M+H$ ) $^+$ .

**Exemplo 24:** N-(3-cloro-1-metil)-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida

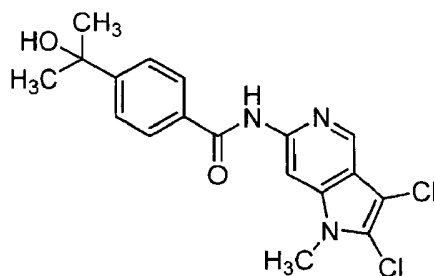


**Passo A:** Num balão de fundo redondo de 250 mL, 4-(1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-ilcarbamóil)benzoato de metilo (**4C**, 4,5 g, 15 mmol) foi dissolvido em THF (30 mL) e a mistura foi arrefecida até 0°C num banho de gelo. A esta foi adicionado, gota a gota, brometo de metilmagnésio (24 mL, 73 mmol) como uma solução 3M em éter. A mistura foi deixada até à temperatura ambiente e a agitação prosseguida durante 1,5 h. A mistura foi arrefecida até 0 °C e desativada com solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . A mistura aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 250 mL) e as camadas orgânicas

combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica combinada foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. O sólido resultante foi triturado com éter dietílico e recolhido por filtração para obter o produto desejado, 4-(2-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (2,2 g, 49%); p.f. 173-175°C. O sólido foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

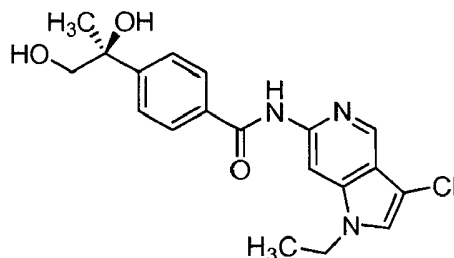
**Passo B:** Num balão de fundo redondo de 125 mL, 4-(2-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (2,8 g, 9,05 mmol) foi dissolvida em DMF (25 mL). A esta foi adicionada N-clorossuccinimida (1,5 g, 11 mmol) e a mistura foi agitada a 50 °C durante 3 horas. A mistura foi então vertida para 50 mL de água e, em seguida, extraída com acetato de etilo (3 × 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas. O resíduo foi purificado por HPLC preparativa (modo de RFA: eluindo com 25-55% de ACN em água). As frações contendo o produto mono-clorado desejado foram combinadas e concentradas. Ao resíduo foi adicionado NaHCO<sub>3</sub> saturado e a mistura aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 × 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas para obter o composto em epígrafe (840 mg, 27 % de rendimento) como um sólido castanho-amarelado. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,25 - 1,26 (m, 1 H) 1,46 (s, 139 H) 3,66 - 3,86 (m, 3 H) 5,17 (s, 1 H) 7,40 - 7,69 (m, 3 H) 8,01 (d, J=8,59 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 8,59 (s, 1 H) 10,68 (s, 1 H)

**Exemplo 25:** N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida



O composto em epígrafe foi obtido como um produto secundário na síntese do Exemplo 24. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,46 (s, 5 H) 3,76 (s, 3 H) 5,17 (s, 1 H) 7,59 (m,  $J=8,34$  Hz, 2 H) 8,01 (m,  $J=8,34$  Hz, 2 H) 8,37 (s, 1 H) 8,58 (s. l., 1 H) 10,74 (s, 1 H)

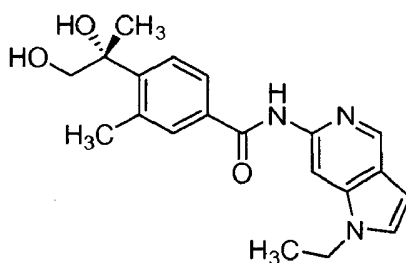
**Exemplo 26:** (S)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



Num balão em pera de 50 mL foi adicionada (S)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (92 mg, 0,27 mmol) em DMF (2 mL) para dar uma solução. À temperatura ambiente, foi adicionada 1-cloropirrolidina-2,5-diona (36 mg, 0,27 mmol) e a mistura foi aquecida a 60 °C durante 4 horas, altura em que a reação parecia ter parado. Foram adicionados mais 0,2 equivalentes de 1-cloropirrolidina-2,5-diona e a mistura foi aquecida a 60 °C durante mais uma hora. A mistura foi então arrefecida e partilhada entre solução aquosa saturada de cloreto de sódio e AcOEt. A camada aquosa foi ainda

extraída com AcOEt e as camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas, filtradas e concentradas in vacuo. O resíduo foi então triturado com AcOEt quente e o precipitado resultante foi recolhido num funil de vidro sinterizado. O sólido recolhido foi então recristalizado de EtOH para dar o produto, (S)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida (23 mg, 0,062 mmol, 22 % de rendimento) como um sólido cor-de-rosa. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,68 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,02 (s, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,59 (s, 2H), 5,05 (s, 1H), 4,76 (t,  $J$  = 5,8 Hz, 1H), 4,19 (q,  $J$  = 7,1 Hz, 2H), 3,40 - 3,50 (m, 2H), 1,34 - 1,45 (m, 6H); p.f. 223,0-223,9 °C.

