



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

(21) BR 112020002265-9 A2



(22) Data do Depósito: 31/07/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 28/07/2020

(54) Título: COMPOSTOS PIRAZÓLICOS E TRIAZÓLICOS BICÍCLICOS COMO INIBIDORES DE JAK QUINASE

(51) Int. Cl.: C07D 403/12; C07D 487/04; A61P 29/00; A61K 31/416; A61K 31/519; (...).

(30) Prioridade Unionista: 01/08/2017 US 62/539,642.

(71) Depositante(es): THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC.

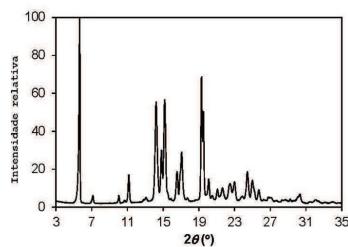
(72) Inventor(es): ERIK FENSTER; TOM M. LAM; MANDY LOO; ROBERT MURRAY MCKINNELL; ANTHONY FRANCESCO PALERMO; DIANA JIN WANG; BREENA FRAGA; JERRY NZEREM; MARTA DABROS; VENKAT R. THALLADI; MIROSLAV RAPTA.

(86) Pedido PCT: PCT US2018044508 de 31/07/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/027960 de 07/02/2019

(85) Data da Fase Nacional: 03/02/2020

(57) Resumo: A invenção fornece compostos de fórmula (I): (I) ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, onde as variáveis estão definidas na especificação, que são inibidores de JAK quinases, em particularmente da JAK3. A invenção também fornece formas cristalinas, composições farmacêuticas que incluem tais compostos, métodos de uso de tais compostos para tratar doenças inflamatórias gastrointestinais e outras doenças inflamatórias e processos e intermediários úteis para preparar tais compostos.



**COMPOSTOS PIRAZÓLICOS E TRIAZÓLICOS BICÍCLICOS COMO
INIBIDORES DE JAK QUIINASE**

HISTÓRICO DA INVENÇÃO

Campo da invenção

[001] A invenção é dirigida aos compostos pirazólicos e triazólicos bicíclicos úteis como inibidores de JAK quinase e mais particularmente como inibidores de JAK3 que são seletivos para JAK3 em relação a outros membros da família JAK quinase como JAK1, JAK2 e TYK2. A invenção também é direcionada a formas cristalinas, composições farmacêuticas que incluem tais compostos, métodos de uso de tais compostos para tratar doenças inflamatórias e processos e intermediários úteis para preparar tais compostos.

Estado da técnica

[002] A colite ulcerativa é uma doença inflamatória crônica do cólon. A doença é caracterizada pela inflamação e ulceração da camada mucosa do reto e do intestino grosso. Os sintomas comuns incluem diarreia, fezes com sangue e dores abdominais. O curso clínico é intermitente, marcado por períodos alternados de exacerbação e remissão. Parece que a incidência é maior nos países desenvolvidos do que nos países em desenvolvimento. Estima-se que 1,2 milhão de pessoas em países industrializados sofram de colite ulcerativa e espera-se que o número aumente junto com o crescimento populacional. Pacientes com colite ulcerativa apresentam maior risco de desenvolver câncer colorretal. (por exemplo, Danese et al. *N Engl J Med*, **2011**, 365, 1713-1725). Embora exista uma variedade de opções

terapêuticas para promover e manter a remissão da colite ulcerosa (CU) nos pacientes, nenhuma é ideal. Ainda existe a necessidade médica não atendida de uma terapia eficaz para promover e manter a remissão da CU grave sem as preocupações de segurança resultantes da imunossupressão crônica e sistêmica.

[003] Embora a patogênese precisa da CU não esteja clara, é aparente que as citocinas pró-inflamatórias desempenham um papel fundamental na resposta imunológica (Strober et al., *Gastroenterol*, **2011**, 140, 1756-1767). Muitas das citocinas pró-inflamatórias mais comuns elevadas na CU (por exemplo, IL-4, IL-6, IL-13, IL-15, IL-23, IL-24, IFN γ e leptina) dependem da família JAK de tirosina quinases (ou seja, JAK1, JAK2, JAK3 e Tyk2) para transdução do sinal.

[004] A inibição da enzima JAK3 bloqueia a sinalização de muitas citocinas pró-inflamatórias importantes. Assim, é provável que os inibidores da JAK3 sejam úteis no tratamento da colite ulcerativa e de outras doenças gastrintestinais inflamatórias, como a doença de Crohn e a colite induzida por inibidor de checkpoint (ponto de verificação) imune. É provável que os inibidores da JAK3 também sejam úteis para o tratamento de doenças inflamatórias da pele, como dermatite atópica, e doenças respiratórias inflamatórias, como rinite alérgica, asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Além disso, os inibidores JAK3 também podem ser úteis no tratamento de muitas doenças oculares para as quais a inflamação desempenha um papel proeminente, tais como uveíte, retinopatia diabética, edema macular diabético, doença do olho seco, degeneração macular relacionada à

idade, oclusão da veia retiniana (RVO) e queratoconjuntivite atópica.

[005] A seletividade para JAK3 em relação a JAK1 é prevista como sendo benéfica pois existe evidência de que a seletividade da JAK3 permite poupar as citocinas potencialmente benéficas, como a IL-10, que está envolvida na cicatrização da mucosa, a IL-22, que está envolvida na proteção da barreira mucosa e regeneração epitelial, e a IL-6, que está envolvida na proliferação de células epiteliais do intestino. A seletividade para JAK3 em relação a JAK2 também permite poupar a sinalização de eritropoietina (EPO) e trombopoietina (TPO). Portanto, seria desejável fornecer novos compostos que são inibidores seletivos de JAK3 em relação a outros membros da família JAK quinase, como JAK1, JAK2 e TYK2.

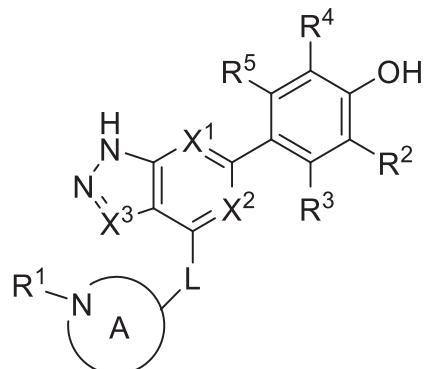
[006] Finalmente, devido ao efeito modulador da via JAK/STAT no sistema imune, a exposição sistêmica a inibidores de JAK pode ter um efeito imunossupressor sistêmico adverso. Seria desejável, portanto, fornecer novos inibidores de JAK3 que tenham seu efeito no local de ação sem efeitos sistêmicos significativos. Em particular, para o tratamento de doenças gastrintestinais inflamatórias, como colite ulcerativa, seria desejável fornecer novos inibidores de JAK3 que podem ser administrados pela via oral e alcancem exposição terapêutica relevante no trato gastrintestinal com mínima exposição sistêmica. Para as doenças de pele, seria desejável fornecer novos inibidores de JAK3 que poderiam ser administrados topicalmente à pele com uma exposição sistêmica mínima.

Portanto, seria desejável fornecer novos compostos que sejam inibidores seletivos de JAK3 em relação a outros membros da família JAK quinase como JAK1, JAK2 e TYK2 e com exposição sistêmica mínima.

RESUMO DA INVENÇÃO

[007] Em um aspecto, a invenção fornece compostos novos com atividade como inibidores de JAK quinase e mais particularmente como inibidores de JAK3.

[008] Consequentemente, a invenção fornece um composto de fórmula (I):

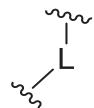


(I)

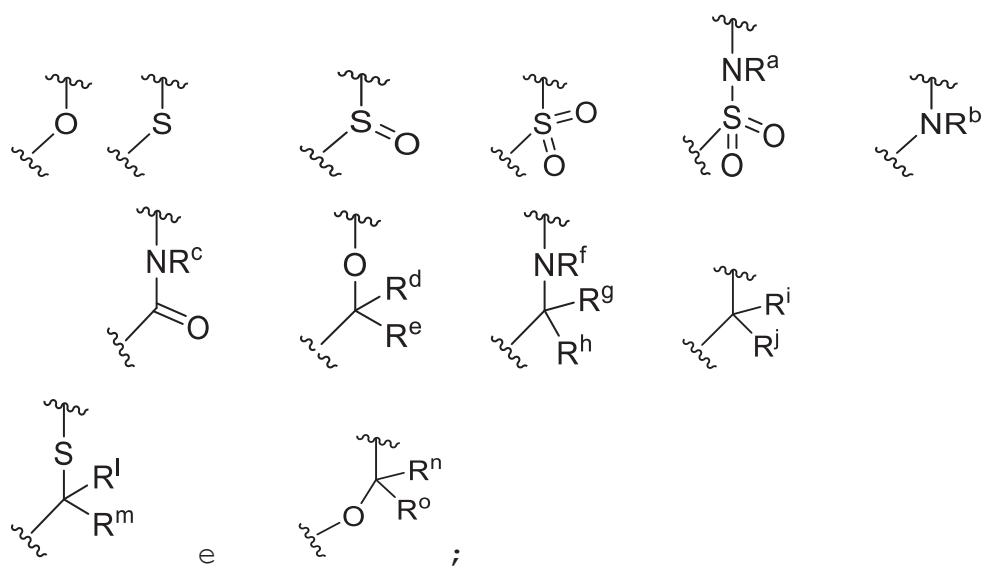
ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por

X¹ e X² serem cada um selecionado de forma independente de N e CH;

X³ ser selecionado do grupo composto por N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃, C-Cl, C-CN e C-OMe;



ser selecionado a partir do grupo composto por

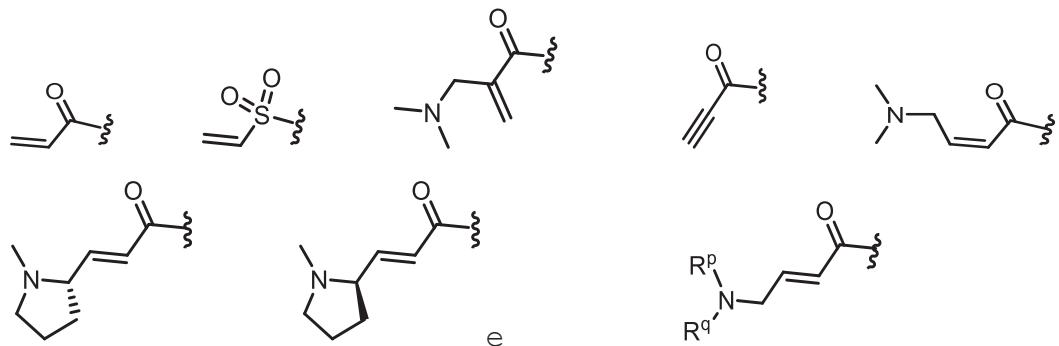


R^a , R^b , R^c , e R^f serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil;
 R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n e R^o serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil onde o grupo C_{1-3} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 halogênios;
Opcionalmente, R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil;

A ser selecionado a partir do grupo consistindo em
(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, $S(O)_2$ e O, e
(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído pelos grupos 1 a 3 R^k ; cada R^k ser selecionado de forma independente do grupo composto por F, CN, C_{1-3} alcoxi, ciclopropil, e C_{1-3} alquil,

onde o grupo C₁₋₃ alquil pode ser opcionalmente substituído por OH, OMe ou 1 a 3 halogênios;

R¹ ser selecionado a partir do grupo composto por



onde R^p e R^q são selecionados de forma independente do grupo composto por H, C₃₋₅ cicloalquil e C₁₋₆ alquil, onde o grupo C₁₋₆ alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independentemente do grupo composto por C₁₋₃ alcoxi e -S-C₁₋₃ alquil, ou R^p e R^q formarem um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde o grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros é opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por C₁₋₆ alquil, C₁₋₃ alcoxi, -S-C₁₋₃ alquil e -C₁₋₃ alquil-C₁₋₃ alcoxi;

R² ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl,

OMe, Me e F;

R³ ser selecionado a partir do grupo composto por H e F;

R⁴ ser selecionado a partir do grupo composto por H e F; e

R⁵ ser selecionado a partir do grupo composto por H, Me e F.

[009] A divulgação também fornece algumas formas cristalinas de certos compostos, Forma 1, Forma 2, Forma 2b, Forma 3 e Forma 4.

[0010] A invenção também fornece uma composição farmacêutica compreendendo um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina da divulgação e um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico.

[0011] A invenção também fornece um método de tratamento da doença inflamatória gastrintestinal, em particular a colite ulcerativa, em um mamífero, o método compreendendo administrar ao mamífero um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina da divulgação ou uma composição farmacêutica da divulgação.

[0012] A invenção também fornece um método de tratamento de doenças ou distúrbios inflamatórios da pele em um mamífero, o método compreendendo aplicar um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma composição farmacêutica da divulgação à pele do mamífero.

[0013] A invenção também fornece um método de tratamento do linfoma cutâneo de células T de um mamífero, o método compreendendo aplicar uma composição farmacêutica que compreende um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico à pele do mamífero.

[0014] Em outro aspecto, a invenção também fornece um processo aqui descrito, que é útil para preparar os compostos da divulgação.

[0015] A invenção também fornece um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico aqui descrito para uso na terapia médica, assim como o uso de um composto da invenção ou um sal aceitável do ponto de vista

farmacêutico ou uma forma cristalina na fabricação de uma formulação ou medicamento para tratar uma doença gastrintestinal inflamatória ou uma doença inflamatória da pele em um mamífero.

RÁPIDA DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0016] Vários aspectos da presente invenção estão ilustrados por referências que acompanham os desenhos.

[0017] A Figura 1 mostra um padrão de difração de raio x do pó (PXRD) da Forma 1 cristalina do composto 3 (designado Forma 1).

[0018] A Figura 2 mostra um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) da Forma 1 cristalina.

[0019] A Figura 3 mostra um gráfico de análise gravimétrica térmica (TGA) da Forma 1 cristalina.

[0020] A Figura 4 mostra um isotermo da adsorção dinâmica da umidade (DMS) da Forma 1 cristalina observada a uma temperatura de cerca de 25 °C.

[0021] A Figura 5 mostra um padrão de difração de raio x de pó (PXRD) da Forma 2 cristalina do composto 3 (designado Forma 2).

[0022] A Figura 6 mostra um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) da Forma 2 cristalina.

[0023] A Figura 7 mostra um gráfico de análise gravimétrica térmica (TGA) da Forma 2 cristalina.

[0024] A Figura 8 mostra um isotermo da adsorção dinâmica da umidade (DMS) da Forma 2 cristalina observada a uma temperatura de cerca de 25 °C.

[0025] A Figura 9 mostra um padrão de difração de raio x de pó (PXRD) da Forma 3 cristalina do composto 1 (designado Forma 3).

[0026] A Figura 10 mostra um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) da Forma 3 cristalina.

[0027] A Figura 11 mostra um gráfico de análise gravimétrica térmica (TGA) da Forma 3 cristalina.

[0028] A Figura 12 mostra um isoterмо da adsorção dinâmica da umidade (DMS) da Forma 3 cristalina observada a uma temperatura de cerca de 25 °C.

[0029] A Figura 13 mostra um padrão de difração de raio x de pó (PXRD) da Forma 4 cristalina do composto 1 (designado Forma 4).

[0030] A Figura 14 mostra um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) da Forma 4 cristalina.

[0031] A Figura 15 mostra um gráfico de análise gravimétrica térmica (TGA) da Forma 4 cristalina.

[0032] A Figura 16 mostra um isoterмо da adsorção dinâmica da umidade (DMS) da Forma 4 cristalina observada a uma temperatura de cerca de 25 °C.

[0033] A Figura 17 mostra um padrão de difração de raio x do pó (PXRD) de uma Forma cristalina desidratada do composto 3 (designado Forma 2b).

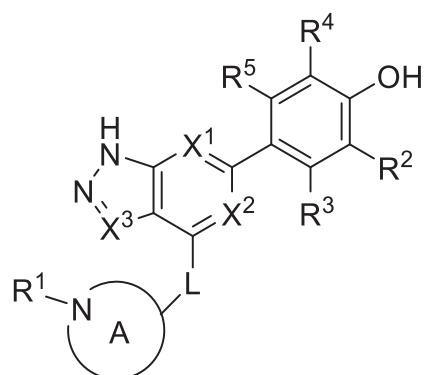
DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0034] Entre outros aspectos, a invenção fornece inibidores de JAK quinase de fórmula (I) que são seletivos para JAK3 em relação a outros membros da família JAK quinase, como JAK1, JAK2 e TYK2, seus sais aceitáveis do

ponto de vista farmacêutico e os intermediários para a sua preparação.

[0035] Em um aspecto, a invenção fornece compostos novos com atividade como inibidores de JAK quinase, particularmente como inibidores de JAK3.

[0036] Consequentemente, a invenção fornece um composto de fórmula (I):

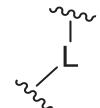


(I)

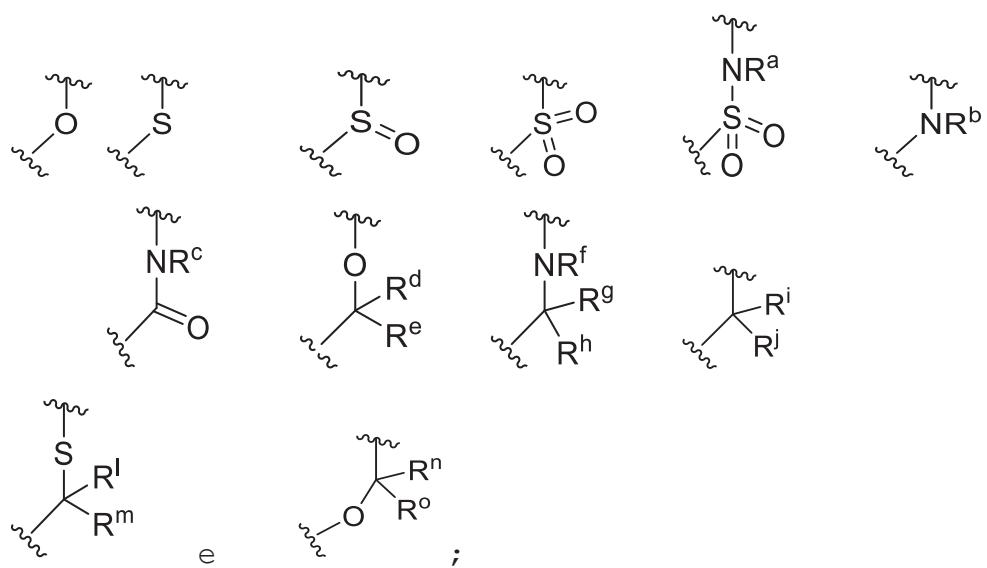
ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por

X¹ e X² serem cada um selecionado de forma independente de N e CH;

X³ ser selecionado do grupo composto por N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃, C-Cl, C-CN e C-OMe;



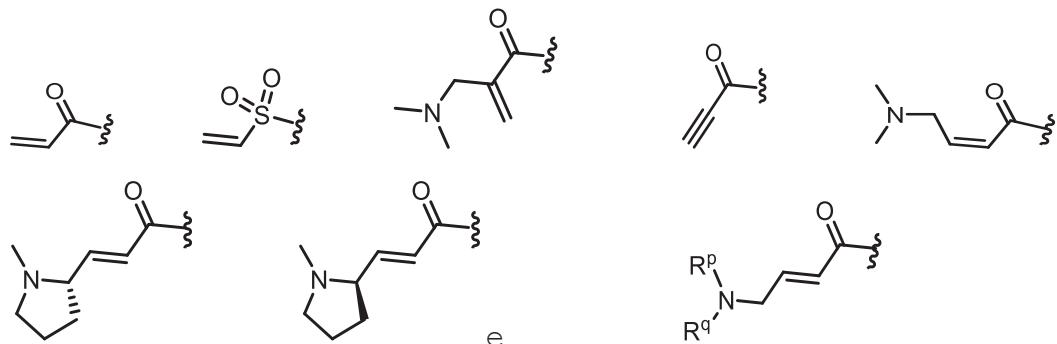
ser selecionado a partir do grupo composto por



R^a , R^b , R^c , e R^f serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil;
 R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n e R^o serem cada um selecionados de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil, onde o grupo C_{1-3} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 halogênios, opcionalmente R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil;
A ser selecionado a partir do grupo consistindo em
(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, $S(O)_2$ e O, e
(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído pelos grupos 1 a 3 R^k ;
cada R^k ser selecionado de forma independente do grupo composto por F, CN, C_{1-3} alcoxi, ciclopropil, e C_{1-3} alquil,

onde o grupo C₁₋₃ alquil pode ser opcionalmente substituído por OH, OMe ou 1 a 3 halogênios;

R¹ ser selecionado a partir do grupo composto por



onde R^p e R^q são selecionados de forma independente do grupo composto por H, C₃₋₅ cicloalquil e C₁₋₆ alquil, onde o grupo C₁₋₆ alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independentemente do grupo composto por C₁₋₃ alcoxi e -S-C₁₋₃ alquil, ou R^p e R^q formarem um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde o grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros é opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por C₁₋₆ alquil, C₁₋₃ alcoxi, -S-C₁₋₃ alquil e -C₁₋₃ alquil-C₁₋₃ alcoxi; R² ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl, OMe, Me e F; R³ ser selecionado a partir do grupo composto por H e F; R⁴ ser selecionado a partir do grupo composto por H e F; e R⁵ ser selecionado a partir do grupo composto por H, Me e F.

[0037] Em algumas modalidades, X³ ser CH.

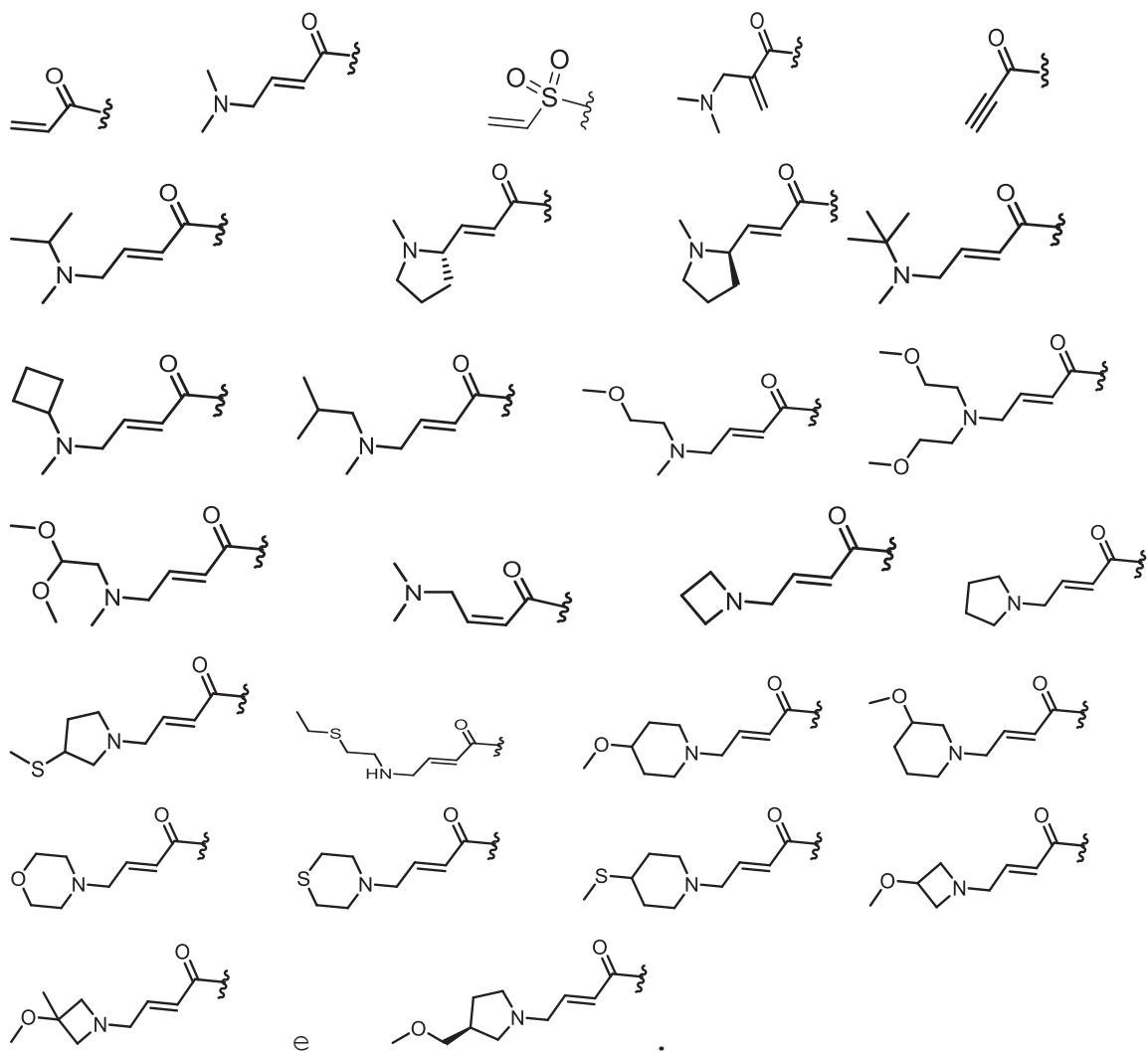
[0038] Em algumas modalidades, R^p e R^q serem selecionados de forma independente do grupo composto por H, ciclobutil e

C_{1-4} alquil, onde o grupo C_{1-4} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 ou 2 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por C_{1-2} alcoxi e $-S-C_{1-2}$ alquil,

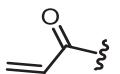
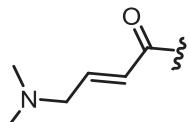
ou R^p e R^q formarem um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo um heteroátomo adicional selecionado de S e O, onde o grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros é opcionalmente substituído por 1 ou 2 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por C_{1-3} alquil, C_{1-2} alcoxi, $-S-C_{1-2}$ alquil e $-C_{1-3}$ alquil- C_{1-2} alcoxi.

[0039] Em algumas modalidades, R^p e R^q serem selecionados de forma independente do grupo composto por H, ciclobutil e C_{1-4} alquil, onde o grupo C_{1-4} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 ou 2 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por OMe e $-SET$, ou R^p e R^q formarem um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo um heteroátomo adicional selecionado de S e O, onde o grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros é opcionalmente substituído por 1 a 2 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por Me, OMe, CH_2OMe , e- SMe .

[0040] Em algumas modalidades, R^1 ser selecionado a partir do grupo composto por

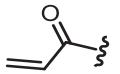


[0041] Em algumas modalidades, R^1 é

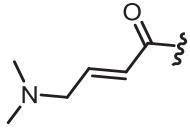


o

[0042] Em algumas modalidades, R^1 é



[0043] Em algumas modalidades, R^1 é



[0044] O grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros pode ser espiro-cíclico, fundido e/ou em ponte.

[0045] Em algumas modalidades, o grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros é um grupo heterocíclico espiro-cíclico. Em algumas modalidades, o grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros é um grupo heterocíclico fundido. Em algumas modalidades, o grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros é um grupo heterocíclico em ponte.

[0046] Em algumas modalidades, A é selecionado a partir do grupo composto por

(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 8 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, S(O)₂ e O, e

(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído por 1 a 3 grupos R^k.

[0047] Em algumas modalidades, A é selecionado a partir do grupo composto por

(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, S(O)₂ e O, e

(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O,

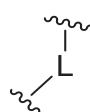
onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído por 1 a 3 grupos R^k.

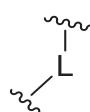
[0048] Em algumas modalidades, A é selecionado a partir do grupo composto por:

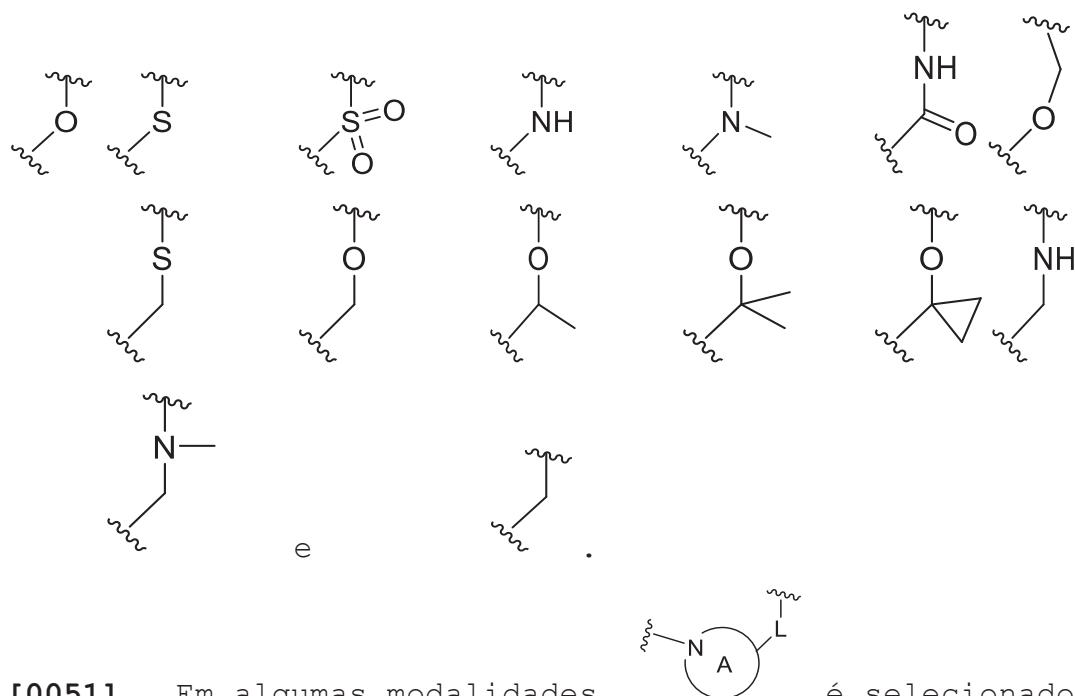
(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, S(O)₂ e O, e

(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 7 a 8 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S e O, onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído por 1 a 3 grupos R^k.

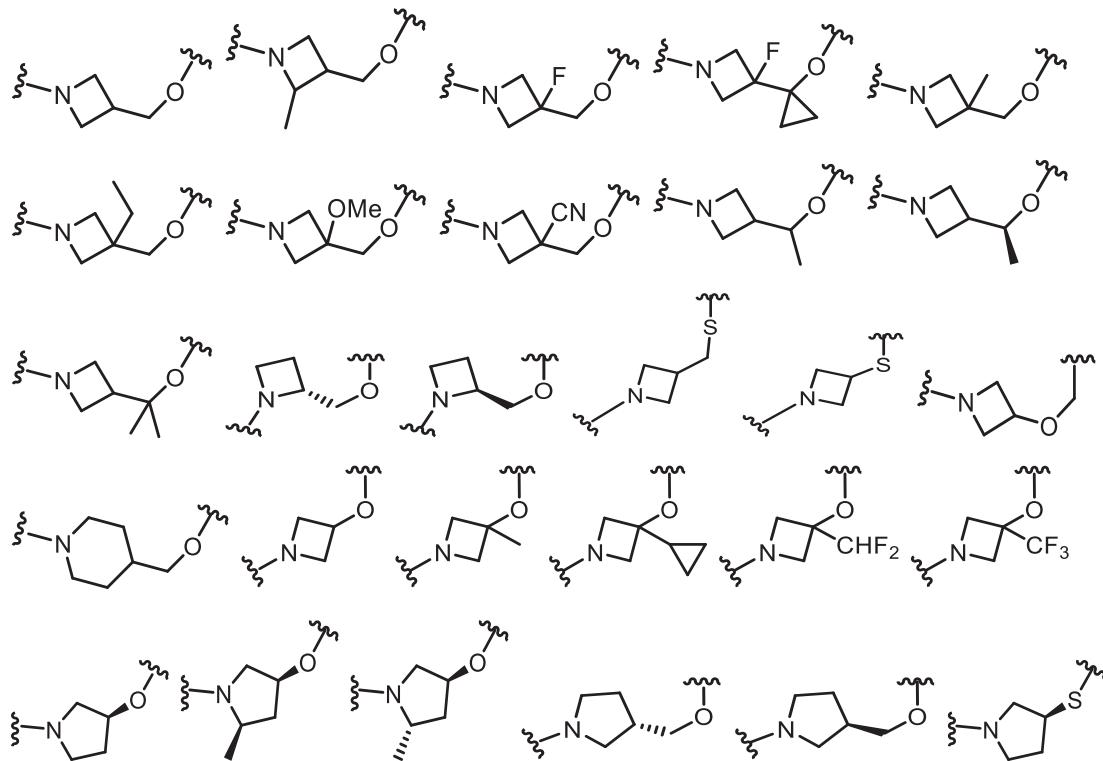
[0049] Em algumas modalidades, A é selecionado a partir do grupo composto por azetidina, pirrolidina, piperidina, morfolina, 2-azaspiro[3.3]heptano, tiomorfolina e nortropano.

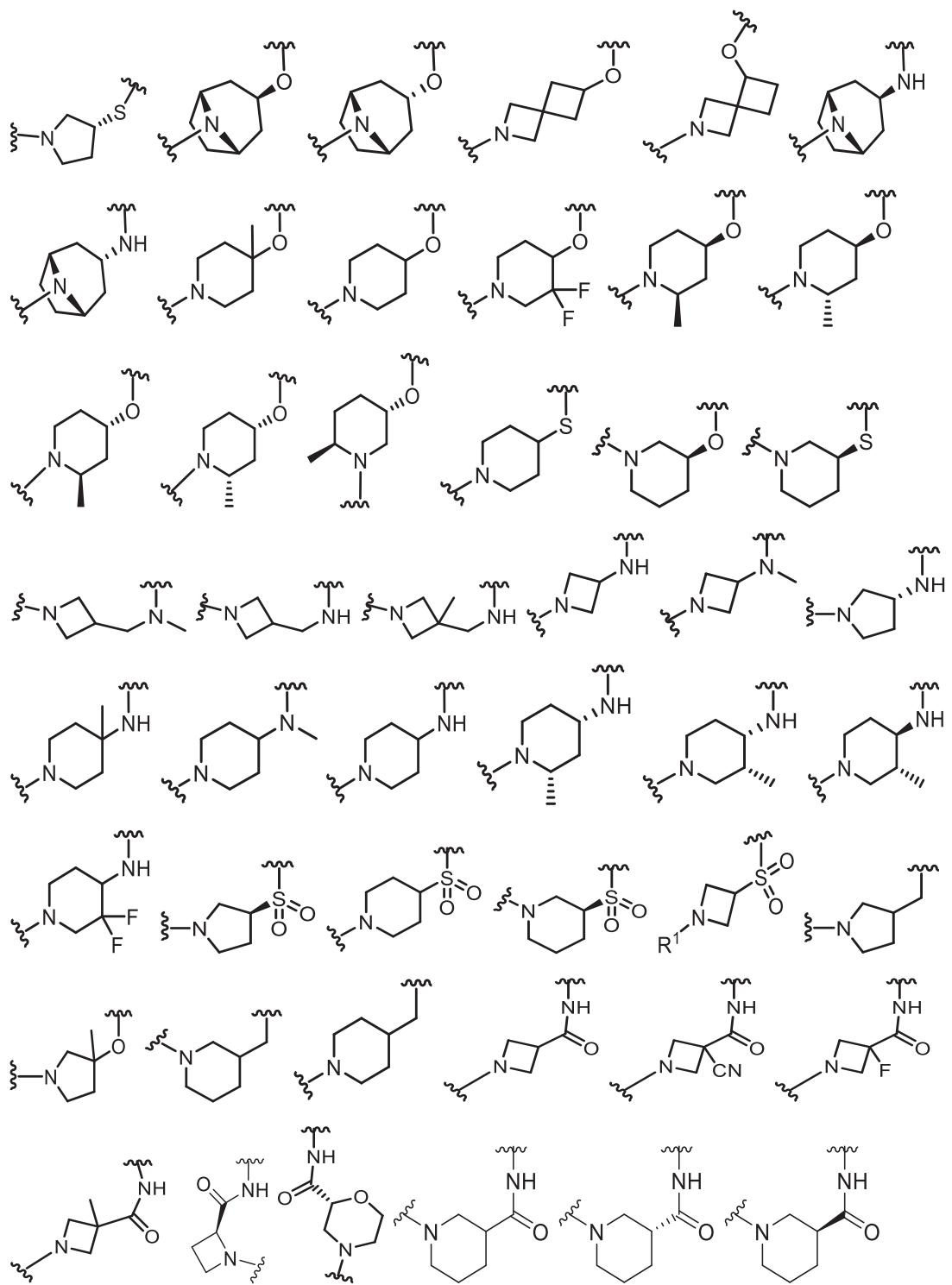


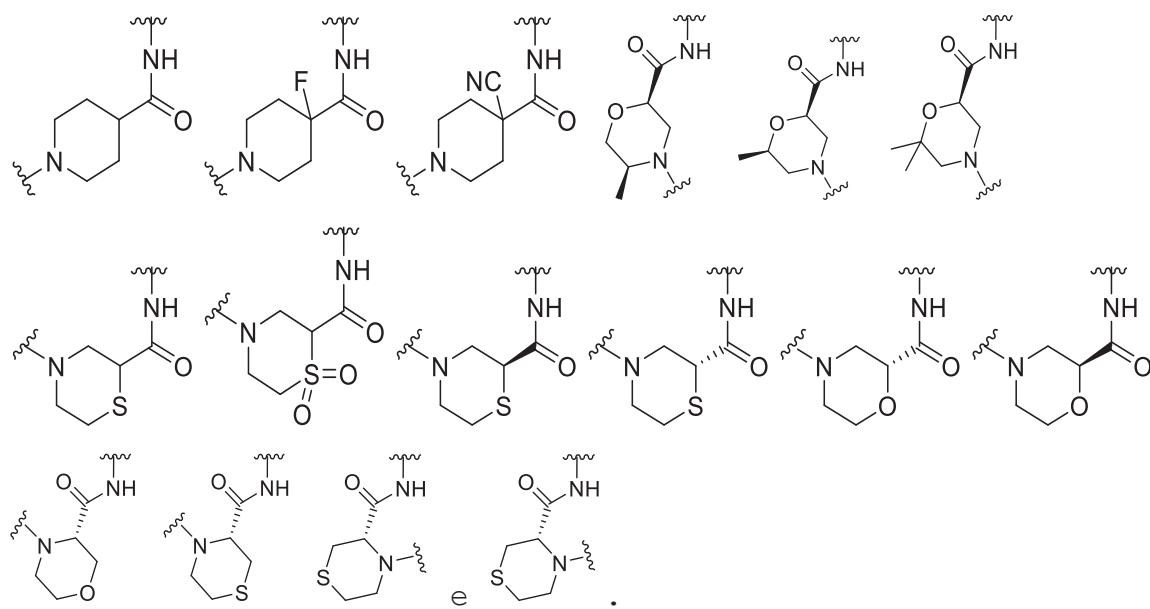
[0050] Em algumas modalidades,  é selecionado a partir do grupo composto por



[0051] Em algumas modalidades, é selecionado a partir do grupo composto por:

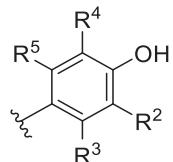




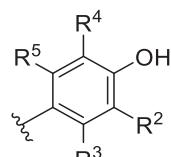
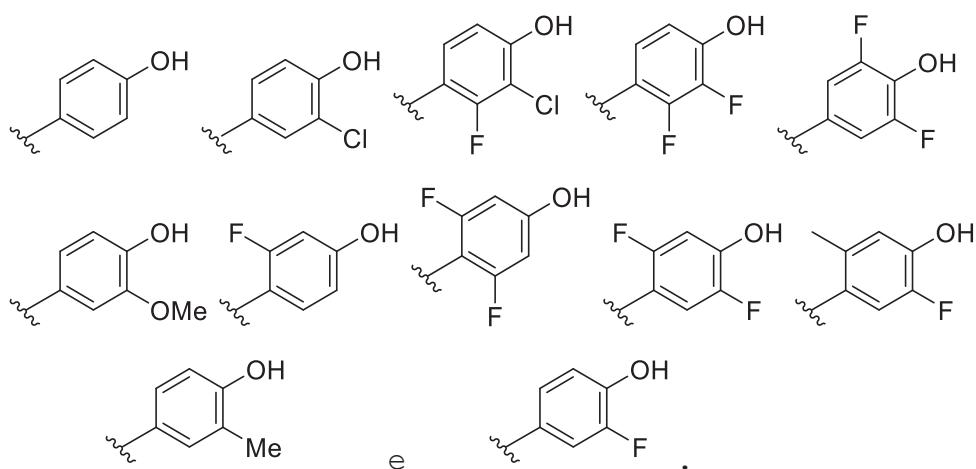


[0052] Em algumas modalidades, X^1 e X^2 são ambos CH. Em algumas modalidades, X^1 é N e X^2 é CH. Em algumas modalidades, X^1 e X^2 são ambos N. Em algumas modalidades, X^1 é CH e X^2 é N.

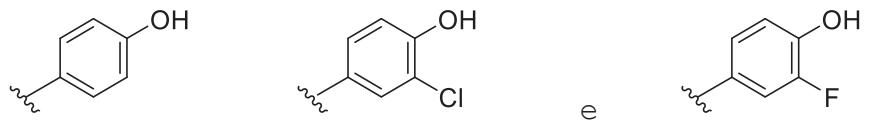
[0053] Em algumas modalidades, R^2 é H. Em algumas modalidades, R^2 é F. Em algumas modalidades, R^2 é Cl. Em algumas modalidades, R^2 é OMe. Em algumas modalidades, R^2 é Me. Em algumas modalidades, R^3 é H. Em algumas modalidades, R^3 é F. Em algumas modalidades, R^4 é H. Em algumas modalidades, R^4 é F. Em algumas modalidades, R^5 é H. Em algumas modalidades, R^5 é F. Em algumas modalidades, R^5 é Me.



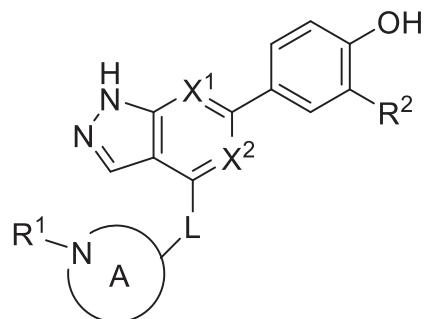
[0054] Em algumas modalidades, é selecionado a partir do grupo composto por:



[0055] Em algumas modalidades, é selecionado a partir do grupo composto por:



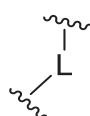
[0056] A invenção também fornece um composto de fórmula (II) :



(II)

ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por

X^1 e X^2 serem ambos CH, ou X^1 e X^2 serem ambos N, ou X^1 é N e X^2 ser CH;



ser selecionado a partir do grupo composto por



R^c , R^d , e R^e serem cada um selecionado de forma independente a partir do grupo composto por H e metil;

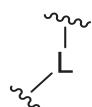
A ser selecionado a partir do grupo composto por azetidina, pirrolidina, piperidina e morfolina;

onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído pelos grupos 1 a 2 R^k ;

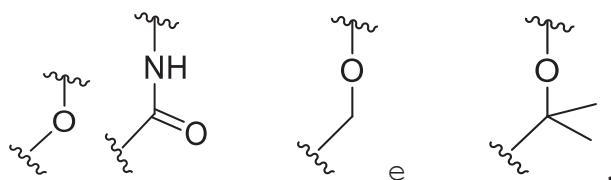
Cada R^k ser selecionado de forma independente do grupo composto por F, CN, metil, etil e C_{1-2} haloalquil;



R^2 ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl e F.