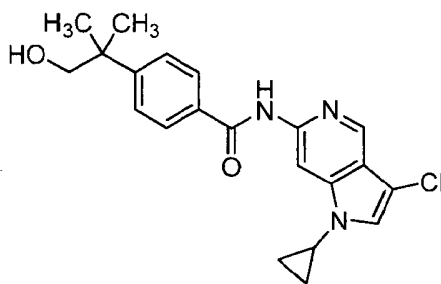
**Exemplo 27:** (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-3-metilbenzamida



A N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-3-metil-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (100 mg, 0,31 mmol) e metanossulfonamida (30 mg, 0,31 mmol) foi adicionado t-BuOH (1,6 mL). A mistura foi arrefecida num banho de gelo e, em seguida, foram adicionadas água (1,6 mL) e AD-mistura beta (550 mg, 0,39 mmol) para dar uma solução laranja difásica. A reação foi agitada a 0 °C com aquecimento lento até à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi novamente arrefecida num banho de gelo no dia seguinte e foi adicionado um total de 500 mg de AD-mistura beta. Não

foi observada mais conversão após 6 horas. À mistura reacional arrefecida em banho de gelo foram adicionados 120 mg de sulfito de sódio. Depois de ter sido agitada durante 20 min, a mistura foi carregada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL) e a mistura foi extraída com AcOEt (2×5mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas uma vez com KOH 2N (5mL) e, em seguida, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 mL). As camadas orgânicas foram secas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 10,47 (s. l., 1H), 8,65 (s. l., 1H), 8,29 (s. l., 1H), 7,81 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,56 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 6,58 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 4,91 (s, 1H), 4,76 (s. l., 1H), 4,16 - 4,28 (m, 2H), 3,60 (s. l., 2H), 2,59 (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3H); ESI-MS: m/z 354 (M+H)<sup>+</sup>.

**Exemplo 28:** N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)benzamida



**Passo A:** Num frasco de micro-ondas foram adicionados 6-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridina (250 mg, 1,3 mmol), 4-(1-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)benzamida (400 mg, 1,3 mmol), acetato de paládio (II) (44 mg, 0,20 mmol) e 2-di-terc-butilfosfino-3,4,5,6-tetrametil-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenilo (90 mg, 0,156 mmol). A esta mistura foi então adicionado fosfato de potássio triturado (590 mg, 1,8 mmol), seguido de 1,4-

dioxano (4,3 mL) e t-butanol (1,1 mL). Foram adicionados mais 50 mg de  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  à solução. Depois de purgar o frasco com  $\text{N}_2$ , a mistura foi então aquecida num banho de óleo a 140 °C de um dia para o outro. À mistura escura à temperatura ambiente foram adicionados AcOEt e água. A mistura foi filtrada para remover o Pd. O filtrado difásico foi então partilhado e a fase aquosa foi ainda extraída com 10 mL de AcOEt. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtradas e concentradas *in vacuo*. O produto em bruto foi purificado por cromatografia em coluna ( $\text{SiO}_2$ , 20-60% AcOEt/hexanos) para dar o produto desejado, 4-(1-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida como um óleo amarelo (40 mg).

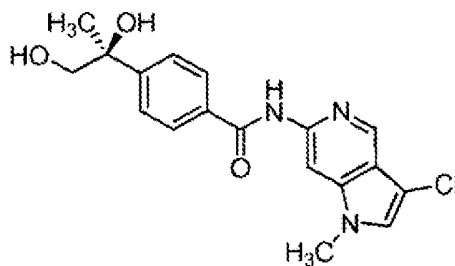
**Passo B:** A 4-(1-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (40 mg, 0,086 mmol) foi adicionada N,N-dimetilformamida (0,43 mL) para dar uma solução amarela clara. A esta foi adicionada NCS (10 mg, 0,078 mmol) e a mistura foi aquecida a 60 °C durante 3 h. Foi adicionada água (5 mL) e a mistura foi extraída com AcOEt (2 × 5mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtradas e concentradas *in vacuo*. O produto em bruto, 4-(1-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)-N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida, foi utilizado no passo seguinte sem mais purificação.

**Passo C:** A 4-(1-(terc-butildimetilsililoxi)-2-metilpropan-2-il)-N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (20mg, 0,040 mmol) foi adicionado THF (800  $\mu\text{L}$ ). À temperatura ambiente, foi adicionado TBAF (solução 1,0 M em THF, 50  $\mu\text{L}$ ). A mistura foi aquecida a



60°C durante 1 h. Depois de a reação estar concluída, foram adicionados 2 mL de NH<sub>4</sub>Cl saturado e a mistura foi extraída com AcOEt (3x2 mL). As camadas orgânicas foram combinadas, secas, filtradas e concentradas. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (modo de TFA, 20-45% de ACN em água). As frações contendo produto foram combinadas e, em seguida, extraídas com AcOEt para remover TBAF residual para dar o composto em epígrafe como um sólido branco (13 mg, 84%). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 0,98 - 1,05 (m, 1 H) 1,05 - 1,12 (m, 1 H) 1,26 (d, J=1,52 Hz, 7 H) 3,44 - 3,55 (m, 3 H) 4,77 (s. l., 1 H) 7,50 (dd, J=8,59, 2,27 Hz, 2 H) 7,62 (d, J=6,06 Hz, 1 H) 7,96 - 8,05 (m, 2 H) 8,34 (d, J=1,01 Hz, 1 H) 8,51 (d, J=1,01 Hz, 1 H) 8,61 (d, J=1,01 Hz, 1 H) 8,57 (d, J=0,76 Hz, 1 H) 10,64 (d, J=9,09 Hz, 1 H); ESI-MS: m/z 384 (M+H)<sup>+</sup>.