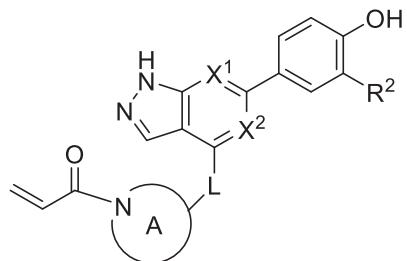


[0057] Em algumas modalidades, é selecionado a partir do grupo composto por

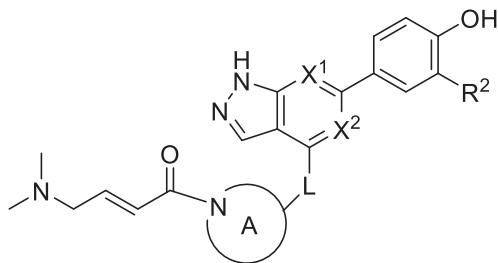


[0058] Em algumas modalidades, R^1 é .

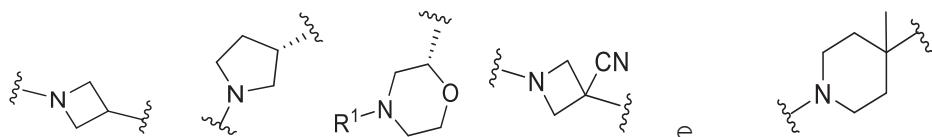
- [0059] Em algumas modalidades, R^1 é .
- [0060] Em algumas modalidades, o composto tem a fórmula:



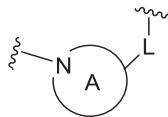
- [0061] Em algumas modalidades, o composto tem a fórmula:

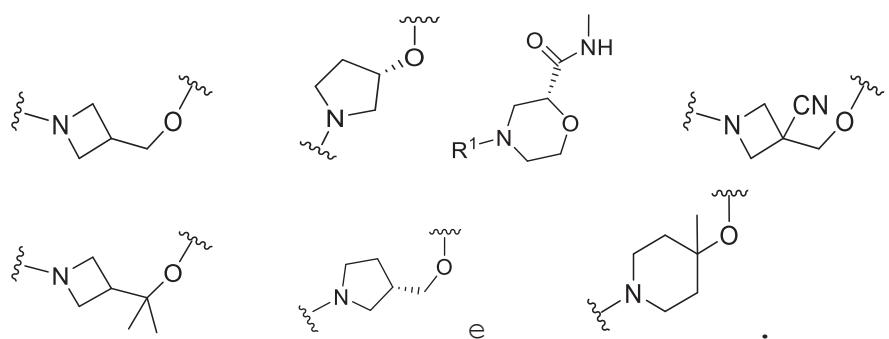


- [0062] Em algumas modalidades, é selecionado a partir do grupo composto por:

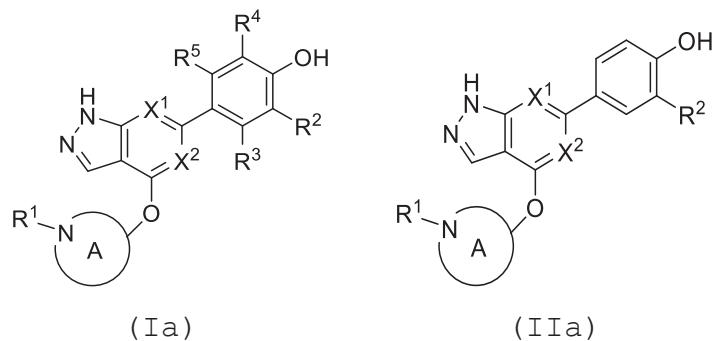


- [0063] Em algumas modalidades, é selecionado a partir do grupo composto por:



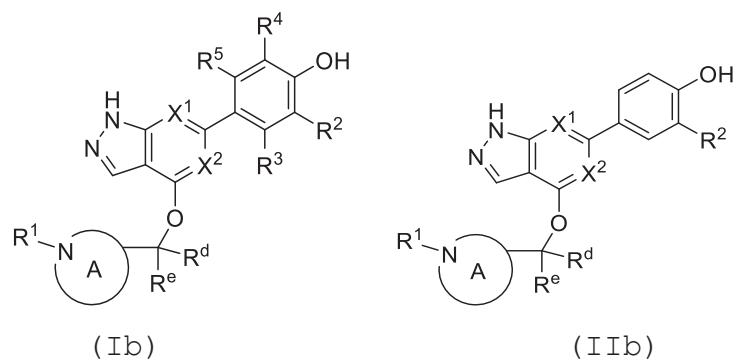


[0064] A divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico da fórmula (Ia) ou (IIa):



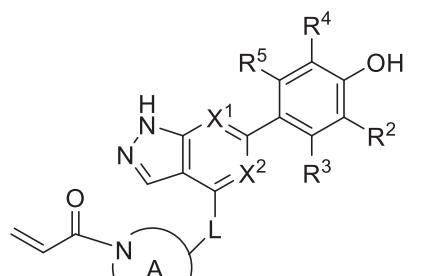
onde as variáveis são as definidas nas modalidades acima.

[0065] A divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico da formula (Ib) ou (IIb):

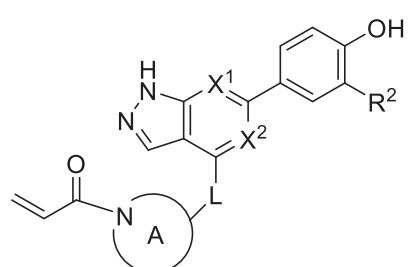


onde as variáveis são as definidas nas modalidades acima.

[0066] A divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico da fórmula (Ic) ou (IIc) :



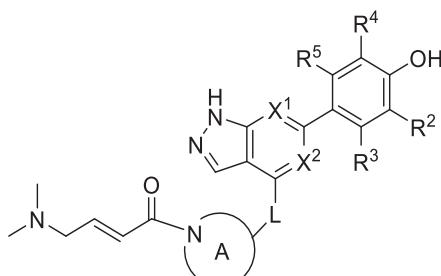
(Ic)



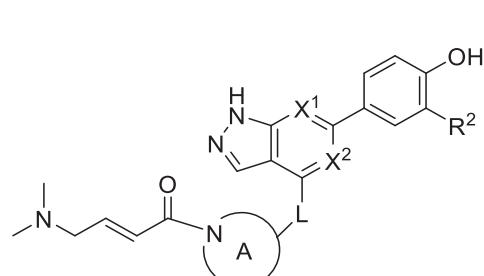
(IIc)

onde as variáveis são as definidas nas modalidades acima.

[0067] A divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico da formula (Id) ou (IIId) :



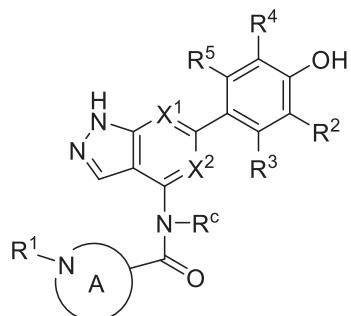
(Id)



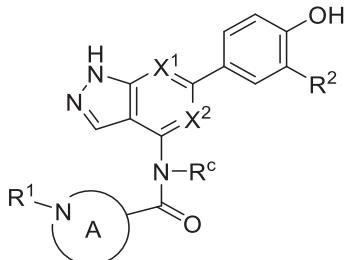
(IIId)

onde as variáveis são as definidas nas modalidades acima.

[0068] A divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico da fórmula (Ie) ou (IIe) :



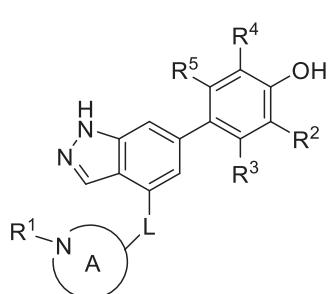
(Ie)



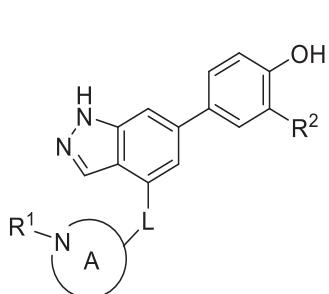
(IIe)

onde as variáveis são as definidas nas modalidades acima.

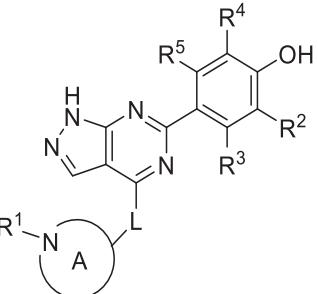
[0069] A divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico da formula (I_f), (II_f), (III_f), (IV_f), (V_f), (VI_f), (VII_f) ou (VIII_f):



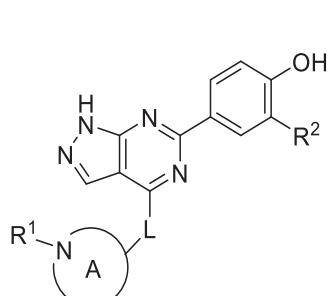
(If)



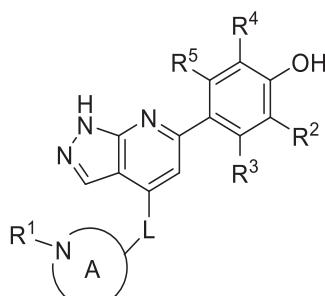
(I I f)



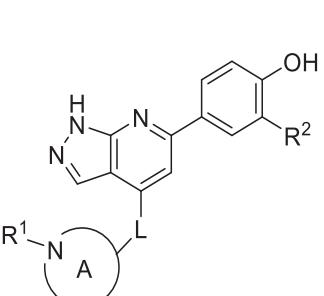
(III f)



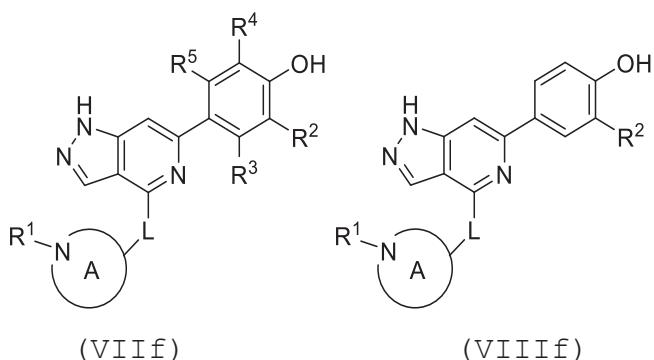
(IVf)



(Vf)

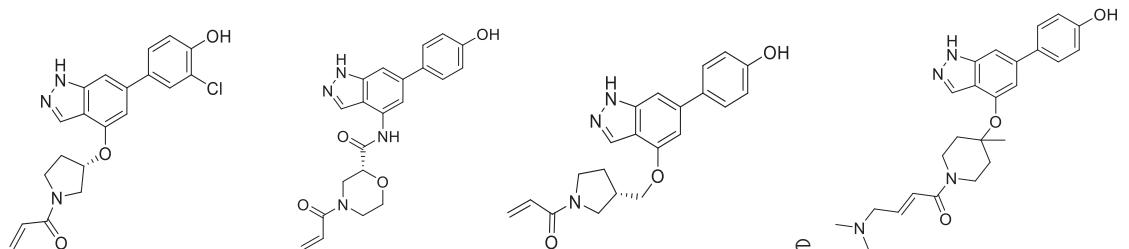


(VI f)

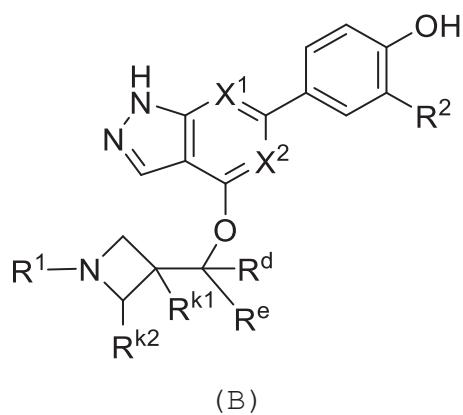


onde as variáveis são as definidas nas modalidades acima.

[0070] A invenção também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico selecionado a partir do grupo composto por



[0071] A invenção também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico contendo a fórmula (B):



ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por

X^1 e X^2 serem cada um selecionado de forma independente de N e CH;

R^d e R^e serem selecionados de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil; opcionalmente R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil;

R^{k1} ser selecionado a partir do grupo composto por H, F, CN, OMe, Me e C_{1-3} alquil;

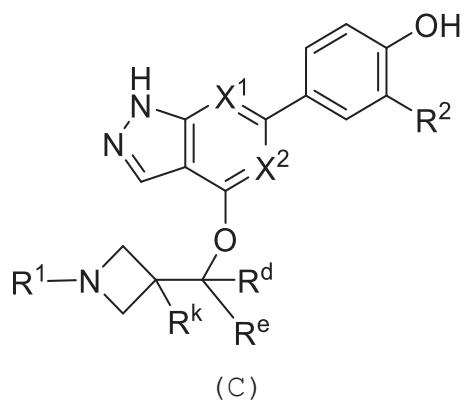
R^{k2} ser selecionado a partir do grupo composto por H e metil;



R^2 ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl e F.

[0072] Em algumas modalidades, R^d e R^e serem selecionados de forma independente a partir do grupo composto por H e metil; opcionalmente, R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil e R^{k1} ser selecionado a partir do grupo composto por H, F, CN, OMe, metil e etil.

[0073] A invenção também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico contendo a fórmula (C) :



ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por

X^1 e X^2 serem ambos CH, ou X^1 e X^2 serem ambos N, ou X^1 é N e X^2 ser CH;

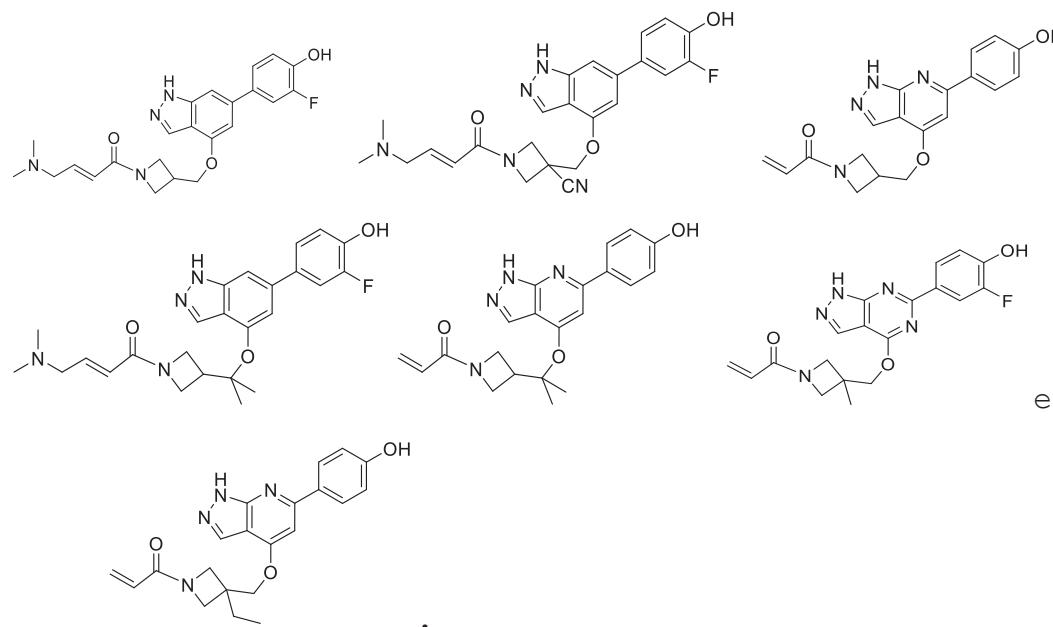
R^d e R^e serem cada um selecionado de forma independente a partir do grupo composto por H e metil;

R^k ser selecionado a partir do grupo composto por H, CN, metil e etil.;

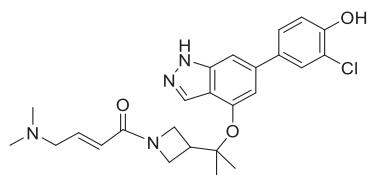


R^2 ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl e F.

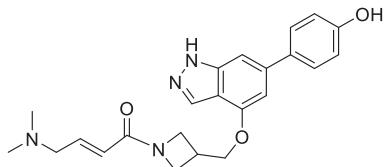
[0074] Em algumas modalidades, a divulgação também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico selecionado a partir do grupo composto por:



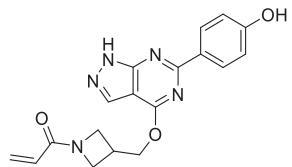
[0075] A invenção também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico contendo a formula:



[0076] A invenção também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico contendo a formula:



[0077] A invenção também fornece um composto ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico contendo a formula:



[0078] A invenção também fornece uma composição farmacêutica compreendendo um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina desta e um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende ainda um ou vários outros agentes terapêuticos. Em algumas modalidades, um ou mais agentes terapêuticos são úteis no tratamento de uma doença inflamatória gastrintestinal, uma doença inflamatória da pele, uma doença inflamatória dos pulmões ou uma doença inflamatória dos olhos. Em algumas modalidades, um ou mais agentes terapêuticos são úteis para o tratamento de uma doença inflamatória gastrintestinal. Em algumas modalidades, a doença inflamatória gastrintestinal é a

colite ulcerativa. Em algumas modalidades, a doença inflamatória gastrointestinal é a doença de Crohn.

[0079] Além disso, alguns compostos podem algumas vezes existir em formas tautoméricas. Deve-se compreender que, embora as estruturas sejam apresentadas ou nomeadas, em uma forma particular, a invenção também inclui seu tautômero.

[0080] Os compostos da invenção podem conter um ou mais centros quirais e, portanto, tais compostos (e seus intermediários) podem existir como misturas racêmicas, estereoisômeros puros (por ex., enantiômeros ou diastereômeros) misturas enriquecidas com estereoisômeros e semelhantes. Compostos quirais mostrados ou nomeados aqui sem uma estereoquímica definida em um centro quiral destinam-se a: qualquer uma ou todas as possíveis variações de estereoisômero no estereocentro indefinido, a menos que seja indicado o contrário. A representação ou nomeação de um determinado estereoisômero significa que o estereocentro indicado tem a estereoquímica indicada com a compreensão de que pequenas quantidades de outros estereoisômeros também podem estar presentes, a menos que indicado de outra forma, desde que a utilidade do composto descrito ou chamado não seja eliminada pela presença de outro estereoisômero.

[0081] Esta invenção também inclui compostos da divulgação marcados com isótopos, por exemplo, compostos da fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3, composto 4, ou seja, compostos da fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3, composto 4 marcados com isótopos, onde um átomo foi substituído ou enriquecido com um átomo com o mesmo número atômico, mas uma massa atômica diferente da que predomina na natureza. Os exemplos de isótopos que podem ser

incorporados em compostos da divulgação e um composto da fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3, composto 4 incluem, mas não estão limitados a, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S e ^{18}F . De particular interesse são os compostos da divulgação e os compostos da fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3, composto 4 enriquecidos com tritio, ou carbono-14, que podem ser usados, por exemplo, em estudos de distribuição tecidual. Também são de particular interesse os compostos da divulgação e os compostos de fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3, composto 4 enriquecidos com deutério, especialmente em um sítio do metabolismo, cujos compostos tenham maior estabilidade metabólica. Além disso, de particular interesse são compostos da divulgação e compostos de fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3, composto 4 enriquecidos com um isótopo emissor de pósitrons, como, por exemplo, ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O e ^{13}N , cujos compostos podem ser utilizados, por exemplo, em estudos de tomografia por emissão de pósitrons (PET).

Definições

[0082] Ao descrever a presente invenção, incluindo seus diversos aspectos e modalidades, os seguintes termos têm o seguinte significado, salvo indicação em contrário.

[0083] O termo “alquil” significa um grupo de hidrocarbonetos monovalentes saturados que pode ser linear ou ramificado ou suas combinações. A menos que de outra forma definido, tais grupos alquil normalmente contêm de 1 a 10 átomos de carbono. Os grupos alquil representativos incluem, por exemplo, metil (Me), etil (Et), n-propil (n-Pr) ou (nPr), isopropil (i-Pr) ou (iPr), n-butil (n-Bu) ou

(nBu), sec-butil, isobutil, terc-butil (t-Bu) ou (tBu), n-pentil, n-hexil, 2,2-dimetilpropil, 2-metilbutil, 3-metilbutil, 2-etilbutil, 2,2-dimetilpentil, 2-propilpentil, e similares.

[0084] O termo "haloalquil" refere-se a um grupo alquil, como definido acima, que é substituído por um ou mais halogênios, por exemplo, trifluorometil, difluorometil, triclorometil, 2,2,2 trifluoroetil, 1,2 difluoroetil, 3 bromo, 2 fluoropropil, 1,2 dibromoetil e similares.

[0085] Quando um determinado número de átomos de carbono é destinado a um determinado nome, o número de átomos de carbono é mostrado antes do nome. Por exemplo, o termo "C₁₋₃ alquil", significa um grupo alquil com 1 a 3 átomos de carbono, onde os átomos de carbono estão em qualquer configuração quimicamente aceitável, incluindo configurações lineares ou ramificadas.

[0086] O termo "alcoxi" significa o grupo monovalente -O-alquil, onde alquil é definido como acima. Os grupos representantes do alcoxi incluem, por exemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi e similares.

[0087] O termo "cicloalquil" significa um grupo carbocíclico monovalente saturado que pode ser monocíclico ou multicíclico. A menos que de outra forma definido, tais grupos cicloalquil normalmente têm de 3 a 10 átomos de carbono. Os grupos representantes do cicloalquil incluem, por exemplo, ciclopropil (cPr), ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil, ciclo-octil, adamantil e similares.

[0088] O termo "heterociclo", "heterocíclico" ou "anel heterocíclico" significa um grupo cíclico não aromático monovalente saturado ou parcialmente insaturado, com 3 a 10

átomos de anel total, onde o anel contém de 2 a 9 átomos de carbono e de 1 a 4 heteroátomos selecionados a partir de nitrogênio, oxigênio e enxofre. Os grupos heterocíclicos podem ser monocíclicos ou multicíclicos (ou seja, unidos, espiralados ou ligados por pontes). Quando o grupo heterocíclico é multicíclico, pelo menos um, mas não necessariamente todos os grupos cíclicos, contém um heteroátkomo. Os grupos representativos de heterocíclicos incluem, por exemplo, pirrolidinil, piperidinil, piperazinil, imidazolidinil, morfolinil, tiomorfolil, indolin-3-il, 2-imidazolinil, tetraidropiranyl, 1,2,3,4-tetraidroisoquinolin-2-il, quinuclidinil, 7-azanorbornanil, nortropanil e similares, onde o ponto de fixação está em qualquer átomo de carbono ou nitrogênio disponível no anel. Quando o contexto torna o ponto de fixação do grupo heterocíclico evidente, tais grupos podem, alternativamente, ser referidos como espécies não valentes, isto é, pirrolidina, piperidina, piperazina, imidazol, tetraidropirano etc.

[0089] O termo “quantidade terapeuticamente eficaz” significa uma quantidade suficiente para tratar quando administrada a um doente que precisa de tratamento.

[0090] O termo “tratamento” como usado neste documento significa o tratamento de uma doença, distúrbio ou condição médica (como uma doença gastrintestinal inflamatória), em um paciente, como um mamífero (particularmente um humano) que inclui um ou mais dos seguintes:

(a) evitar que não ocorra a doença, distúrbio ou condição médica, ou seja, prevenir a recorrência da doença ou

condição médica ou tratamento profilático de um paciente que está predisposto à doença ou à condição médica;

(b) atenuar a doença, distúrbio ou condição médica, ou seja, eliminar ou causar a regressão da doença, distúrbio ou condição médica em um paciente, incluindo contrariar os efeitos de outros agentes terapêuticos;

(c) supressão da doença, distúrbio ou condição médica, ou seja, retardar ou interromper o desenvolvimento da doença, distúrbio ou condição médica em um paciente; ou

(d) atenuar os sintomas da doença, distúrbio ou condição médica em um paciente.

[0091] O termo “sal aceitável do ponto de vista farmacêutico” significa um sal que é aceitável para a administração a um paciente ou a um mamífero, como um humano (por exemplo, sais com segurança aceitável em mamíferos para um determinado esquema de dosagem). Os sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico incluem sais de ácido acético, ascórbico, benzenossulfônico, benzoico, canforsulfônico, cítrico, etanossulfônico, edisílico, fumárico, gentísico, glicônico, glicurônico, glutâmico, hipúrico, bromídrico, clorídrico, isetionônico, lático, lactobiônico, maleico, mállico, mandélico, metanossulfônico, múcico, naftalenossulfônico, naftaleno-1,5-dissulfônico, naftaleno-2,6-dissulfônico, nicotínico, nítrico, orótico, pamoico, pantotênico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenossulfônico e xinafoico e similares.

[0092] O termo “seu sal” significa um composto formado quando o hidrogênio de um ácido é substituído por um cátion, como um cátion de metal ou um cátion orgânico e similares. Por exemplo, o cátion pode ser uma forma protonada de um

composto da fórmula (I), ou seja, uma forma onde um ou mais grupamentos amino foram protonados por um ácido.

Normalmente, o sal é um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, embora isto não seja necessário para sais de compostos intermediários que não são indicados para administração a um paciente.

[0093] O termo “grupo de proteção do amino” significa um grupo de proteção adequado para prevenir reações indesejáveis em um nitrogênio do amino. Os grupos representantes de proteção do amino incluem, mas não estão limitados a, formil; grupos acil, por exemplo, grupos alcanoil, tais como grupos acetil e tri-fluoroacetil; grupos alcoxcarbonil, tais como *terc*-butoxicarbonil (Boc); grupos arilmethoxcarbonil, como benziloxcarbonil (Cbz) e 9-fluorenilmethoxcarbonil (Fmoc); grupos arilmethyl, tais como benzil (Bn), tritil (Tr), e 1,1-di-(4'-metoxifenil)metil; grupos silyl, tais como grupos trimetilsilyl (TMS), triisopropylsilyl (TIPS), *terc*-butildimethylsilyl (TBS ou TBDMS), [2-(trimetilsilyl)-etoxi]metil (SEM); e similares. Os numerosos grupos protetores, e a sua introdução e remoção, estão descritos em T. W. Greene e P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, terceira edição, Wiley, New York

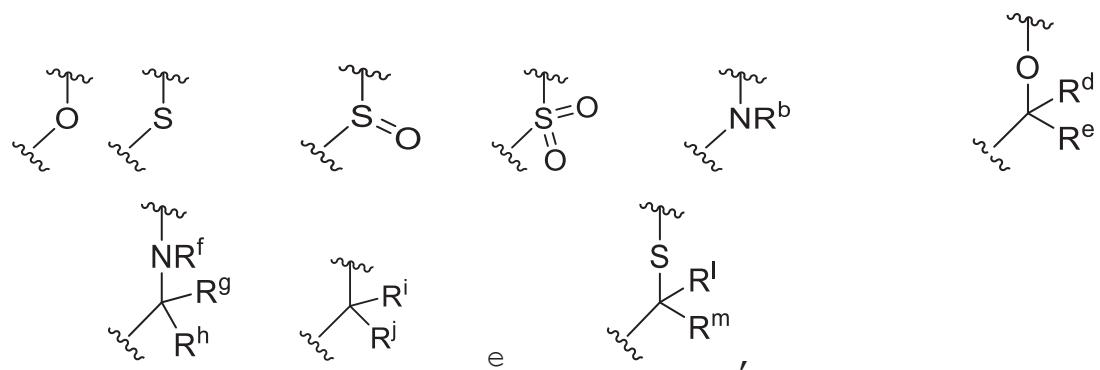
Procedimentos gerais de síntese

[0094] Os compostos desta divulgação, e seus intermediários, podem ser preparados de acordo com os seguintes métodos e procedimentos gerais utilizando materiais de partida e reagentes disponíveis comercialmente ou preparados na rotina. Os substituintes e variáveis (por

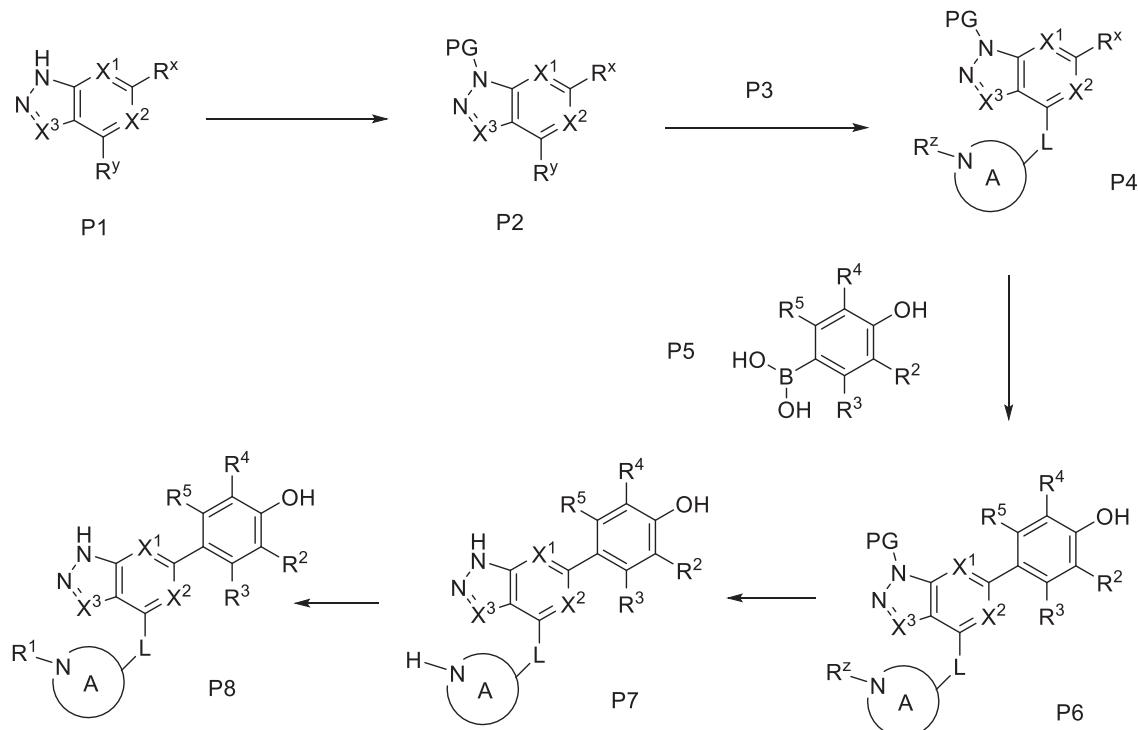
exemplo, A, X¹, X², R¹, R², R³, R^a, R^b, etc.) usados nos esquemas a seguir têm o mesmo significado como os definidos neste documento, a menos que seja indicado o contrário. Além disso, compostos com átomo ácido ou básico ou grupo funcional podem ser usados ou produzidos como um sal, a menos que indicado de outra forma (em alguns casos, o uso de um sal em uma reação particular vai exigir a conversão do sal para a forma não sal, por exemplo, uma base livre, usando procedimentos de rotina antes de realizar a reação).

[0095] Apesar de uma determinada modalidade da presente invenção pode ser mostrada ou descrita nos procedimentos a seguir, aqueles que são versados na técnica vão reconhecer que outras modalidades ou aspectos da presente invenção também podem ser preparados com tais procedimentos, ou usando outros métodos, reagentes e materiais conhecidos por aqueles que são versados na técnica. Em particular, será apreciado que os compostos da divulgação podem ser preparados por várias vias de processo em que os reagentes são combinados em diferentes ordens para fornecer diferentes intermediários na via e produzir os produtos finais.

[0096] Um método geral de preparo dos compostos finais da divulgação onde L é selecionado a partir de:

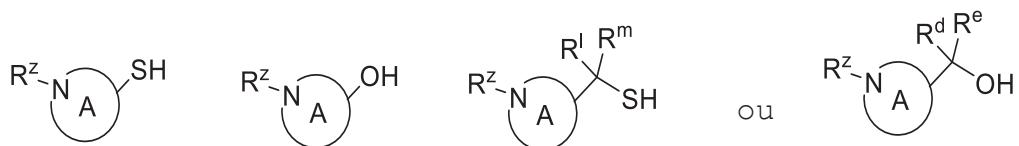


está ilustrado no Esquema 1.

Esquema 1

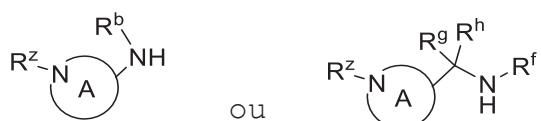
[0097] O material de partida P1, onde R^x e R^y são halogênios que podem ser o mesmo ou diferente, está protegido com um grupo protetor PG como o tetraidropirano para obter P2. P2 reage com P3 para obter P4.

[0098] P3 pode ser:



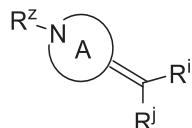
Onde R^z é um segundo grupo protetor, por exemplo Boc. Neste caso, P3 é desprotonado com uma base como NaH e reagiu com P2 para obter P4.

[0099] Alternativamente, P3 pode ser:



Onde R^z é um segundo grupo protetor, por exemplo Boc. Neste caso, P3 reage com P2 sob as condições de acoplamento Buchwald como na presença de Pd(0) e uma base para obter P4. Alternativamente, P3 reage com P2 na presença de uma base como a DIPEA para obter P4.

[00100] Alternativamente, P3 pode ser:



Onde R^z é um segundo grupo protetor, por exemplo Boc. Neste caso, P3 reage com P2 na presença de Pd(0), 9-BBN e uma base para obter P4.

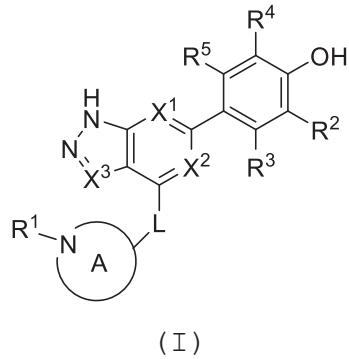
[00101] P4 é acoplado com ácido borônico P5 (acoplamento de Suzuki) na presença de Pd(0) e uma base para obter P6. P6 é desprotonado para obter P7 (quando PG é tetraidropirano e R^z é Boc, a desproteção simultânea das aminas ocorre na presença de um ácido forte como TFA ou HCl). Finalmente, P7 é derivatizado em uma amida por acoplamento amida (reação com um ácido na presença de um agente de acoplamento como HATU ou hidroxibenzotriazol (HOBT)) ou reação com um cloreto de acila na presença de uma base como a base de Hunig.

[00102] Neste esquema de reação, a ordem das reações pode ser modificada. Por exemplo, o acoplamento de Suzuki pode ser realizado antes da introdução da porção que contém o anel A. Isto pode, por exemplo, ser o caso quando a porção contendo o anel A é introduzida por meio do acoplamento de Buchwald.

[00103] Neste esquema de reação, a proteção de um ou mais grupos amino é opcional. O mesmo esquema sintético pode ser utilizado sem proteção de amino para um ou ambos os grupos amino, mas pode proporcionar rendimentos mais baixos.

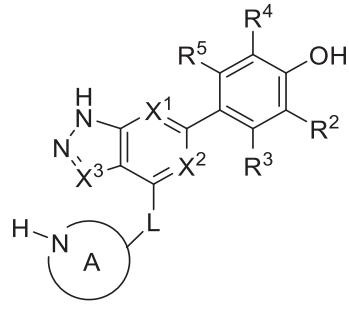
[00104] O ligante sulfonila pode ser obtido oxidando o sulfeto correspondente, por exemplo, com oxona e alumina básica.

[00105] Assim, em um aspecto do método, a invenção fornece um método para o preparo de um composto de fórmula (I) ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,



o método compreendendo:

reagir com um composto da fórmula (III):



com

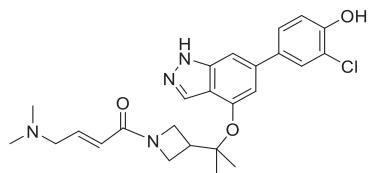
- (i) $\text{Cl}-\text{R}^1$, ou
- (ii) $\text{HO}-\text{R}^1$

Onde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , X^1 , X^2 , L e A são como definidos acima, e opcionalmente formando um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico para fornecer um composto de fórmula (I) ou seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

[00106] Em aspectos separados e distintos, a invenção fornece um composto de fórmula (III) onde as variáveis tomam qualquer um dos valores descritos acima.

Formas cristalinas

[00107] Em um aspecto, a invenção fornece uma forma cristalina do composto de fórmula:



Forma 1

[00108] A Forma 1 cristalina da invenção é uma forma cristalina anidra livre do composto 3. Em um aspecto, a Forma 1 é caracterizada por um padrão de difração de raios x de pó (PXRD) tendo picos de difração significativos, entre outros picos, em valores 2θ de $5,65\pm0,20$, $14,22\pm0,20$, $15,16\pm0,20$ e $19,31\pm0,20$. A Forma 1 pode ainda ser caracterizada por um padrão PXRD com picos de difração adicionais em 2θ valores de $7,12\pm0,20$, $10,02\pm0,20$, $11,16\pm0,20$, $17,06\pm0,20$ e $24,43\pm0,20$. A Forma 1 pode ser caracterizada por um padrão PXRD com dois ou mais picos de difração adicionais, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração adicionais em 2θ valores selecionados a partir de $13,10\pm0,20$, $14,82\pm0,20$, $16,55\pm0,20$, $20,08\pm0,20$, $21,08\pm0,20$, $21,65\pm0,20$, $22,51\pm0,20$, $22,98\pm0,20$, $25,02\pm0,20$, $25,72\pm0,20$, $26,80\pm0,20$, $27,06\pm0,20$, $28,31\pm0,20$, $30,08\pm0,20$, $30,31\pm0,20$ e $32,08\pm0,20$. Em outro aspecto, a Forma 1 é

caracterizada por um padrão PXRD com três, quatro, cinco ou seis picos de difração em 2θ valores selecionados a partir de $5,65\pm0,20$, $7,12\pm0,20$, $10,02\pm0,20$, $11,16\pm0,20$, $14,22\pm0,20$, $15,16\pm0,20$, $17,06\pm0,20$, $19,31\pm0,20$ e $24,43\pm0,20$.

[00109] Como é bem conhecido no campo de difração de raios x de pó, as posições de pico de padrão PXRD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, como detalhes de preparação da amostra e geometria do instrumento, do que são as alturas relativas de pico. Assim, em um aspecto, a Forma 1 cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios x do pó no qual as posições do pico estão substancialmente de acordo com as posições indicadas na figura 1.

[00110] Em outro aspecto, a Forma 1 cristalina é caracterizada por seu comportamento quando exposta a alta temperatura. Como demonstrado na Figura 2, o traço da calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto exibe um pico no fluxo de calor endotérmico, identificada como transição de fusão, com um início em cerca de $154,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ e um pico em cerca de $162,9\text{ }^{\circ}\text{C}$. O derretimento foi imediatamente seguido pela decomposição.

[00111] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a um pico de temperatura de cerca de $162,9\text{ }^{\circ}\text{C}$. A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto, que mostra um

máximo no fluxo de calor endotérmico a um pico de temperatura de cerca de 162,9±3 °C.

[00112] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre cerca de 154,9 °C e cerca de 171 °C ou entre 158 °C e 167 °C.

[00113] A Figura 3 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 1 cristalina livre. O traço de análise gravimétrica térmica (TGA) mostra uma pequena perda de peso de cerca de 0,14% a 100 °C. O composto se decompõe a uma temperatura inicial de cerca de 175 °C.

[00114] A Figura 4 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 1 cristalina livre. A Forma 1 demonstrou cerca de 1,62% de ganho de peso na faixa de umidade de 5% a 90% de umidade relativa. A Forma 1 é considerada como sendo ligeiramente higroscópica.

[00115] A Forma 1 pode ser preparada ao dissolver o composto 3 como uma forma amorfa em etanol seguida pela agitação a uma temperatura entre cerca de 20 °C e cerca de 25 °C, seguida pela filtração e secagem para obter a Forma 1. Opcionalmente, o sólido pode ser lavado com etanol antes da secagem.

[00116] A Forma 1 pode ser preparada ao adicionar acetona ao composto na forma amorfa e agitar a uma temperatura entre cerca de 20 °C e cerca de 25 °C, seguida pela adição de grãos. A pasta fluida é então filtrada e seca para obter a Forma 1.

Forma 2

[00117] A Forma 2 cristalina da invenção é uma forma cristalina hidrato livre do composto 3. Em um aspecto, a Forma 2 é caracterizada por um padrão de difração de raios x de pó (PXRD) tendo picos de difração significativos, entre outros picos, em valores 2θ de $6,90\pm0,20$, $9,15\pm0,20$, $10,00\pm0,20$ e $18,31\pm0,20$. A Forma 2 pode ainda ser caracterizada por um padrão PXRD com picos de difração adicionais em 2θ valores de $11,18\pm0,20$, $15,51\pm0,20$ e $20,90\pm0,20$. A Forma 2 pode ser caracterizada por um padrão PXRD com dois ou mais picos de difração adicionais, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração adicionais em 2θ valores selecionados a partir de $12,76\pm0,20$, $13,33\pm0,20$, $13,82\pm0,20$, $14,43\pm0,20$, $16,04\pm0,20$, $17,00\pm0,20$, $17,90\pm0,20$, $22,06\pm0,20$, $22,51\pm0,20$, $25,00\pm0,20$, $26,92\pm0,20$, $27,26\pm0,20$, $27,61\pm0,20$, $29,37\pm0,20$, $30,53\pm0,20$ e $30,92\pm0,20$. Em outro aspecto, a Forma 2 é caracterizada por um padrão PXRD com três, quatro, cinco ou seis picos de difração em 2θ valores selecionados a partir de $6,90\pm0,20$, $9,15\pm0,20$, $10,00\pm0,20$, $11,18\pm0,20$, $15,51\pm0,20$, $18,31\pm0,20$ e $20,90\pm0,20$.

[00118] Como é bem conhecido no campo de difração de raios x de pó, as posições de pico de padrão PXRD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, como detalhes de preparação da amostra e geometria do instrumento, do que são as alturas relativas de pico. Assim, em um aspecto, a Forma 2 cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios x do pó no qual as posições do pico estão substancialmente de acordo com as posições indicadas na figura 5.