**Exemplo 29:** (S)-N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



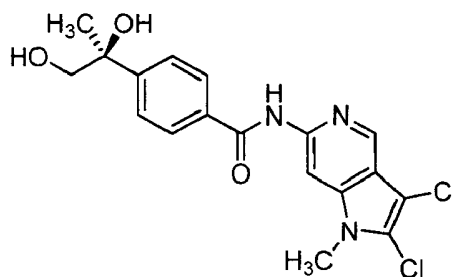
**Passo A:** N-(1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (900 mg, 3,1 mmol) e metanossulfonamida (290 mg, 3,1 mmol) foram suspensos em t-butanol (10 mL). Depois de ter sido adicionada água (10 mL), a mistura foi arrefecida até 0 °C e foi então adicionada AD-mistura alfa (5,4 g, 3,9 mmol). A mistura laranja difásica foi mantida em banho de gelo com aquecimento gradual de um dia para o outro. A reação foi desativada com sulfito de sódio (510 mg, 4,0 mmol) a 0 °C. Após 15 minutos, foram

adicionadas solução aquosa saturada de cloreto de sódio e AcOEt e as camadas foram separadas; a camada aquosa foi extraída com AcOEt mais uma vez. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução de KOH 2N e, em seguida, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, antes de terem sido secas sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtradas e concentradas. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (modo de TFA, 15-65% de ACN em água). As frações de composto puro foram combinadas e concentradas até uma quantidade mínima, em seguida foi adicionada solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e extraída para AcOEt (2 × 100 mL). A camada orgânica combinada foi seca sobre sulfato de sódio e evaporada para dar o produto desejado, (S)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida.

**Passo B:** (S)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (650 mg, 2,0 mmol) foi dissolvida em DMF (25 mL) e foi adicionada NCS (270 mg, 2,0 mmol) à mistura, a qual foi agitada a 50 °C durante 16 horas. A mistura foi então vertida para 50 mL de água gelada e foi extraída para acetato de etilo (3 × 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas *in vacuo*. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (modo de TFA, 15-50% de ACN em água). As frações contendo o produto mono-clorado desejado foram combinadas, concentradas, lavadas com  $\text{NaHCO}_3$  saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, e em seguida extraídas para acetato de etilo (2 × 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas *in vacuo* para obter o composto em epígrafe, (S)-N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)benzamida (120 mg, 0,32 mmol, 16%), como um sólido

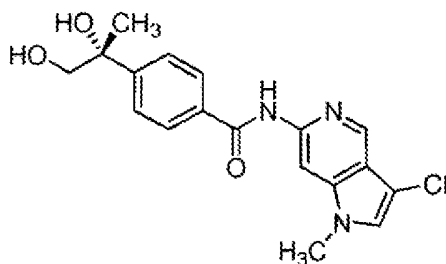
castanho. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,43 (s, 2 H) 2,43 - 2,64 (m, 1 H) 3,46 (dd,  $J=5,56, 2,53$  Hz, 2 H) 3,69 - 3,84 (m, 2 H) 4,76 (t,  $J=5,81$  Hz, 1H) 5,04 (s, 1 H) 7,40 - 7,67 (m, 2 H) 8,02 (d,  $J=8,59$  Hz, 1 H) 8,21 - 8,40 (m, 1 H) 8,59 (s, 1 H) 10,65 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  360  $(\text{M}+\text{H})^+$ ; p.f. 210-212  $^{\circ}\text{C}$ .

**Exemplo 30:** (S)-N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



O composto em epígrafe foi obtido como um produto secundário na síntese do Exemplo 29. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,43 (s, 2 H) 1,44 - 1,45 (m, 1 H) 3,46 (d,  $J=2,53$  Hz, 1 H) 3,79 (s, 2 H) 4,06 (d,  $J=8,84$  Hz, 2 H) 4,23 (d,  $J=8,84$  Hz, 3 H) 7,60 (d,  $J=8,59$  Hz, 1 H) 7,87 - 8,12 (m, 1 H) 8,63 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  394  $(\text{M}+\text{H})^+$ ; p.f. 205-208  $^{\circ}\text{C}$ .