[00119] Em outro aspecto, a Forma 2 cristalina é caracterizada por seu comportamento quando exposta a alta temperatura. Como demonstrado na Figura 6, o traço de calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe uma endotermia de dessolvação com início em torno de 52,7 °C e um pico em cerca de 84,4 °C, e uma endotermia de fusão com início em cerca de 160,0 °C e um pico em cerca de 167,6° C. A fusão foi seguida imediatamente pela decomposição.

[00120] A Figura 7 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 2 cristalina livre da invenção. A análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 7 mostra uma perda de peso de cerca de 6,73% a 75 °C. O composto dessolva a uma temperatura de início de cerca de 25 °C. O composto decompõe-se a uma temperatura inicial de cerca de 185° C.

[00121] A Figura 8 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 2 cristalina livre da invenção. A Forma 2 é convertida a um hidrato (Forma 2b) a UR acima de 65%. A desidratação ocorre em UR abaixo de 15%. A absorção total de umidade entre 5% a 90% a UR é de 7,99%.

[00122] A Forma 2 pode ser preparada ao dissolver o composto 3 na forma amorfa em metanol seguida pela adição de um antissolvente como a água, em uma proporção de cerca de 1:2 de metanol:água. Opcionalmente, a mistura é sonicada. A mistura é então aquecida a uma temperatura entre cerca de 20 °C e cerca de 25 °C durante cerca de 12 horas a 24 horas. A Forma 2 é isolada por filtração e secagem. Opcionalmente, o sólido pode ser lavado com metanol.

[00123] A Forma 2 também pode ser preparada por dissolução em etanol e água ou metanol e água pela dissolução completa

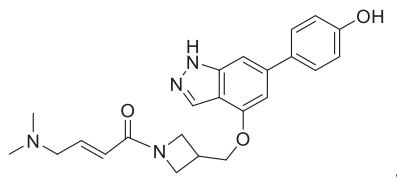
em cerca de 10 volumes de álcool seguida pela adição lenta de cerca de 8-10 volumes de água até o ponto de névoa. Os grãos da Forma 2 são adicionados para formar lentamente uma pasta fluida com o tempo. Mais água é adicionada lentamente (cerca de 10 volumes) para fornecer um sólido que pode ser filtrado e seco para obter a Forma 2.

Forma 2b

[00124] A Forma 2b cristalina da invenção é uma forma cristalina desidratada livre do composto 3. Em um aspecto cristalino, a Forma 2b cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios x de pó (PXRD) tendo picos de difração significativa, entre outros picos, em 2θ valores de $7,61\pm0,20$, $16,76\pm0,20$, $17,90\pm0,20$ e $20,67\pm0,20$. A Forma 2b pode ainda ser caracterizada por um padrão PXRD com picos de difração adicionais em 2θ valores de $10,33\pm0,20$, $11,25\pm0,20$, $12,71\pm0,20$ e $15,88\pm0,20$. A Forma 2b pode ser caracterizada por um padrão PXRD com dois ou mais picos de difração adicionais, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração adicionais em 2θ valores selecionados a partir de $13,23\pm0,20$, $13,66\pm0,20$, $13,90\pm0,20$, $15,02\pm0,20$, $15,27\pm0,20$, $16,33\pm0,20$, $18,26\pm0,20$, $21,37\pm0,20$, $21,92\pm0,20$, $22,31\pm0,20$, $22,90\pm0,20$, $23,22\pm0,20$, $23,61\pm0,20$, $24,74\pm0,20$, $25,78\pm0,20$, $26,23\pm0,20$, $26,73\pm0,20$, $27,57\pm0,20$, $29,10\pm0,20$, $29,39\pm0,20$, $30,72\pm0,20$, $30,94\pm0,20$, $31,69\pm0,20$, $32,06\pm0,20$, $33,76\pm0,20$ e $34,35\pm0,20$. A Forma 2b é caracterizada por um padrão PXRD com três, quatro, cinco ou seis picos de difração em 2θ valores selecionados a partir de $7,61\pm0,20$, $10,33\pm0,20$, $11,25\pm0,20$, $12,71\pm0,20$, $15,88\pm0,20$, $16,76\pm0,20$, $17,90\pm0,20$ e $20,67\pm0,20$.

[00125] Como é bem conhecido no campo de difração de raios x de pó, as posições de pico de padrão PXRD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, como detalhes de preparação da amostra e geometria do instrumento, do que são as alturas relativas de pico. Assim, em um aspecto, a Forma 2b cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios x do pó no qual as posições do pico estão substancialmente de acordo com as posições indicadas na figura 17.

[00126] Em outro aspecto, a invenção fornece uma forma cristalina do composto de fórmula:



Forma 3

[00127] A Forma 3 cristalina da invenção é uma forma cristalina anidra livre do composto 1. Em um aspecto, a Forma 3 é caracterizada por um padrão de difração de raios x de pó (PXRD) tendo picos de difração significativos, entre outros picos, em valores 2θ de $9,67\pm0,20$, $11,61\pm0,20$, $17,61\pm0,20$, $18,88\pm0,20$ e $23,33\pm0,20$. A Forma 3 pode ainda ser caracterizada por um padrão PXRD com picos de difração adicionais em 2θ valores de $4,82\pm0,20$, $15,69\pm0,20$ e $16,19\pm0,20$. A Forma 3 pode ser caracterizada por um padrão PXRD com dois ou mais picos de difração adicionais, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração adicionais em 2θ valores selecionados a partir de $11,92\pm0,20$, $12,98\pm0,20$, $13,23\pm0,20$, $16,45\pm0,20$, $16,67\pm0,20$, $19,39\pm0,20$, $19,96\pm0,20$, $20,14\pm0,20$, $22,14\pm0,20$, $23,84\pm0,20$,

24,06±0,20, 24,29±0,20, 25,31±0,20, 25,63±0,20, 27,06±0,20, 27,31±0,20, 30,10±0,20 e 30,53±0,20. Em outro aspecto, a Forma 3 é caracterizada por um padrão PXRD com três, quatro, cinco ou seis picos de difração em 2θθ valores selecionados a partir de 4,82±0,20, 9,67±0,20, 11,61±0,20, 15,69±0,20, 16,19±0,20, 17,61±0,20, 18,88±0,20 e 23,33±0,20.

[00128] Como é bem conhecido no campo de difração de raios x de pó, as posições de pico de padrão PXRD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, como detalhes de preparação da amostra e geometria do instrumento, do que são as alturas relativas de pico. Assim, em um aspecto, a Forma 3 cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios x do pó no qual as posições do pico estão substancialmente de acordo com as posições indicadas na figura 9.

[00129] Em outro aspecto, a Forma 3 cristalina é caracterizada por seu comportamento quando exposta a alta temperatura. Como demonstrado na Figura 10, o traço da calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe um pico no fluxo de calor endotérmico, identificado como transição de fusão, com um início em cerca de 197,7 °C e um pico em cerca de 201,3 °C. O derretimento foi imediatamente seguido pela decomposição.

[00130] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico com um pico de cerca de 201,3 ± 2 °C.

[00131] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre 198 °C e 204 °C.

[00132] A Figura 11 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 3 cristalina livre da invenção. A análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 11 não mostra perda de peso significativa em temperaturas abaixo do início da decomposição a cerca de 195 °C.

[00133] A Figura 12 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 3 cristalina livre da invenção. A Forma 3 demonstrou cerca de 0,33% de ganho de peso na faixa de umidade de 5% a 90% de umidade relativa. A Forma 3 é considerada como sendo não higroscópica.

[00134] A forma 3 pode ser preparada ao suspender o composto 1 em uma forma amorfa numa mistura 1:1 de acetonitrila e isopropanol. A suspensão resultante é agitada durante cerca de 1 dia a cerca de 50 °C, opcionalmente lavada com uma mistura 1:1 de acetonitrila e isopropanol e seca durante algumas horas para obter a Forma 3.

[00135] A forma 3 pode ser preparada ao dissolver o composto 1 como uma base amorfa livre no IPA a uma temperatura entre cerca de 20 °C e cerca de 25 °C. É adicionada uma quantidade igual de acetonitrila. Mais composto pode ser adicionado até que uma solução saturada seja formada. Os grãos são adicionados e a mistura é agitada durante a noite. A pasta fluida branca em desenvolvimento formada é filtrada e seca para produzir a Forma 3.

Forma 4

[00136] A Forma 4 cristalina da invenção é uma forma cristalina hidrato livre do composto 1. Em um aspecto, a Forma 4 é caracterizada por um padrão de difração de raio X de pó (PXRD), com significativos picos de difração, entre outros picos, a valores 2θ de $6,26\pm0,20$, $16,55\pm0,20$, $16,94\pm0,20$, $18,33\pm0,20$, $23,61\pm0,20$ e $24,24\pm0,20$. A Forma 4 pode ainda ser caracterizada por um padrão PXRD com picos de difração adicionais em 2θ valores de $11,86\pm0,20$, $12,51\pm0,20$, $13,16\pm0,20$ e $14,98\pm0,20$. A Forma 4 pode ser caracterizada por um padrão PXRD com dois ou mais picos de difração adicionais, incluindo três ou mais e quatro ou mais picos de difração adicionais em 2θ valores selecionados a partir de $17,61\pm0,20$, $18,78\pm0,20$, $19,39\pm0,20$, $19,57\pm0,20$, $19,84\pm0,20$, $21,45\pm0,20$, $21,82\pm0,20$, $22,57\pm0,20$, $24,67\pm0,20$, $25,10\pm0,20$, $25,39\pm0,20$, $27,19\pm0,20$, $27,39\pm0,20$, $28,55\pm0,20$ e $31,51\pm0,20$. A Forma 4 é caracterizada por um padrão PXRD com três, quatro, cinco ou seis picos de difração em 2θ valores selecionados a partir de $6,26\pm0,20$, $11,86\pm0,20$, $12,51\pm0,20$, $13,16\pm0,20$, $14,98\pm0,20$, $16,55\pm0,20$, $16,94\pm0,20$, $18,33\pm0,20$, $23,61\pm0,20$ e $24,24\pm0,20$.

[00137] Como é bem conhecido no campo de difração de raios x de pó, as posições de pico de padrão PXRD são relativamente menos sensíveis aos detalhes experimentais, como detalhes de preparação da amostra e geometria do instrumento, do que são as alturas relativas de pico. Assim, em um aspecto, a Forma 4 cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios x do pó no qual as posições do pico estão substancialmente de acordo com as posições indicadas na figura 13.

[00138] Em outro aspecto, a Forma 4 cristalina é caracterizada por seu comportamento quando exposta a alta temperatura. Como demonstrado na Figura 14, o traço de calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe uma endotermia de dessolvação com um início em cerca de 60,9 °C e um pico em cerca de 103,6 °C, e uma endotermia de fusão caracterizada por um início em cerca de 167,3 °C. O composto se decompõe na fusão e a endotermia de fusão e a exotermia de decomposição se sobreponem.

[00139] A Figura 15 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 4 cristalina livre da invenção. A análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 15 mostra uma perda de peso de cerca de 3,54% a 100 °C. O composto dessolva a uma temperatura de início de cerca de 50 °C. O composto decompõe-se a uma temperatura inicial de cerca de 165° C.

[00140] A Figura 16 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 4 cristalina livre da invenção. A Forma 4 demonstrou cerca de 5,01% de ganho de peso na faixa de umidade de 5% a 90% de umidade relativa. A Forma 4 é considerada como sendo moderadamente higroscópica.

[00141] A Forma 4 pode ser preparada ao suspender o composto 1 em água. A suspensão resultante é agitada durante cerca de 1 a 2 dias a cerca de 50 °C, filtrada, opcionalmente lavada com água e seca a uma temperatura entre cerca de 20 °C e cerca de 25 °C durante 2 a 6 horas para obter a Forma 4.

[00142] Alternativamente, a Forma 4 também pode ser preparada ao dissolver o composto 1 em etanol e água ou metanol e água pela dissolução completa em cerca de 10

volumes de álcool seguida pela adição lenta de cerca de 8-10 volumes de água até o ponto de névoa. Os grãos da Forma 4 são adicionados e uma pasta fluida é lentamente formada com o tempo. Mais água é adicionada lentamente (cerca de 10 volumes) e sólido é filtrado e seco para obter a Forma 4.

Composições farmacêuticas

[00143] Os compostos da divulgação e seus sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico são normalmente usados na forma de uma composição ou formulação farmacêutica. Tais composições farmacêuticas podem ser administradas a um paciente por qualquer via de administração aceitável, incluindo, mas não limitada a oral, tópica (incluindo a transdérmica), retal, nasal, inalação, e os tipos de administração parenteral.

[00144] Assim, em um dos aspectos da sua composição, a invenção é direcionada a uma composição farmacêutica compreendendo um carreador ou excipiente aceitável do ponto de vista farmacêutico e um composto de fórmula (I), (II), (B), (C), composto 1, composto 3 ou composto 4 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico. Opcionalmente, tais composições farmacêuticas podem ter outros agentes de formulação e/ou terapêuticos se desejar. Quando falamos de composições e seus usos, "o composto da invenção" ou "composto da divulgação" também pode ser aqui referido como o "agente ativo". Conforme aqui utilizado, o termo "composto(s) da divulgação" destina-se a incluir todos os compostos abrangidos pela fórmula (I), (II), (B), (C), (Ia), (IIa), (Ib), (IIb), (Ic), (IIc), (Id), (IId), (Ie), (IIe), (Se), (IIIf), (IIIf), (IVf), (Vf), (VIf), (VIIIf) e (VIIIf), e

seus respectivos sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico.

[00145] As composições farmacêuticas da divulgação contêm em geral uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da divulgação. Aqueles que são versados na técnica vão reconhecer, porém, que uma composição farmacêutica pode ter mais de uma quantidade terapêutica eficaz, ou seja, composições a granel ou menos de uma quantidade terapêutica eficaz, ou seja, doses unitárias individuais projetadas para a administração de doses múltiplas para atingir uma quantidade terapêutica eficaz.

[00146] Normalmente, tais composições farmacêuticas vão conter cerca de 0,1 a 95%, em peso, do agente ativo, incluindo a partir de cerca de 5 a 70%, em peso, do agente ativo.

[00147] Qualquer carreador ou excipiente convencionais podem ser usados nas composições farmacêuticas da invenção. A escolha de um determinado carreador ou excipiente, ou combinações de carreadores ou excipientes, dependerá do modo de administração a ser usado para tratar um paciente em particular ou tipo do estado de doença ou condição médica. Neste contexto, a preparação de uma composição farmacêutica adequada para um determinado modo de administração está bem dentro do escopo daqueles que são versados na técnica farmacêutica. Além disso, os carreadores ou excipientes usados nas composições farmacêuticas desta invenção estão comercialmente disponíveis. Por meio de outra ilustração, as técnicas de formulação convencionais estão descritas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20^a edição, Lippincott Williams & White, Baltimore, Mariland (2000); e

H.C. Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7^a edição, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

[00148] Exemplos representativos de materiais que podem servir como carreadores aceitáveis do ponto e vista farmacêutico incluem, mas não estão limitados a, os seguintes: açúcares, como lactose, glicose e sacarose; amidos, tais como o amido de milho e fécula; celulose, como celulose microcristalina, e seus derivados, como a carboximetilcelulose de sódio, etilcelulose e acetato de celulose; tragacanto em pó; malte; gelatina; talco; excipientes, como a manteiga de cacau e ceras de supositórios; óleos, como óleo de amendoim, óleo de algodão, óleo de cártamo, óleo de gergelim, azeite, óleo de milho e óleo de soja; glicois, como propilenoglicol; poliois, tais como a glicerina, sorbitol, manitol e polietilenoglicol; ésteres, como oleato de etila e laurato de etila; ágar; agentes tamponantes, como o hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; ácido algínico; água apirógena; solução salina isotônica; solução de Ringer; álcool etílico; soluções tampão de fosfato; e outras substâncias não tóxicas compatíveis empregadas em composições farmacêuticas.

[00149] As composições farmacêuticas são geralmente preparadas ao agitar ou misturar completamente e de forma eficiente o agente ativo com um carreador e um ou mais ingredientes opcionais aceitos do ponto de vista farmacêutico. A mistura agitada uniformemente resultante pode então ser moldada ou carregada em comprimidos, cápsulas, pílulas e similares usando procedimentos e equipamentos convencionais.

[00150] As composições farmacêuticas da divulgação são acondicionadas preferencialmente em forma farmacêutica unitária. O termo “forma farmacêutica unitária” refere-se a uma unidade separada fisicamente adequada para administrar a um paciente, ou seja, cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de agente ativo calculado para produzir o efeito terapêutico desejado, isolado ou combinado com uma ou mais unidades adicionais. Por exemplo, tais formas farmacêuticas unitárias podem ser cápsulas, comprimidos, pílulas e similares ou embalagens adequadas para administração parenteral.

[00151] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da divulgação são adequadas para administração oral. As composições farmacêuticas adequadas para administração por via oral podem estar na forma de cápsulas, comprimidos, pastilhas, pílulas, drágeas, pós, grânulos, ou como uma solução ou suspensão em um líquido aquoso ou não aquoso; ou como uma emulsão líquida óleo em água ou água em óleo; ou como um elixir ou xarope e similares; cada uma contendo uma quantidade predeterminada de um composto da presente divulgação como um ingrediente ativo.

[00152] Quando destinadas à administração por via oral em uma forma farmacêutica sólida (ou seja, como cápsulas, comprimidos, pílulas e similares), as composições farmacêuticas da divulgação incluirão o agente ativo e um ou mais carreadores aceitáveis do ponto de vista farmacêutico. Opcionalmente, tais formas farmacêuticas sólidas podem incluir: enchimentos ou extensores, tais como amidos, celulose microcristalina, lactose, fosfato dicálcico, sacarose, glicose, manitol e/ou ácido silícico; ligantes,

como carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinil pirrolidona, sacarose e/ou acácia; umectantes, como o glicerol; agentes de desintegração, como croscarmelose sódica, ágar-ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, alguns silicatos e/ou carbonato de sódio; agentes retardadores de solução, como a parafina; aceleradores de absorção, como os compostos a base de amônio quaternário; agentes umectantes, como o álcool cetílico e/ou monoestearato de glicerol; absorventes, como caulim e/ou argila bentonita; lubrificantes, como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicois, laurilsulfato de sódio, e/ou suas misturas; corantes e agentes tamponantes.

[00153] Os agentes de liberação, umectantes, de revestimento, adoçantes, edulcorantes e aromatizantes, conservantes e antioxidantes também podem estar presentes na composição de composições farmacêuticas da divulgação. Os exemplos de antioxidantes aceitos do ponto de vista farmacêutico incluem: antioxidantes solúveis em água, como o ácido ascórbico, cloridrato de cisteína, bissulfato de sódio, metabissulfito de sódio, sulfito de sódio e similares; antioxidantes solúveis em óleo, como palmitato de ascorbila, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propila, alfatocoferol, e similares e agentes quelantes de metais, tais como o ácido cítrico, ácido etilenodiamina tetra-acético, sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico e similares. Os agentes de revestimento para comprimidos, cápsulas, pílulas e similares incluem os usados para revestimentos entéricos, como o ftalato de acetato de celulose, ftalato de acetato de

polivinila, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, ácido metacrílico, copolímeros de éster de ácido metacrílico, trimetilato de acetato de celulose, carboximetiletilecelulose, acetato de succinato de hidroxipropilmetilcelulose e similares.

[00154] As composições farmacêuticas da divulgação também podem ser formuladas para proporcionar a liberação lenta ou controlada do agente ativo utilizando, por exemplo, a hidroxipropilmetilcelulose em diferentes proporções; ou outras matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microesferas. Além disso, as composições farmacêuticas da divulgação podem ter agentes opacificantes e podem ser formuladas de modo que liberem apenas o ingrediente ativo, ou, preferencialmente, em uma determinada porção do trato gastrintestinal, de forma retardada. Os exemplos de composições incorporadas que podem ser usadas incluem substâncias poliméricas e ceras. O agente ativo também pode estar na forma microencapsulada, se for adequado, com um ou mais dos excipientes descritos acima.

[00155] As formas farmacêuticas líquidas adequadas para administração por via oral incluem, a título de ilustração, emulsões, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires aceitáveis do ponto de vista farmacêutico. As formas farmacêuticas líquidas adequadas para administração por via oral incluem, a título de ilustração, água ou outros solventes, agentes solubilizantes e emulsificadores, como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de sódio, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, óleos (esp., óleos de semente de algodão, amendoim, milho, gérmen de trigo, azeite, rícino e gergelim), ácido oleico, glicerol, álcool

tetraidrofurílico, polietilenoglicoais e ésteres de ácidos graxos de sorbitano e suas misturas. Por outro lado, algumas formulações líquidas podem ser convertidas, por exemplo, a secagem por spray a um pó, que é usado para preparar as formas farmacêuticas sólidas por meio de procedimentos convencionais.

[00156] As suspensões, além do ingrediente ativo, podem conter agentes de suspensão, como, por exemplo, alcoóis isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitano, sorbitol e ésteres de sorbitol, celulose microcristalina, metaidróxido de alumínio, bentonita, ágar-ágar e tragacanto, e suas misturas.

[00157] Os compostos desta divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico também podem ser administrados pela via parenteral (p. ex., via injeção intravenosa, subcutânea, intramuscular ou intraperitoneal). No caso da administração parenteral, o agente ativo é misturado com um veículo adequado para administração parenteral incluindo, por exemplo, soluções aquosas estéreis, solução salina, alcoóis de baixo peso molecular, como propilenoglicol, polietilenoglicol, óleos vegetais, gelatina, ésteres de ácidos graxos como oleato de etila e similares. As formulações parenterais também podem conter um ou mais antioxidantes, solubilizadores, estabilizantes, conservantes, agentes umectantes, emulsificantes, agentes de tampão ou agentes de dispersão. Essas formulações podem ser esterilizadas através de um meio injetável estéril, um agente esterilizante, filtração, irradiação ou calor.

[00158] Alternativamente, as composições farmacêuticas da divulgação são formuladas para administração por inalação.

As composições farmacêuticas adequadas para administração por inalação estarão na forma de aerossol ou pó. Tais composições são geralmente administradas por dispositivos bem conhecidos, tais como inalador dosimetrado, inalador de pó seco, nebulizador ou dispositivo semelhante.

[00159] Quando administradas por inalação usando um recipiente pressurizado, as composições farmacêuticas da divulgação vão incluir o ingrediente ativo e um propelente adequado, tais como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono ou outro gás apropriado. Além disso, a composição farmacêutica pode estar na forma de cápsula ou cartucho (preparada, por exemplo, a partir da gelatina) compreendendo um composto da divulgação e um pó adequado para uso em inalador de pó. As bases em pó adequadas incluem, por exemplo, lactose ou amido.

[00160] Os compostos da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico deste, também podem ser formulados para administração tópica na pele como pomada ou creme. As formulações de pomada são preparações semissólidas com uma base de um material gorduroso ou oleoso que, em geral, é clara. Materiais oleosos adequados para uso em formulações de pomada: petrolato (vaselina), cera de abelha, manteiga de cacau, manteiga de karité e álcool cetílico. As pomadas podem, adicionalmente, incluir emolientes e potencializadores de penetração, se for desejado.

[00161] As formulações de creme podem ser preparadas como emulsões, compreendendo uma fase oleosa e uma fase aquosa, geralmente incluindo água purificada. Os componentes de formulações em creme podem incluir: bases de óleo, como

petrolato, óleos minerais, óleos vegetais e animais, e triglicerídios; bases de creme, como, alcoóis de lanolina, ácido esteárico e álcool cetoestearílico; a base de gel, como, álcool polivinílico; solventes, como propilenoglicol e polietilenoglicol; emulsificantes, como os polissorbatos, estearatos, como estearato de glicerila, octilidroxistearato, estearato de polioxil, éteres estearílicos de PEG, palmitato de isopropila e monoestearato de sorbitano; estabilizadores, tais como polissacarídeos e sulfato de sódio; emolientes (ou seja, hidratantes), como triglycerídios de cadeia média, miristato de isopropila, e dimeticona; agentes enrijecedores, como álcool cetílico e álcool estearílico, agentes antimicrobianos, como metilparabeno, propilparabeno, fenoxyetanol, ácido sórbico, diazolidinil ureia e hidroxianisol butilado; potencializadores de penetração, como *N*-metilpirrolidona, propilenoglicol, monolaurato de polietilenoglicol e similares e agentes quelantes, como edta dissódico.

[00162] Os seguintes exemplos não limitantes ilustram composições farmacêuticas representantes da presente invenção.

Forma farmacêutica de comprimido oral sólido

[00163] Um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico é misturado a seco com celulose microcristalina, polivinil pirrolidona, e croscarmelose sódica na proporção de 4:5:1:1 e prensado em comprimidos para fornecer uma dose unitária de, por exemplo, 5 mg, 20 mg ou 40 mg de agente ativo por comprimido.

Forma farmacêutica de cápsula oral sólida

[00164] Um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico é misturado a seco com celulose microcristalina, polivinil pirrolidona, e croscarmelose sódica na proporção de 4:5:1:1 e carregado em cápsulas de gelatina ou hidroxipropilmetilcelulose para fornecer uma dose unitária de, por exemplo, 5 mg, 20 mg ou 40 mg de agente ativo por cápsula.

Formulação líquida

[00165] Uma formulação líquida compreendendo um composto da divulgação (0,1%), água (98,9%) e ácido ascórbico (1,0%) é formada pela adição de um composto da divulgação a uma mistura de água e ácido ascórbico.

Forma farmacêutica oral com revestimento entérico

[00166] Um composto da divulgação é dissolvido em uma solução aquosa contendo polivinil pirrolidona e revestido de pulverização em celulose microcristalina ou pérolas de açúcar na proporção de 1:5 p/p de agente ativo: pérolas e, em seguida, um ganho de aproximadamente 5% em peso de um revestimento entérico compreendendo um copolímero acrílico, por exemplo, uma combinação de copolímeros acrílicos disponíveis com os nomes comerciais Eudragit-L® e Eudragit-S®, ou hidroxipropilmetilcelulose ou succinato de acetato é aplicada. As pérolas com revestimento entérico são carregadas em cápsulas de gelatina ou hidroxipropilmetilcelulose para fornecer uma dose unitária de, por exemplo, 30 mg de agente ativo por cápsula.

Forma farmacêutica oral com revestimento entérico

[00167] Um revestimento entérico compreendendo uma combinação de Eudragit-L® e Eudragit-S®, ou

hidroxipropilmetilcelulose ou succinato de acetato é aplicado a uma forma farmacêutica oral, comprimido ou cápsula, descrita acima.

Formulação de pomada para administração tópica

[00168] Um composto da divulgação é combinado com petrolato, triglicerídios de cadeia C₈-C₁₀, octilidroxistearato e *n*-metilpirrolidona em uma proporção para fornecer uma composição contendo de 0,05% a 5% de agente ativo em peso.

Formulação de pomada para administração tópica

[00169] Um composto da divulgação é combinado com o petrolato branco, propilenoglicol, mono e di-glicerídios, parafina, hidroxitolueno butilado e edta cálcio dissódico em uma proporção para fornecer uma composição contendo de 0,05% a 5% de agente ativo em peso.

Formulação de pomada para administração tópica

[00170] Um composto da divulgação é combinado com óleo mineral, parafina, carbonato de propileno, petrolato branco e cera branca para fornecer uma composição contendo de 0,05% a 5% de agente ativo em peso.

Formulação de creme para administração tópica

[00171] O óleo mineral é combinado com um composto da divulgação, propilenoglicol, palmitato isopropílico, polissorbato 60, álcool cetílico, monoestearato de sorbitano, estearato de polioxil 40, ácido sórbico, metilparabeno e propilparabeno para formar uma fase oleosa, que é combinada com água purificada por mistura de cisalhamento para fornecer uma composição contendo 0,05% a 5% de agente ativo em peso.

Formulação de creme para administração tópica

[00172] Uma formulação de creme compreendendo um composto da divulgação, álcool benzílico, álcool cetílico, ácido cítrico anidro, mono e di-glicerídios, álcool oleílico, propilenoglicol, sulfato de cetostearil de sódio, hidróxido de sódio, álcool estearílico, triglicerídios e água contém de 0,05% a 5% de agente ativo em peso.

Formulação de creme para administração tópica

[00173] Uma formulação de creme compreendendo um composto da divulgação, álcool cetostearílico, miristato de isopropila, propilenoglicol, cetomacrogol 1000, dimeticona 360, ácido cítrico, citrato de sódio e água purificada, com imidurea, metilparabeno, propilparabeno, como conservantes, contém de 0,05% a 5% de agente ativo em peso.

Utilidade

[00174] A inibição de JAK3 bloqueia a sinalização de muitas citocinas pró-inflamatórias importantes. Assim, espera-se que os compostos da divulgação sejam úteis para o tratamento de doenças inflamatórias.

[00175] Os compostos da divulgação foram projetados para serem seletivos para JAK3 em relação a JAK1, JAK2, e TYK2. A seletividade para JAK3 em relação a JAK1 é prevista como sendo benéfica, pois existe alguma evidência de que a seletividade da JAK3 permite poupar as citocinas potencialmente benéficas, como a IL-10, que está envolvida na cicatrização da mucosa, a IL-22, que está envolvida na proteção da barreira mucosa e na regeneração epitelial, e a IL-6, que está envolvida na proliferação de células epiteliais do intestino. A seletividade para JAK3 em relação

a JAK2 permite poupar a sinalização de eritropoietina (EPO) e trombopoietina (TPO).

[00176] Sem estar limitados por esta teoria, os compostos da divulgação têm uma porção eletrofílica que pode formar uma ligação covalente com a cisteína (Cys909) presente em JAK3, um resíduo substituído por uma serina nas outras três isoformas JAK (Goedken et al., *J Biol Chem.*, **2015**, 290, 8, 4573-89). Tal ligação covalente a JAK3 pode ser benéfica ao proporcionar um maior envolvimento do alvo que pode traduzir-se numa melhor eficácia. Como descrito na parte experimental, foram obtidas as estruturas cocristalinas dos compostos 1, 3 e 4 ligadas por ligação covalente a JAK3 humana, o que confirma a natureza de ligação irreversível para cada um destes ligantes à JAK3.

[00177] Alguns compostos da divulgação foram projetados para ter seu efeito no local de ação sem efeitos sistêmicos significativos, assim evitando os potenciais efeitos imunossupressores sistêmicos adversos.

Doença inflamatória gastrintestinal

[00178] Além de fornecer potente inibição da JAK3, alguns compostos da divulgação foram concebidos para serem pouco absorvidos e minimizar a exposição sistêmica. Esses compostos são projetados para ter seu efeito no local de ação, por exemplo, no cólon. Como descrito no Ensaio 6, certos compostos apresentam baixas permeabilidades, com valores de K_p menores que cerca de $5 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$, o que é considerado favorável para minimizar a exposição sistêmica e atingir o cólon. Certos compostos têm um valor de K_p inferior a cerca de $10 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$, p que também pode ser suficiente para minimizar a exposição sistêmica e atingir o

côlon. Como descrito no Ensaio 7 abaixo, os compostos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 21 e 22 exibiram uma razão de exposição do côlon em relação à exposição no plasma após administração oral maior que cerca de 1250. Os compostos 9, 5, 19 e 20 exibiram uma razão côlon/plasma superior a cerca de 200.

[00179] A colite induzida por oxazolona é um modelo experimental com semelhança histológica em relação a colite ulcerativa. Como descrito no ensaio 8, os compostos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 3-11, 5-10, 19, 15-1, 3-55, 3-34, 15-3, 21, 3-80, 3-81, 3-72, 3-57, 3-113 e 3-74 demonstraram atividade no modelo de colite induzida por oxazolona em camundongos. Além disso, quanto testado no ensaio 9, um modelo de imunossupressão em camundongos, que investiga a atividade funcional sistêmica, as contagens de células NK esplênicas não foram afetadas pelos compostos 1, 2, 4, 5 e 8 na mesma dose ou em doses mais altas necessárias para demonstrar eficácia no modelo de oxazolona.

[00180] Finalmente, foi demonstrado que os compostos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 não têm atividade sistêmica em um modelo murino de indução do pSTAT5 induzida por IL-2 no timo.

[00181] Assim, esses compostos demonstraram atividade anticolite sem apresentar efeitos sistêmicos em modelos pré-clínicos.

[00182] Espera-se que uma alta proporção de côlon para plasma forneça atividade anti-inflamatória robusta direcionada ao lúmen, sem efeitos adversos associados, com ação sistêmica. Tais compostos podem ser úteis para várias indicações inflamatórias gastrintestinais que incluem, mas não estão limitados a, doença inflamatória intestinal, colite ulcerativa (proctosigmoidite, pancolite, proctite

ulcerativa e colite do lado esquerdo), doença de Crohn, colite colagenosa, colite linfocítica, doença de Behcet, doença celiaca, colite induzida por inibidor do ponto de verificação imunológico, ileite, esofagite eosinofílica, colite relacionada à doença enxerto versus hospedeiro e colite infecciosa. Colite ulcerativa (Reimund et al., *J Clin Immunology*, **1996**, 16, 144-150), doença de Crohn (Woywodt et al., *Eur J Gastroenterology Hepatology*, **1999**, 11, 267-276), colite colagenosa (Kumawat et al., *Mol Immunology*, **2013**, 55, 355-364), colite linfocítica (Kumawat et al., **2013**), esofagite eosinofílica (Weinbrand-Goichberg et al., *Immunol Res*, **2013**, 56, 249-260), colite relacionada à doença enxerto versus hospedeiro (Coghill et al., *Blood*, **2001**, 117, 3268-3276), colite infecciosa (Stallmach et al., *Int J Colorectal Dis*, **2004**, 19, 308-315), doença de Behcet (Zhou et al., *Autoimmun Rev*, **2012**, 11, 699-704), doença celiaca (de Nitto et al., *World J Gastroenterol*, **2009**, 15, 4609-4614), colite induzida por inibidor (ponto de verificação) checkpoint imunológico (p. ex., colite induzida por inibidor de CTLA-4; (Yano et al., *J Translation Med*, **2014**, 12, 191), ou colite induzida por inibidor de PD-1- ou PD-L1) e ileite (Yamamoto et al., *Dig Liver Dis*, **2008**, 40, 253-259) são caracterizadas pela elevação dos níveis de algumas citocinas pró-inflamatórias. Como muitas citocinas pró-inflamatórias sinalizam via ativação de JAK, os compostos descritos nessa aplicação podem ser capazes de aliviar a inflamação e fornecer alívio para seus sintomas.

[00183] Em particular, os compostos da divulgação podem ser úteis para a indução e manutenção da remissão da colite ulcerativa inespecífica, e para o tratamento da doença de

Crohn, colite induzida por inibidor de checkpoint (ponto de verificação) imunológico e os efeitos adversos gastrintestinais da doença enxerto versus hospedeiro.

[00184] Em um aspecto, portanto, a invenção fornece um método para tratar uma doença inflamatória gastrintestinal em um mamífero (por exemplo, humano), o método compreendendo a administração ao mamífero de um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma composição farmacêutica compreendendo um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico e um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

[00185] A invenção fornece ainda um método para tratar a colite ulcerativa em um mamífero, o método compreendendo a administração ao mamífero de um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma composição farmacêutica compreendendo um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico e um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

[00186] Quando usados para o tratamento de colite ulcerativa, os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico serão administrados por via oral em dose única diária ou em doses múltiplas por dia, embora possam ser usadas outras formas de administração. A quantidade de agente ativo administrado por dose ou a quantidade total administrada por dia será determinada por um médico, considerando as circunstâncias relevantes, incluindo a doença a ser tratada, a via de administração escolhida, o composto em questão administrado e a sua atividade, a idade, o peso e a resposta de cada paciente, a gravidade dos sintomas do paciente e similares.

[00187] As doses adequadas para o tratamento da colite ulcerativa e outras desordens inflamatórias gastrintestinais devem estar na faixa de cerca de 1 a 400 mg/dia do agente ativo, incluindo a partir de cerca de 5 a 300 mg/dia e de cerca de 20 a 70 mg por dia do agente ativo para uma estimativa média de humano pesando 70 kg.

Terapia combinada

[00188] Os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico também podem ser usados combinados com um ou mais agentes que agem pelo mesmo mecanismo ou por mecanismos diferentes para tratar doenças inflamatórias gastrointestinais. Os diferentes agentes podem ser administrados em sequência ou simultaneamente (em composições separadas ou na mesma composição). As classes úteis de agentes para terapia de combinação incluem, mas não estão limitados a, aminossalicilatos, esteroides, imunossupressores sistêmicos, anticorpos anti-TNF α , inibidor do ligante de TNF alfa, agente ligante de TNF alfa, anticorpos anti-VLA-4, anticorpos anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, agentes antibacterianos, agonistas glicocorticoides, inibidores do fator nuclear kappa B, inibidores de 5-lipoxigenase, antagonistas da integrina alfa-4/beta-7, inibidores da ciclo-oxigenase, antagonistas da IL-23, antagonistas do receptor leucotrieno BLT, antagonistas da IL-6, antagonistas da IL-8, antagonistas da integrina, agonistas do receptor nicotínico acetilcolina, agonistas do gama PPAR, moduladores do receptor-1 esfingosina-1-fosfato, inibidores do antígeno CD20 do linfócito B, inibidores da calcineurina, antagonista do CD3, inibidores da molécula de adesão celular, inibidores da peroxidase eosinofílica,

agonistas da heparina, inibidores do gene ICAM1, antagonistas do gene IL-13, inibidores da subunidade alfa do receptor IL-2, sensibilizadores da insulina, ligantes da betainterferona, antagonistas do receptor da gamainterferona, moduladores do ligante da interleucina-1 beta, inibidores de MAdCAM, inibidores de PDE 4, agonistas do receptor 1 de esfingosina-1-fosfato, agonistas de TLR-9, inibidores de acetilcolinesterase, agonistas do receptor ACTH, antagonistas do receptor de activina, antagonistas de quimiocina CCR5, antagonistas de quimiocina CCR9 e medicamentos antidiarreicos.

[00189] Os aminossalicilatos que podem ser usados combinados com esses compostos inibidores de JAK incluem, mas não estão limitados a mesalamina, osalazina e sulfassalazina. Os exemplos de esteroides incluem, mas não estão limitados a prednisona, prednisolona, hidrocortisona, budesonida, beclometasona e fluticasona. Os imunossupressores sistêmicos úteis para o tratamento de desordens inflamatórias incluem, mas não estão limitados, a ciclosporina, azatioprina, metotrexato, 6-mercaptopurina e tacrolimo. Além disso, os anticorpos anti-TNF α , que incluem, mas não estão limitados a infliximabe, adalimumabe, golimumabe e certolizumabe, podem ser usados na terapia combinada. Compostos úteis que agem por outros mecanismos incluem anticorpos anti-VLA-4, como natalizumabe, anticorpos anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, como vedolizumabe, agentes antibacterianos, como rifaximina e medicamentos antidiarreicos, tais como loperamida. (Mozaffari et al. *Expert Opin. Biol. Ther.* **2014**, 14, 583-600; Danese, *Gut*,

2012, 61, 918-932; Lam et al., *Immunotherapy*, 2014, 6, 963-971.)

[00190] Outros compostos que podem ser usados em combinação com os atuais compostos inibidores JAK incluem, mas não estão limitados a, opaganibe, abatacepte, mongersen, filgotinibe, LYC-30937, BI-655130, mirikizumabe, adalimumabe, tacrolimo, rituximabe, GSK-2982772, andecaliximabe, naltrexona, risankizumabe, QBECO, alicaforsene, etrolizumabe, foralumabe, ocrelizumabe, vedolizumabe, amiselimode, ozanimode, dolcanatida, catrideracacacog, budesonida, STNM-01, canabidiol, etiprato de telotristate, SHP-647, metil carotegrast, peg-ilodecacinina, TOP-1288, iberogaste N, PF-06480605, peficitinibe, beclometasona, interferona recombinante beta-1a, infliximabe, golimumabe, tralokinumabe, ustekinumabe, certolizumabe pegol, talidomida, upadacitinibe, apremilaste, natalizumabe, betainterferona 1a, rifaximina, RBX-2660, etrasimod zileutona, fingolimode, cobitolimod, ropivacaína, ABX-464, PF-06700841, prednisolona, GLPG-0974, valganciclovir, ciclosporina, VB-201, tulinercepte, MDGN-002, PTG-100, dexametasona, GED-0507-34-Levo, bertilimumab, brazikumab, KHK-4083, rosiglitazona, mocravimod, sotрастaurin, KAG-308, PUR-0110, E-6007, balsalazida, basiliximabe, LP-02, ASP-3291, Trichuris suis ova, K(D)PT, midismase, DNVX-078, vatalizumab, alequel, heparina de baixo peso molecular, met-encefalina, tridecactide, HMPL-004, SB-012, olsalazida, balsalazida, propionil-L-carnitina, Clostridium butyricum, beclometasona e acemannan.

[00191] Em outro aspecto, portanto, a invenção fornece uma combinação terapêutica para uso no tratamento de distúrbios inflamatórios gastrointestinais, a combinação que compreende um composto da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico e um ou mais agentes terapêuticos úteis no tratamento de distúrbios inflamatórios gastrointestinais, como os ilustrados acima. Por exemplo, a invenção fornece uma combinação compreendendo um composto da invenção e um ou mais agentes selecionados a partir de aminossalicilatos, corticosteroides, imunossupressores sistêmicos, anticorpos anti-TNF α , anticorpos anti-VLA-4, anticorpos anti-integrina $\alpha_4\beta_7$, agentes antibacterianos e medicamentos antidiarreicos. O(s) agente(s) secundário(s), quando incluído(s), está(ão) presente(s) numa quantidade terapêutica eficaz, ou seja, em qualquer quantidade que produza um efeito terapêutico benéfico quando coadministrado com um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

[00192] Também é fornecido, desta forma, uma composição farmacêutica que compreende um composto da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina deste e um ou mais agentes terapêuticos úteis no tratamento das doenças inflamatórias gastrintestinais.

[00193] Além disso, em um aspecto do método, a invenção fornece um método de tratamento de doenças inflamatórias gastrointestinais, o método compreendendo a administração ao mamífero de um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina desse e um ou mais agentes terapêuticos úteis para o tratamento das doenças inflamatórias gastrointestinais.

[00194] Quando utilizado em combinação terapêutica, os agentes poderão ser formulados em uma única composição farmacêutica, como revelado anteriormente ou os agentes podem ser fornecidos em diferentes composições que são administradas simultaneamente ou em tempos distintos, pela mesma via ou por diferentes vias de administração. Quando administrados separadamente, os agentes são administrados em períodos próximos, de modo a proporcionar efeito terapêutico desejado. Tais composições podem ser acondicionadas separadamente ou podem ser acondicionadas como um kit. Os dois ou mais agentes terapêuticos no kit podem ser administrados pela mesma via de administração ou por diferentes vias de administração.