**Exemplo 31:** (R)-N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida

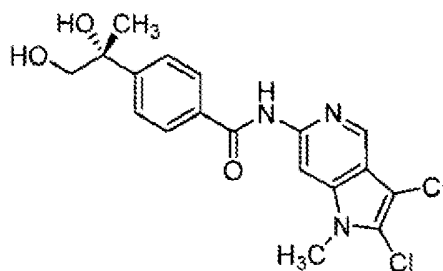


**Passo A:** N-(1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(prop-1-en-2-il)benzamida (900 mg, 3,1 mmol) e metanossulfonamida (290 mg, 3,1 mmol) foram suspensos em t-butanol (10 mL). Depois de ter sido adicionada água (10 mL), a mistura foi arrefecida até 0 °C e foi então adicionada AD-mistura beta (5,4 g, 3,9 mmol). A mistura laranja difásica foi mantida num banho de gelo com aquecimento gradual de um dia para o outro. A reação foi desativada com sulfito de sódio (510 mg, 4,0 mmol) a 0 °C. Após 15 minutos, foram adicionados solução aquosa saturada de cloreto de sódio e AcOEt e as camadas foram separadas; a camada aquosa foi extraída com AcOEt mais uma vez. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução de KOH 2N e, em seguida, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, antes de terem sido secas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (modo de TFA, 15-65% de ACN em água). As frações de composto puro foram combinadas e concentradas até uma quantidade mínima, em seguida adicionada solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e extraída para AcOEt (2 × 100 mL). A camada orgânica combinada foi seca sobre sulfato de sódio e evaporada para dar o produto desejado, (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida.

**Passo B:** (R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida (750 mg, 2,3 mmol) foi dissolvida em DMF (20 mL) e foi adicionada à mesma NCS (310 mg, 2,3 mmol). A agitação foi prosseguida a 50 °C durante 3 horas. A mistura foi vertida para 50 mL de água gelada e foi extraída para acetato de etilo (3 × 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio e concentradas *in vacuo*. O produto em bruto foi purificado por HPLC preparativa (modo de TFA, 15-50% de ACN

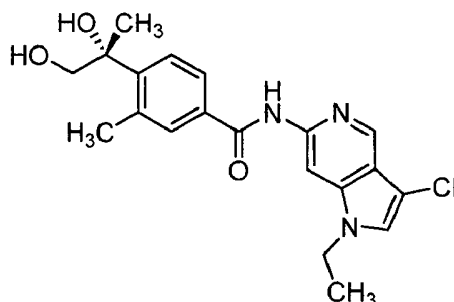
em água). As frações contendo o produto mono-clorado desejado foram combinadas, concentradas, lavadas com  $\text{NaHCO}_3$  saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, e em seguida extraídas para acetato de etilo ( $2 \times 100$  mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas *in vacuo* para obter o composto em epígrafe, (R)-N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida (18 mg, 0,49 mmol, 21%) como um sólido amarelo claro. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,42 (s, 3 H) 3,45 (dd,  $J=5,81, 2,53$  Hz, 2 H) 3,78 (s, 2 H) 4,74 (t,  $J=5,81$  Hz, 1 H) 5,03 (s, 1 H) 7,46 - 7,69 (m, 2 H) 8,01 (d,  $J=8,59$  Hz, 2 H) 8,34 (d,  $J=0,76$  Hz, 1 H) 8,59 (d,  $J=0,76$  Hz, 1 H) 10,64 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  360  $(\text{M}+\text{H})^+$ ; p.f. 210-212 °C.

**Exemplo 32:** (R)-N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)benzamida



O composto em epígrafe foi obtido como um produto secundário na síntese do Exemplo 31. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,43 (s, 2 H) 1,44 - 1,45 (m, 1 H) 3,46 (d,  $J=2,53$  Hz, 1 H) 3,79 (s, 2 H) 4,06 (d,  $J=8,84$  Hz, 2 H) 4,23 (d,  $J=8,84$  Hz, 3 H) 7,60 (d,  $J=8,59$  Hz, 1 H) 7,87 - 8,12 (m, 1 H) 8,63 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  394  $(\text{M}+\text{H})^+$ .

**Exemplo 33:** (R)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-3-metilbenzamida



(R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrólo[3,2-c]piridin-6-il)-3-metilbenzamida (40mg, 0,11 mmol) foi dissolvida em N,N-dimetilformamida (0,57 mL) para dar uma solução amarela clara. Foi então adicionada NCS (14 mg, 0,10 mmol) à temperatura ambiente. A mistura foi aquecida a 60 °C; após 3 h, foram adicionados mais 15 mg de NCS e a reação estava concluída após 1 h. A mistura foi diluída com MeOH (1 mL) e, em seguida, purificada por HPLC preparativa (modo básico, 20-70% de ACN em água). As frações contendo produto foram combinadas, concentradas e secas por congelamento para obter o composto em epígrafe como um sólido de cor castanha-amarelada (10 mg, 23 %). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $\text{d}_4$ )  $\delta$  ppm 1,38 (t,  $J=7,20$  Hz, 3 H) 1,48 (s, 3 H) 2,58 (s, 3 H) 3,58 - 3,64 (m, 2 H) 4,19 (q,  $J=7,24$  Hz, 2 H) 4,77 (s. l., 1 H) 4,92 (s. l., 1 H) 7,55 (d,  $J=8,34$  Hz, 1 H) 7,68 (s, 1 H) 7,76 - 7,88 (m, 2 H) 8,36 (d,  $J=0,76$  Hz, 1 H) 8,59 (d,  $J=1,01$  Hz, 1 H) 10,58 (s, 1 H); ESI-MS:  $m/z$  388 ( $M+H$ ) $^+$ .