Doença inflamatória da pele

[00195] A dermatite atópica e outras doenças inflamatórias da pele estão associadas com a elevação de citocinas pró-inflamatórias que dependem da via JAK-STAT. Portanto, os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina podem ser benéficos em várias condições inflamatórias ou pruriginosas dérmicas, que incluem, mas não estão limitados a, dermatite atópica, alopecia areata, vitiligo, psoriase, dermatomiosite, linfoma cutâneo de células T (Netchiporouk et al., *Cell Cycle*. **2014**; 13, 3331-3335) e subtipos (síndrome de Sezary, micose fungoide, reticulose pagetoide, pele frouxa granulomatosa, papulose linfomatosa, pitiríase liquenoide crônica, pitiríase liquenoide e varioliforme aguda, linfoma cutâneo de células T CD30+, linfoma cutâneo secundário de células grandes CD30+, fungoides não micóticos, linfoma cutâneo de células T grandes CD30-,

linfoma pleomórfico de células T, linfoma de Lennert, linfoma de células T subcutâneo, linfoma angiocítico, linfoma blástico de células NK), prurigo nodular, líquen plano, amiloidose cutânea localizada primária, pênfigo bolhoso, manifestações cutâneas de doença do enxerto versus hospedeiro, penfigoide, lúpus discoide, granuloma anular, líquen simples crônico, prurido vulvar/escrotal/perianal, líquen escleroso, coceira pós-nevralgia herpética, líquen plano pilar e foliculite decalvante. Em especial, a dermatite atópica (Bao et al., *JAK-STAT*, **2013**, 2, e24137), alopecia areada (Xing et al., *Nat Med.* **2014**, 20, 1043-1049), vitiligo (Craiglow et al, *JAMA Dermatol.* **2015**, 151, 1110-1112), prurigo nodular (Sonkoly et al., *J Allergy Clin Immunol.* **2006**, 117, 411-417), líquen plano (Welz-Kubiak et al., *J Immunol Res.* **2015**, ID:854747), amiloidose cutânea primária localizada (Tanaka et al., *Br J Dermatol.* **2009**, 161, 1217-1224), penfigoide bolhoso (Feliciani et al., *Int J Immunopathol Pharmacol.* **1999**, 12, 55-61) e manifestações cutâneas da doença enxerto versus hospedeiro (Okiyama et al., *J Invest Dermatol.* **2014**, 134, 992-1000) são caracterizadas pela elevação de algumas citocinas que sinalizam via ativação JAK. Desta forma, os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina, podem ser capazes de aliviar o prurido associado à inflamação cutânea ou disparado por essas citocinas. Em particular, espera-se que compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina sejam úteis para o tratamento da dermatite atópica e outras doenças inflamatórias da pele.

[00196] Em um aspecto, portanto, a invenção fornece um método de tratamento de uma doença inflamatória de pele em um mamífero (por exemplo, humano), o método compreendendo a aplicação de uma composição farmacêutica compreendendo um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina e um carreador farmacêutico na pele de mamíferos. Em um aspecto, a doença inflamatória de pele é a dermatite atópica.

[00197] Os compostos da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina, também podem ser usados em combinação com um ou mais compostos úteis para doenças inflamatórias da pele. Em algumas modalidades, um ou mais compostos é um esteroide, antagonista do receptor H1 da histamina, inibidor da calcineurina, antagonista de IL-13, inibidor de PDE 4, antagonista do receptor-44 acoplado a proteína G, antagonista de IL-4, antagonista do receptor 5-HT 1a, antagonista do receptor 5-HT 2b, agonista do adrenoceptor alfa 2, antagonista do receptor canabinoide CB1, quimiocina CCR3, antagonista, inibidor da colagenase, inibidor da fosfolipase A2 citosólica, inibidor do ligante da eotaxina, inibidor do fator de transcrição GATA 3, antagonista do receptor H4 da histamina, antagonista da IL-10, antagonista da IL-12, antagonista da IL-17, antagonista da IL-2, antagonista da IL-23, modulador do receptor da IL-4, antagonista da IL-5, antagonista da imunoglobulina E, modulador da imunoglobulina E, antagonista do receptor da gamainterferona, inibidor do ligante da interleucina 33, antagonista do receptor da interleucina-31, antagonista do leucotrieno, agonista do receptor do X do fígado, agonista

do betarreceptor X do fígado, inibidor do fator nuclear kappa B, antagonista do receptor OX-40, antagonista do receptor PGD2, inibidor da fosfolipase A2, estimulante do domínio SH2 da inositol fosfatase 1, inibidor do ligante da linfoproteína tímica do estroma, modulador do TLR, modulador do ligante do TNF-alfa, ou antagonista do vaniloide VR1. Em algumas modalidades, um ou mais compostos é um antibiótico gram positivo, como a mupirocina ou o ácido fusídico. Em algumas modalidades, um ou mais compostos são tranilaste, tacrolimo, epinastina, SB-011, AM-1030, ZPL-521, MM-36, FB-825, PG-102, viromed, GBR-830, AVX-001, AMG-0101, E-6005, DMT-210, AX-1602, bertilimumabe, acetato de rosiptor, Q-301, ANB-020, VTP-38543, ZPL-389, lebrikizumab, tezepelumab, fexofenadina, pimecrolimo, bepotastine, crisaborole, tralokinumab, fevipiprant, doxiciclina, desloratadina, ALX-101, nemolizumab, asivatrep, ciclosporina, mepolizumabe, dupilumabe, secukinumab, timapiprant, ou ustekinumab.

[00198] Em um aspecto, portanto, a invenção fornece um método de tratamento de uma doença inflamatória de pele em um mamífero, o método compreendendo aplicar o composto da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina, e um antibiótico gram-positivo na pele de mamíferos. Em outro aspecto, a invenção também fornece uma composição farmacêutica compreendendo um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina, um antibiótico gram positivo e um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Doenças respiratórias

[00199] As citocinas que sinalizam pela via JAK-STAT, em particular IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-13, IL-23, IL-31, IL-27, linfoipoietina do estroma tímico (TSLP), gamainterferona (IFN γ) e fator estimulante de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) também estão envolvidas na inflamação da asma e outras doenças respiratórias inflamatórias. Como descrito acima, os compostos da divulgação mostraram ser potentes inibidores de JAK3 e também demonstraram potente inibição de citocinas IL-2 pró-inflamatórias em ensaios celulares.

[00200] A atividade anti-inflamatória de inibidores de JAK foi demonstrada em modelos pré-clínicos de asma (Malaviya et al., *Int Immunopharmacol*, **2010**, 10, 829,-836; Matsunaga et al., *Biochem and Biophys Res Commun*, **2011**, 404, 261-267; Kudlacz et al., *Eur J Pharmacol*, **2008**, 582, 154-161.) Assim, espera-se que compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina sejam úteis para o tratamento de doenças inflamatórias respiratórias como a asma. A inflamação e fibrose do pulmão é característica de outras doenças respiratórias além de asma como doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), fibrose cística (FC), pneumonite, doenças pulmonares intersticiais (incluindo fibrose pulmonar idiopática), lesão pulmonar aguda, síndrome de angústia respiratória aguda, bronquite, enfisema e bronquiolite obliterante. Os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, portanto, podem ser úteis para o tratamento de doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística, pneumonite, doenças pulmonares intersticiais (incluindo fibrose pulmonar idiopática), lesão pulmonar aguda, síndrome

do desconforto respiratório agudo, enfisema, bronquiolite obliterante, bronquiolite obliterante com pneumonia em organização (também chamada COS), disfunção primária do enxerto (PGD), pneumonia em organização (PO), rejeição aguda do transplante pulmonar (AR), bronquiolite linfocítica (BL), disfunção crônica do enxerto pulmonar (CLAD), disfunção neutrofílica do enxerto, CLAD restritiva (rCLAD ou RAS), disfunção neutrofílica do enxerto e sarcoidose.

[00201] Em um aspecto, portanto, a divulgação fornece um método de tratamento de uma doença respiratória em um mamífero (por exemplo, humano), o método compreendendo a administração de um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina ao mamífero.

[00202] Em um aspecto, a doença respiratória é a asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística, pneumonite, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD), fibrose cística (CF), pneumonite, doenças pulmonares intersticiais (incluindo fibrose pulmonar idiopática), lesão pulmonar aguda, síndrome do desconforto respiratório agudo, enfisema, bronquiolite obliterante, bronquiolite obliterante com pneumonia em organização (também chamada COS), disfunção primária do enxerto (PGD), pneumonia em organização (PO), rejeição aguda do transplante pulmonar (AR), bronquiolite linfocítica (BL), disfunção crônica do enxerto pulmonar (CLAD), disfunção neutrofílica do enxerto, CLAD restritiva (rCLAD ou RAS), disfunção neutrofílica do enxerto e sarcoidose. Em outro aspecto, a doença respiratória é asma ou doença pulmonar obstrutiva crônica.

[00203] Em outro aspecto, a doença respiratória é uma infecção pulmonar, uma infecção por helminto, hipertensão arterial pulmonar, sarcoidose, linfangioleiomiomatose, bronquiectasia ou uma doença pulmonar infiltrativa. Em outro aspecto, a doença respiratória é a pneumonite induzida por fármacos, pneumonite induzida por fungo, aspergilose broncopulmonar alérgica, pneumonite por hipersensibilidade, granulomatose eosinofílica com poliangiite, pneumonia eosinofílica idiopática aguda, pneumonia eosinofílica idiopática crônica, síndrome hipereosinofílica, síndrome de Löffler, bronquiolite obliterante com pneumonia em organização ou pneumonia.

[00204] A divulgação ainda fornece um método de tratamento de uma doença respiratória, o método compreendendo administrar ao mamífero uma composição farmacêutica compreendendo um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina e um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico.

[00205] Os compostos da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina, também podem ser usados em combinação com um ou mais compostos úteis para doenças respiratórias.

Doenças oculares

[00206] Foi demonstrado que muitas doenças oculares estão associadas com a elevação de citocinas pró-inflamatórias que dependem da via JAK-STAT.

[00207] Os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, ou uma forma cristalina, portanto, podem ser úteis para o tratamento de várias doenças oculares que incluem, mas não estão limitadas a,

uveíte, retinopatia diabética, edema macular diabético, doença do olho seco, degeneração macular relacionada à idade oclusão da veia retiniana (RVO) e ceratoconjuntivite atópica.

[00208] Em particular, uveíte (Horai e Caspi, *J Interferon Cytokine Res*, **2011**, 31, 733-744), retinopatia diabética (Abcouwer, *J Clin Cell Immunol*, **2013**, Suppl 1, 1-12), edema macular diabético (Sohn et al., *American Journal of Ophthalmology*, **2011**, 152, 686-694), doença do olho seco (Stevenson et al, *Arch Ophthalmol*, **2012**, 130, 90-100), oclusão da veia da retina (Shchuko et al, *Indian Journal of Ophthalmology*, **2015**, 63(12), 905-911) e degeneração macular relacionada à idade (Knickelbein et al, *Int Ophthalmol Clin*, **2015**, 55(3), 63-78) são caracterizadas pela elevação de algumas citocinas pró-inflamatórias que sinalizam através da via JAK-STAT. Desta forma, os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, podem ser capazes de aliviar a inflamação ocular associada e reverter a progressão da doença ou melhorar os sintomas.

[00209] Em um aspecto, portanto, a invenção fornece um método de tratamento de uma doença ocular em um mamífero, o método compreendendo a aplicação de uma composição farmacêutica compreendendo um composto da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico e um carreador farmacêutico no olho do mamífero. Em um aspecto, a doença ocular é uveíte, retinopatia diabética, edema macular diabético, doença do olho seco, degeneração macular relacionada à idade, oclusão da veia da retina ou ceratoconjuntivite atópica. Em um aspecto, o método consiste em administrar o composto da divulgação ou um sal aceitável

do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina por injeção intravítreas.

[00210] Os compostos da divulgação, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina, também podem ser usados em combinação com um ou mais compostos úteis para doenças oculares.

Outras doenças

[00211] Os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, ou uma forma cristalina, também podem ser úteis para o tratamento de outras doenças como doenças inflamatórias, doenças autoimunes ou cânceres.

[00212] Os compostos da divulgação ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina podem ser úteis para o tratamento de um ou mais de artrite, artrite reumatoide, artrite reumatoide juvenil, rejeição de transplante, xeroftalmia, artrite psoriática, diabetes, diabetes insulina dependente, doença do neurônio motor, síndrome mielodisplásica, dor, sarcopenia, caquexia, choque séptico, lúpus eritematoso sistêmico, leucemia, leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielogênica aguda, espondilite anquilosante, mielofibrose, linfoma de células B, carcinoma hepatocelular, doença de Hodgkin, câncer de mama, mieloma múltiplo, melanoma, linfoma não Hodgkin, câncer de célula não pequena do pulmão, câncer de células claras do ovário, tumor ovariano, tumor de pâncreas, policitemia vera, síndrome de Sjögren, sarcoma de partes moles, sarcoma, esplenomegalia, linfoma de células T e talassemia maior.

[00213] Foi demonstrado que os compostos da divulgação são potentes inibidores da enzima JAK3 e são seletivos para JAK3

em relação a JAK1, JAK2 e TYK2 em ensaios de ligação enzimática e têm potente atividade funcional pra JAK3 em um ensaio celular, como descrito nos exemplos a seguir.

EXEMPLOS

[00214] Os exemplos sintéticos e biológicos a seguir são fornecidos para ilustrar a invenção, e não são para ser interpretados de qualquer forma como uma limitação do escopo da invenção. Nos exemplos abaixo, as abreviaturas têm os seguintes significados, a menos que seja indicado de outra forma. As abreviaturas não definidas abaixo têm seus significados aceitos.

ACN	=	acetonitrila
Calcd	=	calculado
Boc	=	terc-butiloxicarbonil
d	=	dia(s)
DIPEA	=	<i>N,N</i> -di-isopropietilamina
DMF	=	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	=	dimetilsulfóxido
EtOAc	=	acetato de etila
EtOH	=	álcool etílico
h	=	hora(s)
HATU	=	hexafluorofosfato de <i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -(7-azabenzotriazol- 1-il)urônio
IPA	=	álcool isopropílico
MeOH	=	metanol
min.	=	minuto(s)
TA ou ta	=	temperatura ambiente
SiG	=	sílica gel
TEA	=	trietilamina

THF	=	tetraidrofurano
THP	=	tetraidropirano
TFA	=	ácido trifluoroacético

[00215] Os reagentes e solventes foram comprados de fornecedores comerciais (Aldrich, Fluka, Sigma etc.) e usados sem purificação. O progresso da mistura da reação foi monitorado por cromatografia em camada fina (TLC), cromatografia líquida de alta eficiência analítica (CLAE/HPLC analítica) e espectrometria de massa. As misturas da reação foram trabalhadas como descrito especificamente em cada reação; foram purificadas por métodos de extração e outros de purificação, como cristalização e precipitação dependentes de temperatura e solvente. Além disso, as misturas da reação foram purificadas por cromatografia em coluna ou HPLC preparativa, geralmente usando empacotamento C18 ou BDS de coluna e eluentes convencionais. As condições típicas de HPLC preparativa estão descritas abaixo.

[00216] A caracterização dos produtos da reação foi feita usando espectrometria de massa e ^1H -RMN. Para análise por RMN, as amostras foram dissolvidas em solventes deuterados (como CD_3OD , CDCl_3 , ou $d_6\text{-DMSO}$), e foram adquiridos os espectros de ^1H -RMN com o instrumento Varian Gemini 2000 (400 MHz) sob condições de observação padrões. A identificação por espectrometria de massa dos compostos foi feita por um método de ionização por electrospray (ESMS) com um instrumento da Applied Biosystems, (Foster City CA) modelo API 150 EX ou um instrumento da Waters (Milford, MA) 3100, acoplados a sistemas de autopurificação.

[00217] A menos que indicado de outra forma, foram usadas as seguintes condições para as purificações por HPLC preparativa.

Coluna: C18, 5 µm 21.2 x 150 mm ou C18, 5 µm 21 x 250 mm ou C14, 5 µm 21x150 mm

Temperatura da coluna: Temperatura ambiente

Vazão do fluxo: 20,0 ml/min.

Fases móveis: A = Água + 0,05% TFA
B = ACN + 0,05% TFA,

Volume de injeção: (100-1500 µl)

Comprimento de onda do detector: 214 nm

[00218] Os compostos brutos (não purificados) foram dissolvidos em 1:1 de água:ácido acético em cerca de 50 mg/ml. Uma corrida de 4 minutos de escala analítica de teste foi realizada usando uma coluna C18 2,1 x 50 mm, seguida de uma corrida de escala preparativa de 15 ou 20 minutos usando injeção de 100 µl com o gradiente baseado na retenção de % B da corrida da escala analítica de teste. Os gradientes precisos dependiam da amostra. Amostras com impurezas com tempos de retenção próximos foram verificadas com uma coluna C18 21 x 250 mm e/ou coluna C14 21 x 150 mm para melhor separação. As frações com o produto desejado foram identificadas por análise de espectrometria de massa.

Condições de análise por HPLC (CLAE)

Método A

Coluna: LUNA C18 (2), 150 x 4.60 mm, 3 µm

Temperatura da coluna: 37 °C

Vazão do fluxo: 1,0 ml/min

Volume de injeção: 5 µl

Preparo da amostra: Dissolver em 1:1 de ACN:água

Fases móveis: A = Água:ACN:TFA (98:2:0.05)
 B = Água:ACN:TFA (2:98:0,05)
 Comprimento de onda do detector: 250 nm
 Gradiente: 32 min. total (tempo (min.)/ %B):
 0/2, 10/20, 24/90, 29/90, 30/2, 32/2

Método B

Coluna: LUNA C18 (2), 150 x 4.60 mm, 3 µm
 Temperatura da coluna: 37 °C
 Vazão do fluxo: 1,0 ml/min
 Volume de injeção: 10 µl
 Preparo da amostra: Dissolver em 1:1 de ACN:água
 Fases móveis: A = Água:ACN:TFA (98:2:0.05)
 B = Água:ACN:TFA (10:90:0,05)
 Comprimento de onda do detector: 254 nm
 Gradiente: 35 min. total (tempo (min.)/ %B):
 0/2, 20/25, 23/90, 26/90, 27/2, 35/2

[00219] Os padrões de difração de raios X do pó foram obtidos com um difratômetro de raios X Bruker D8-Advance usando radiação Cu-K α ($\lambda = 1,54051$ Å) com tensão de saída de 45 kV e corrente de 40 mA. O instrumento foi operado na geometria Bragg-Brentano com fendas incidentes, de divergência e de espalhamento ajustadas para maximizar a intensidade na amostra. Para medição, uma pequena quantidade de pó (5-25 mg) foi gentilmente pressionada em um suporte de amostra para formar uma superfície lisa e submetida à exposição aos raios X. As amostras foram examinadas no modo 2 θ -2 θ de 2° a 35° em 2 θ com um tamanho de etapa de 0,02° e uma velocidade de leitura de 0,30° segundo por etapa. A

aquisição de dados foi controlada pelo programa de medida DiffracSuite Bruker e analisados pelo programa Jade (versão 7.5.1). O instrumento foi calibrado com um padrão de corindo, dentro do ângulo de dois tetas $\pm 0,02^\circ$.

[00220] Foi realizada a calorimetria diferencial exploratória (DSC) usando um módulo de TA Instruments Model Q-100 com um controlador de análise térmica. Os dados foram coletados e analisados usando o programa de análise térmica de TA Instruments. Uma amostra de cada forma cristalina foi pesada com precisão em um cadiño de alumínio. Depois de um período de 5 minutos de equilíbrio isotérmico a 5 °C, a amostra foi aquecida através de uma rampa linear de aquecimento de 10 °C/min. de 0 °C a 300 °C.

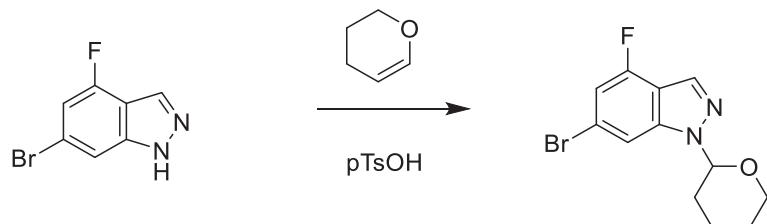
[00221] As medidas de análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas usando um módulo de TA Instruments Model Q-50, equipado com alta capacidade de resolução. Os dados foram coletados usando o controlador de análise térmica da TA Instruments e analisados usando o programa TA Instruments Universal Analysis. Uma amostra pesada foi colocada em um cadiño de platina e examinada com uma taxa de aquecimento de 10 °C a partir da temperatura ambiente até 300-350 °C. As câmaras de equilíbrio e forno foram purgadas com fluxo de nitrogênio durante o uso.

[00222] As medidas da sorção dinâmica de umidade (DMS) foram realizadas utilizando uma microbalança atmosférica VTI, sistema SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Uma amostra pesada foi usada e a umidade era o menor valor possível (perto de 0% UR), no início da análise. A análise de DMS consistiu em uma primeira etapa de secagem (0% UR) durante 120 minutos, seguida por dois ciclos de sorção e

dessorção com uma taxa de leitura de 5% UR/etapa na faixa de umidade de 5% a 90% UR. A DMS foi feita com isoterma a 25 °C.

Preparação 1:

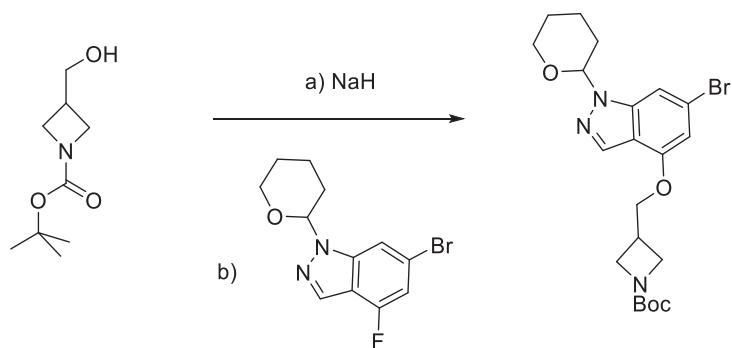
6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol



[00223] Uma mistura de 6-bromo-4-fluoro-1h-indazol (5 g, 23,25 mmol), 3,4-di-idro-2H-piran (6,38 ml, 69,8 mmol) e ácido p-toluenossulfônico monoidrato (0,442 g, 2,325 mmol) em DCM (76 ml) foi agitada à TA durante a noite. A reação foi concentrada e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna flash usando um gradiente de EtOAc/Hexanos de 0-60% para produzir o produto desejado (6,08 g, 87% de rendimento).

Preparo 2:

3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metyl)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

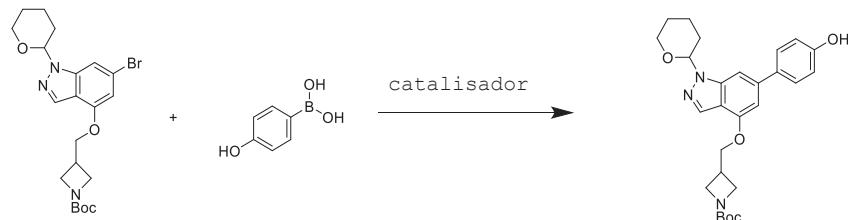


[00224] Foi adicionado hidreto de sódio (1,003 g, 41,8 mmol) lentamente a uma solução sob agitação de 1-Boc-Azetidina-3-il-metanol (6,89 g, 36,8 mmol) em DMF

(60 ml) sob atmosfera de N₂ a 0 °C e a reação foi deixada para aquecer a ta. A mistura da reação espumosa foi agitada durante 30 minutos à ta antes de ser resfriada uma vez novamente a 0 °C. Uma solução de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (5,00 g, 16,71 mmol) em DMF (20 ml) foi lentamente canulada na mistura reacional, a reação foi aquecida à ta e agitada durante 2 horas. A reação foi atenuada com a adição lenta de H₂O (150 ml) e EtOAc (100 ml) e deixada agitar durante 5 minutos. Foi adicionada água adicional (100 ml) e a mistura bifásica foi extraída com EtOAc (3 x 100 ml). As frações orgânicas combinadas foram então lavadas com 1:1 de H₂O:salmoura (3 x 100 ml) e secas sobre Na₂SO₄. O óleo transparente ligeiramente rosado resultante foi purificado por cromatografia em coluna flash, usando um gradiente de EtOAc/hexanos de 0-100% para produzir o produto desejado como um óleo transparente, claro, viscoso (7,34 g, 15,74 mmol, 94% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 466,13 de C₂₁H₂₈BrN₃O₄ foi encontrado 466,1.

Preparo 3:

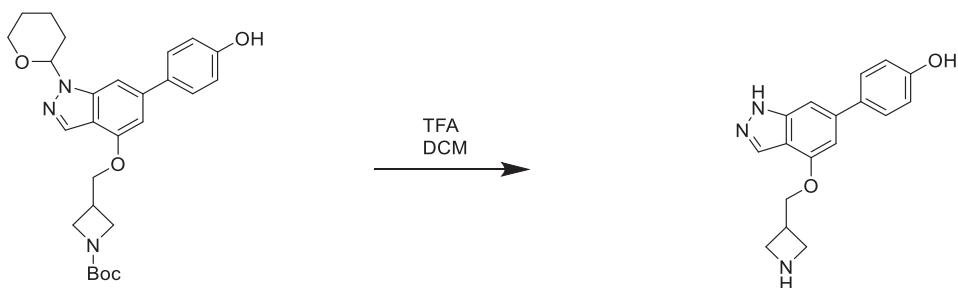
3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila



[00225] O aduto

dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II)

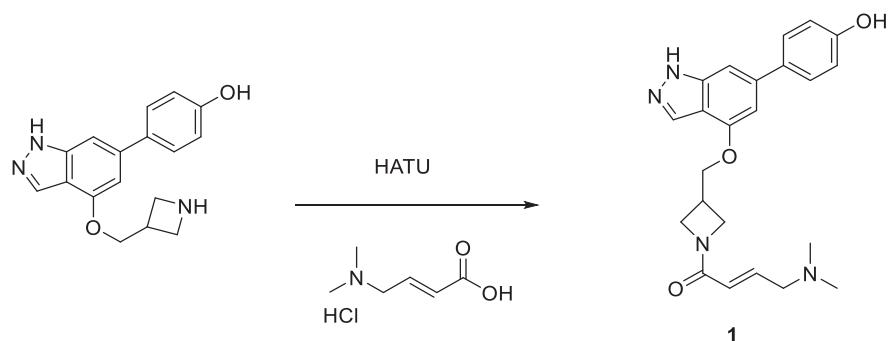
diclorometano (1,93 g, 2,36 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido 4-hidroxibenzenoborônico (3,26 g, 23,61 mmol), 3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (7,34 g, 15,74 mmol) e fosfato de potássio (10,02 g, 47,2 mmol) em 1,4-dioxano (63,0 ml) e água (15,74 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com N² durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (20 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com cloreto de metileno (3 x 20 ml). Os extratos de cloreto de metileno foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando 50% de acetato de etila em hexanos para produzir 3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (7,55 g, 15,74 mmol, 100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 480,24 de C₂₇H₃₃N₃O₅ foi encontrado 480,1.

Preparação 4:**4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)fenol**

[00226] TFA (10,90 ml) foi lentamente adicionado a uma solução de

3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (7,84 g, 16,35 mmol) em diclorometano (21,80 ml). A solução clara foi agitada à ta durante 5 horas. A reação foi concentrada *sob vácuo* para produzir 4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)fenol como um sal de TFA (6,69 g, 16,35 mmol, 100% de rendimento).
(*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 296,13 de C₁₇H₁₇N₃O₂ foi encontrado 296,1.

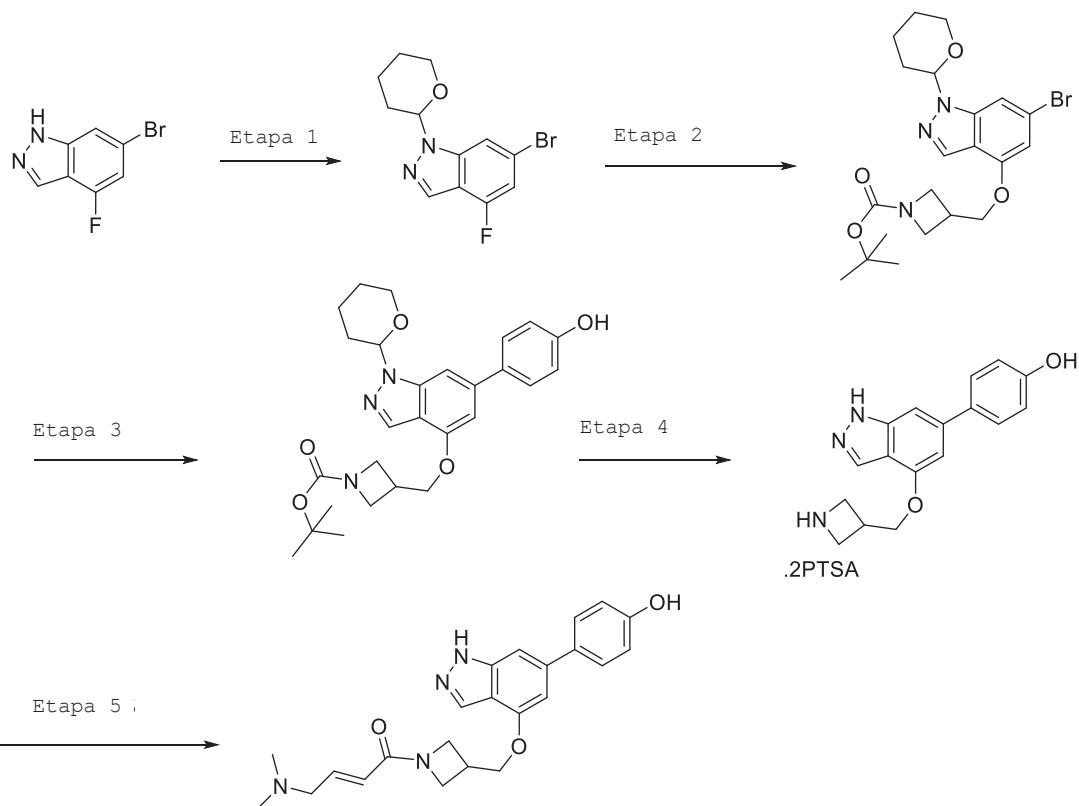
Exemplo 1A:**(E)-4-(dimetilamino)-1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)but-2-en-1-ona**



[00227] HATU (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio, 817 mg, 2,150 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato do ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (405 mg, 2,44 mmol) em DMF (2,00 ml) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 5 minutos. O sal TFA de 4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)fenol (800 mg, 1,954 mmol) foi adicionado, seguido por DIPEA (1,707 ml, 9,77 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e depois concentrada sob vácuo para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia por coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 20-80% de acetonitrila e água em 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (E)-4-(dimetilamino)-1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-il)but-2-en-1-ona como um sal de TFA (235,0 mg, 0,578 mmol, 29,6% de rendimento).
 (m/z) : $[M+H]^+$ calculado para 407,20 de $C_{23}H_{26}N_4O_3$ foi encontrado 407,2. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 13,07 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,55 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,21 (s, 1H), 6,86 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,79 (s, 1H), 6,66 - 6,58 (m, 1H), 6,45 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 4,45 - 4,36 (m, 2H), 4,17 - 4,07 (m, 2H), 3,91-3,83 (m, 3H), 3,22-3,10 (m, 2H), 2,75 (s, 6H).

Exemplo 1B: Forma 4 cristalina

(E)-4-(dimetilamino)-1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)but-2-en-1-ona

Etapa 1

[00228] A uma suspensão de 6-bromo-4-fluoro-1H-indazol (20,0 g, 93 mmol) em 200 ml de DCM foi adicionado ácido p-toluenossulfônico monoidrato (1,769 g, 9,30 mmol). A mistura reacional permaneceu como uma suspensão. Foi adicionado 3,4-di-idro-2H-piran (16,97 ml, 186 mmol). Foi observada uma completa dissolução de sólidos após 5 minutos. A mistura reacional foi agitada à TA durante a noite para formar uma solução escura. Foram adicionados 200 ml de bicarbonato aquoso, as fases foram separadas e a camada orgânica foi lavada com 200 ml de salmoura e seca com

sulfato de sódio. A solução foi filtrada através de tampão de sílica para remover a cor escura e a sílica foi lavada com 300 ml de DCM. O solvente foi evaporado para obter 25 g de produto como um sólido esbranquiçado.

Etapa 2A

[00229] Em um balão de 500 ml de fundo redondo foi adicionado 3-(hidroximetil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (22,53 g, 120 mmol) e 100 ml de dimetilacetamida (DMAc). O frasco foi purgado com nitrogênio. Foi adicionado carbonato de césio (39,2 g, 120 mmol). Foi adicionado 6-Bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (24 g, 80 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 70 °C durante 2 dias. Foram adicionados 0,5 eq de 3-(hidroximetil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila e carbonato de césio e a reação foi aquecida a 70 °C durante a noite para obter a conversão total. A mistura reacional foi resfriada à TA e então lentamente vertida em água gelada agitada (700 ml). A pasta fluida resultante foi agitada durante 20 minutos e depois filtrada e seca para produzir 32 g de produto. O produto foi cristalizado a partir de metanol-água ao adicionar água lentamente como antissolvente até a formação de névoa. Uma pasta fluida branca surgiu ao longo do tempo. O sólido foi filtrado e seco para produzir 28 g de material com pureza superior a 98%.

Etapa 2B

[00230] Alternativamente, foi adicionado t-butóxido de potássio a uma solução de 3-(hidroximetil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila e DMAc a 0 °C. Após 60 minutos, foi adicionado 6-Bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol a

0 °C e a mistura reacional foi aquecida até à temperatura ambiente produzindo a conversão completa e limpa em menos de 6 horas.

Etapa 3

[00231] Em um balão de Schlenk de 250 ml foi adicionado 3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (10,0 g, 21,44 mmol) e 80 ml de dioxano. Foi adicionado ácido (4-hidroxifenil)borônico (4,44 g, 32,2 mmol). Foi adicionado fosfato de potássio tribásico anidro (13,65 g, 64,3 mmol) com 20 ml de água e a mistura reacional foi purgada com nitrogênio. O aduto $\text{PdCl}_2(\text{dppf})-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0,876 g, 1,072 mmol) foi adicionado e o balão com um condensador foi reabastecido com nitrogênio três vezes. A mistura reacional foi aquecida a 110 °C durante 2 horas e 30 minutos para mostrar a conversão completa por CLAE. A mistura reacional foi resfriada à TA seguida pela remoção da maior parte do dioxano. Foram adicionados 150 ml de cloreto de amônio seguidos por 150 ml de acetato de etila. O pH foi ajustado para neutro com 1M aq HCl. As fases foram separadas e a camada orgânica foi seca com sulfato de sódio seguida pela remoção do solvente. O produto bruto foi dissolvido em 150 ml de DCM e carregado em 300 g de coluna de SiG eluído com 20-50% de acetato de etila em hexanos. As frações puras foram combinadas e o solvente foi evaporado. Foram adicionados 100 ml de MeTHF, seguidos pela adição de grãos cristalinos. Uma pasta surgiu ao longo do tempo. Foram adicionados 100 ml de DIIPE e a pasta fluida foi agitada durante a noite. A filtração e secagem produziram 7,9 g de material puro (>99%).

Etapa 4

[00232] Em um balão de fundo redondo de 50 ml foi adicionado

3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (85 g, 177 mmol) em 400 ml de metanol. Foi adicionado ácido p-toluenossulfônico monoidrato (101 g, 532 mmol) e a mistura reacional foi agitada à TA para obter cerca de 90% de conversão após 2 dias. A mistura reacional foi agitada por mais 24 horas à temperatura ambiente para produzir cerca de 96% de conversão. Foram adicionados 400 ml de éter di-isopropílico e a pasta fluida resultante foi agitada à temperatura ambiente durante a noite e formou um sal cristalino durante a noite. A filtração e secagem sob nitrogênio produziram 100 g de material puro >99% como sal bis PTSA.

Etapa 5

[00233] Em um balão de 100 ml de fundo redondo foi adicionado ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico, HCl (1,899 g, 11,46 mmol) e 20 ml de DMF. HCTU hexafluorofosfato de o-(1H-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio (4,91 g, 11,46 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada à TA durante 20 minutos. Em um balão separado foi adicionado

4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)fenol, 2TFA (5,0 g, 9,55 mmol) e 20 ml de DMF. A solução resultante foi resfriada a 0 °C, seguida pela lenta adição de DIPEA (5 ml, 38,2 mmol, 3 eq). A solução acima foi adicionada (mais de 5 minutos) a uma mistura reacional ácida pré-ativada e a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante

15 minutos. Um equivalente adicional de DIPEA foi adicionado gota a gota. Foi observada conversão completa por CLAE após 20 minutos à temperatura ambiente. A mistura reacional foi vertida em 200 ml de água sob agitação. Sólidos pegajosos precipitaram em um pH em torno de 7. O pH foi cuidadosamente ajustado para cerca de 8 com amônia aquosa. A solução foi extraída três vezes com 100 ml de MeTHF. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio seguida pela remoção do solvente. O produto base livre bruto foi dissolvido em 25 ml de metanol a 10% em DCM, carregado em 125 g de coluna de sílica gel e eluído com metanol a 10% isocrático em DCM contendo 0,5% de amônia aquosa. As frações puras foram combinadas e o solvente foi evaporado. A recristalização a partir de acetona produziu material puro > 98% (50% de rendimento).

[00234] Foram suspensos 25 mg do composto 1 em 1 ml de água. A suspensão resultante foi agitada durante 2 dias a 50 °C, filtrada, lavada com 2 ml de água e seca em condições ambientais durante algumas horas para fornecer a Forma 4.

[00235] Alternativamente, o composto 1 foi dissolvido em etanol e água ou metanol e água pela dissolução completa em 10 volumes de álcool seguida pela adição lenta de cerca de 8 a 10 volumes de água até o ponto de névoa. Os grãos da Forma 4 foram adicionados para formar lentamente uma pasta fluida com o tempo. Mais água foi adicionada lentamente (cerca de 10 volumes) e sólido foi filtrado e seco para obter a Forma 4.

Exemplo 1C: Forma 3 cristalina

(E)-4-(dimetilamino)-1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)but-2-en-1-ona

[00236] A Forma 3 é uma forma cristalina de base livre anidro do composto 1.

[00237] Foram suspensos 150 mg do composto 1 em 2 ml de uma mistura 1:1 de acetonitrila e isopropanol. A suspensão resultante foi agitada durante 1 dia a 50 °C, filtrada, lavada com 2 ml de uma mistura 1:1 de acetonitrila e isopropanol e seca em condições ambientais durante algumas horas para fornecer a Forma 3, que foi determinada como sendo uma base livre anidro cristalina.

[00238] Alternativamente, 200 mg do composto 1 como base livre amorfa foi dissolvido em 2 ml de IPA a TA. Foi adicionada uma quantidade igual de acetonitrila. Mais composto (0,5 g, total) foi adicionado até uma solução saturada ser formada. Os grãos foram adicionadas e a mistura foi agitada durante a noite. Uma pasta fluida branca surgiu ao longo do tempo. A filtração e secagem produziram 400 mg de produto como Forma 3, que foi determinado como sendo uma base livre anidro.

Exemplo 1D: Caracterização da Forma 3

[00239] Amostras da Forma 3 foram analisadas por difração de raios X em pó (PXRD), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA) e sorção dinâmica de umidade (DMS).

Difração por raios X do pó

[00240] O padrão de difração por raios X do pó da Forma 3 é apresentado na Figura 9.

[00241] As posições de pico de dois teta PXRD e espaçamentos em *d* observados são apresentados a seguir.

2-Teta	d (Å)	Área	A%
4,82	18,32	16367	2,7
9,67	9,14	610151	100,0
11,61	7,61	140214	23,0
11,92	7,42	49009	8,0
12,98	6,81	21804	3,6
13,23	6,69	21840	3,6
15,69	5,64	88944	14,6
16,19	5,47	89861	14,7
16,45	5,38	74091	12,1
16,67	5,31	57780	9,5
17,61	5,03	158810	26,0
18,88	4,70	261799	42,9
19,39	4,57	26844	4,4
19,96	4,45	164339	26,9
20,14	4,40	125226	20,5
22,14	4,01	52100	8,5
23,33	3,81	74095	12,1
23,84	3,73	166452	27,3
24,06	3,70	200590	32,9
24,29	3,66	79151	13,0
25,31	3,52	119197	19,5
25,63	3,47	88838	14,6
27,06	3,29	62513	10,2
27,31	3,26	47507	7,8

30,10	2,97	18475	3,0
30,53	2,93	16406	2,7

Análise térmica

[00242] A Figura 10 mostra um termograma DSC representativo para a Forma 3 cristalina livre da invenção. O traço da calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe um pico no fluxo de calor endotérmico, identificado como transição de fusão, com um início em cerca de 197,7 °C e um pico em cerca de 201,3 °C. O derretimento foi imediatamente seguido pela decomposição.

[00243] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a um pico de temperatura de cerca de 201,3 °C.

[00244] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre cerca de 197,7 °C e cerca de 204 °C.

[00245] A Figura 11 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 3 cristalina livre da invenção. A análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 11 não mostra perda de peso significativa em temperaturas abaixo do início da decomposição a cerca de 195 °C.

Avaliação da sorção dinâmica de umidade

[00246] A Figura 12 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 3 cristalina livre da invenção.

[00247] A Forma 3 demonstrou cerca de 0,33% de ganho de peso na faixa de umidade de 5% a 90% de umidade relativa. A Forma 3 é considerada como sendo não higroscópica.

Exemplo 1E: Caracterização da Forma 4

[00248] Amostras da Forma 4 foram analisadas por difração de raios X em pó (PXRD), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA) e sorção dinâmica de umidade (DMS).

Difração por raios X do pó

[00249] O padrão de difração por raios X do pó da Forma 4 é apresentado na Figura 13.

[00250] As posições de pico de dois teta PXRD e espaçamentos em d observados são apresentados a seguir.

2-Teta	d(Å)	Área	A%
6,26	14,10	161835	73,90
11,86	7,46	51703	23,60
12,51	7,07	82712	37,80
13,16	6,72	72445	33,10
14,98	5,91	53903	24,60
16,55	5,35	218849	100,00
16,94	5,23	133498	61,00
17,61	5,03	28496	13,00
18,33	4,84	170874	78,10
18,78	4,72	35644	16,30
19,39	4,57	92940	42,50
19,57	4,53	86983	39,70
19,84	4,47	19121	8,70

21,45	4,14	22435	10,30
21,82	4,07	22934	10,50
22,57	3,94	62931	28,80
23,61	3,76	162063	74,10
24,24	3,67	135952	62,10
24,67	3,61	38471	17,60
25,10	3,54	55236	25,20
25,39	3,51	32363	14,80
27,19	3,28	27010	12,30
27,39	3,25	32148	14,70
28,55	3,12	24879	11,40
31,51	2,84	18975	8,70

Análise térmica

[00251] A Figura 14 mostra um termograma de DSC representativo para a Forma 4 cristalina livre. O traço de calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe uma endotermia de dessolvação com um início em cerca de 60,9 °C e um pico em cerca de 103,6 °C, e uma endotermia de fusão caracterizada por um início em cerca de 167,3 °C. O composto se decompõe na fusão e a endotermia de fusão e a exotermia de decomposição se sobrepõem.

[00252] A Figura 15 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 4 cristalina livre. A análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 15 mostra uma perda de peso de cerca de 3,54% a 100 °C. O composto dessolva a uma temperatura de início de cerca de 50 °C. O composto decompõe-se a uma temperatura inicial de cerca de 165° C.

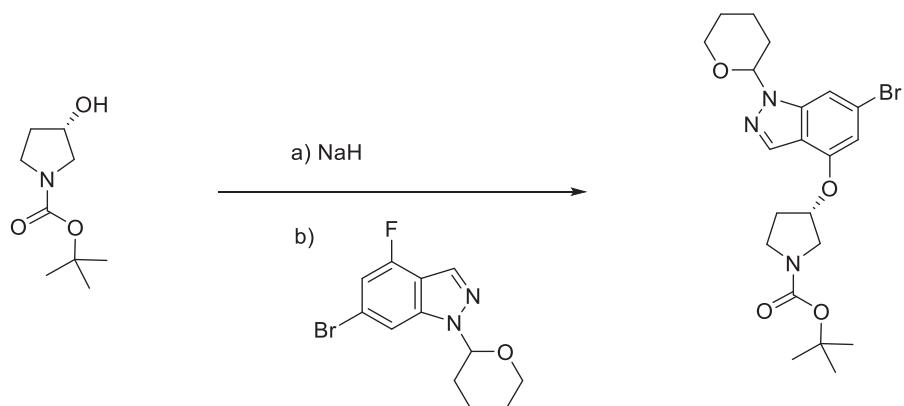
Avaliação da sorção dinâmica de umidade

[00253] A Figura 16 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 4 cristalina livre.

[00254] A Forma 4 demonstrou cerca de 5,01% de ganho de peso na faixa de umidade de 5% a 90% de umidade relativa. A Forma 4 é considerada como sendo moderadamente higroscópica.

Preparo 5:

(3S)-3-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila



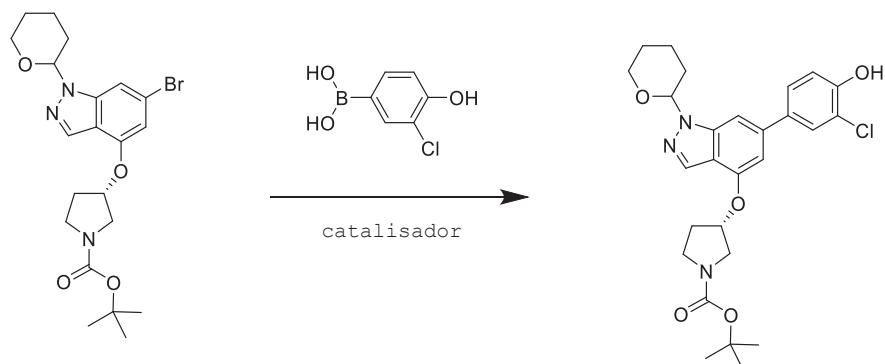
[00255] Foi adicionado hidreto de sódio (0,201 g, 8,36 mmol) a uma solução sob agitação de (S)-N-boc-3-piridinol (1,25 g, 6,69 mmol) em DMF (12 ml) sob atmosfera de N₂ a 0 °C e a reação foi deixada para aquecer à ta durante 20 minutos. Foi adicionado 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-yl)-1H-indazol (1,0 g, 3,34 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 1 hora. Foi adicionada água (1 ml) e a reação foi concentrada sob vácuo. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando 40% de acetato de etila em hexanos para produzir

(3S)-3-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-yl)-1H-indazol-4-il

)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (1,40 g, 3,00 mmol, 90% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 466,13 de C₂₁H₂₈BrN₃O₄ foi encontrado 466,1.

Preparo 6:

(3S)-3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila

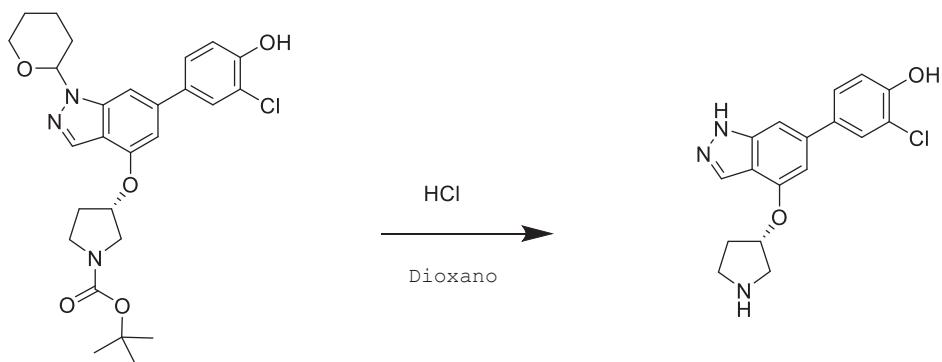


[00256] Acetato de paládio (0,135 g, 0,600 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido 3-cloro-4-hidroxifenilborônico (0,776 g, 4,50 mmol), (3S)-3-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (1,40 g, 3,00 mmol), 1,1'-bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno (0,285 g, 0,600 mmol) e fosfato de potássio (1,912 g, 9,01 mmol) em 1,4-dioxano (12 ml) e água (3,00 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (20 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com cloreto de metileno (3 x 20 ml). Os extractos de cloreto de metileno foram

combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob* vácuo para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando 50% de acetato de etila em hexanos para produzir (3S)-3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (1,35 g, 2,63 mmol, 87% de rendimento) como um líquido amarelo. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 514,20 de C₂₇H₃₂ClN₃O₅ foi encontrado 514,2.

Preparação 7:

(S)-2-cloro-4-(4-(pirrolidin-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol

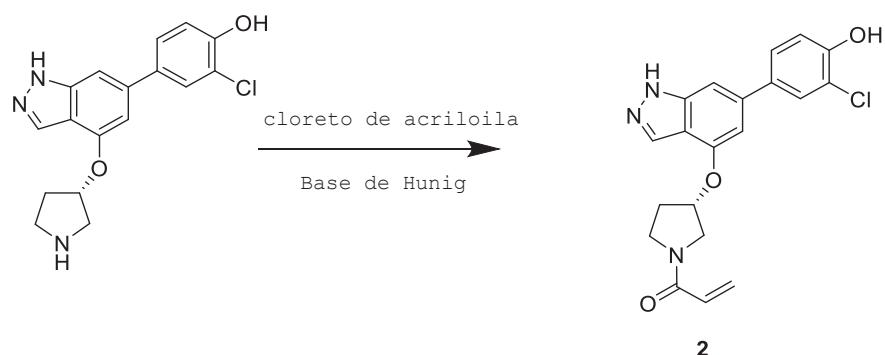


[00257] Foi adicionado HCl 4,0 N em dioxano (13,13 ml, 52,5 mmol) a uma solução de (3S)-3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (1,35 g, 2,63 mmol) em dioxano (6 ml) e a mistura reacional foi agitada a 60 °C durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob* vácuo para produzir (S)-2-cloro-4-(4-(pirrolidin-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol como um sal HCl (0,962 g, 2,63 mmol, 100% de rendimento).

(*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 330,09 de C₁₇H₁₆ClN₃O₂ foi encontrado 330,2.

Exemplo 2:

(S)-1-((3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

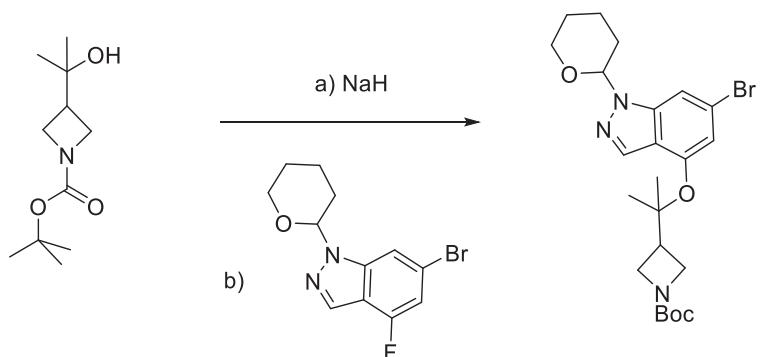


[00258] N,N-Di-isopropiletilamina (4,59 ml, 26,3 mmol) foi adicionada a uma solução de sal HCl de (S)-2-cloro-4-(4-(pirrolidin-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol (0,962 g, 2,63 mmol) em DMF (13,0 ml) a 0 °C, seguida por cloreto de acriloila (0,277 ml, 3,41 mmol). A mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e depois concentrada a um volume de cerca de 2 ml. O líquido bruto foi purificado por cromatografia por coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 20-80% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-1-((3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (344 mg, 0,691 mmol, 26,3% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 384,10 de C₂₀H₁₈ClN₃O₃ foi encontrado 384,1. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 13,03 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,74-7,67 (m, 1H), 7,57-7,49 (m, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,07 (d,

δ = 0,5 Hz, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,69 – 6,56 (m, 1H), 6,18–6,11 (m, 1H), 5,71–5,62 (m, 1H), 4,01–3,60 (m, 5H), 2,35–2,14 (m, 2H).

Preparo 8:

3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

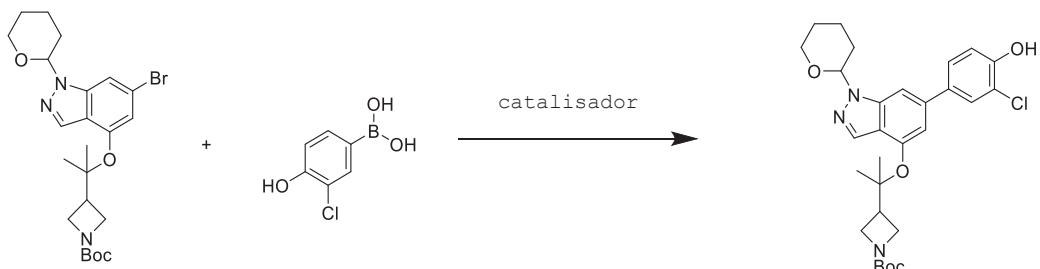


[00259] A um frasco de cintilação seco purgado com N², foi adicionado 3-(2-hidroxipropan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (374 mg, 1,74 mmol), dissolvido em 2,4 ml de DMF e a solução foi resfriada a 0 °C. Foi adicionado hidreto de sódio a 60% em peso em óleo mineral (134 mg, 3,34 mmol) lentamente à solução agitada e a reação foi deixada aquecer à ta após a adição. A reação espumosa foi agitada durante 30 minutos à ta antes de ser resfriada uma vez novamente a 0 °C. Uma solução de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (400 mg, 1,34 mmol) em 1 ml de DMF foi lentamente adicionada no frasco de cintilação que continha a solução de organossódio. Após a adição, a reação foi aquecida à ta e agitada durante 2 horas após a qual, a LCMS indicou a conversão total do material de partida ao produto desejado. A reação foi atenuada com a adição lenta de 1 ml de H₂O e

1 ml de EtOAc e deixada agitar durante 5 minutos. A solução bifásica foi então transferida para um funil de separação e foram adicionados 5 ml de H₂O adicionais. A mistura foi extraída 3 vezes com 10 ml de EtOAc e a camada aquosa foi descartada. As frações orgânicas combinadas foram então lavadas 3 x 10 ml de 1:1 H₂O:salmoura para remover DMF residual. A camada orgânica foi então seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a um óleo levemente amarelado. O óleo foi então purificado por cromatografia em coluna flash usando um gradiente de 0-40% de EtOAc:hexanos. O produto foi isolado puro como um óleo transparente, claro, viscoso (288 mg, 44% de rendimento).

Preparo 9:

3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

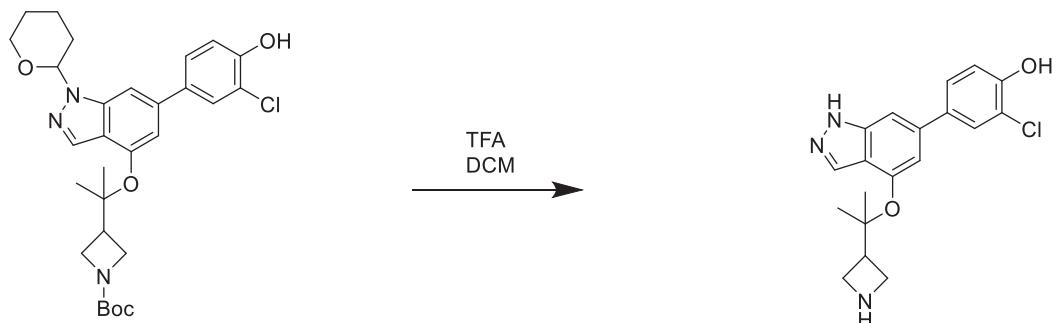


[00260] Uma mistura 1:1 de acetato de paládio (26,2 mg, 0,116 mmol) e 1,1'-Bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno (55,3 mg, 0,116 mmol) foi adicionada a uma solução de ácido 3-cloro-4-hidroxibenzenoborônico (151 mg, 0,874 mmol), 3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (288 mg, 0,582 mmol) e fosfato de potássio (371 mg,

1,747 mmol) em 1,4-dioxano (2,0 ml) e água (0,50 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (5 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 5 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados sob vácuo para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 40% em hexanos para produzir 3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (230 mg, 0,424 mmol, 73% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 542,24 de C₂₉H₃₆N₃O₅ foi encontrado 542,3.

Preparação 10:

4-((4-((2-azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1H-indazol-6-il)-2-clorofenol

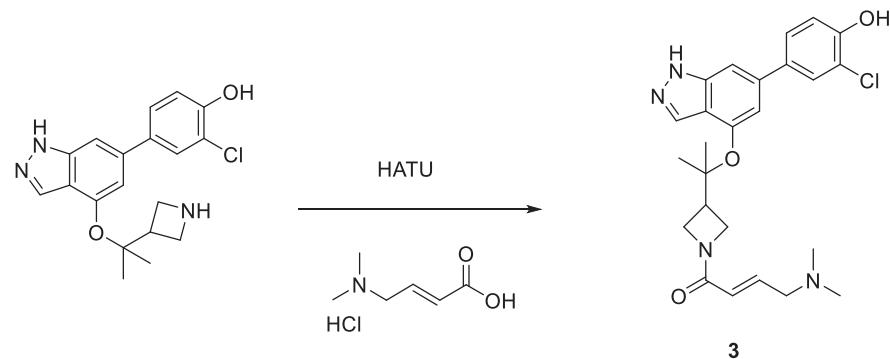


[00261] 3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (230 mg, 0.424 mmol) foi dissolvido em

diclorometano (1 ml) e TFA (1 ml) foi lentamente adicionado. A solução clara foi agitada à ta durante 5 horas, após a qual a LCMS indicou uma boa conversão para o produto desejado. A reação foi concentrada para fornecer 4-(4-((2-azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1-H-indazol-6-il)-2-clorofenol como um sal TFA (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 358,13 de C₁₉H₂₀N₃O₂ foi encontrado 358,1.

Exemplo 3A:

(E)-1-(3-((2-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona



[00262] HATU (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio, 100 mg, 0,263 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato do ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (34 mg, 0,263 mmol) em DMF (1 ml). A mistura reacional foi agitada à ta durante 5 minutos e depois foi adicionado o sal TFA de 4-(4-((2-azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1-H-indazol-6-il)-2-clorofenol (118 mg, 0,251 mmol), seguido por DIPEA (0,438 ml, 2,507 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 15 minutos e depois concentrada *sob vácuo* para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado

através de SFC (cromatografia em fluido supercrítico) usando metanol com dióxido de carbono líquido para produzir (E)-1-(3-(2-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona (41,3 mg, 0,084 mmol, 33% de rendimento). (*m/z*) : [M+H]⁺ calculado para 469,20 de C₂₅H₂₉ClN₄O₃ foi encontrado 469,2. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,07 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,62 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,47 (dd, *J* = 8,5, 2,3 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H), 6,63 – 6,53 (m, 1H), 6,39 (d, *J* = 15,3 Hz, 1H), 4,37 – 4,23 (m, 2H), 4,11 – 3,91 (m, 2H), 3,69 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,02 – 2,90 (m, 1H), 2,62 (s, 9H), 1,32 (s, 9H).

Exemplo 3B: Forma 1 cristalina

(E)-1-(3-(2-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona

[00263] A Forma 1 é uma forma cristalina livre anidro do composto 3.

[00264] Foram dissolvidos 80 mg do composto 3 como base livre amorfa em 0,5 ml de etanol. A mistura resultante foi agitada durante um dia à temperatura ambiente e produziu um precipitado. O sólido foi isolado por filtração, lavado com 1 ml de água e seco em condições ambientais durante algumas horas para fornecer a Forma 1.

[00265] Alternativamente, em um balão de fundo redondo de 50 ml, foi adicionado o composto 3 que tinha sido purificado por SiG (1,3 g, 2,77 mmol). Foram adicionados 10 ml de acetona e a mistura foi agitada durante a noite. Foram adicionados grãos da Forma 1 cristalina base livre. Uma

pasta branca espessa surgiu ao longo do tempo. A filtração e secagem produziram 1 g da Forma 1 cristalina base livre com pureza > 98%.

Exemplo 3B: Forma 2 cristalina

(E)-1-((3-((2-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidin-1-il)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona

[00266] A Forma 2 é uma forma cristalina hidrato base livre do composto 3.

[00267] Foram suspensos 55 mg da base livre amorfa do composto 3 em 0,25 ml de metanol. Neste estágio, foi adicionada água como antissolvente numa proporção de cerca de 1:2 metanol:água. A mistura resultante foi sonicada durante vários minutos à temperatura ambiente para produzir um precipitado. A suspensão resultante foi agitada durante 1 dia à temperatura ambiente, filtrada, lavada com 1 ml de metanol e seca para fornecer a Forma 2.

[00268] Alternativamente, o composto 3 foi dissolvido em etanol e água ou metanol e água pela dissolução completa em 10 volumes de álcool seguida pela adição lenta de cerca de 8 a 10 volumes de água até o ponto de névoa. Os grãos da Forma 2 foram adicionados para formar lentamente uma pasta fluida com o tempo. Mais água foi adicionada lentamente (cerca de 10 volumes) e sólido resultante foi filtrado e seco para obter a Forma 2.

Exemplo 3C: Caracterização da Forma 1

[00269] Amostras da Forma 1 foram analisadas por difração de raios X em pó (PXRD), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA) e sorção dinâmica de umidade (DMS).

Difração por raios X do pó

[00270] O padrão de difração por raios X do pó da Forma 1 é apresentado na Figura 1.

[00271] As posições de pico de dois teta PXRD e espaçamentos em d observados são apresentados a seguir.

2-Teta	d (Å)	Área	A%
5,65	15,63	343682	100,0
7,12	12,40	17888	5,2
10,02	8,82	13064	3,8
11,16	7,92	60848	17,7
13,10	6,75	13327	3,9
14,22	6,22	343837	100,0
14,82	5,97	158470	46,1
15,16	5,84	338146	98,3
16,55	5,35	84525	24,6
17,06	5,19	188182	54,7
19,31	4,59	251362	73,1
20,08	4,42	57430	16,7
21,08	4,21	29843	8,7
21,65	4,10	45528	13,2
22,51	3,95	88807	25,8
22,98	3,87	75161	21,9
24,43	3,64	95427	27,8
25,02	3,56	74549	21,7
25,72	3,46	24251	7,1
26,80	3,32	23046	6,7
27,06	3,29	26069	7,6
28,31	3,15	10766	3,1

30,08	2,97	45168	13,1
30,31	2,95	38502	11,2
32,08	2,79	22050	6,4

Análise térmica

[00272] A Figura 2 mostra um termograma DSC representativo para a Forma 1 cristalina livre da invenção. O traço da calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe um pico no fluxo de calor endotérmico, identificada como transição de fusão, com um início em cerca de 154,9 °C e um pico em cerca de 162,9 °C. O derretimento foi imediatamente seguido pela decomposição.

[00273] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a um pico de temperatura de cerca de 162,9 °C. A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a um pico de temperatura de cerca de 162,9±3 °C.

[00274] A forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre cerca de 154,9 °C e cerca de 171 °C.

[00275] A Figura 3 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 1 cristalina livre. O traço de análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 3 mostra uma pequena

perda de peso de cerca de 0,14% a 100 °C. O composto se decompõe a uma temperatura inicial de cerca de 175 °C.

Avaliação da sorção dinâmica de umidade

[00276] A Figura 4 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 1 cristalina livre.

[00277] A Forma 1 demonstrou cerca de 1,62% de ganho de peso na faixa de umidade de 5% a 90% de umidade relativa. A Forma 1 é considerada como sendo ligeiramente higroscópica.

Exemplo 3D: Caracterização da Forma 2

[00278] Amostras da Forma 2 foram analisadas por difração de raios X em pó (PXRD), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA) e sorção dinâmica de umidade (DMS).

Difração por raios X do pó

[00279] O padrão de difração por raios X do pó da Forma 2 é apresentado na Figura 5.

[00280] As posições de pico de dois teta PXRD e espaçamentos em *d* observados são apresentados a seguir.

2-Teta	d (Å)	Área	A%
6, 90	12, 80	248788	52, 1
9, 15	9, 66	73363	15, 4
10, 00	8, 84	92849	19, 4
11, 18	7, 91	42354	8, 9
12, 76	6, 93	34590	7, 2
13, 33	6, 64	33198	6, 9
13, 82	6, 40	75603	15, 8

14,43	6,13	20656	4,3
15,51	5,71	93338	19,5
16,04	5,52	19890	4,2
17,00	5,21	58922	12,3
17,90	4,95	339924	71,1
18,31	4,84	477815	100,0
20,90	4,25	169039	35,4
22,06	4,03	68934	14,4
22,51	3,95	110745	23,2
25,00	3,56	23916	5,0
26,92	3,31	52661	11,0
27,26	3,27	63506	13,3
27,61	3,23	22650	4,7
29,37	3,04	15298	3,2
30,53	2,93	24930	5,2
30,92	2,89	22089	4,6

Análise térmica

[00281] A Figura 6 mostra um termograma de DSC representativo para a Forma 2 cristalina livre. O traço de calorimetria exploratória diferencial (DSC) registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto exibe uma endotermia de dessolvação com início em torno de 52,7 °C e um pico em cerca de 84,4 °C, e uma endotermia de fusão com início em cerca de 160,0 °C e um pico em cerca de 167,6° C. A fusão foi seguida imediatamente pela decomposição.

[00282] A Figura 7 mostra um traço significativo de TGA para a Forma 2 cristalina livre da invenção. A análise gravimétrica térmica (TGA) da Figura 7 mostra uma perda de

peso de cerca de 6,73% a 75 °C. O composto dessolva a uma temperatura de inicio de cerca de 25 °C. O composto decompõe-se a uma temperatura inicial de cerca de 185° C.

Avaliação da sorção dinâmica de umidade

[00283] A Figura 8 mostra um traço significativo de DMS para a Forma 2 cristalina livre da invenção. A Forma 2 é convertida a um hidrato (Forma 2b) a UR acima de 65%. A desidratação ocorre em UR abaixo de 15%. A absorção total de umidade entre 5% a 90% a UR é de 7,99%.

Exemplo 3E: Caracterização da Forma 2b

[00284] Amostras da Forma 2b foram analisadas por difração de raios X do pó (PXRD).

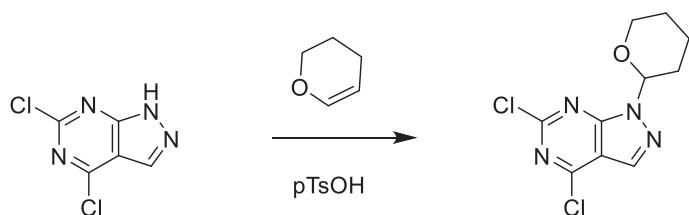
Difração por raios X do pó

[00285] O padrão de difração por raios X do pó da Forma 2b é apresentado na Figura 17.

[00286] As posições de pico de dois teta PXRD e espaçamentos em *d* observados são apresentados a seguir.

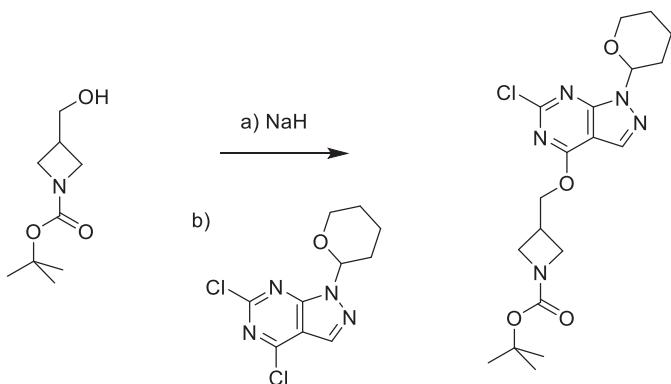
2-Teta	d (Å)	Área	A%
7,61	11,60	182433	39,1
10,33	8,56	128795	27,6
11,25	7,86	13807	3
12,71	6,96	102263	21,9
13,23	6,69	34318	7,4
13,66	6,48	86861	18,6
13,90	6,37	60997	13,1
15,02	5,89	53064	11,4
15,27	5,80	166039	35,6

15, 88	5, 58	163970	35, 2
16, 33	5, 42	87102	18, 7
16, 76	5, 29	364312	78, 2
17, 90	4, 95	346920	74, 4
18, 26	4, 85	105152	22, 6
20, 67	4, 29	465993	100
21, 37	4, 16	104882	22, 5
21, 92	4, 05	69905	15
22, 31	3, 98	133265	28, 6
22, 90	3, 88	42178	9, 1
23, 22	3, 83	20810	4, 5
23, 61	3, 76	39278	8, 4
24, 74	3, 60	160353	34, 4
25, 78	3, 45	67865	14, 6
26, 23	3, 40	30059	6, 5
26, 73	3, 33	120802	25, 9
27, 57	3, 23	17553	3, 8
29, 10	3, 07	75111	16, 1
29, 39	3, 04	97911	21
30, 72	2, 91	66141	14, 2
30, 94	2, 89	71606	15, 4
31, 69	2, 82	14912	3, 2
32, 06	2, 79	33582	7, 2
33, 76	2, 65	16247	3, 5
34, 35	2, 61	18479	4

Preparação 11:**4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina**

[00287] 4,6-dicloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (2,50 g, 13,23 mmol) foi adicionado a um balão e dissolvido em 1,4-dioxano (52,9 ml). Foi então adicionado ácido p-toluenossulfônico monohidrato (pTsOH, 0,25 g, 1,32 mmol) à solução límpida, amarela seguido por 3,4-di-idro-2h-piran (1,8 ml, 19,84 mmol) e a reação foi aquecida a 40 °C e agitada durante a noite. A mistura resultante foi então resfriada e concentrada *sob vácuo*. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash, usando um gradiente de 0-100% EtOAc:hexanos para produzir 4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (2,6 g, 9,52 mmol, 72,0% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 274,0 de C₁₀H₁₀Cl₂N₄O foi encontrado 188,9 (perda do fragmento THP).

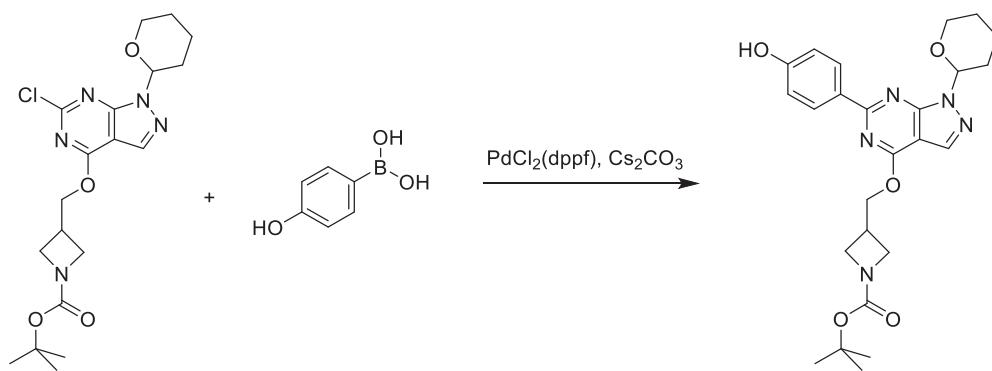
Preparo 12:**3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila**



[00288] A um balão de fundo redondo seco, foi adicionado 1-boc-azetidina-3-il-metanol (1,96 g, 10,47 mmol) e dissolvido em DMF (20,0 ml). A solução agitada foi resfriada a 0 °C e hidreto de sódio (0,762 g, 19,04 mmol) foi então adicionado. A reação foi aquecida à temperatura ambiente e agitada durante 30 minutos, resultando numa mistura espumosa rosa pálido. A mistura foi resfriada a 0 °C e uma solução de 4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pyrimidina (2,6 g, 9,52 mmol) em DMF (10 ml) foi adicionada via cânula. A reação foi aquecida à temperatura ambiente e agitada durante 3 horas. A reação foi então extinta com 120 ml de H₂O e extraída 3 vezes com 30 ml de EtOAc. A solução orgânica foi então lavada 3 vezes com 100 ml de solução de salmoura:H₂O (1:1). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a um óleo amarelo pálido. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando gradiente 0-50% de acetato de etila:hexanos para produzir 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pyrimidin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,95 g, 4,60 mmol, 48% de rendimento).

Preparo 13:

3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

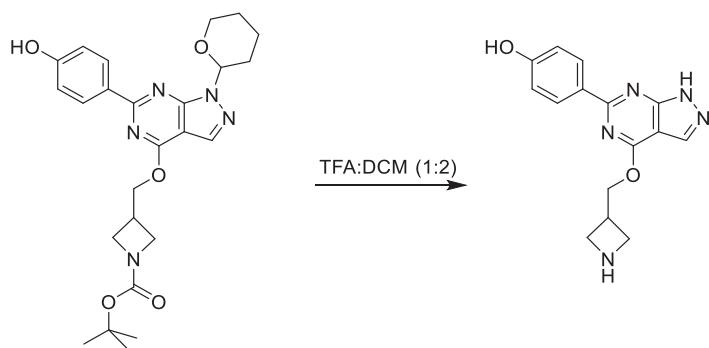


[00289] Em um balão de fundo redondo, foi dissolvido 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,95 g, 4,60 mmol) em 1,4-dioxano (23,0 ml). Foi adicionado ácido 4-hidroxifenilborônico (0,95 g, 6,90 mmol) seguido de água (7,7 ml). Foi adicionado dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio (0,56 g, 0,69 mmol) e o balão foi equipado com um condensador de refluxo, ajustado sob nitrogênio, aquecido a 110 °C e agitado durante a noite. A reação foi então resfriada à temperatura ambiente e o solvente orgânico foi removido sob vácuo. Foi adicionada H₂O (20 ml) ao resíduo e foi extraído três vezes com DCM (30 ml). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada em um óleo preto. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando gradiente 0-100% de acetato de etila:hexanos para produzir

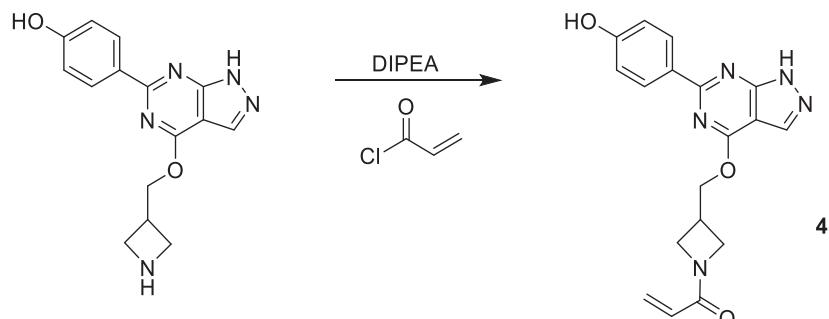
3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,03 g, 4,22 mmol, 92% de rendimento).
(m/z): [M+H]⁺ calculado para 482,2 de C₂₅H₃₁N₅O₅ foi encontrado 482,2.

Preparação 14:

4-(4-(azetidin-3-ilmethoxi)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-6-il)fenol

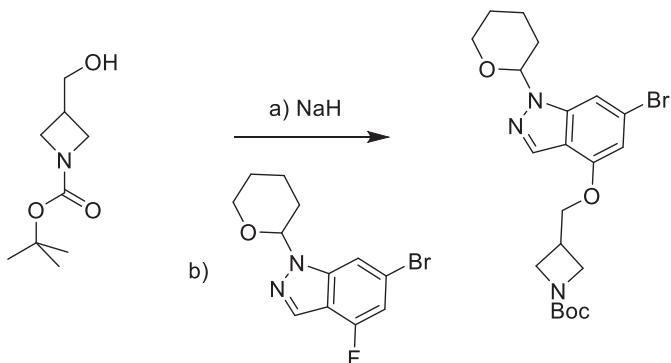


[00290] Em um balão de fundo redondo, 3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,03 g, 4,22 mmol) foi dissolvido em DCM (10,0 ml) e TFA (5,0 ml) foi lentamente adicionado à temperatura ambiente. A reação foi agitada durante 18 horas para produzir uma solução laranja/púrpura. A reação foi concentrada sob vácuo para produzir um sólido cinzento/alaranjado. O título composto foi isolado como o sal TFA em 100% de rendimento (1,25 g, 4,22 mmol). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 298,1 de C₁₅H₁₅N₅O₂ foi encontrado 298,3.

Exemplo 4:**1-((3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metyl)azetidin-1-il)prop-2-en-1-ona**

[00291] Em um balão de fundo redondo, ácido

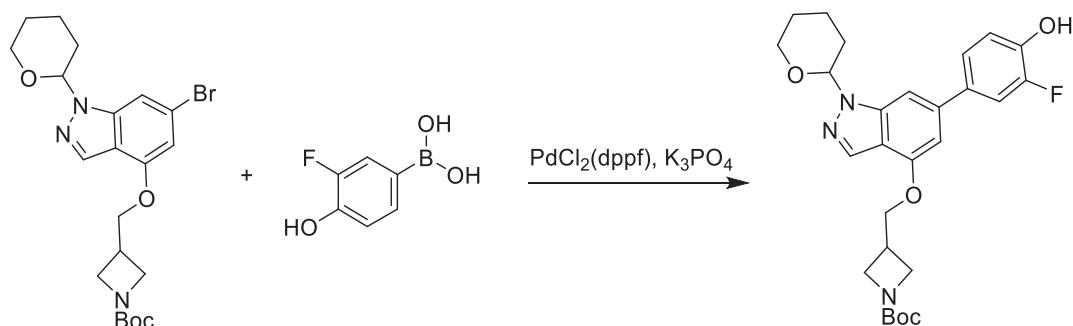
4-(4-(azetidin-3-ilmethoxi)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-6-il)fenol trifluoroacético (1,25 g, 4,20 mmol) foi dissolvido em DMF (21,0 ml) e di-isopropiletilamina (3,67 ml, 21,0 mmol) foi adicionado. A reação foi resfriada a 0 °C e agitada durante 5 minutos antes da lenta adição de cloreto de acriloila (0,273 ml, 3,36 mmol) e então agitada durante 15 minutos a 0 °C. A reação foi aquecida à temperatura ambiente e concentrada *sob vácuo*. O material bruto foi dissolvido em 1:1 MeCN:H₂O e purificado por HPLC/CLAE preparatória em fase reversa usando um gradiente 20-80% de MeCN:H₂O. As frações desejadas foram combinadas e liofilizadas para obter o título composto (434 mg, 1,235 mmol, 29% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 352,1 de C₁₈H₁₇N₅O₃ foi encontrado 352,2. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,32 – 8,23 (d appt, 2H), 8,07 (s, 1H), 6,89 – 6,81 (d appt, 2H), 6,30 (dd, *J* = 17,0, 10,3 Hz, 1H), 6,07 (dd, *J* = 17,0, 2,3 Hz, 1H), 5,63 (dd, *J* = 10,3, 2,3 Hz, 1H), 4,81 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H), 4,36 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,12 (dd, *J* = 8,6, 5,4 Hz, 1H), 4,06 (t, 1H), 3,82 (dd, *J* = 10,2, 5,5 Hz, 1H), 3,24 – 3,10 (m, 1H).

Preparo 15:**3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila**

[00292] 1-Boc-azetidina-3-il-metanol (3,44 g, 18,39 mmol) foi adicionado a um balão seco em forno e dissolvido em DMF (41,8 ml). A solução foi resfriada a 0 °C e agitada durante 10 minutos antes da adição de hidreto de sódio (0,50 g, 20,89 mmol). A mistura espumosa foi aquecida à temperatura ambiente e agitada durante 30 minutos. A reação foi então resfriada a 0 °C e uma solução de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-indazol (2,5 g, 8,36 mmol) em DMF (10 ml) foi adicionada via cânula. A reação foi aquecida à temperatura ambiente e agitada durante 1,5 horas. A reação foi atenuada pela adição de 120 ml de H₂O e extraída 3 vezes com 50 ml de EtOAc. A fase orgânica foi combinada e lavada 3 vezes com 100 ml de solução de salmoura:H₂O (1:1). A fase orgânica foi então recolhida e seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a um óleo amarelo claro (3,9 g, 8,36 mmol). O produto bruto foi usado sem qualquer outro tipo de purificação. (m/z): [M+H]⁺ calculado para 466,14 de C₂₁H₂₈BrN₃O₄ foi encontrado 466,1.

Preparo 16:

3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila



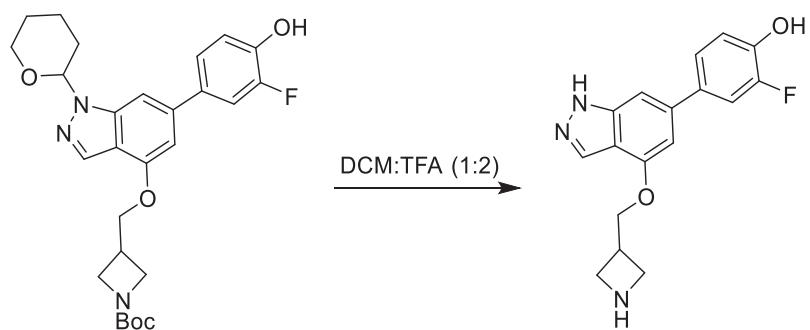
[00293] Em um balão foi adicionado

3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (3,9 g, 8,36 mmol) e dissolvido em 1,4-dioxano (44,6 ml). Foi adicionado ácido 3-fluoro-4-hidroxifenilborônico (1,96 g, 12,54 mmol) seguido de água (11,2 ml) e fosfato de potássio, tribásico (5,33 g, 25,09 mmol). Foi adicionado dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio (1,02 g, 1,25 mmol) e o balão foi equipado com um condensador de refluxo e colocado sob atmosfera de nitrogênio. A reação foi aquecida a 110 °C e agitada durante 18 horas. Uma vez resfriado à temperatura ambiente, o solvente orgânico foi removido sob vácuo para produzir um óleo preto. Ao óleo, foram adicionados 10 ml de H₂O e a solução foi extraída 3 vezes com 40 ml de DCM. A camada orgânica foi coletada e seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a um óleo preto. O óleo foi purificado por cromatografia em coluna flash usando

gradiente 0-100% de EtOAc:Hex para produzir 3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,58 g, 5,19 mmol, 62% de rendimento), como um óleo claro. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 498,2 de C₂₇H₃₂FN₃O₅ foi encontrado 498,2.

Preparação 17:

4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)-2-fluorofenol

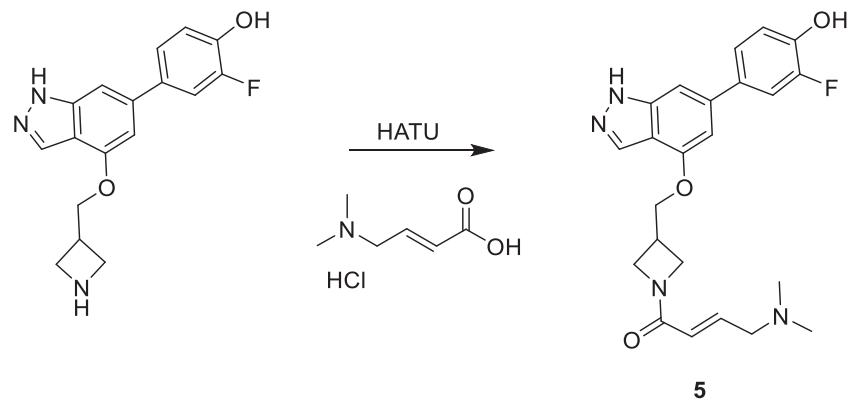


[00294] Em um balão de fundo redondo de 50 ml, 3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,58 g, 5,19 mmol) foi dissolvido em DCM (10,0 ml). TFA (5,00 ml) foi adicionado lentamente à solução amarela clara à temperatura ambiente. A reação foi agitada durante 24 horas e a solução púrpura/amarelo escuro resultante foi concentrada *sob vácuo* para obter o sal de TFA de

4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)-2-fluorofenol (3,46 g) como um sólido cinzento/amarelo (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 314,1 de C₁₇H₁₆FN₃O₂ foi encontrado 314,2.

Exemplo 5:

(E)-4-(dimetilamino)-1-(3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)but-2-en-1-ona

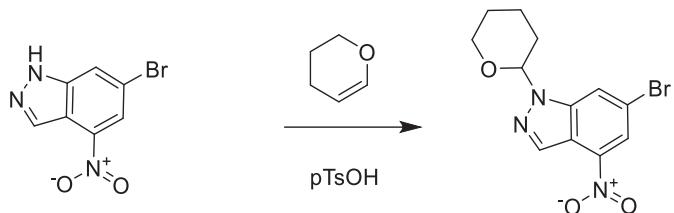


[00295] Ácido (2E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (464 mg, 2,80 mmol) e HATU (976 mg, 2,57 mmol) foram adicionados a um balão de fundo redondo, dissolvidos em DMF (5,5 ml) e agitados durante 15 minutos. Uma solução de 4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)-2-fluorofenol (1,0 g, 2,34 mmol) em DMF (5,5 ml) foi então lentamente adicionada à reação de agitação seguida de di-isopropiletilamina (2,0 ml, 11,70 mmol). A reação foi agitada durante 24 horas e depois foi concentrada sob vácuo. O material bruto foi dissolvido em 1:1 MeCN:H₂O e purificado por HPLC/CLAE preparatória em fase reversa usando um gradiente 20-80% de MeCN:H₂O. As frações desejadas foram combinadas e liofilizadas para fornecer o sal TFA do título composto (271 mg, 0,50 mmol, 21% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 425,2 de C₂₃H₂₅FN₄O₃ foi encontrado 425,2. RMN ¹H (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ 7,94 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 7,39 (dd, *J* = 12,5, 2,2 Hz, 1H), 7,35 – 7,28 (m, 1H), 7,24 (t, *J* = 1,0 Hz, 1H), 7,03 – 6,93 (m, 1H), 6,80 – 6,68 (m, 2H), 6,53 (dt, *J* = 15,2, 1,1 Hz, 1H), 4,53 (t, *J* = 8,7 Hz,

1H), 4,47 – 4,34 (m, 2H), 4,35 – 4,22 (m, 2H), 4,09 (dd, J = 10,8, 5,6 Hz, 1H), 3,93 (dd, J = 7,2, 1,1 Hz, 2H), 3,27 – 3,19 (m, 1H), 2,88 (s, 6H).