#### **Exemplo A: Preparação de ASK1 Proteína**

A clonagem do ADNc que codifica a ASK1 humana foi realizada por PCR utilizando os iniciadores, 5'-AAAAGTCGACATGGACTACAAGGACGACGATGACAAGGTGAACACCATTACCGAAGAGAAGGGGA-3' (SEQ ID NO: 1) e 5'-AAAGCGGCCGCTCAAGTCTGTTTGTTCGAAAGTCAATG-3' (SEQ ID NO: 2), da biblioteca

de ADNc de coração humano (Becton, Dickinson and Company). O produto de PCR foi submetido a eletroforese em gel de agarose (1%), tendo sido recuperado a partir do gel um fragmento de ADN com 2,2 kb contendo um gene de ASK1 e, em seguida, digerido com as enzimas de restrição, NotI e SalI, e inserido num plasmídeo pFASTBAC1 (Invitrogen) para preparar um plasmídeo pFB-ASK1. A inserção foi verificada por sequenciação. O baculovírus recombinante foi preparado de acordo com o procedimento do sistema de expressão de baculovírus Bac-to-Bac (Invitrogen).

Células Sf-21 foram semeadas para conseguir  $1 \times 10^6$  células/mL em 100 mL de meio Sf-900 II SFM (Invitrogen), o qual contém 10% de soro fetal de vitelo e, em seguida, cultivadas a 27 °C durante 24 h. Para expressar a ASK1 nas células, foram adicionados 0,15 mL da cultura-mãe de baculovírus recombinante às células e, em seguida, cultivadas durante 60 h. As células foram separadas da solução de cultura por centrifugação a 3000 rpm durante 10 min e lavadas uma vez com PBS. As células foram suspensas em 10 mL de tampão de lise (HEPES 25 mM (pH 7,5), 1 % de Triton X, NaCl 130 mM, EDTA 1 mM, DTT 1 mM,  $\beta$ -glicerofosfato 25 mM, Inibidor completo de protease (Roche), ortovanadato de sódio 1 mM) e rompidas por quatro tratamentos com um homogeneizador (POLYTRON) a 20000 rpm durante 30 segundos. A proteína ASK1 ativa foi purificada a partir do sobrenadante obtido por separação centrífuga a 40000 rpm durante 45 min utilizando Gel de Afinidade anti-FLAG M2 (Sigma).

**Exemplo B: Ensaio de Cintilação para Medir o Efeito Inibidor de Compostos Exemplificados da Invenção Contra a ASK1.**

Os compostos de ensaio (2,5  $\mu$ L) dissolvidos em DMSO foram adicionados a poços contendo 37,5  $\mu$ L da solução reacional (HEPES 25 mM (pH 7,5), acetato de magnésio 10 mM, DTT 1 mM) incluindo 30 ng de proteína ASK1 ativa e 1  $\mu$ g de proteína básica de mielina (Wako), e incubados à temperatura ambiente durante 5 min. Para iniciar a reação foram adicionados 10  $\mu$ L de solução de ATP (ATP 2,5  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ Ci de [ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP) aos poços. Depois de incubar à temperatura ambiente durante 30 min, a reação foi terminada adicionando 50  $\mu$ L de solução de TCA a 20%. A solução reacional foi incubada a 4 °C durante 30 min e uma fração insolúvel em ácido foi transferida para um filtro de GF/C (Packard) com o Coletor de Células (Packard), e lavadas com ácido fosfórico 250 mM. Após secagem a 45 °C durante 60 min. foram adicionados 40  $\mu$ L de Microscint 0 (Packard) e a radioatividade foi medida no TopCount (Packard). As concentrações (valor de IC<sub>50</sub>) dos compostos de ensaio necessárias para inibir 50% da atividade cinase foram calculadas pelo PRISM 3.0 (Software Graphpad).

**Exemplo C: Ensaio de Fluorescência Homogênea Resolvida no Tempo (HTRF) para medir o Efeito Inibidor de Compostos Exemplificados da Invenção Contra a ASK1.**

A ASK1 humana recombinante é adquirida de Millipore (Cat # 14-606). O ensaio enzimático da ASK1 é realizado utilizando o kit HTRF® KinEASE™ STK S3, o kit de Ensaio Universal para Serina/Treonina-Cinases de CisBio.

As propriedades inibidoras dos compostos em relação à ASK1 podem ser determinadas utilizando um formato de placa de 384 poços branca nas seguintes condições reacionais: ASK1 25 nM, péptido STK S3-biotina CisBio 1  $\mu$ M, ATP 100  $\mu$ M e 1% - 2% de DMSO em tampão de ensaio de cinase de HEPES 50 mM,



pH 7,3, NaCl 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, 0,01% de Brij35, EDTA 0,2 mM e DTT 1 mM. Produto da reação é determinado quantitativamente por HTRF após a adição do reagente de detecção SA-XL665 e anticorpo contra STK-criptato.