Preparação 18:

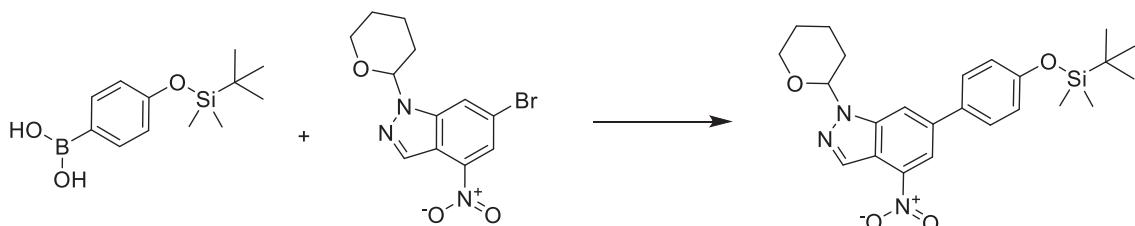
6-bromo-4-nitro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol



[00296] Uma mistura de 6-bromo-4-nitro-1H-indazol (3,00 g, 12,4 mmol), 3,4-di-idro-2H-piran, 97% (3,40 ml, 37,2 mmol) e ácido p-toluenossulfônico monoidrato (pTsOH, 0,236 g, 1,24 mmol) em DCM (41,3 ml) foi agitada à TA durante a noite. A reação foi filtrada através de um bloco de celite e concentrada. A reação foi considerada como sendo 100% de conversão (4,05 g) e foi levada para a reação subsequente sem outra purificação.

Preparação 19:

6-(4-((terc-butildimethylsilyl)oxi)fenil)-4-nitro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol



[00297] Uma mistura de

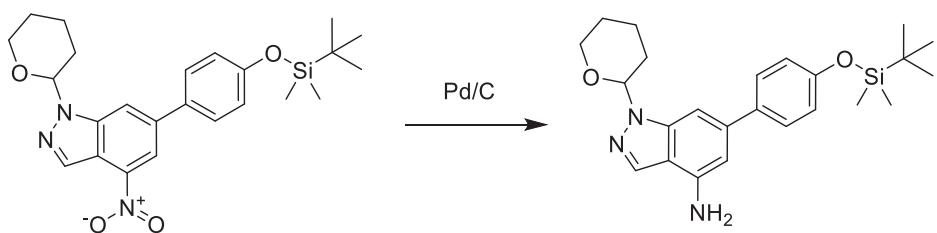
6-(4-((tert-butyldimethylsilyl)oxi)fenil)-4-nitro-1-(tetraidro-

o-2H-piran-2-il)-1H-indazol (1,00 g, 3,07 mmol), ácido 4-(terc-butildimetilsililoxi)fenilborônico (1,16 g, 4,60 mmol) e fosfato de potássio tribásico (1,30 g, 6,13 mmol) em dioxano (14,9 ml) e H₂O (4,98 ml) foi purgado com N₂ durante 10 minutos.

[1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]dicloropaládio(II) (0,224 g, 0,307 mmol) foi então adicionado, após o qual o balão foi selado. A reação foi aquecida a 110 °C e agitada durante 1 hora. Após a conversão total confirmada para o produto desejado via LCMS, a reação foi extinguida com 20 ml de H₂O e 20 ml de EtOAc. Ambas camadas foram filtradas através de um bloco de celite e transferidas para um funil de separação. A mistura foi extraída 3 vezes com 20 ml de EtOAc e a camada aquosa foi descartada. As frações orgânicas combinadas foram concentradas e posteriormente purificadas por cromatografia em coluna flash usando um gradiente 0-10% de EtOAc:hexanos. O produto foi isolado puro como um óleo amarelo (1,03 g, 74,4% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 454,61 de C₂₄H₃₁N₃O₄ foi encontrado 454,3.

Preparação 20:

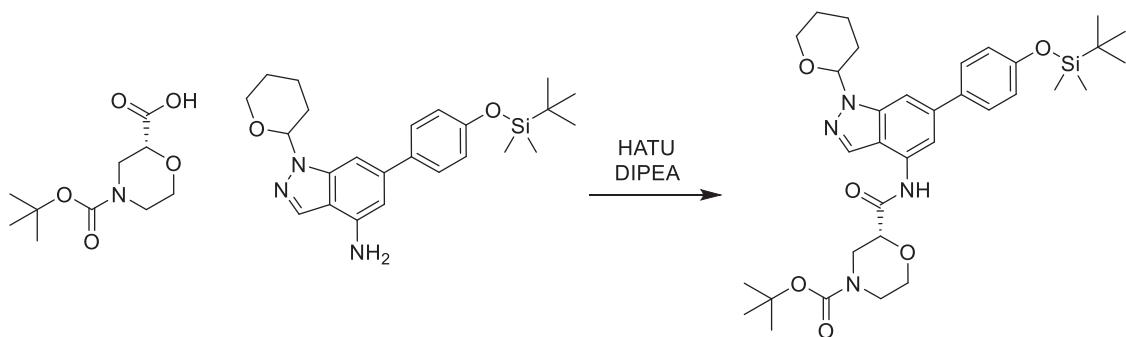
6-((4-((terc-butildimetilsilil)oxi)fenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-amina



[00298] 6-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)fenil)-4-nitro-1-(tetraido-2H-piran-2-il)-1H-indazol (0,980 g, 2,16 mmol) e paládio 10% em peso em carbono (úmido) (0,980 g) foram dissolvidos em THF (2,8 ml) e álcool isopropílico (11,2 ml). O vaso de reação foi enchido com N₂ durante 5 minutos, após os quais foi selado e colocado sob atmosfera de hidrogênio. A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 3 horas. Após a LCMS indicar a conversão total para o produto desejado, a mistura reacional foi filtrada. O filtro foi então lavado com THF adicional. Após a concentração e purificação por cromatografia em coluna flash (40 g) usando um gradiente de 0-25% de EtOAC:hexanos, o produto foi isolado (0,562 g, 61,5% de rendimento). (m/z) : [M+H]⁺ calculado para 424,63 de C₂₄H₃₃N₃O₂ foi encontrado 424,4.

Preparo 21:

(2R)-2-((6-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)fenil)-1-(tetraido-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)carbamoil)morfolina-4-carboxilato de terc-butila

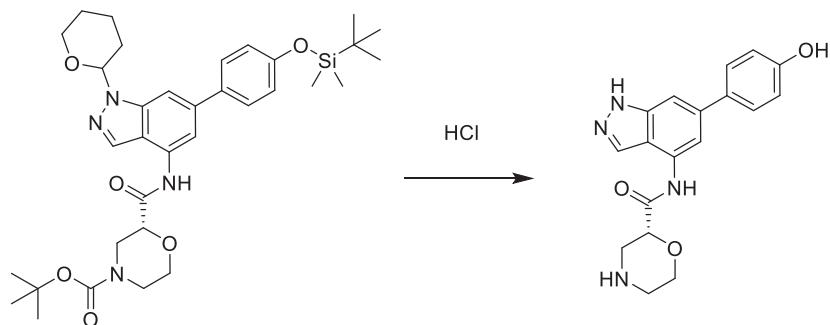


[00299] Ácido (R)-N-boc-2-morfolinacarboxílico (0,819 g, 3,54 mmol) e hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metíleno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridíni 3-óxido (HATU, 2,69 g, 7,08 mmol) foram dissolvidos em DMF (11,8 ml) e deixados sob agitação à temperatura ambiente durante 5 minutos.

6-(4-((terc-butildimethylsilyl)oxi)fenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-amina (1,00 g, 2,36 mmol) foi então adicionado e a mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 2 horas. LCMS indicou a conversão total para o produto desejado. A reação foi atenuada com 10 ml de H₂O e 10 ml de DCM. Após a transferência para um funil de separação, a mistura foi extraída três vezes com 10 ml de DCM e a camada aquosa foi descartada. As frações orgânicas combinadas foram concentradas e posteriormente purificadas por cromatografia em coluna flash (40g) usando um gradiente 0-45% de EtOAc:hexanos. Os produtos foram isolados como um óleo amarelo pálido (1,01 g, 67% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 637,87 de C₃₄H₄₈N₄O₆ foi encontrado 637,6.

Preparação 22:

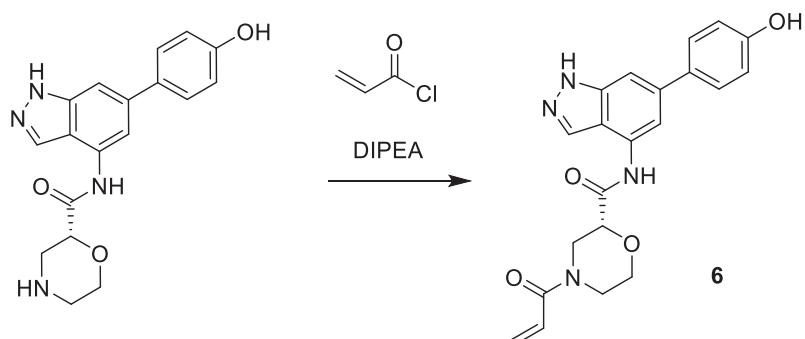
(R)-N-(6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)morfolina-2-carboxamida



[00300] (2R)-2-((6-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)fenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)carbamoil)morfolina-4-carboxilato de terc-butila (1,00 g, 1,58 mmol) foi dissolvido em MeOH (2,0 ml). Durante a agitação, uma solução de HCl em dioxano 4,0M (12,1 ml, 48,5 mmol) foi adicionada lentamente. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C e agitada durante 30 minutos, após os quais a LCMS indicou a conversão total para o produto desejado. A mistura foi concentrada para obter o produto como um óleo alaranjado. A reação foi considerada como sendo 100% de conversão (0,533 g) e foi levada para a reação subsequente sem outra purificação.

Exemplo 6:

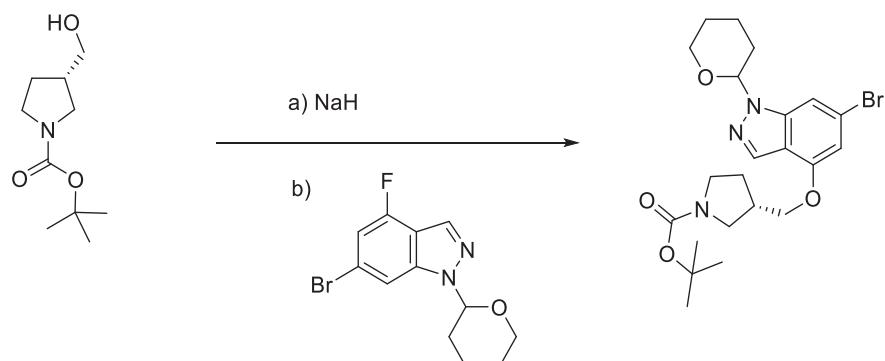
(R)-4-acriloil-N-(6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)morfolina-2-carboxamida



[00301] (R)-N-(6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)morfolina-2-carboxamida (0,533 g, 1,58 mmol) foi dissolvida em DMF (7,9 ml). N,N-diisopropiletilamina (DIPEA, 2,75 ml, 15,8 mmol) foi adicionada, seguida pela adição lenta de cloreto de acriloila (0,0900 ml, 1,10 mmol). A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 10 minutos antes da conversão ser monitorizada pela LCMS. Após a conversão total ser indicada via LCMS, a mistura reacional foi concentrada e purificada via HPLC preparativa em fase reversa usando um gradiente 10-50% de ACN:H₂O. As frações do produto desejado foram coletadas e concentradas via liofilização. O produto foi isolado (130 mg, 21% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 393,42 de C₂₁H₂₀N₄O₄ foi encontrado 393,4. RMN ¹H (400 MHz, Metanol-*d*₄) δ 8,13 (s, 1H), 7,74 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 7,51 (s, 1H), 6,91 (dd, *J* = 8,7, 2,9 Hz, 3H), 6,30 (dt, *J* = 16,8, 2,3 Hz, 1H), 5,84 (d, *J* = 10,6 Hz, 1H), 4,45 – 4,25 (m, 2H), 4,21 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,12-4,02 (m, 1H), 3,78 (t, *J* = 11,5 Hz, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,29 – 2,99 (m, 1H).

Preparo 23:

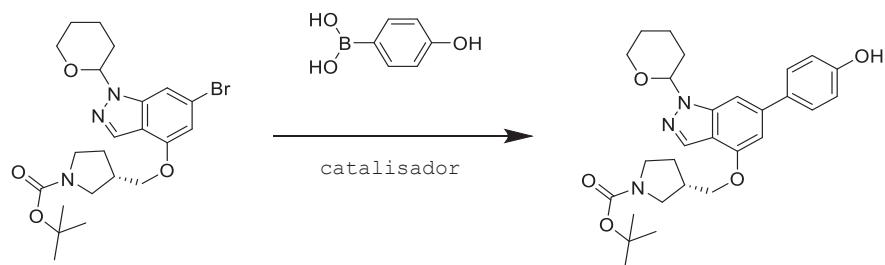
(3S)-3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila



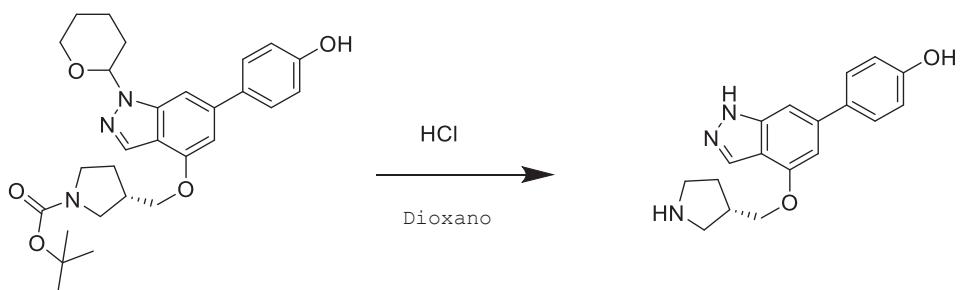
[00302] Foi adicionado hidreto de sódio (0,072 g, 3,01 mmol) a uma solução de (Ss)-N-boc-pirrolidina-3-metanol (0,444 g, 2,21 mmol) em DMF (6 ml) sob atmosfera de N₂ a 0 °C e a reação foi deixada para aquecer à ta durante 20 minutos. Foi adicionado 6-bromo-4-fluoro-1-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)-1H-indazol (0,600 g, 2,01 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 1 hora. Foi adicionada água (1 ml) e a reação foi concentrada *sob vácuo*. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 40% em hexanos para produzir (3S)-3-(((6-bromo-1-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (0,964 g, 1,87 mmol, 93% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 480,15 de C₂₂H₃₀BrN₃O₄ foi encontrado 480,1.

Preparo 24:

(3S)-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila



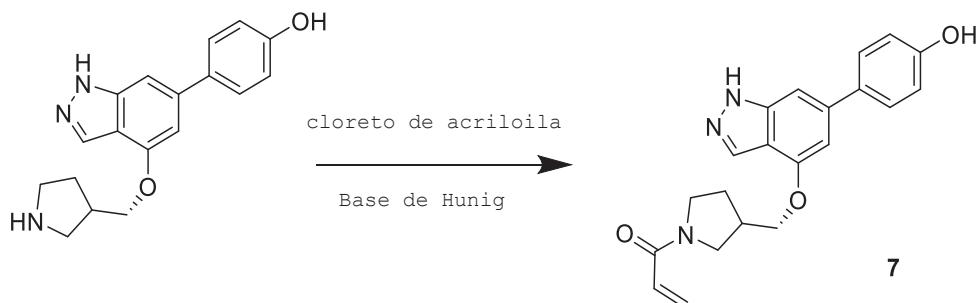
[00303] Acetato de paládio (0,084 g, 0,375 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido 4-hidroxifenilborônico (0,388 g, 2,81 mmol), (3S)-3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (0,900 g, 1,87 mmol) 1,1'-bis(di-t-butilfosfino)ferroceno (0,178 g, 0,375 mmol) e fosfato de potássio (1,193 g, 5,62 mmol) em 1,4-dioxano (12 ml) e água (3,00 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (10 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com cloreto de metíleno (3 x 10 ml). Os extractos de cloreto de metíleno foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 50% em hexanos para produzir (3S)-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (0,800 g, 1,62 mmol, 87% de rendimento), como um líquido amarelo claro. (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 494,27 de C₂₈H₃₅N₃O₅ foi encontrado 494,2.

Preparação 25:**(S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)fenol**

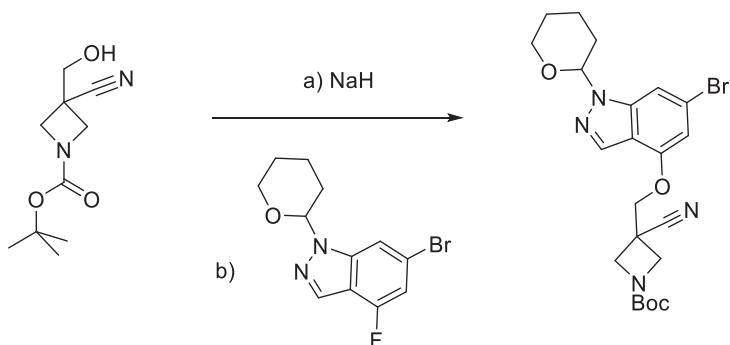
[00304] HCl 4,0 N em dioxano (8,10 ml, 32,4 mmol) foi lentamente adicionado a uma solução de (3S)-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (0,800 g, 1,62 mmol) em dioxano (6 ml) e a mistura reacional foi agitada a 60 °C durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* para produzir ((S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilmetoxi)-1H-indazol-6-il)fenol como um sal HCl (0,501 g, 1,62 mmol, 100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 310,16 de C₁₈H₁₉N₃O₂ foi encontrado 310,3.

Exemplo 7:

(S)-1-((3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona



[00305] N,N-Di-isopropiletilamina (2,83 ml, 16,2 mmol) foi adicionada a uma solução de sal HCl de (S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilmethoxi)-1H-indazol-6-il)fenol (0,560 g, 1,62 mmol) em DMF (5 ml) a 0 °C, seguida por cloreto de acriloila (0,171 ml, 2,11 mmol). A mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e depois concentrada a um volume de cerca de 2 ml. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 30-90% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-1-((3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal HCl (226 mg, 0,473 mmol, 29,2% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 364,17 de C₂₁H₂₁N₃O₃ foi encontrado 364,2. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d6) δ 13,00 (s, 1H), 10,31 (s, 1H), 8,04-7,94 (m, 1H), 7,59-7,48 (m, 1H), 7,18 (s, 1H), 6,89-6,79 (m, 1H), 6,76-6,70 (m, 1H), 6,65-6,54 (m, 1H), 6,13 (dd, *J* = 16,6, 1,7 Hz, 1H), 5,69-5,62 (m, 1H), 4,25-3,78 (m, 4H), 3,76-3,28 (m, 2H), 2,88-2,63 (m, 1H), 2,22-1,72 (m, 2H).

Preparo 26:**3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila**

[00306] A um frasco de cintilação seco purgado com N₂, foi adicionado o carboxilato de terc-butil 3-ciano-3-(hidroximetil)azetidina-1 (851 mg, 4,01 mmol), dissolvido em 5 ml de DMF e a solução foi resfriada a 0 °C. Hidreto de sódio a 60% em peso em óleo mineral (267 mg, 6,69 mmol) foi adicionado lentamente à solução agitada e a reação foi deixada aquecer a ta após a adição. A reação espumosa foi agitada durante 30 minutos antes de ser resfriada novamente a 0 °C. Uma solução de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (800 mg, 2,67 mmol) em 2 ml de DMF foi lentamente adicionada ao frasco de cintilação contendo a solução de organossódio. Após a adição, a reação foi aquecida à ta e agitada durante 2 horas após a qual, a LCMS indicou a conversão total do material de partida ao produto desejado. A reação foi atenuada com a adição lenta de 2 ml de H₂O e 2 ml de EtOAc e deixada agitar durante 5 minutos. A solução bifásica foi então transferida para um funil de separação e foram adicionados 10 ml de H₂O adicionais. A mistura foi extraída com 3 vezes de 20 ml de EtOAc e a camada aquosa foi descartada. As frações orgânicas combinadas foram então

lavadas 3 x 10 ml de 1:1 H₂O:salmoura para remover DMF residual. A camada orgânica foi então seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a um óleo levemente amarelado. O óleo foi então purificado por cromatografia em coluna flash usando um gradiente de 0-40% de EtOAc:hexanos. O produto foi isolado puro como um óleo transparente, claro, viscoso (1,096 g, 83% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 491,13 de C₂₂H₂₇BrN₄O₄ foi encontrado 491,1.

Preparo 27:

3-ciano-3-((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

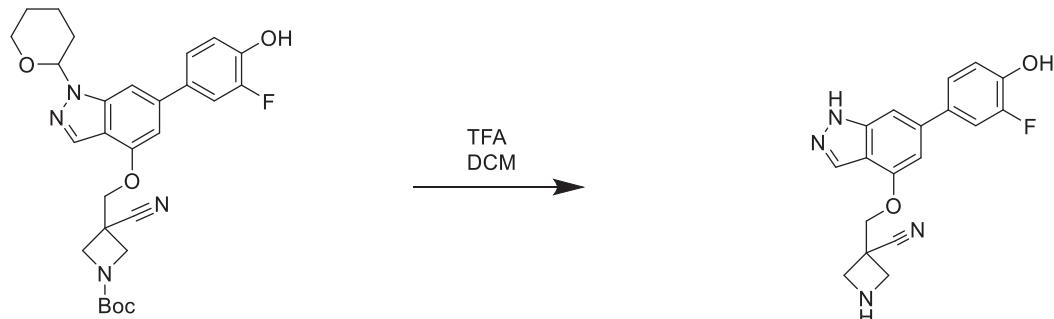


[00307] Uma mistura 1:1 de acetato de paládio (25,1 mg, 0,112 mmol) e 1,1'-Bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno 98% (53,1 mg, 0,112 mmol) foi adicionada a uma solução de ácido 3-fluoro-4-hidroxibenzenoborônico (262 mg, 1,679 mmol), 3-(2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (550 mg, 1,119 mmol) e fosfato de potássio (713 mg, 3,36 mmol) em 1,4-dioxano (4,5 ml) e água (1 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 2 horas. A mistura da

reação foi concentrada *sob vácuo*. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (5 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 5 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 40% em hexanos para produzir 3-ciano-3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (267 mg, 0,511 mmol, 46% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 523,24 de C₂₈H₃₁FN₄O₅ foi encontrado 523,4.

Preparação 28:

3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-3-carbonitrila

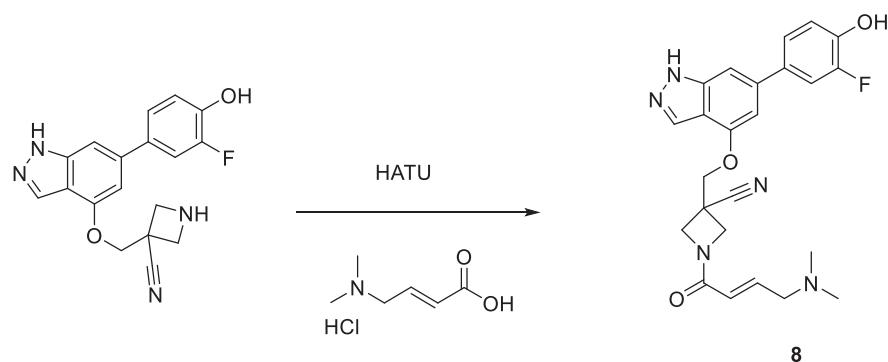


[00308] 3-ciano-3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (267 mg, 0.511 mmol) foi dissolvido em diclorometano (1 ml) e TFA (1 ml) foi adicionado lentamente. A solução clara foi agitada à ta durante

5 horas, após a qual a LCMS indicou uma boa conversão para o produto desejado. A reação foi concentrada para fornecer 3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-3-carbonitrila como um sal TFA (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 339,13 de C₁₈H₁₅FN₄O₂ foi encontrado 339,2.

Exemplo 8:

(E)-1-(4-(dimetilamino)but-2-enoil)-3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-3-carbonitrila



[00309] HATU

(2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio, 121 mg, 0,318 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato do ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (41,1 mg, 0,318 mmol) em DMF (2 ml). A mistura reacional foi agitada à ta durante 5 minutos então foi adicionado o sal TFA de

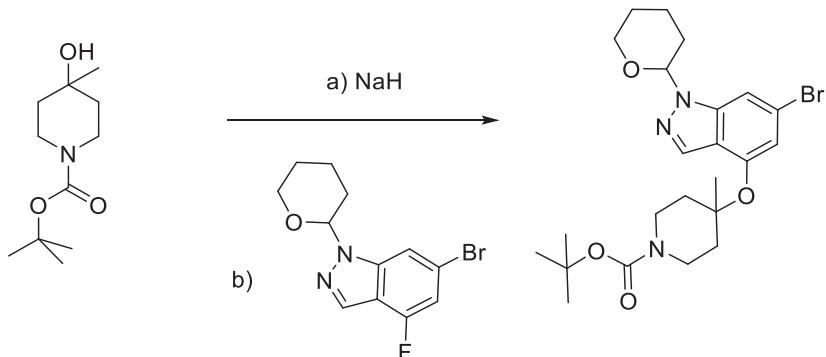
3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-3-carbonitrila (160 mg, 0,354 mmol), seguido por DIPEA (0,618 ml, 3,54 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 15 minutos e depois concentrada sob vácuo para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado por coluna de cromatografia Zorbax Bonus-RP (2,1x30 mm, 1,8

mícron) em escala preparatória usando um gradiente de 15-75% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir

(E)-1-(4-(dimetilamino)but-2-enoil)-3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxiifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)metil)azetidina-3-carbonitrila (56,2 mg, 0,121 mmol, 34% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 450,19 de C₂₄H₂₄FN₅O₃ foi encontrado 450,0. RMN¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,94 (s, 1H), 9,77 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,47 (dd, *J* = 12,8, 2,2 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,4, 1,7 Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,99 – 6,90 (m, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,59 – 6,48 (m, 1H), 6,31 (d, *J* = 15,4 Hz, 1H), 4,67 – 4,60 (m, 3H), 4,40 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,27 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 4,12 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,78 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,66 (s, 6H).

Preparo 29:

4-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidina-1-carboxilato de terc-butila

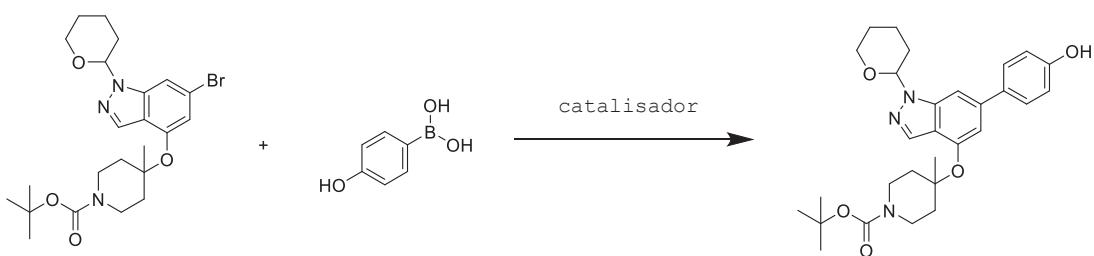


[00310] A um frasco de cintilação seco purgado com N₂ foi adicionado 1-boc-4-metilpiperidin-4-ol (567 mg, 2,63 mmol), dissolvido em 3 ml de DMF e a solução foi resfriada a 0 °C. Hidreto de sódio a 60% em peso em óleo mineral (175 mg, 4,39 mmol) foi adicionado lentamente à solução agitada e a

reação foi deixada aquecer à ta após a adição. A reação espumosa foi agitada durante 30 minutos à ta antes de ser resfriada uma vez novamente a 0 °C. Uma solução de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (525 mg, 1,755 mmol) em 1 ml de DMF foi lentamente adicionada no frasco de cintilação que continha a solução de organossódio. Após a adição, a reação foi aquecida à ta e agitada durante 2 horas após a qual, a LCMS indicou a conversão total do material de partida ao produto desejado. A reação foi atenuada com a adição lenta de 2 ml de H₂O e 2 ml de EtOAc e deixada agitar durante 5 minutos. A solução bifásica foi então transferida para um funil de separação e foram adicionados 10 ml de H₂O adicionais. A mistura foi extraída com 3 vezes de 20 ml de EtOAc e a camada aquosa foi descartada. As frações orgânicas combinadas foram então lavadas 3 x 10 ml de 1:1 H₂O:salmoura para remover DMF residual. A camada orgânica foi então seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada a um óleo levemente amarelado. O óleo foi então purificado por cromatografia em coluna flash usando um gradiente de 0-40% de EtOAc:hexanos. O produto foi isolado puro como um óleo transparente, claro, viscoso (389 mg, 45% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 494,17 de C₂₃H₃₂BrN₃O₄ foi encontrado 494,4.

Preparação 30:

4-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidina-1-carboxilato de terc-butila

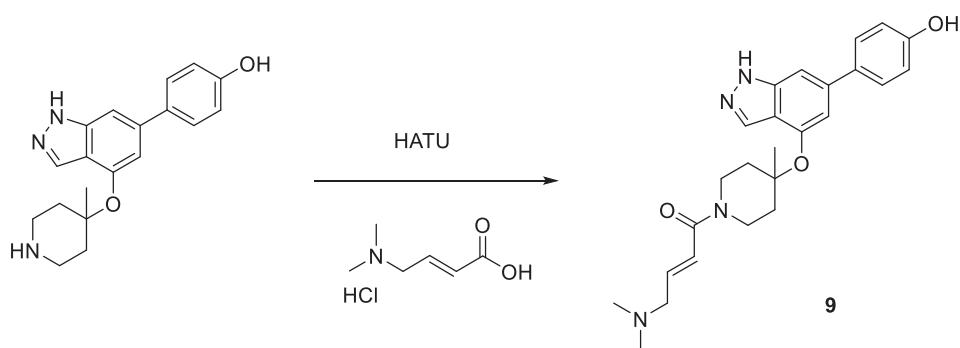


[00311] Uma mistura 1:1 de acetato de paládio (9,1 mg, 0,040 mmol) 1,1'-Bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno 98% (19,2 mg, 0,040 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido 4-hidroxibenzenoborônico (42 mg, 0,30 mmol), 4-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidina-1-carboxilato de terc-butila (100 mg, 0,202 mmol) e fosfato de potássio, tribásico, 97%, anidro (129 mg, 0,607 mmol) em 1,4-dioxano (2 ml) e água (0,5 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 2 horas. A mistura da reação foi concentrada *sob vácuo*. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (5 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 5 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (12 g) usando acetato de etila a 40% em hexanos para produzir 4-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidina-1-carboxilato de terc-butila (96 mg, 0,189 mmol, 94% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 5098,28 de C₂₉H₃₇N₃O₅ foi encontrado 508,3.

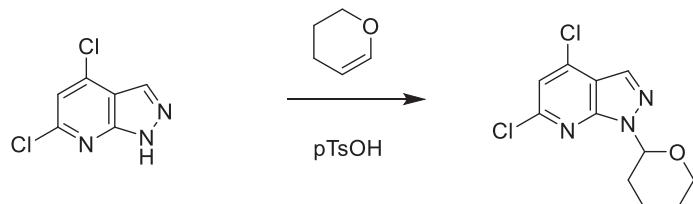
Preparação 31:**4-((4-(4-metilpiperidin-4-il)oxi)-1H-indazol-6-il)fenol**

[00312] 4-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidina-1-carboxilato de terc-butila (96 mg, 0,189 mmol) foi dissolvido em 1,4-dioxano (1 ml) e HCl 4N em 1,4-dioxano (1,18 ml, 4,73 mmol) foi adicionado lentamente. A solução clara foi agitada à ta durante 5 horas, após a qual a LCMS indicou uma boa conversão para o produto desejado. A reação foi concentrada para produzir 4-((4-metilpiperidin-4-il)oxi)-1H-indazol-6-yl fenol como um sal HCl (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 324,17 de C₁₉H₂₁N₃O₂ foi encontrado 324,3.

Exemplo 9:**(E)-4-(dimetilamino)-1-(4-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidin-1-il)but-2-en-1-ona**

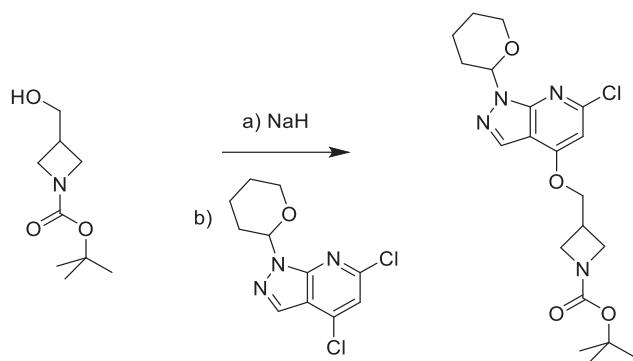


[00313] HATU (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio, 72 mg, 0,189 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato do ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (24 mg, 0,186 mmol) em DMF (1 ml). A mistura reacional foi agitada à ta durante 5 minutos, então foi adicionado o sal HCl de 4-((4-metilpiperidin-4-il)oxi)-1H-indazol-6-il)fenol (68,0 mg, 0,189 mmol), seguido por DIPEA (0,330 ml, 1,890 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 15 minutos e depois concentrada sob vácuo para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna Zorbax Bonus-RP (2,1x30 mm, 1,8 micron) em escala preparatória usando um gradiente de 5-65% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (E)-4-(dimetilamino)-1-((4-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)-4-metilpiperidin-1-il)but-2-en-1-ona (39,0 mg, 0,063 mmol, 34% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 435,24 de C₂₅H₃₀FN₄O₃ foi encontrado 435,2. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,99 (s, 1H), 9,66 (s, 1H), 8,02 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,52 – 7,44 (m, 2H), 7,27 (s, 1H), 6,90 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H), 6,86 – 6,78 (m, 3H), 6,58 – 6,47 (m, 1H), 3,99 – 3,86 (m, 1H), 3,83 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,78 – 3,55 (m, 2H), 2,74 (s, 6H), 1,40 (s, 3H).

Preparação 32:**4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridina**

[00314] 3,4-Di-idro-2H-pirano (2,0 g, 24,07 mmol) foi adicionado a uma solução de 4,6-dicloro-1H-pirazolo[3,4-b]piridina (2,50 g, 13,23 mmol) em cloreto de metileno (30 ml), seguido pelo ácido p-toluenossulfônico monoidratado (0,275 g, 1,60 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 1 hora. Água (50 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com cloreto de metileno (3 x 50 ml). Os extratos de cloreto de metileno foram combinados, lavados com salmoura (1 x 50 ml), secos sobre sulfato de sódio e concentrados para produzir um líquido amarelo claro. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando 10% de EtOAc em hexanos para produzir 4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-yl)-1H-pirazolo[3,4-b]piridina (3,0 g, 11,1 mmol, 67% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 272,21 de C₁₁H₁₁Cl₂N₃O foi encontrado 272,04.

Preparo 33:**3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila**

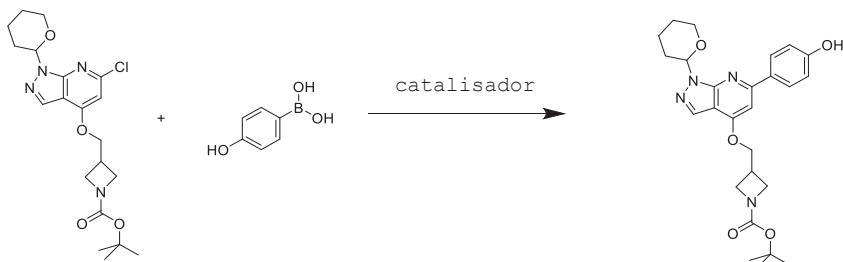


[00315] NaH (dispersão a 60% em óleo mineral, 160 mg, 4,0 mmol) foi adicionado a uma solução de 1-boc-azetidina-3-il-metanol (760 mg, 4,0 mmol) em DMF (5 ml) e éter dietílico (5 ml) a 0°C e a mistura reacional foi agitada a 0°C durante 15 minutos. 4,6-Dicloro-1-(tetraaidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]pyridina (1,0 g, 3,7 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada à ta durante 1 hora. Água (10 ml) foi adicionada e a mistura reacional foi extraída com cloreto de metileno (3 x 10 ml). Os extratos de cloreto de metileno foram combinados, lavados com salmoura (1 x 10 ml), secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido amarelo claro. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando 30% de acetato de etila em hexanos para produzir 3-(((6-clorol-(tetraaidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]pyridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,1 g, 2,60 mmol, 70% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 423,18 de C₂₀H₂₇N₄O₄ foi encontrado 423,25.

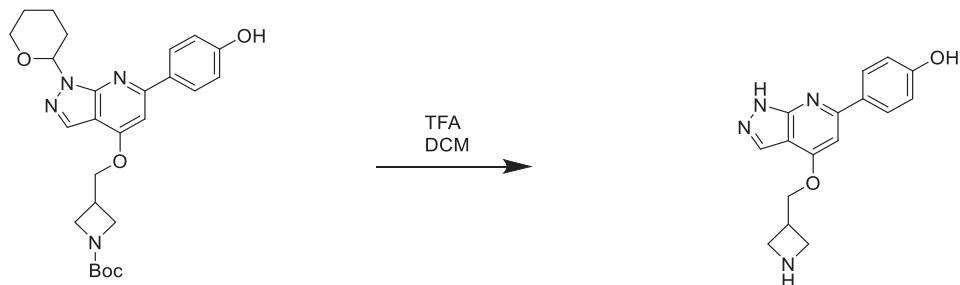
Preparo 34:

3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraaidro-2H-piran-2-il)-1H-piraz

3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila



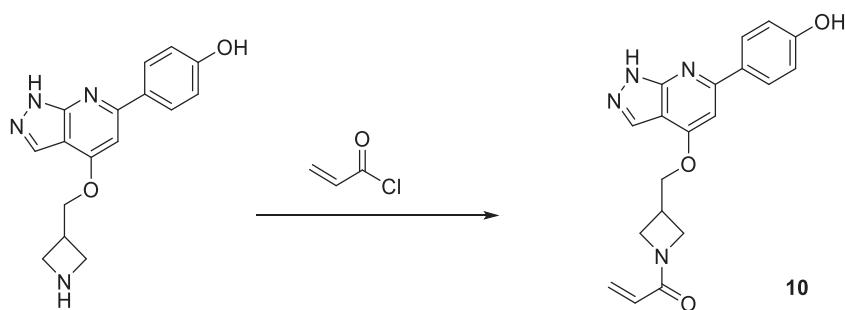
[00316] Uma solução de carbonato de sódio (500 mg, 4,72 mmol) em água (4 ml) foi adicionada ao ácido 4-hidroxifenilborônico (392 mg, 2,84 mmol) e 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,0 g, 2,36 mmol) em dioxano (20 ml) e a mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos. $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{DCM}$ (196 mg, 0,24 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi desgaseificada durante mais 5 minutos e depois agitada a 110 °C durante 4 horas. A mistura reacional foi resfriada a ta e então filtrada através de um leito de celite. O material filtrado foi lavado com cloreto de metileno e os filtrados foram combinados e lavados com água (1 x 10 ml), salmoura (1 x 10 ml), secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom claro. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando EtOAc a 50% em hexanos para produzir 3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,02 g, 2,12 mmol, 76% de rendimento). (*m/z*): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para 481,25 de $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ foi encontrado 481,65.

Preparação 35:**4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol**

[00317] TFA (4,0 ml) foi lentamente adicionado a uma solução de

3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (500 mg, 1,04 mmol) em cloreto de metileno (10 ml) a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta durante 3 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob* vácuo e o sólido resultante foi triturado com 5% de metanol:cloreto de metileno para produzir o título composto como sal TFA (330 mg, 0,804 mmol, 77% de rendimento). (m/z) : [M+H]⁺ calculado para 297,14 de C₁₆H₁₆N₄O₂ foi encontrado 297,15.

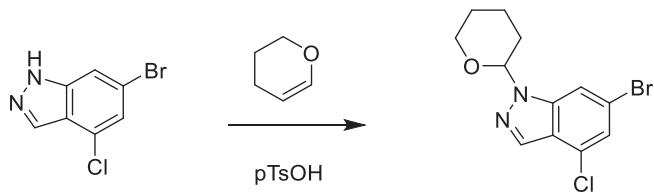
Exemplo 10:**1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)prop-2-en-1-ona**



[00318] A uma solução de sal TFA de 4-(4-(azetidin-3-ilmetoxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol (35,5 mg, 0,087 mmol) em DMF (1 ml) foi adicionado DIPEA (0,151 ml, 0,865 mmol), seguido pela adição de cloreto de acriloila (7,0 μ l, 0,087 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 15 minutos e depois concentrada *sob* vácuo para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia por coluna Zorbax Bonus-RP (2,1x30 mm, 1,8 micron) em escala preparatória usando 5-75% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir 1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-il)prop-2-en-1-on (13,4 mg, 0,028 mmol, 33% de rendimento). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para 351,15 de $C_{19}H_{28}N_4O_3$ foi encontrado 351,1. RMN 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,02 (s, 1H), 9,80 (s, 1H), 7,98 (d, J = 8,9 Hz, 3H), 7,13 (s, 1H), 6,85 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,32 (dd, J = 17,0, 10,3 Hz, 1H), 6,09 (dd, J = 17,0, 2,3 Hz, 1H), 5,64 (dd, J = 10,3, 2,3 Hz, 1H), 4,55 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 4,38 (t, J = 8,5 Hz, 1H), 4,15 - 4,02 (m, 2H), 3,80 (dd, J = 10,0, 5,4 Hz, 2H), 3,22 - 3,07 (m, 1H).

Preparação 36:

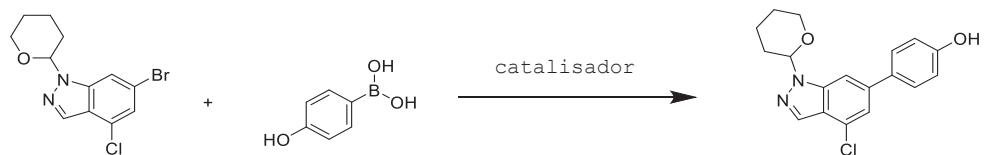
6-bromo-4-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol



[00319] 3,4-Di-idro-2H-pirano (19,79 ml, 216,5 mmol) foi adicionado a uma solução de 6- bromo-4-cloro-1H-indazol (10,0 g, 43,3 mmol) em acetato de etila (200 ml) a 0 °C, seguido pelo ácido p-toluenossulfônico monoidrato (1,64 g, 8,66 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 50 °C durante 4 horas. Foi adicionada solução aquosa de bicarbonato de sódio (100 ml) e a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 100 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com água (1 x 100 ml), salmoura (1 x 100 ml), secos sobre sulfato de sódio e concentrados para produzir um sólido amarelo. O líquido bruto foi purificado via trituração em n-pentano para produzir 6-bromo-4-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (13,0 g, 41,2 mmol, 95% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 314,99 de C₁₂H₁₂BrClN₂O foi encontrado 314,93.

Preparação 37:

4-(4-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-6-il)fenol

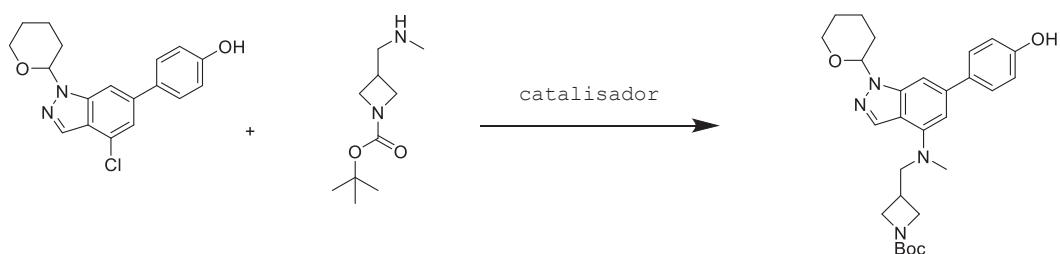


[00320] Uma solução de carbonato de sódio (8,77 g, 82,8 mmol), ácido 4-hidroxifenilborônico (6,85 g, 49,7 mmol)

e 6-bromo-4-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (13,0 g, 41,4 mmol) em dioxano (200 ml) e água (50 ml) foi desgaseificada com nitrogênio durante 15 minutos. $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{DCM}$ (3,37 g, 4,14 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi desgaseificada durante mais 5 minutos e depois agitada a 125 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi resfriada à ta, foi adicionado acetato de etila e a mistura reacional foi filtrada através de um leito de celite. Foi adicionada água (100 ml) e a mistura foi extraída com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom claro. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando gradiente de 0-30% de acetato de etila em hexanos para produzir 4-(4-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-6-il)fenol (7,5 g, 22,9 mmol, 55% de rendimento). (*m/z*): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para 329,11 de $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2$ foi encontrado 329,08.

Preparo 38:

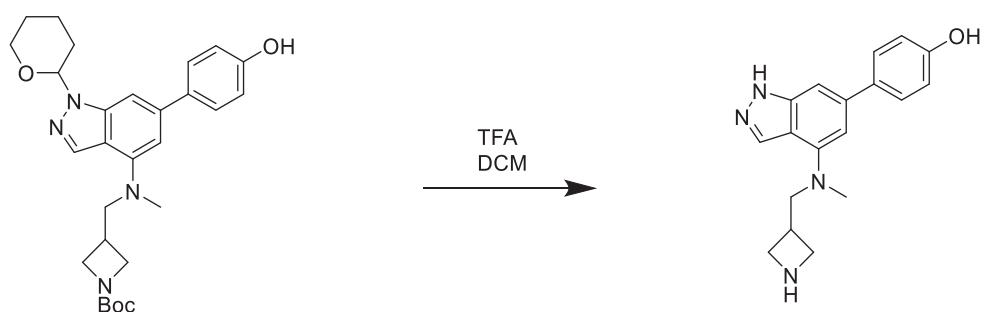
3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)(metil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila



[00321] Uma mistura 1:2 de acetato de paládio (68,3 mg, 0,304 mmol) e 2-(di-*t*-butilfosfino)bifenil (182,0 mg, 0,608 mmol) foi adicionada a uma solução de 4-(4-cloro-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol-6-il)feno 1 (500 mg, 1,521 mmol), 3-((metilamino)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (457 mg, 2,281 mmol) e terc-butóxido de sódio, >99,9% (731 mg, 7,60 mmol) em tolueno (15 ml). A mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos e aquecida a 110 °C durante 16 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob* vácuo a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (5 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 5 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob* vácuo para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (24 g) usando de acetato de etila a 50% em hexanos para produzir 3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)(metil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (368 mg, 0,747 mmol, 49% de rendimento). (m/z) : [M+H]⁺ calculado para 493,28 de C₂₈H₃₆N₄O₄ foi encontrado 493,4.

Preparação 39:

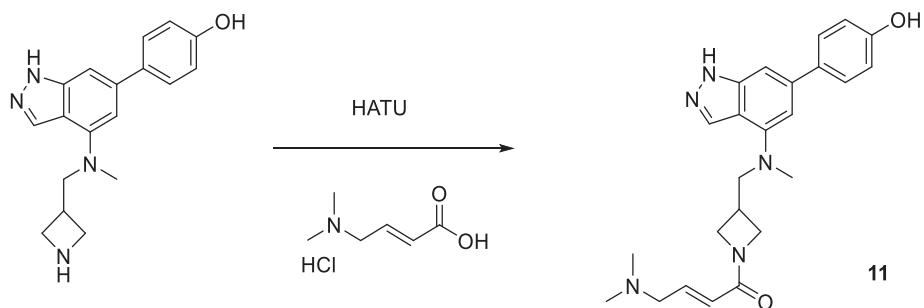
4-(4-((azetidin-3-il)metil)(metil)amino)-1H-indazol-6-il)feno 1



[00322] 3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)(metil)amino)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (368 mg, 0,747 mmol) foi dissolvido em diclorometano (1,5 ml) e TFA (1,5 ml) foi lentamente adicionado. A solução clara foi agitada à ta durante 5 horas, após a qual a LCMS indicou uma boa conversão para o produto desejado. A reação foi concentrada para produzir 4-(4-((azetidin-3-ilmetil)(metil)amino)-1H-indazol-6-il)feno l como um sal TFA (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 309,17 de C₁₈H₂₀FN₄O foi encontrado 309,2.

Exemplo 11:

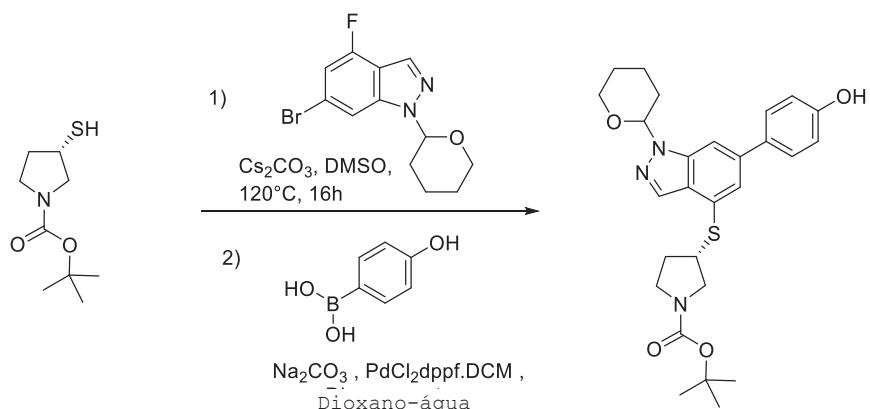
(E)-4-(dimetilamino)-1-(3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)(metil)amino)metil)azetidin-1-il)but-2-en-1-ona



[00323] HATU (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio, 59,5 mg, 0,157 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato do ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (34 mg, 0,263 mmol) em DMF (1 ml). A mistura reacional foi agitada à ta durante 5 minutos então foi adicionado o sal TFA de 4-((azetidin-3-il)metil) (metil)amino)-1H-indazol-6-il)fenol (63 mg, 0,149 mmol), seguido por DIPEA (0,260 ml, 1,491 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 15 minutos e depois concentrada *sob* vácuo para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna Zorbax Bonus-RP (2,1x30 mm, 1,8 micron) em escala preparatória usando um gradiente de 5-65% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (E)-4-(dimetilamino)-1-((3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il) (metil)amino)metil)azetidina-1-il)but-2-en-1-ona (47,6 mg, 0,086 mmol, 96% de rendimento). (*m/z*) : [M+H]⁺ calculado para 420,24 de C₂₄H₂₉N₅O₂ foi encontrado 420,2.

Preparo 40:

(3S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)thio)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila



[00324] A uma solução agitada de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (600 mg, 2,0 mmol) e (S)-3-mercaptopirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (488 mg, 2,20 mmol) em DMSO (5 ml) foi adicionado Cs_2CO_3 (1,30 mg, 4,0 mmol). A mistura reacional foi agitada a 120°C durante 16 horas. Foi adicionada água e a mistura reacional foi extraída com EtOAc (3×50 ml). Os extratos de EtOAc foram combinados, lavados com água seguida de salmoura, secos sobre sulfato de sódio anidro, filtrados e concentrados *sob vácuo* para obter o produto intermediário bruto como um líquido viscoso claro.

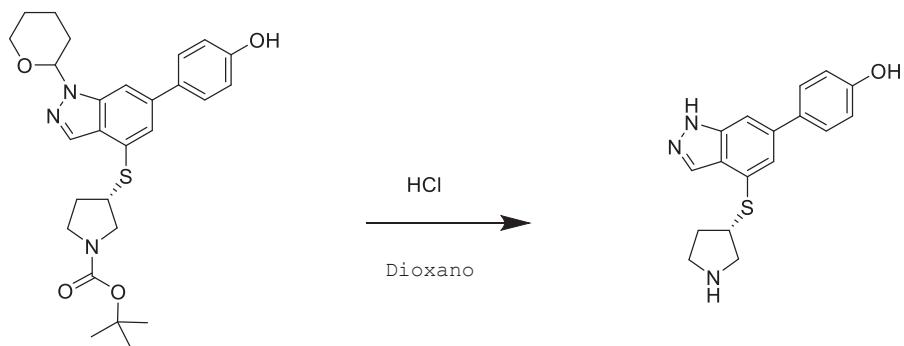
[00325] A uma solução agitada do intermediário bruto em dioxano (20 ml) e água (4 ml) foi adicionado ácido 4-hidroxifenilborônico (240 mg, 1,74 mmol) e Na_2CO_3 (461 mg, 4,35 mmol) e a mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 15 minutos. $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2\text{.DCM}$ (118 mg, 0,0145 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi desgaseificada durante mais 5 minutos e depois agitada a 110°C durante 4 horas. A mistura reacional foi resfriada à ta, água foi adicionada e a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3×50 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e

concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom claro. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando gradiente de EtOAc a 30-50% em hexanos para produzir

(3S) -3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)tiopirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (600 mg, 1,21 mmol, 61%). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para C₂₇H₃₃N₃O₄ 496,23 foi encontrado 496,42.

Preparação 41:

(S)-4-(4-(pirrolidin-3-iltio)-1H-indazol-6-il)fenol



[00326] HCl 4,0N em dioxano (10,0 ml, 40,0 mmol) foi adicionado a uma solução de (3S) -3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)tiopirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (400 mg, 0,808 mmol) em metanol (6 ml), e a mistura reacional foi agitada a 40 °C durante 16 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 20-80% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-4-(4-(pirrolidina-3-iltio)-1H-indazol-6-il)fenol como sal TFA (175 mg, 0,411 mmol, 51% de rendimento).

(m/z): $[M+H]^+$ calculado para 312,12 de $C_{17}H_{17}N_3O$ foi encontrado 312,22.

Exemplo 12:

(S)-1-((3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)thio)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

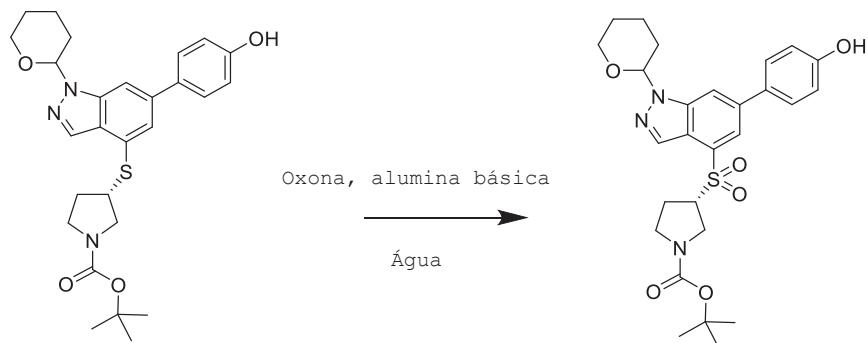


[00327] N,N-Di-isopropiletilamina (0,079 ml, 0,450 mmol) foi adicionada a uma solução de sal TFA de (S)-4-((4-(pirrolidin-3-ylthio)indazol-1-yl)phenol (38,5 mg, 0,091 mmol) em DMF (0,2 ml) a 0 °C, seguida por cloreto de acriloila (8,0 μ l, 0,099 mmol). A mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e o líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-1-((3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)thio)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (17,1 mg, 0,046 mmol, 51% de rendimento). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para 366,13 de $C_{20}H_{19}N_3O_2S$ foi encontrado 366,1.

Preparo 42:

(3S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-i

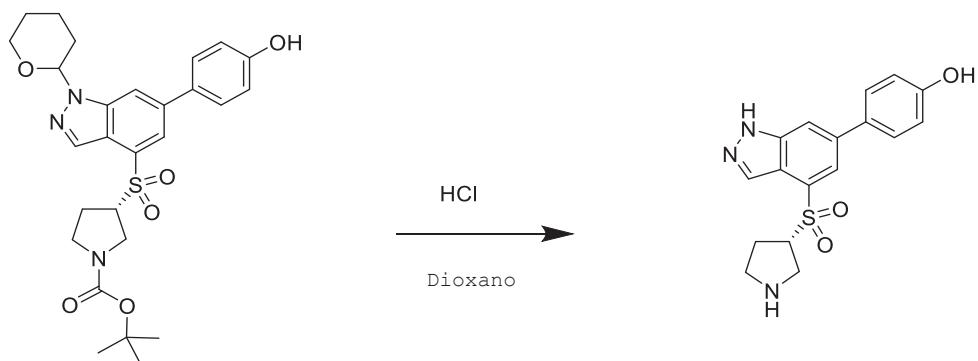
**ndazol-4-il)sulfônico)pirrolidina-1-carboxilato de
terc-butila**



[00328] Alumina básica (200 mg) e oxona (744 mg, 2,42 mmol) foram adicionadas a uma solução de (3S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)thio)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (400 mg, 0,80 mmol) em clorofórmio (50 ml) e água (1 ml) e a mistura reacional foi agitada a 65 °C durante 12 horas. A mistura reacional foi filtrada através de um leito de celite e o material filtrado foi lavado com clorofórmio. Os filtrados foram combinados, foi adicionada água resfriada e a mistura foi extraída com clorofórmio (3 x 100 ml). Os extratos de clorofórmio foram combinados, lavados com salmoura, secos em sulfato de sódio e concentrados sob vácuo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando EtOAc a 30% em hexanos para produzir (3S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)sulfônico)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (200 mg, 0,379 mmol, 47% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 528,22 de C₂₇H₃₃N₃O₆ foi encontrado 528,48.

Preparação 43:

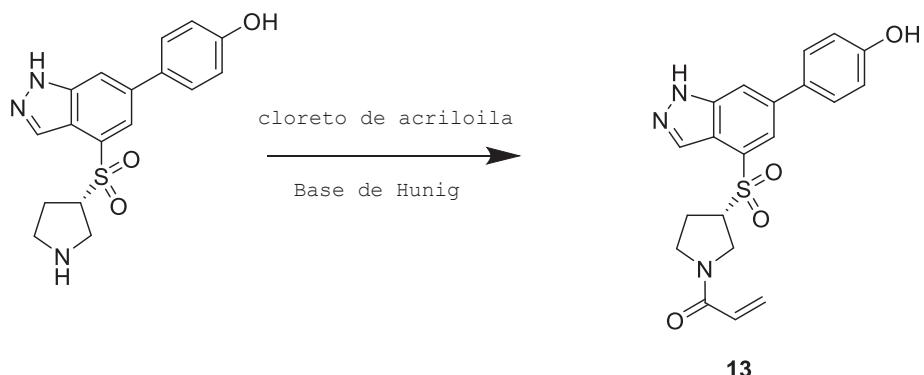
(S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilsulfônico)-1H-indazol-6-il)fenol



[00329] HCl 4,0N em dioxano (10,0 ml, 40,0 mmol) foi adicionado a uma solução de (3S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol-4-il)sulfonil)pirrolidina-1-carboxilato (200 mg, 0,379 mmol) em metanol (2 ml), e a mistura reacional foi agitada a ta durante 8 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob* vácuo e o resíduo resultante foi triturado com éter dietílico para produzir ((S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilsulfonil)-1H-indazol-6-il)fenol como um sal HCl (140 mg, 0,369 mmol, 97% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 344,11 de C₁₇H₁₇N₃O₃S foi encontrado 344,04.

Exemplo 13:

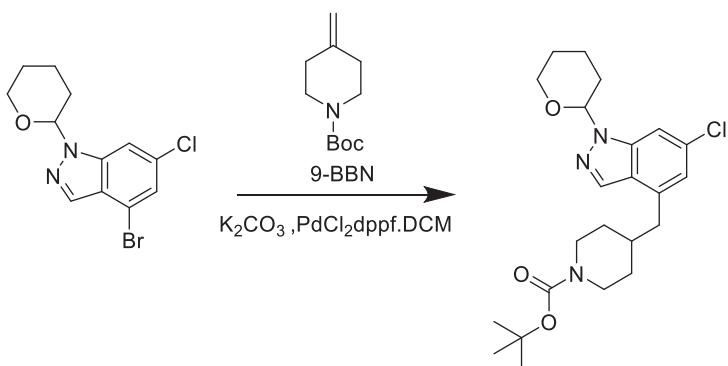
((S)-1-(3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)sulfonil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona



[00330] N,N-Di-isopropiletilamina (0,079 ml, 0,450 mmol) foi adicionada a uma solução de sal HCl de (S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilsulfonil)-1H-indazol-6-il)fenol (31,0 mg, 0,082 mmol) em DMF (0,2 ml) a 0 °C, seguida por cloreto de acriloila (8,0 µl, 0,099 mmol). A mistura reacional foi agitada à ta durante 10 minutos e o líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir ((S)-1-(3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)sulfonil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (3,1 mg, 0,0061 mmol, 7% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 398,12 de C₂₀H₁₉N₃O₄S foi encontrado 398,0.

Preparo 44:

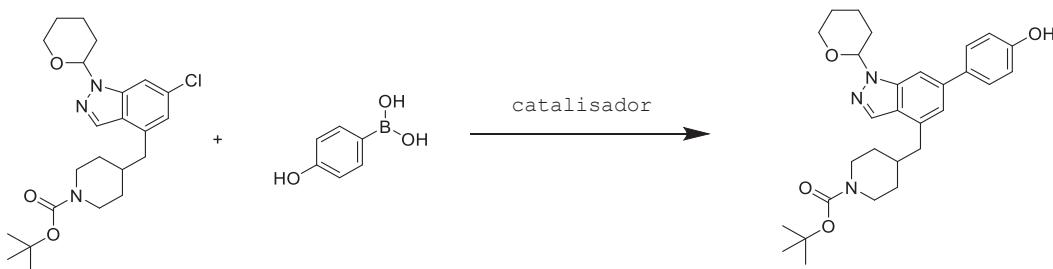
4-((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)metil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila



[00331] Uma solução 0,5 M de 9-BBN em THF (7,92 ml, 3,96 mmol) foi adicionada a 4-metilenopiperidina-1-carboxilato de terc-butila (468 mg, 2,37 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 80 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi resfriada à ta e então canulada em uma solução pré-formada de 4-bromo-6-cloro-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol (500 mg, 1,58 mmol), carbonato de potássio (548 mg, 3,96 mmol) e $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2\text{·DCM}$ (129 mg, 0,15 mmol) em DMF (10,0 ml) e H_2O (2,0 ml). A mistura reacional foi agitada em 80 °C durante 16 horas. A mistura reacional foi filtrada através de um leito de celite e o material filtrado foi lavado com acetato de etila. Os filtrados foram combinados, água (100 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 150 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com salmoura, secos em sulfato de sódio e concentrados sob vácuo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando EtOAc a 30% em hexanos para produzir 4-((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)metil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila (460 mg, 1,06 mmol, 67% de rendimento). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para 434,22 de $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3$ foi encontrado 434,47.

Preparo 45:

4-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)metil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila

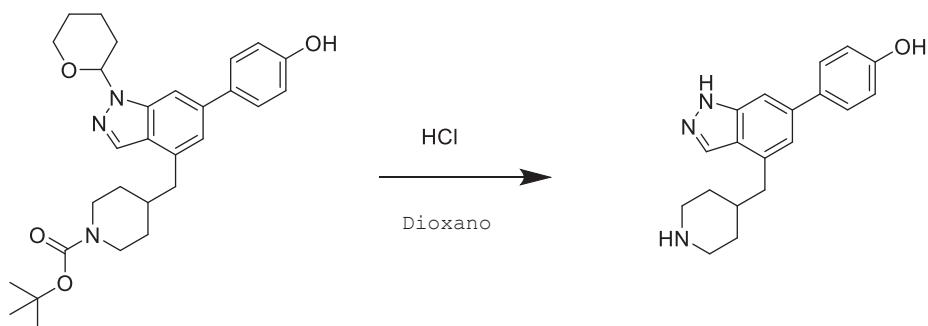


[00332] Ácido 4-hidroxifenilborônico (195 mg, 1,41 mmol) foi adicionado a uma suspensão de 4-((6-cloro-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol-4-il)metil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila (410 mg, 0,94 mmol) em dioxano (10,0 ml) e água (2,0 ml), seguido de fosfato de potássio (401 mg, 1,88 mmol) e a mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 15 minutos. O complexo 2'-(Dimetilamino)-2-bifenilil-paládio(II) cloreto dinorbornilfosfina (52 mg, 0,07 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi aquecida sob irradiação de micro-ondas a 100 °C durante 1 hora. A mistura reacional foi resfriada a ta e então filtrada através de um leito de celite. Foi adicionada água (100 ml) ao filtrado que foi então extraído com acetato de etila (3 x 100 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com água, salmoura, secos em sulfato de sódio e concentrados sob vácuo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando EtOAc a 50% em hexanos para produzir

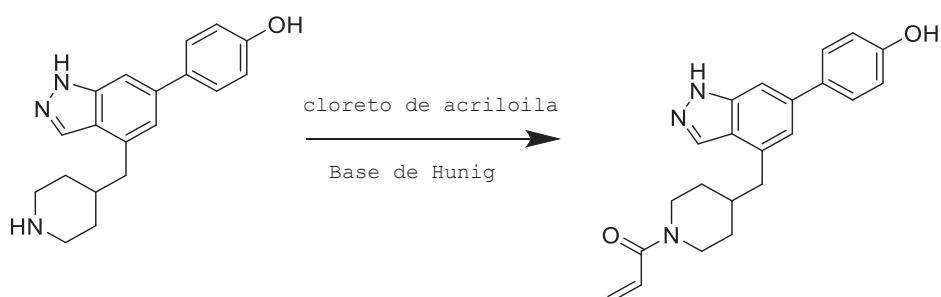
4-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)metil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila (300 mg, 0,610 mmol, 65% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 492,29 de C₂₉H₃₇N₃O₄ foi encontrado 492,46.

Preparação 46:

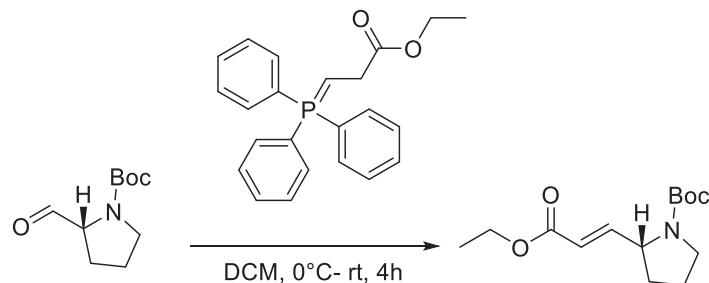
4-(4-(piperidin-4-ilmetil)-1H-indazol-6-il)fenol



[00333] HCl 4,0N em dioxano (10,0 ml, 40,0 mmol) foi adicionado a uma solução de 4-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)metil)piperidina-1-carboxilato de terc-butila (300 mg, 0,610 mmol) em metanol (2 ml), e a mistura reacional foi agitada à ta durante 8 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* e o resíduo resultante foi triturado com éter dietílico para produzir 4-(4-(piperidina-4-ilmetil)-1H-indazol-6-il)fenol como um sal HCl (195 mg, 0,567 mmol, 93% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 308,18 de C₁₉H₂₁FN₃O foi encontrado 308,10.

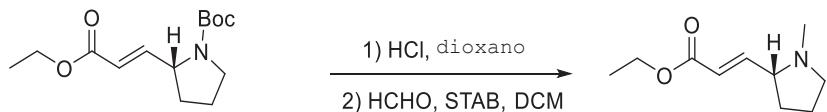
Exemplo 14:**1-((4-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)metil)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona****14**

[00334] N,N-Di-isopropiletilamina (0,079 ml, 0,450 mmol) foi adicionada a uma solução de sal HCl de 4-(4-(piperidin-4-ilmetil)-1H-indazol-6-il)fenol (27,5 mg, 0,080 mmol) em DMF (0,2 ml) a 0 °C, seguida por cloreto de acriloila (8,0 µl, 0,099 mmol). A mistura reacional foi agitada à ta durante 10 minutos e o líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir 1-((4-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)metil)piperidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (7,2 mg, 0,015 mmol, 19% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 362,19 de C₂₂H₂₃N₃O₂ foi encontrado 362,1.

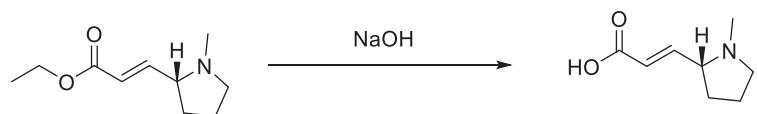
Preparo 47:**(R,E)-2-(3-etoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila**

[00335] Etil 3-(trifenilfosforanilideno)propanoato (3,64 g, 10,0 mmol) foi adicionado a uma solução de (R)-2-formilpirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (2,0 g, 10,0 mmol) em cloreto de metileno (40 ml) a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta durante 4 horas. Água (200 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com cloreto de metileno (2 x 100 ml). Os extratos de cloreto de metileno foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo*. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 5% em hexanos para produzir (R,E)-2-(3-etoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (1,70 g, 6,31 mmol, 63% de rendimento).

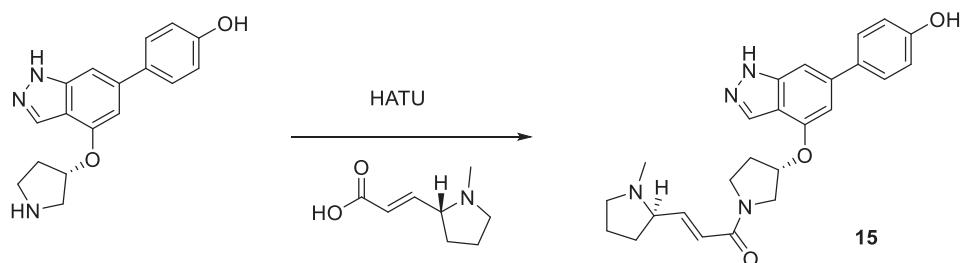
Preparo 48: (R,E)-3-(1-metilpirrolidin-2-il)acrilato de etila



[00336] HCl 4M em dioxano (7,20 ml, 28,8 mmol) foi adicionado a uma solução de TFA (10,90 ml) foi adicionado lentamente a uma solução de (R,E)-2-(3-etoxy-3-oxoprop-1-en-1-il)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (1,70 g, 6,31 mmol) em dioxano (40 ml) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 2 horas. A reação foi concentrada *sob vácuo* para produzir o intermediário bruto. Uma solução de 37% de formaldeído em água (4,19 ml, 41,4 mmol) foi adicionada a uma solução do intermediário bruto em cloreto de metíleno (50 ml) a 0 °C, seguida por triacetoxiboroidreto de sódio (5,26 g, 24,8 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 16 horas. Foi adicionada água gelada (20 ml) e a mistura reacional foi extraída com cloreto de metíleno (2 x 100 ml). Os extratos de cloreto de metíleno foram combinados, lavados com salmoura, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir (R,E)-3-(1-metilpirrolidin-2-il)acrilato de etila (0,900 g, 4.915 mmol, 78% de rendimento).
(m/z): [M+H]⁺ calculado para 184,14 de C₁₀H₁₇NO₂O foi encontrado 184,0.

Preparação 49: Ácido**(R,E)-3-(1-metilpirrolidin-2-il)acrílico**

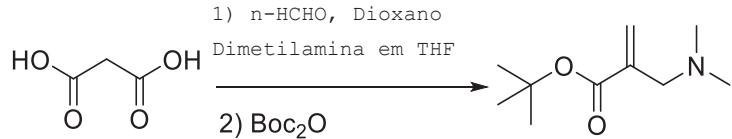
[00337] Hidróxido de sódio (294 mg, 7,36 mmol) foi adicionado a uma solução de (R,E)-3-(1-metilpirrolidin-2-il)acrilato de etila (0,900 g, 4.915 mmol, 78% de rendimento) em 2:1 de THF/água (15 ml) e a mistura reacional foi agitada a tā durante 4 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* para produzir o ácido (R,E)-3-(1-metilpirrolidin-2-il)acrílico de etila (668 mg, 4,30 mmol, 88% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 156,10 de C₈H₁₃NO₂O foi encontrado 156,26.

Exemplo 15:**(E)-1-((S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)-3-((R)-1-metilpirrolidin-2-il)prop-2-en-1-ona**

[00338] Uma solução de HATU (0,031 g, 0,083 mmol) em DMF (0,1 ml) foi adicionada ao ácido (R,E)-3-(1-metilpirrolidina-2-il)acrílico de etila (14,0 mg,

0,090 mmol), seguido por uma solução de cloridrato de (S)-4-(4-(pirrolidina-3-iloxi)-1H-indazol-6-il) fenol (0,025 g, 0,075 mmol) e DIPEA (0,065 ml, 0,375 mmol), a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e o líquido bruto foi purificado através de cromatografia em coluna C18 em escala preparatória, usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir ((E)-1-((S)-3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-il)-3-((R)-1-metilpirrolidina-2-il)prop-2-en-1-ona como sal TFA (7,8 mg, 0,014 mmol, 19% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 433,23 de C₂₅H₂₈N₄O₃ foi encontrado 433,1.

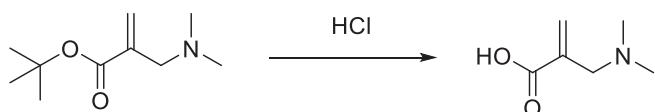
Preparo 50: 2-((dimetilamino)metil)acrilato de terc-butila



[00339] Paraformaldeído (1,20 g, 43,2 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido malônico (2,0 g, 19,3 mmol) em 1,4-dioxano (20 ml), seguido por uma solução 2M de dimetilamina em THF (9,60 ml, 19,2 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 70 °C durante 1 hora. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* e o produto bruto foi recristalizado usando éter dietílico e acetona para produzir o intermediário como um sólido branco. O sólido branco intermediário foi dissolvido em t-BuOH (100 ml) e dicarbonato de di-terc-butila (4,60 ml, 20,7 mmol) foi

adicionado à mistura reacional seguido por 4-dimetilaminopiridina (511 mg, 4,18 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 4 horas. Cloreto de metileno (500 ml) foi adicionado e a mistura reacional foi lavada com água (2 x 500 ml), seca sobre sulfato de sódio e concentrada *sob vácuo*. O resíduo bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando metanol a 2% em cloreto de metileno para produzir 2-((dimetilamino)metil)acrilato de terc-butila (220 mg, 1,19 mmol, 6% de rendimento).

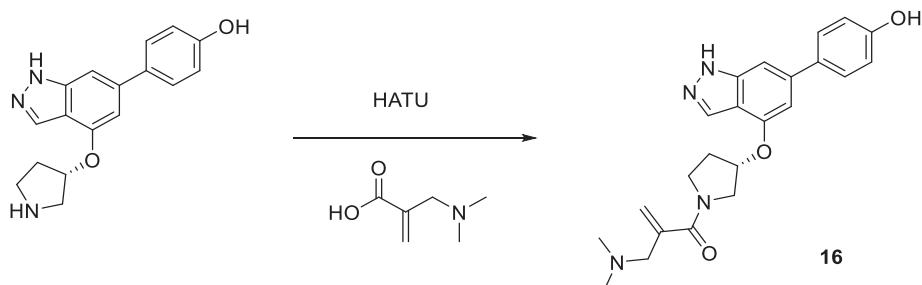
Preparação 51: Ácido 2-((dimetilamino)metil)acrílico



[00340] Uma solução aquosa de HCl 1N (5,0 ml, 5 mmol) foi adicionada a 2-((dimetilamino)metil)acrilato de terc-butila (220 mg, 1,19 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 100 °C durante 15 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* e o resíduo resultante foi azeotropado com tolueno e triturado com éter dietílico para produzir ácido 2-((dimetilamino)metil)acrílico como um sal HCl (119 mg, 0,719 mmol, 60% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 130,09 de C₆H₁₁NO₂O foi encontrado 130,22.

Exemplo 16:

(S)-2-((dimetilamino)metil)-1-(3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona

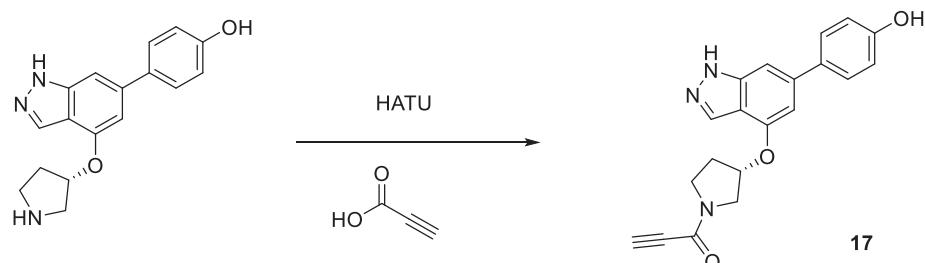


[00341] Uma solução de HATU (0,031 g, 0,083 mmol) em DMF (0,1 ml) foi adicionada ao cloridrato de ácido 2-((dimetilamino)metil)acrílico (14,9 mg, 0,090 mmol), seguido por uma solução de (S)-4-(4-(pirrolidina-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol (0,025 g, 0,075 mmol) e DIPEA (0,065 ml, 0,375 mmol), a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e o líquido bruto foi purificado através de cromatografia em coluna C18 em escala preparatória, usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% ácido trifluoroacético para produzir

(S)-2-((dimetilamino)metil)-1-(3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (2,6 mg, 0,005 mmol, 7% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 407,21 de C₂₃H₂₆N₄O₃ foi encontrado 407,1.

Exemplo 17:

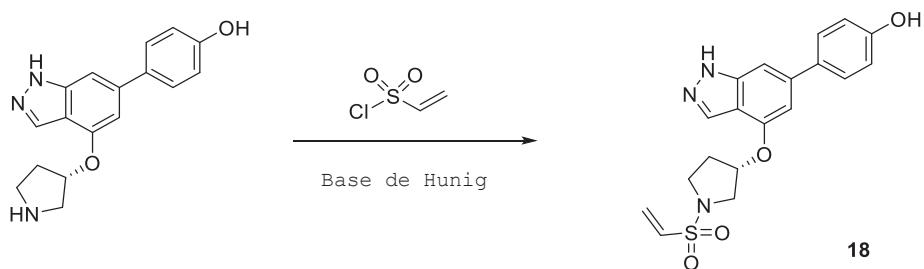
(S)-1-((3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-in-1-ona



[00342] Uma solução de HATU (0,031 g, 0,083 mmol) em DMF (0,1 ml) foi adicionada ao ácido propiólico (6,0 mg, 0,090 mmol), seguida por uma solução de cloridrato de (S)-4-(4-(pirrolidina-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol (0,025 g, 0,075 mmol) e DIPEA (0,065 ml, 0,375 mmol), a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e o líquido bruto foi purificado através de cromatografia em coluna C18, usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-1-((3-((6-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-in-1-ona como sal TFA (2,4 mg, 0,005 mmol, 7% de rendimento). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para 348,14 de $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ foi encontrado 348,0.

Exemplo 18:

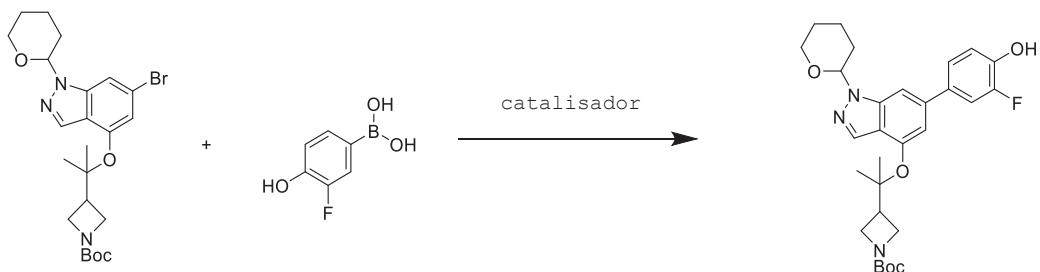
(S)-4-((1-(vinilsulfonil)pirrolidin-3-il)oxi)-1H-indazol-6-il)fenol



[00343] N,N-Di-isopropiletilamina (0,052 ml, 0.301 mmol) foi adicionada a uma solução de cloridrato de (S)-4-(4-(pirrolidin-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol (0,020 g, 0,060 mmol) em DMF (0,2 ml) a 0 °C, seguida por cloreto de etenosulfonila (8,4 ml, 0,066 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 10 minutos e o líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-4-(4-((1-(vinilsulfonil)pirrolidin-3-il)oxi)-1H-indazol-6-il)fenol como um sal TFA (8,2 mg, 0,016 mmol, 27% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 386,12 de C₁₉H₁₉N₃O₄ foi encontrado 386,3.

Preparo 52:

3-((2-((6-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

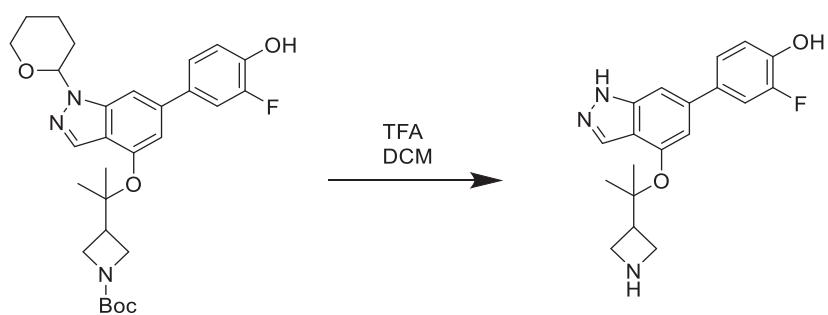


[00344] Carbonato de césio (6,33 g, 19,42 mmol) foi adicionado a uma solução de 3-((2-((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (3,20 g, 6,47 mmol) e ácido 3-fluoro-4-hidroxibenzeneborônico (1,514 g, 9,71 mmol) em 1,4-dioxano (20,71 ml) e água (5,18 ml) e a mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos.

[00345] Dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(I) (0,793 g, 0,971 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada a 110 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (20 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com cloreto de metíleno (2 x 20 ml). Os extratos de cloreto de metíleno foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 50% em hexanos para produzir 3-((2-((6-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,30 g, 4,38 mmol, 68% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 526,27 de C₂₉H₃₇FN₃O₅ foi encontrado 526,3.

Preparação 53:

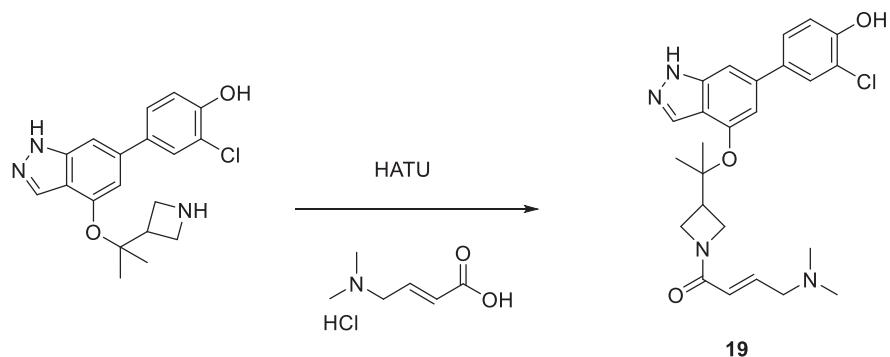
4-((4-((2-azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1H-indazol-6-il)-2-fluorofenol



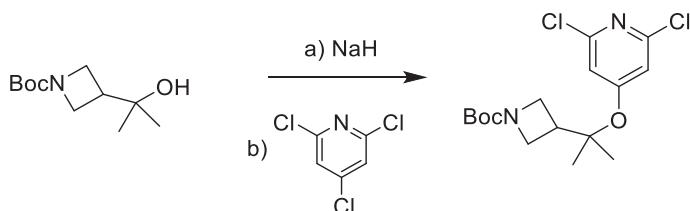
[00346] 3-((2-((6-fluoro-1-(tetrahydro-2H-piran-2-yl)-1H-indazol-4-yl)oxi)propan-2-yl)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (3,10 g, 5,90 mmol) foi dissolvido em diclorometano (10 ml) e TFA (10 ml) foi lentamente adicionado. A solução clara foi agitada à ta durante 2 horas, após a qual a LCMS indicou uma boa conversão para o produto desejado. A reação foi concentrada para fornecer 4-((2-azetidin-3-yl)propan-2-yl)oxi)-1H-indazol-6-yl)-2-fluorofenol como um sal TFA (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 342,16 de C₁₉H₂₁FN₃O₂ foi encontrado 342,3.

Exemplo 19:

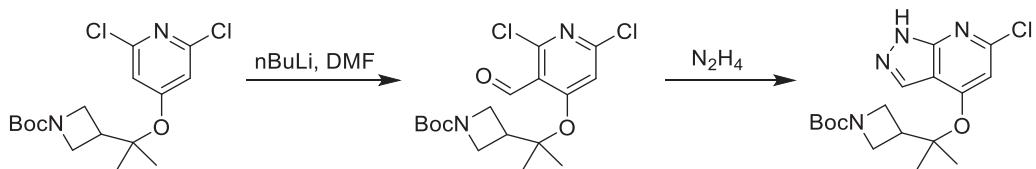
(E)-1-((3-((2-((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-indazol-4-yl)oxi)propan-2-yl)azetidin-1-yl)-4-(dimetilamino)but-2-en-1-ona



[00347] HATU (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio, 2,92 g, 7,07 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato do ácido (E)-4-(dimetilamino)but-2-enoico (1,07 g, 6,48 mmol) em DMF (10 ml). A mistura reacional foi agitada à ta durante 10 minutos então foi adicionado o sal TFA de 4-(4-((2-azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1-*H*-indazol-6-il)-2-fluorofenol (2,01 g, 5,89 mmol), seguido por DIPEA (3,08 ml, 17,7 mmol). A mistura reacional foi agitada a ta durante 15 minutos e depois concentrada sob vácuo para produzir um líquido amarelo. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 20-80% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (E)-4-(dimetilamino)-1-(3-((2-((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-*H*-indazol-4-il)oxi)propan-2-il)ciclobutil)but-2-en-1-ona como um sal TFA (1,65 g, 3,65 mmol, 61,9% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 453,23 de C₂₅H₃₀FN₄O₃ foi encontrado 453,3.