A reação de ensaio pode ser iniciada como se segue: 2 µL da mistura de péptido STK S3-biotina CisBio 3 µM e ATP 300 µM com 2 µL do composto de ensaio (diluições sucessivas por desdobramento para 11 pontos de dados para cada inibidor) contendo 3% - 6% de DMSO são adicionados a cada poço da placa, seguidos da adição de 2 µL de ASK1 75 nM para iniciar a reação (concentração final de enzima era de 25 nM para a ASK1). A mistura reacional pode ser depois incubada à temperatura ambiente durante 1 hora, e desativada e desenvolvida pela adição de 6 µL de anticorpo contra STK-Criptato diluído 100 vezes e SA-XL665 250 nM em tampão de detecção para HTRF Cisbio (HEPES 50 mM, pH7,0, 0,1% de BSA, KF 0,8 M e EDTA 20 mM). A intensidade de fluorescência é medida a 620 nm (Criptato) e 665 nm (XL665) após 1-2 horas de incubação à temperatura ambiente. É calculada a razão (665/620) para cada poço e é adaptada à curva de IC<sub>50</sub> padrão para determinar as constantes de inibição (IC<sub>50</sub>).

#### **Exemplo D. Valores de IC<sub>50</sub> In Vitro dos Compostos da Invenção Contra a ASK1**

As atividades enzimáticas dos compostos da presente invenção contra a ASK1 foram determinadas utilizando o ensaio divulgado nos Exemplos B e C. Os valores de IC<sub>50</sub> resultantes são relatados no Quadro 1.

**Quadro 1: IC<sub>50</sub> dos Compostos Exemplificados Contra a ASK1**

N° do Composto	Atividade Enzimática B	Atividade Enzimática C
	IC <sub>50</sub> (nM)	IC <sub>50</sub> (nM)
9	81	237
10	3	62
11	3	8
12	7	20
13	55	64
14	6	16
15	5	10
16	7	20
17	69	214
18	14	17
19	19	29
20	2	10
21	---	12446
22	2	7
23	4	6
24	11	18
25	60	146
26	9	12
27	---	528
28	---	16
29	---	38
31	---	19
32	---	122
33	---	41

**LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS**

<110> Takeda Pharmaceutical Company Limited

<120> INIBIDORES DA CINASE DE REGULAÇÃO DO SINAL DE APOPTOSE 1

<130> ASK1-5006-WO

<150> 61/300,869

<151> 2010-02-03

<160> 2

<170> PatentIn versão 3.5

<210> 1

<211> 65

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> Iniciadores Sintéticos

<400> 1

<b>aaaagtcgac atggactaca aggacgacga tgacaagggtg aacaccatta ccgaagagaa</b>	<b>60</b>
<b>gggga</b>	<b>65</b>

<210> 2

<211> 39

<212> ADN

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> Iniciadores Sintéticos

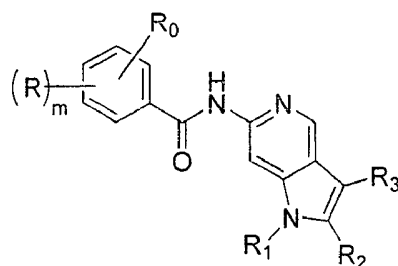
<400> 2

aaagcggccg ctcaagtctg ttgttttcga aagtcaatg 39

Lisboa, 10 de Fevereiro de 2014

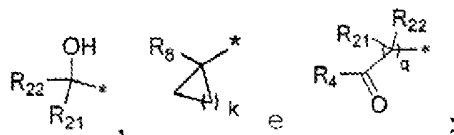
## REIVINDICAÇÕES

1. Composto da fórmula:



um seu estereoisômero ou um sal farmaceuticamente aceitável do composto ou estereoisômero, em que  $m$  é 0, 1 ou 2;

$R_0$  é selecionado do grupo consistindo de



cada  $R$  é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcoxilo ( $C_{1-6}$ ), ariloxilo ( $C_{4-6}$ ), heteroariloxilo ( $C_{1-5}$ ), alquilo ( $C_{1-6}$ ), aminoalquilo ( $C_{1-6}$ ), haloalquilo ( $C_{1-6}$ ), aril ( $C_{4-6}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ), heteroaril ( $C_{1-5}$ ) alquilo ( $C_{1-3}$ ), cicloalquilo ( $C_{3-6}$ ), heterocicloalquilo ( $C_{1-5}$ ), arilo ( $C_{4-6}$ ) e heteroarilo ( $C_{1-5}$ ), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alcoxilo ( $C_{1-6}$ ), haloalcoxilo ( $C_{1-6}$ ), amino, alquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo ( $C_{1-6}$ ), haloalquilo ( $C_{1-6}$ ), perhaloalquilo ( $C_{1-6}$ ), aminoalquilo ( $C_{1-6}$ ), hidroxialcoxilo ( $C_{1-6}$ ), haloalcoxilo ( $C_{1-6}$ ), perhaloalcoxilo ( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo ( $C_{3-6}$ ),  $R_9$ -

carbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>), R<sub>9</sub>-sulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>), R<sub>9</sub>-carbonilo e R<sub>9</sub>-sulfonilo;

R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de ciano, alquilo (C<sub>1-6</sub>), alcenilo (C<sub>2-6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalcenilo (C<sub>4-6</sub>), cicloalcenilo (C<sub>4-6</sub>), sulfonilo, heterocicloalcenilo (C<sub>3-5</sub>), arilo (C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo (C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxilo, halo, ciano, amino, carbonilamino, sulfonilamino, cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>), arilo (C<sub>4-6</sub>), oxicarbonilo, hidroxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, aminossulfonilo, em que o amino, carbonilamino, sulfonilamino, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo e aminossulfonilo estão, cada, não substituídos ou adicionalmente substituídos com 1-2 substituintes independentemente selecionados do grupo consistindo de alquilo (C<sub>1-6</sub>), haloalquilo (C<sub>1-6</sub>), per-haloalquilo (C<sub>1-6</sub>) e cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>);

R<sub>2</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo (C<sub>1-6</sub>), ariloxilo (C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo (C<sub>1-5</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, sulfinilo, alquilo (C<sub>1-6</sub>), haloalquilo (C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-6</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>), sulfinilalquilo (C<sub>1-6</sub>), cicloalquil (C<sub>3-6</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>), heterocicloalquil (C<sub>1-5</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>), aril (C<sub>4-6</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>), heteroaril (C<sub>1-5</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>), heteroalquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>1-5</sub>), arilo (C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo (C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes cada um dos quais é

independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, amino monossustituído, amino dissustituído, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>) e arilo(C<sub>4-6</sub>), na condição de que quando R<sub>3</sub> é hidrogénio e R<sub>1</sub> é alquilo, R<sub>2</sub> não seja arilo, heteroarilo ou heterocíclico;

R<sub>3</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>), ariloxilo(C<sub>4-6</sub>), heteroariloxilo(C<sub>1-5</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, aminocarbonilo, sulfonilo, sulfinilo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), hidroxialquilo(C<sub>1-6</sub>), carbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), tiocarbonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), sulfonilalquilo(C<sub>1-6</sub>), sulfinilalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquil(C<sub>3-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heterocicloalquil(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), aril(C<sub>4-6</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroaril(C<sub>1-5</sub>)alquilo(C<sub>1-3</sub>), heteroalquilo(C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>), cada não substituído ou substituído com 1-3 substituintes cada um dos quais é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, halo, alquilo(C<sub>1-6</sub>), haloalquilo(C<sub>1-6</sub>), perhaloalquilo(C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3-6</sub>), heterocicloalquilo(C<sub>1-5</sub>), arilo(C<sub>4-6</sub>) e heteroarilo(C<sub>1-5</sub>);

R<sub>4</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil(C<sub>1-6</sub>)amino, (di-alquil(C<sub>1-6</sub>))amino, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>) e alquilo(C<sub>1-6</sub>);

R<sub>8</sub> é -(CR<sub>23</sub>R<sub>23'</sub>)<sub>p</sub>OH;

R<sub>9</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil(C<sub>1-6</sub>)amino, (di-alquil(C<sub>1-6</sub>))amino, alcoxilo(C<sub>1-6</sub>) e alquilo(C<sub>1-6</sub>);

$R_{10}$  é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, amino não substituído, alquil( $C_{1-6}$ )amino, (di-alquil( $C_{1-6}$ ))amino, alcoxilo( $C_{1-6}$ ) e alquilo( $C_{1-6}$ );

$R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de  $-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_p-C(R_{23})_3$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pC(O)R_{10}$ ,  $-(CR_{23}R_{23'})_pS(O)_2R_{10}$  e  $-O(CR_{23}R_{23'})_pOH$ ;

$R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ) e haloalquilo( $C_{1-6}$ );

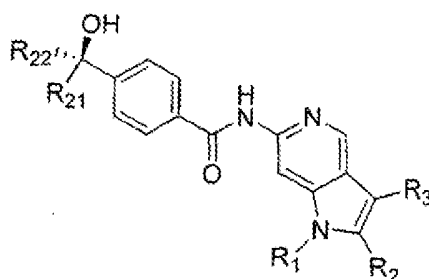
$R_{23}$  e  $R_{23'}$  são, cada, independentemente selecionados do grupo consistindo de hidrogénio, halo, hidroxilo, alquilo( $C_{1-6}$ ) e cicloalquilo( $C_{1-6}$ );

$k$  é 1, 2, 3 ou 4;

$p$  é 1, 2, 3 ou 4; e

$q$  é 1, 2, 3 ou 4.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1 possuindo a fórmula:



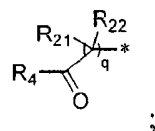
um seu estereoisómero ou um sal farmacêuticamente aceitável do composto ou estereoisómero.

3. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável de acordo com a reivindicação 1, em que cada  $R$  é independentemente selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, nitro, halo, ciano, alcoxilo( $C_{1-6}$ ),  $-OCHF_2$ ,  $-OCF_3$ , alquilo( $C_{1-6}$ ), hidroxialquilo( $C_{1-6}$ ),  $-CHF_2$ ,  $-CF_3$ ,  $-C(CH_3)(OH)CF_3$ ,  $-CH_2OCH_2CF_3$ ,  $-C(O)OCH_3$ ,  $-OCH(CH_3)_2$ , aminoalquilo( $C_{1-6}$ ),



hidroxicarbonilaminoalquilo (C<sub>1-6</sub>),  
 alcoxi (C<sub>1-6</sub>) carbonilaminoalquilo (C<sub>1-6</sub>) e  
 alquil (C<sub>1-6</sub>) carbonilaminoalquilo (C<sub>1-6</sub>).

4. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-3, em que R<sub>1</sub> é selecionado do grupo consistindo de alquilo (C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>), cicloalquil (C<sub>3-6</sub>) alquilo (C<sub>1-6</sub>) e alquil (C<sub>1-6</sub>) sulfonilalquilo (C<sub>1-6</sub>), cada não substituído ou substituído com mono- ou di-alquilo (C<sub>1-6</sub>).
5. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-4, em que R<sub>2</sub> é halo ou hidrogénio.
6. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5, em que R<sub>3</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidrogénio, halo, alquilo (C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-6</sub>) e cicloalquil (C<sub>3-6</sub>) alquilo (C<sub>1-3</sub>).
7. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 3-6, em que R<sub>0</sub> é



e

R<sub>4</sub> é selecionado do grupo consistindo de hidroxilo, alquilo (C<sub>1-6</sub>), amino não substituído, alquil (C<sub>1-6</sub>) amino, e (di-alquil (C<sub>1-6</sub>)) amino.

8. Composto ou sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7, em que  $R_{21}$  é selecionado do grupo consistindo de metilo,  $-\text{CH}_2\text{OH}$  e  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ .
9. Composto ou sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7, em que  $R_{21}$  é hidroximetilo.
10. Composto ou sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9, em que  $R_{22}$  é selecionado do grupo consistindo de alquilo ( $\text{C}_{1-3}$ ) e hidroxialquilo ( $\text{C}_{1-3}$ ).
11. Composto ou sal farmaceuticamente aceitável de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-9, em que  $R_{22}$  é selecionado de hidrogénio, metilo e  $\text{CF}_3$ .
12. Composto de acordo com a reivindicação 1, o qual é selecionado do grupo consistindo de:

N-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)-benzamida;

N-(3-bromo-1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)-benzamida;

N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

N-(1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

(R)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)benzamida;

(R)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-benzamida;

N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)benzamida;

(R)-N-(3-bromo-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-N-(1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-3-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-benzamida;

N-(1,3-dimetil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida;

(R)-N-(3-bromo-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

4-(2-hidroxipropan-2-il)-N-(1-(metilsulfonilmetil)-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-benzamida;

(R)-N-(3-bromo-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)benzamida;

N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(2-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(S)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-N-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-3-metil-benzamida;

N-(3-cloro-1-ciclopropil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1-hidrox-2-metilpropan-2-il)-benzamida;

(S)-N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(S)-N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-N-(3-cloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-N-(2,3-dicloro-1-metil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-benzamida;

(R)-N-(3-cloro-1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-6-il)-4-(1,2-di-hidroxipropan-2-il)-3-metilbenzamida;  
um estereoisómero de qualquer um dos compostos supramencionados; e  
um sal farmacêuticamente aceitável de qualquer um dos compostos ou estereoisómeros supramencionados.

13. Composição farmacêutica compreendendo um composto ou sal farmacêuticamente aceitável como definido em qualquer uma das reivindicações 1-12 e um excipiente farmacêuticamente aceitável.
14. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável como definido em qualquer uma das reivindicações 1-12, para ser utilizado como um medicamento.
15. Composto ou sal farmacêuticamente aceitável como definido em qualquer uma das reivindicações 1-12 para ser utilizado no tratamento de um estado patológico selecionado do grupo consistindo de diabetes, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia diabética, tolerância reduzida à glucose (IGT), glicemia em jejum anormal (IFG), acidose metabólica, cetose, regulação do apetite, obesidade, neuropatia diabética, retinopatia diabética, doença inflamatória do intestino, doença de Crohn, enterite induzida por quimioterapia, mucosite oral, Síndrome do Intestino Encurtado, doença renal, hiperlipidemia, arteriosclerose, hipertensão, enfarte do miocárdio, angina de peito, enfarte cerebral, apoplexia cerebral, síndrome metabólica, pancreatite aguda, pancreatite crônica, asma, alergias, doença pulmonar obstrutiva crônica, síndrome de insuficiência respiratória do adulto, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica (ALS), epilepsia, ataques apopléticos, doença de Huntington,

doenças de poliglutamina, lesão traumática cerebral, acidente vascular cerebral isquémico e hemorrágico, isquemias cerebrais, doença neurodegenerativa induzida por apoptose e doença neurodegenerativa provocada por lesão traumática, hipoxia aguda, isquemia e neurotoxicidade de glutamato; glomerulonefrite, artrite reumatoide, lúpus eritematoso disseminado, esclerodermia, tiroidite crónica, doença de Graves, gastrite autoimune, anemia hemolítica autoimune, neutropenia autoimune, trombocitopenia, dermatite atópica, hepatite ativa crónica, miastenia grave, esclerose múltipla, colite ulcerosa, psoríase, doença do enxerto contra o hospedeiro, síndrome de Sjogren, osteoporose, osteoartrite, distúrbio ósseo relacionado com mieloma múltiplo, septicemia, choque séptico, Shigellose, edema, analgesia, febre e dor, dor neuromuscular, dor de cabeça, dor do cancro, dor de dentes e dor da artrite, hipertrofia cardíaca, isquemia do miocárdio, hipoxia de órgão, hiperplasia vascular, isquemia hepática, doença hepática, insuficiência cardíaca congestiva e agregação de plaquetas induzida pela trombina.

Lisboa, 10 de Fevereiro de 2014