Preparo 54:**3-((2,6-dicloropiridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila**

[00348] Uma solução de 3-(2-hidroxipropan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (6,5 g, 30,21 mmol) em DMSO (10 ml) foi adicionada gota a gota a uma solução de hidreto de sódio a 60% em peso em óleo mineral (1,65 g, 41,20 mmol) em DMSO (15 ml) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 10 minutos. Uma solução de 2,4,6-tricloropiridina (5,0 g, 27,62 mmol) em DMSO (25 ml) foi adicionada gota a gota à suspensão resultante, e a mistura reacional foi agitada a 60 °C durante 16 horas. A mistura reacional foi extinguida usando uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio e extraída com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução saturada aquosa de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir o líquido bruto. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 5% em hexanos para produzir 3-((2,6-dicloropiridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,10 g, 5,80 mmol, 21,1% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 361,11 de C₁₆H₂₃Cl₂N₂O₃ foi encontrado 361,11.

Preparo 55:**3-(2-((6-cloro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila**

[00349] Uma solução 2M de nBuLi em hexanos (3,05 ml, 6,11 mmol) foi adicionada gota a gota a uma solução de 3-(2-((2,6-dicloropiridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (2,0 g, 5,55 mmol) em THF (40 ml) a -78 °C. DMF (0,64 ml, 8,33 mmol) foi adicionado em uma porção e a mistura reacional foi agitada a -78 °C durante 10 minutos. Foi adicionado ácido acético a 5% em éter dietílico e a mistura foi ainda mais diluída com água. A camada aquosa foi extraída com acetato de etila (3 vezes). Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir o intermediário bruto 3-(2-((2,6-dicloro-3-formilpiridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila.

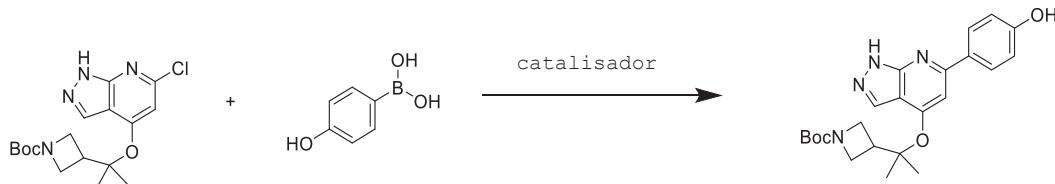
[00350] Hidrato de hidrazila (1,0 ml, 20,56 mmol) foi adicionado gota a gota a uma solução do produto bruto 3-(2-((2,6-dicloro-3-formilpiridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila em THF (40 ml) a 0 °C, e a mistura reacional foi agitada a ta durante 2 horas. Foi adicionada trietilamina (1,45 ml, 10,28 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 60 °C durante 16 horas. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* e o resíduo resultante

foi diluído com água e extraído com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução saturada aquosa de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir o líquido bruto. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando EtOAc a 20% em hexanos para produzir

3-((2-((6-cloro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-tubila (1,20 g, 3,27 mmol, 58,9% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 367,15 de C₁₇H₂₃ClN₄O₃ foi encontrado 367,00.

Preparo 56:

3-((2-((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila

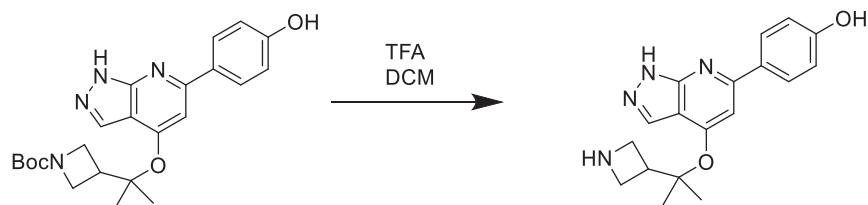


[00351] Carbonato de sódio (636 mg, 6,00 mmol) foi adicionado a uma solução de 3-((2-((6-cloro-1H-pirazolo[3,4-b]piridina-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,1 g, 3,00 mmol) em 4:1 dioxano/água (15 ml), seguido pelo ácido fenolborônico (496 mg, 3,60 mmol) e a mistura reacional foi desgaseificada com argônio durante 10 minutos. O aduto dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II) diclorometano (245 mg, 0,3 mmol) foi adicionado, a mistura reacional foi desgaseificada com argônio durante 5 minutos e a mistura reacional foi agitada *sob irradiação de*

micro-ondas a 130 °C durante 1 hora. A mistura reacional foi diluída com água e extraída com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados sob vácuo para produzir o líquido bruto. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 50% em hexanos para produzir 3-((2-((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (650 mg, 1,53 mmol, 51,0% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 425,22 de C₂₃H₂₉N₄O₄ foi encontrado 425,21.

Preparação 57:

4-((4-((2-(azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol



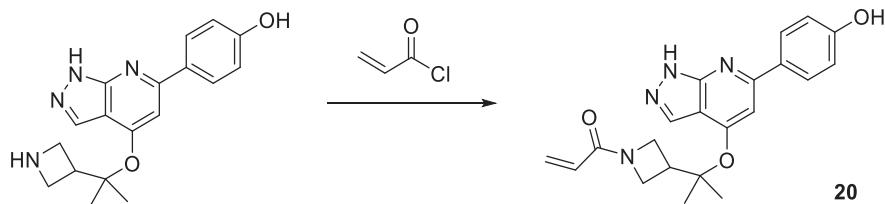
[00352] 3-((2-((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (630 mg, 1,48 mmol) foi dissolvido em diclorometano (10 ml) e TFA (6,3 ml) foi lentamente adicionado. A solução clara foi agitada à ta durante 4 horas, após a qual a LCMS indicou uma boa conversão para o produto desejado. A reação foi concentrada sob vácuo e o resíduo foi triturado com acetonitrila e éter dietílico para produzir

4-(4-((2-(azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol como um sal TFA (100% de rendimento).

(m/z): $[M+H]^+$ calculado para 325,17 de $C_{18}H_{21}N_4O_2$ foi encontrado 325,13.

Exemplo 20:

1-(3-(2-((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidin-1-il)prop-2-en-1-ona

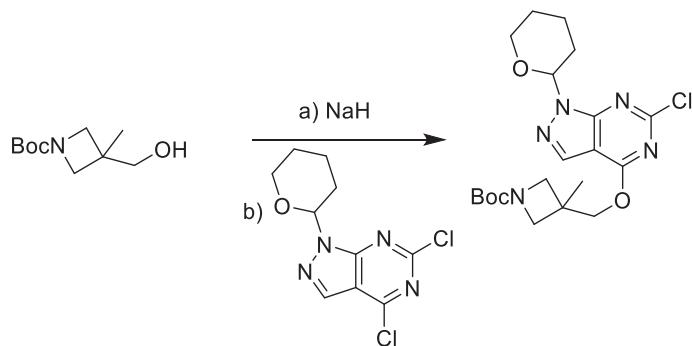


[00353] Di-isopropiletilamina (0,298 ml, 1,711 mmol) foi adicionada a uma solução de sal TFA de 4-(4-((2-(azetidin-3-il)propan-2-il)oxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol (150 mg, 0,342 mmol) em DMF (3,00 ml) a 0 °C, seguido de cloreto de acriloila (0,031 ml, 0,376 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 10-70% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir 1-(3-(2-((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)propan-2-il)azetidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (80,5 mg, 0,163 mmol, 47,8% de rendimento).

(m/z): $[M+H]^+$ calculado para 379,18 de $C_{21}H_{23}N_4O_3$ foi encontrado 379,3.

Preparo 58:

3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila



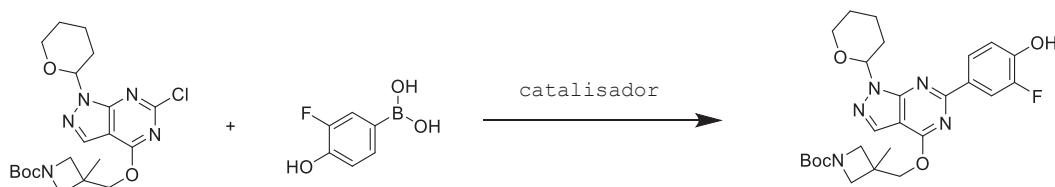
[00354] Foi adicionado hidreto de sódio (211 mg, 8,79 mmol) a uma solução de 3-(hidroximetil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (973 mg, 4,83 mmol) em DMF (4,4 ml) a 0 °C e a reação foi agitada à ta durante 30 minutos. A mistura reacional foi então adicionada gota a gota a uma solução de 4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (1,20 g, 4.39 mmol) em DMF (4,4 ml) a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta durante 2 horas. A reação foi atenuada com adição de água (1 ml) e a mistura resultante foi concentrada *sob vácuo* para produzir um líquido marrom claro. Água (10 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 20 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio (5 ml) e secos sobre sulfato de sódio para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 40% em hexanos para produzir 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (900 mg, 1,86 mmol).

3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (900 mg, 1,86 mmol)

irimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,06 g, 4,39 mmol, 54,9% de rendimento). (m/z) : [M+H]⁺ calculado para 438,19 de C₂₀H₂₉N₅O₄ foi encontrado 438,6.

Preparo 59:

3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila

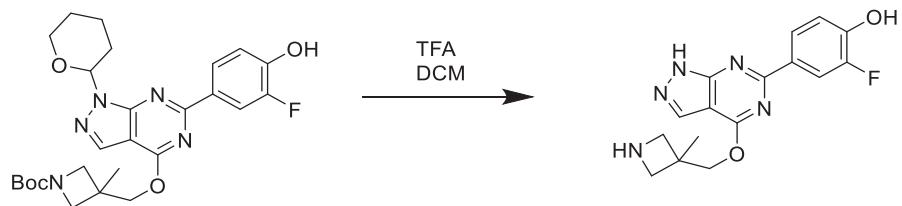


[00355] Uma solução de fosfato de potássio tribásico (218 mg, 1,03 mmol) foi adicionada a uma solução de 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (150 mg, 0,343 mmol) em 4:1 dioxano/água (1,71 ml), seguida por ácido 3-fluoro-4-hidroxifenilborônico (80,0 mg, 0,514 mmol) e a mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos. Acetato de paládio (15,4 mg, 0,069 mmol) e 1,1'-bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno (32,5 mg, 0,069 mmol) foram adicionados e a mistura reacional foi agitada a 110 °C durante a noite. A mistura reacional foi concentrada *sob* vácuo a um volume de cerca de 5 ml. Uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (20 ml) foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 20 ml). Os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob* vácuo para produzir um

líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 40% em hexanos para produzir 3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (65 mg, 0,343 mmol, 37,0% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 514,25 de C₂₆H₃₃FN₅O₅ foi encontrado 514,7.

Preparação 60:

2-fluoro-4-((3-metilazetidin-3-il)methoxi)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-6-il)fenol

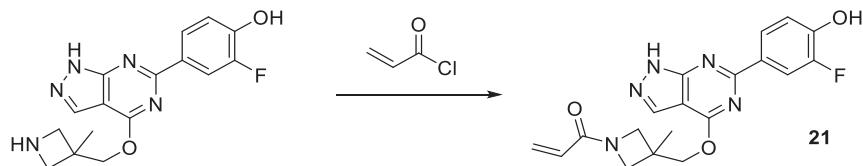


[00356] 3-(((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidina-1-carboxilato de terc-butila (65 mg, 0,127 mmol) foi dissolvido em diclorometano (0,56 ml) e TFA (0,56 ml) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada à temperatura durante 4 horas. A reação foi concentrada *sob vácuo* para produzir

2-fluoro-4-((3-metilazetidin-3-il)methoxi)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-6-il)fenol como um sal TFA (100% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 330,14 de C₁₆H₁₇FN₅O₂ foi encontrado 330,3.

Exemplo 21:

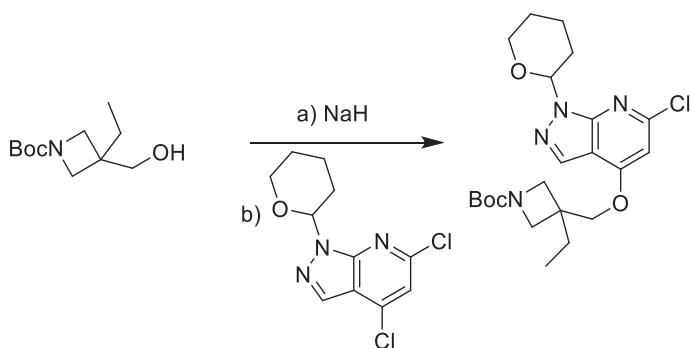
1-((3-((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidin-1-il)prop-2-en-1-ona



[00357] Di-isopropiletilamina (0,210 ml, 1,20 mmol) foi adicionada a uma solução de sal TFA de 2-fluoro-4-((3-metilazetidin-3-il)methoxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol (53,2 mg, 0.12 mmol) em DMF (0,60 ml) a 0 °C, seguido de cloreto de acriloila (9,75 µl, 0,120 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* para produzir o líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 10-60% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir 1-((3-((6-(3-fluoro-4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)oxi)metil)-3-metilazetidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (10,5 mg, 0,120 mmol, 21,7% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 384,15 de C₁₉H₁₉FN₅O₃ foi encontrado 384,3.

Preparo 61:

3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)-3-etylazetidina-1-carboxilato de terc-butila



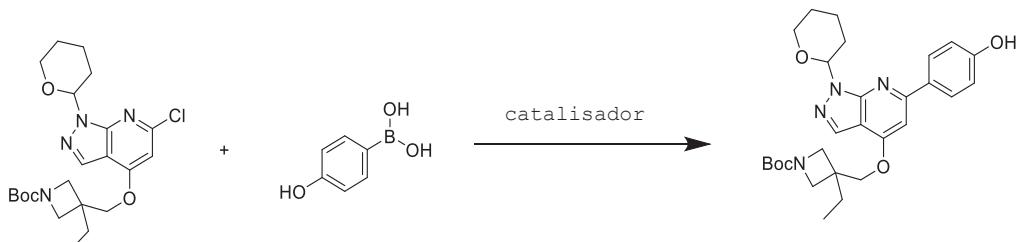
[00358] Hidreto de sódio a 60% em peso em óleo mineral (353 mg, 8,82 mmol) foi adicionado a uma solução de 3-etyl-3-(hidroximetil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (1,1 g, 4,85 mmol) em DMF (10 ml) a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta durante 40 minutos. Uma solução de

4,6-dicloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]pyridina (1,20 g, 4,41 mmol) em DMF (5 ml) a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta durante 1 hora. A mistura reacional foi atenuada com a adição de água e a mistura foi extraída com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com água e secos sobre sulfato de sódio para produzir um resíduo bruto. O resíduo bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando EtOAc a 5% em hexanos para produzir 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]pyridin-4-il)oxi)metil)-3-etylazetidina-1-carboxilato de terc-butila (900 mg, 4,39 mmol, 45,2% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 451,21 de C₂₂H₃₂N₄O₄ foi encontrado 451,13.

Preparo 62:

3-etyl-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1-

H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila



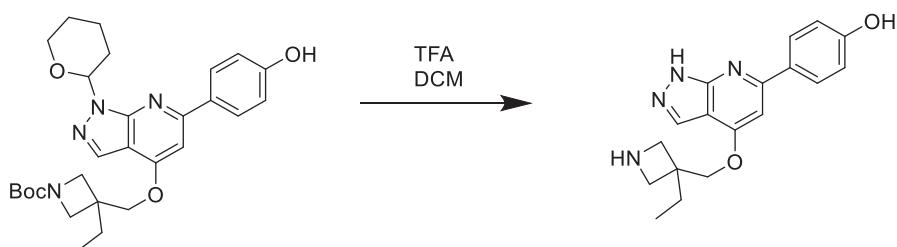
[00359] Uma solução de ácido fenilborônico (413 mg, 2,99 mmol) e bicarbonato de sódio (421 mg, 3,98 mmol) em água (2 ml) foi adicionada a uma solução de 3-(((6-cloro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)-3-etylazetidina-1-carboxilato de terc-butila (900 mg, 1,99 mmol) em dioxano (8 ml) e a mistura reacional foi desgaseificada com argônio durante 5 minutos.

[00360] O aduto dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II) diclorometano (162 mg, 0,19 mmol) foi adicionado, a mistura reacional foi desgaseificada com argônio durante 5 minutos e a mistura reacional foi agitada a 110 °C durante 1 hora. A mistura reacional foi diluída com acetato de etila e filtrada através de celite. Foi adicionada água, a camada de acetato de etila foi separada e a camada aquosa foi extraída com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir o líquido bruto. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 30% em hexanos para produzir 3-etyl-3-((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1

H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (800 mg, 1,57 mmol, 79,0% de rendimento). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para 509,28 de $C_{28}H_{37}N_4O_5$ foi encontrado 509,29.

Preparação 63:

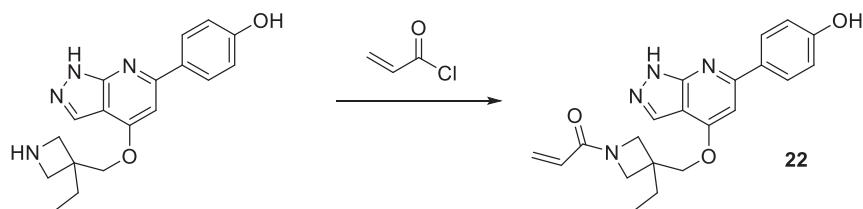
4-(4-((3-etylazetidin-3-il)metoxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol



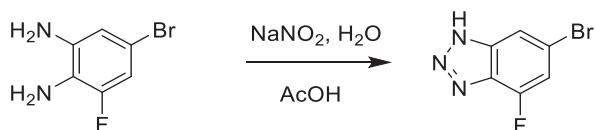
[00361] 3-etil-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidina-1-carboxilato de terc-butila (800 mg, 1,57 mmol) foi dissolvido em diclorometano (10 ml) e TFA (10 ml) foi adicionado a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta durante 3 horas. A reação foi concentrada *sob vácuo* e o resíduo resultante foi triturado com éter dietílico. O resíduo bruto foi dissolvido em uma quantidade mínima de acetonitrila e precipitado com éter dietílico para produzir 4-(4-((3-etylazetidin-3-il)metoxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol como um sal TFA (287 mg, 0,885 mmol, 56,3% de rendimento). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para 325,17 de $C_{18}H_{21}N_4O_2$ foi encontrado 325,07.

Exemplo 22:

1-(3-etyl-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)prop-2-en-1-ona



[00362] Di-isopropiletilamina (0,246 ml, 1,41 mmol) foi adicionada a uma solução de sal TFA de 4-(4-((3-etylazetidin-3-il)metoxi)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-il)fenol (124 mg, 0,283 mmol) em DMF (2,0 ml) a 0 °C, seguido de cloreto de acriloila (25 µl, 0,311 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob* vácuo para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 20-80% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir 1-(3-etyl-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il)oxi)metil)azetidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (44,8 mg, 0,118 mmol, 41,9% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 379,18 de C₂₁H₂₃N₄O₃ foi encontrado 379,3.

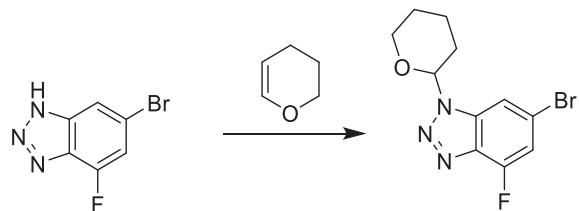
Preparação 64: 6-bromo-4-fluoro-1H-benzo[d][1,2,3]triazol

[00363] Uma solução de nitrito de sódio (1,85 g, 26,8 mmol) em água (50 ml) foi adicionada a uma solução de

5-bromo-3-fluorobenzeno-1,2-diamina (5,00 g, 24,4 mmol) em água (50 ml) e ácido acético (18,0 ml) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos e depois a 85 °C durante 1 hora. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo, água foi adicionada ao resíduo resultante. A mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 300 ml), os extratos de acetato de etila foram combinados, secos sobre sulfato de sódio e concentrados sob vácuo para produzir 6-bromo-4-fluoro-1H-benzo[d][1,2,3]triazol (5,0 g, 23,1 mmol, 94,0% de rendimento). (m/z): [M+H]⁺ calculado para 213,94 de C₆H₃BrFN₃O foi encontrado 213,94.

Preparação 65:

6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol

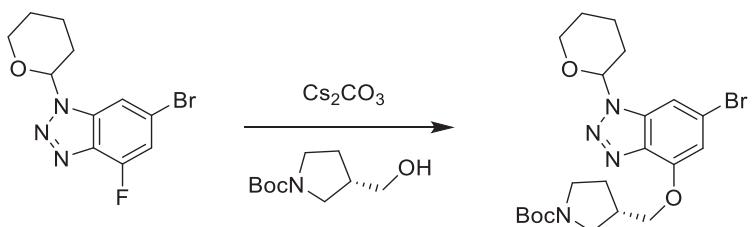


[00364] Ácido p-toluenossulfônico (796 mg, 4,62 mmol) foi adicionado a uma solução de 6-bromo-4-fluoro-1H-benzo[d][1,2,3]triazol (5,0 g, 23,1 mmol) em tetraidrofuran (200 ml), seguido de 3,4-di-idro-2H-pirano (7,7 g, 92,6 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 4 horas. A mistura reacional foi concentrada sob vácuo e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna flash usando

acetato de etila a 10% em hexanos para produzir 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol (3,8 g, 12,7 mmol, 55,4% de rendimento). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para 300,01 de $C_{11}H_{12}BrFN_3O$ foi encontrado 300,09.

Preparo 66:

(3S)-3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metyl)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila



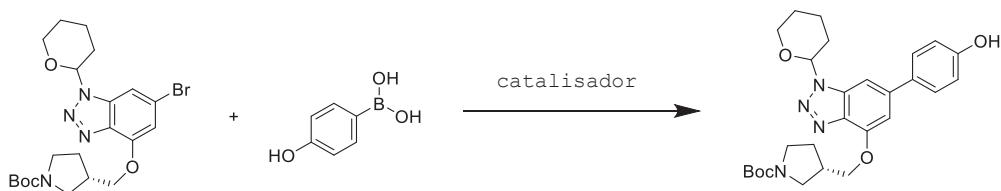
[00365] Carbonato de césio (1,50 g, 4,64 mmol) foi adicionado a uma solução de (S)-3-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (564 mg, 2,80 mmol) em DMSO (15 ml) a 0 °C, seguido de 6-bromo-4-fluoro-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol (700 mg, 2,34 mmol) e a mistura reacional foi agitada a 80 °C durante 3 horas. Água foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x). Os extratos de acetato de etila foram combinados, lavados com água e uma solução aquosa de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *sob vácuo* para produzir o resíduo bruto. O resíduo bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 30% em hexanos para produzir

(3S)-3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,

2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (500 mg, 1,04 mmol, 45,6% de rendimento). (m/z) : [M+H]⁺ calculado para 481,15 de C₂₁H₃₀BrN₄O₄ foi encontrado 481,2.

Preparo 67:

(3S)-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila



[00366] Ácido fenolborônico (192 mg, 1,40 mmol) foi adicionado à solução de

(3S)-3-(((6-bromo-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (450 mg, 0,93 mmol) em dioxano (10 ml) e água (2 ml), seguido de fosfato de potássio (394 mg, 1,86 mmol) e a reação foi desgaseificada com argônio durante 15 minutos.

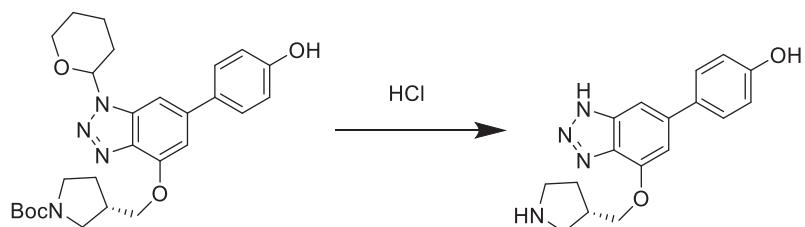
O complexo de cloreto de

2'-(dimetilamino)-2-bifenilil-paládio(II) dinorbornilfosfina (52 mg, 0,093 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada a 110 °C durante 40 minutos sob irradiação de micro-ondas. A mistura reacional foi filtrada através de celite. Água foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x). Os extractos de acetato de etila foram combinados, lavados com uma solução aquosa de cloreto de sódio, secos sobre sulfato de sódio e concentrados sob vácuo para produzir o resíduo bruto. O resíduo bruto foi

purificado por cromatografia em coluna flash usando acetato de etila a 30% em hexanos para produzir (3S)-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (300 mg, 0,607 mmol, 65,0% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 495,26 de C₂₇H₃₅N₄O₅ foi encontrado 495,06.

Preparação 68:

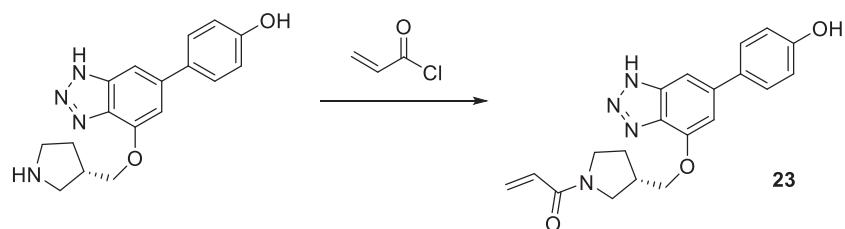
(S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilmetoxi)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-6-il)fenol



[00367] Ácido clorídrico 4M em dioxano (10,0 ml, 40 mmol) foi adicionado a uma solução de ((3S)-3-(((6-(4-hidroxifenil)-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidina-1-carboxilato (230 mg, 0,465 mmol) em metanol (2 ml) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 5 horas. A reação foi concentrada *sob* vácuo e o resíduo resultante foi triturado com éter dietílico para produzir (S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilmetoxi)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-6-il)fenol como um sal cloridrato (225 mg, 0,649 mmol, 85,0% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 311,15 de C₁₇H₁₉N₄O₂ foi encontrado 311,06.

Exemplo 23:

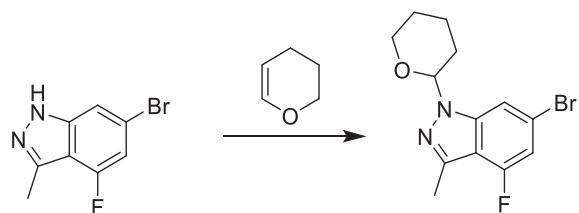
(S)-1-((3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona



[00368] Di-isopropiletilamina (0,083 ml, 0,475 mmol) foi adicionada a uma solução de sal de cloridrato de (S)-4-(4-(pirrolidin-3-ilmetoxi)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-6-il)fenol (32,9 mg, 0,095 mmol) em DMF (0,475 ml) a 0 °C, seguido de cloreto de acriloila (7,7 µl, 0,095 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 15 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* para produzir um líquido marrom. O líquido bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 5-75% de acetonitrila em água com 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-1-((3-(((6-(4-hidroxifenil)-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)metil)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (2,5 mg, 0,068 mmol, 7,2% de rendimento). (*m/z*) : [M+H]⁺ calculado para 365,16 de C₂₀H₂₁N₄O₃ foi encontrado 365,1.

Preparação 69:

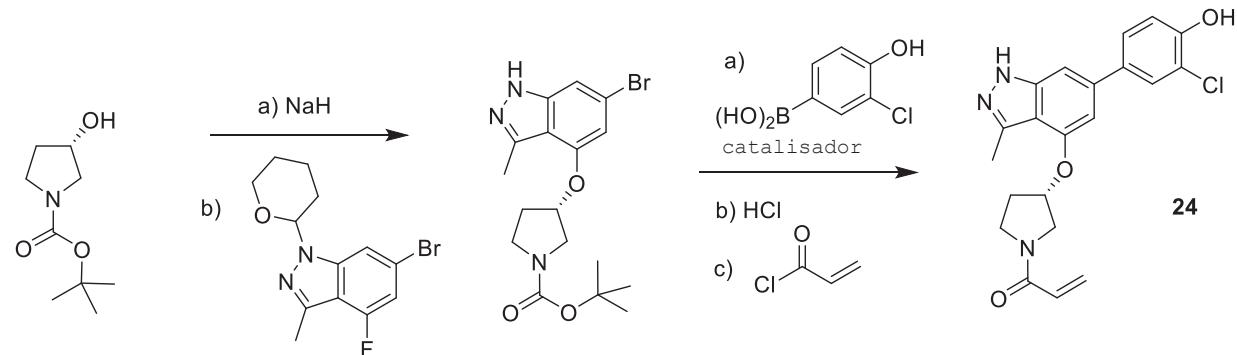
6-bromo-4-fluoro-3-metil-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol



[00369] Ácido p-toluenossulfônico (236 mg, 1,24 mmol) foi adicionado a uma solução de 6-bromo-4-fluoro-3-metil-1H-indazol (2,84 g, 12,4 mmol) em diclorometano (41 ml), seguido de 3,4-di-idro-2H-pirano (3,13 g, 37,2 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante 3 dias. A mistura reacional filtrada através de um bloco de sílica gel e o filtrado foi concentrado sob vácuo para produzir 6-bromo-4-fluoro-3-metil-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (3,3 g, 10,5 mmol, 85% de rendimento). (m/z): $[M+H]^+$ calculado para 335,02 de $C_{13}H_{14}BrFN_2NaO$ foi encontrado 335,4.

Exemplo 24:

(S)-1-((3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-metil-1H-indazol-4-oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona



[00370] Hidreto de sódio a 60% em peso em óleo mineral (319 mg, 7,98 mmol) foi adicionado a uma solução de (S)-1-boc-3-hidroxipirrolidina (1,3 g, 6,94 mmol) em DMF (16 ml) a 0 °C e a mistura reacional foi agitada à ta

durante 20 minutos. Foi adicionado 6-bromo-4-fluoro-3-metil-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol (1,00 g, 3,19 mmol) e a mistura reacional foi agitada à ta durante a noite. A reação foi atenuada com a adição de água e a mistura foi concentrada *sob* vácuo para produzir o intermediário bruto

(3S)-3-((6-bromo-3-metil-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila.

[00371] Ácido 3-cloro-4-hidroxifenilborônico (0,484 g, 2,81 mmol) e fosfato de potássio tribásico (1,19 g, 5,62 mmol) foram adicionados a uma solução de (3S)-3-((6-bromo-3-metil-1-(tetraidro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila bruto em 2:1 dioxano/água (9,5 ml) e a mistura reacional foi desgaseificada com nitrogênio durante 10 minutos.

Metanossulfonato de

(2-Dicicloexilfosfino-2',4',6'-tri-isopropil-1,1'-bifenil) [2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paládio(II), XPhos-G3-Palladacycle (95 mg, 0,112 mmol) foi adicionado e a mistura reacional foi agitada a 110 °C durante 3 horas sob irradiação de micro-ondas. Água foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila. Os extratos de acetato de etila foram combinados e concentrados *sob* vácuo para produzir o intermediário bruto

(3S)-3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-metil-1-(tetraidro-2H-pirano-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila.

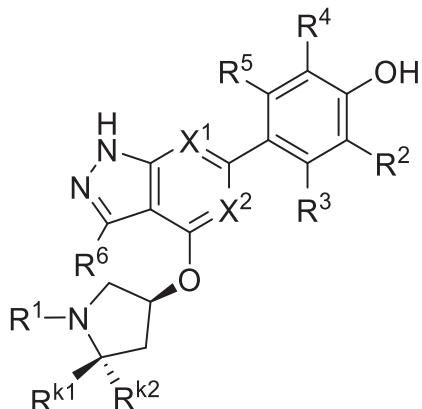
[00372] Foi adicionado HCl 4,0 N em dioxano (3,75 ml, 15,0 mmol) a uma solução de ((3S)-3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-metil-1-(tetraidro-2H-

-pirano-2-il)-1H-indazol-4-il)oxi))pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila em metanol (0,5 ml) e a mistura reacional foi agitada a 60 °C durante 30 minutos. A mistura reacional foi concentrada *sob vácuo* para produzir o intermediário bruto (S)-2-cloro-4-(3-metil-4-(pirrolidin-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol.

[00373] N,N-Di-isopropiletilamina (4,59 ml, 26,3 mmol) foi adicionada a uma solução do intermediário bruto (S)-2-cloro-4-(3-metil-4-(pirrolidin-3-iloxi)-1H-indazol-6-il)fenol em cloreto de metileno (3,75 ml), seguida por cloreto de acriloila (60,9 μ l, 0,750 mmol). A mistura reacional foi agitada à ta durante 30 minutos e depois concentrada *sob vácuo* para produzir o resíduo bruto. O resíduo bruto foi purificado por cromatografia em coluna C18 em escala preparatória usando um gradiente de 0-40% de acetonitrila e água em 0,05% de ácido trifluoroacético para produzir (S)-1-(3-((6-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-metil-1H-indazol-4-il)oxi)pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona como um sal TFA (7,6 mg, 0,015 mmol, 0,98% de rendimento). (*m/z*): [M+H]⁺ calculado para 398,13 de C₂₁H₂₁ClN₃O₃ foi encontrado 398,3.

[00374] Os compostos das Tabelas 1-12 foram preparados usando métodos de síntese similares.

Tabela 1



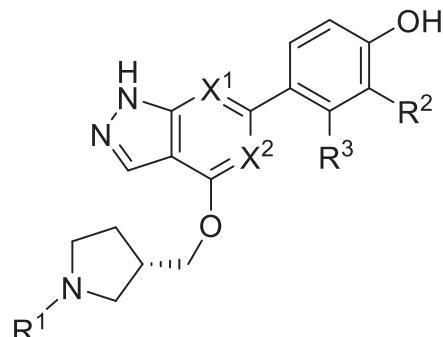
Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
1-1		H	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₃	407,20	407
1-2		H	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	350,13	350
1-3		Cl	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441,15	441,1
1-4		F	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₃	425,18	425,1
1-5		F	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368,12	368
1-6		H	H	H	H	H	N	N	H	H	C ₁₈ H ₁₇ N ₅ O ₃	352,12	352,3
1-7		H	H	H	H	H	CH	N	H	H	C ₂₂ H ₂₅ N ₅ O ₃	408,18	408,2
1-8		H	H	H	H	H	CH	N	H	H	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,2
1-9		H	H	H	H	H	N	CH	H	H	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,1
1-10		H	H	H	H	H	CH	CH	Me	H	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,20	421,3
1-11		H	H	H	H	H	CH	CH	Me	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,2

Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
1-12		H	H	H	H	H	CH	CH	H	Me	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364
1-13		F	F	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₄	386,11	386
1-14		F	H	F	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	386,11	386
1-15		F	Cl	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ ClFN ₇ O ₃	402,08	402
1-16		F	H	H	Me	H	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,1
1-17		H	F	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368,12	368,0
1-18		H	F	H	F	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	386,11	386,0
1-19		F	H	H	F	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	386,11	386,0
1-20		H	H	H	H	Me	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,0
1-21		H	H	H	H	NHMe	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,0
1-22		H	H	H	H	CH ₂ -OMe	CH	CH	H	H	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₄	394,15	394,0
1-23		F	H	H	H	Me	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,0
1-24		H	H	H	H	H	N	N	Me	H	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₃	366,13	366,0
1-25		H	H	H	H	CHF ₂	N	N	H	H	C ₁₉ H ₁₇ F ₂ N ₅ O ₃	402,11	402,0
1-26		H	H	H	H	H	N	CH	Me	H	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0

Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
1-27		F	H	H	H	H	CH	N	H	H	C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₃	369,11	369,2
1-28		F	H	H	H	H	CH	N	H	H	C ₂₂ H ₂₄ FN ₅ O ₃	426,17	426,1
1-29		F	H	H	Me	H	CH	CH	H	H	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439,19	439,1
1-30		F	H	H	F	Me	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	400,12	400,4
1-31		H	H	H	H	Me	N	CH	H	H	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0
1-32		Cl	H	H	H	Me	N	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399,10	399,0
1-33		F	H	H	H	Me	N	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,0
1-34		H	H	H	H	Me	CH	N	H	H	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0
1-35		Cl	H	H	H	Me	CH	N	H	H	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399,10	399,0
1-36		F	H	H	H	Me	CH	N	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,0
1-37		Cl	H	H	H	Me	N	N	H	H	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	400,09	400,0
1-38		F	H	H	H	Me	N	N	H	H	C ₁₉ H ₁₈ FN ₅ O ₃	384,12	384,0

Ex. Nº.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
1-39		H	H	H	H	SMe	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃ S	396,11	396,4
1-40		F	H	H	H	SMe	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃ S	414,11	414,0
1-41		Cl	H	H	H	SMe	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃ S	430,08	430,0
1-42		H	H	H	H	NMe ₂	CH	CH	H	H	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₃	393,17	393,0
1-43		H	H	H	H	CF ₃	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	418,11	418,4
1-44		H	H	H	H	OMe	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	380,14	380,0
1-45		H	H	H	H	CN	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₃	375,12	375,0
1-46		Cl	H	H	H	OMe	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₁₇ ClN ₄ O ₃	409,08	409,0
1-47		H	H	H	H	Cl	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	384,09	384,1
1-48		H	H	H	H	Cl	CH	CH	H	H	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441,15	441,8

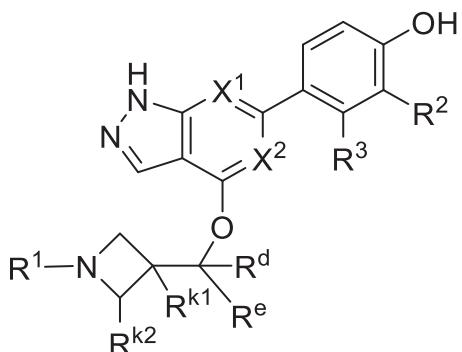
Tabela 2



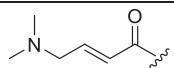
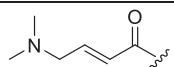
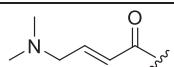
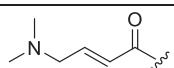
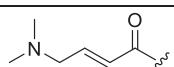
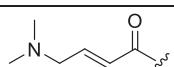
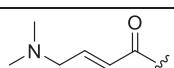
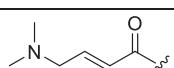
Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
2-1		H	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,20	421,2
2-2		Cl	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ N ₄ O ₃ Cl	455,16	455,1
2-3		Cl	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398,10	398,2
2-4		F	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439,19	439,3
2-5		F	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,1
2-6		H	H	N	CH	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0
2-7		H	H	N	N	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₃	366,13	366,0
2-8		H	H	CH	N	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0
2-9		Cl	H	CH	N	C ₂₃ H ₂₆ ClN ₅ O ₃	456,16	456,2
2-10		F	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,0
2-11		Cl	H	N	N	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	400,09	400,1

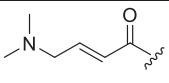
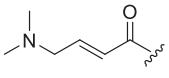
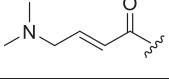
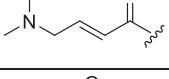
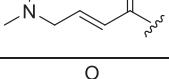
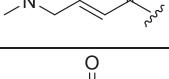
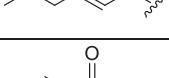
2-12		H	H	N	CH	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0
2-13		F	H	CH	N	C ₂₃ H ₂₆ FN ₅ O ₃	440,19	440,3
2-14		Cl	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399,10	399,0
2-15		F	H	N	N	C ₁₉ H ₁₈ FN ₅ O ₃	384,12	384,1
2-16		Cl	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399,10	399,1
2-17		F	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,1

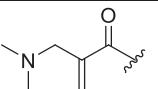
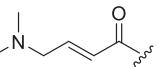
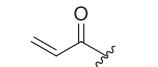
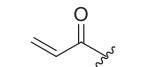
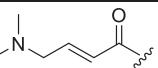
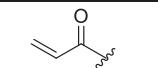
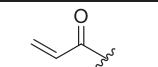
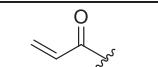
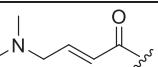
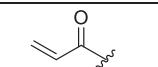
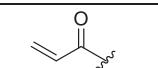
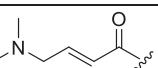
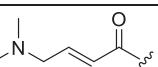
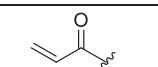
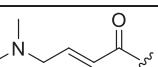
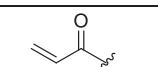
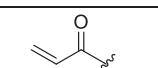
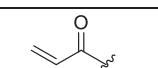
Tabela 3



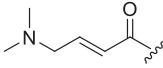
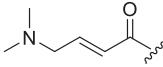
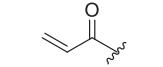
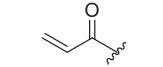
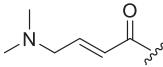
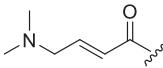
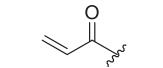
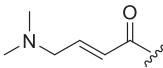
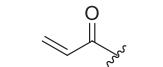
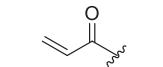
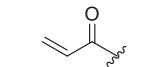
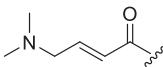
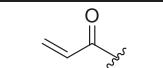
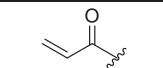
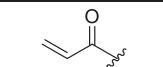
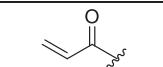
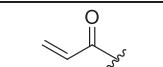
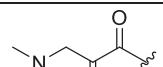
Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	R ^d	R ^e	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
3-1		H	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	350,13	350,2
3-2		Cl	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441,15	441,3
3-3		Cl	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	384,09	384,1
3-4		F	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368,12	368,2
3-5		H	H	CH	CH	F	H	H	H	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₃	425,18	425,1

3-6		H	H	CH	CH	F	H	H	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368,12	368,2
3-7		H	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,20	421,1
3-8		H	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,1
3-9		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ₃	455,16	456,1
3-10		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398,10	398,1
3-11		F	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439,19	439,2
3-12		F	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,1
3-13		H	H	CH	CH	Et	H	H	C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃	435,22	435,1
3-14		H	H	CH	CH	Et	H	H	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378,16	378,1
3-15		Cl	H	CH	CH	Et	H	H	C ₂₅ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	469,18	469,1
3-16		Cl	H	CH	CH	Et	H	H	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	412,12	412,1
3-17		F	H	CH	CH	Et	H	H	C ₂₅ H ₂₉ FN ₄ O ₃	453,21	453,3
3-18		F	H	CH	CH	Et	H	H	C ₂₂ H ₂₂ FN ₃ O ₃	396,15	396,1
3-19		H	H	CH	CH	CN	H	H	C ₂₄ H ₂₅ N ₅ O ₃	432,18	432,1
3-20		H	H	CH	CH	CN	H	H	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₃	375,12	375,1
3-21		Cl	H	CH	CH	CN	H	H	C ₂₄ H ₂₄ ClN ₅ O ₃	466,14	466,2
3-22		Cl	H	CH	CH	CN	H	H	C ₂₁ H ₁₇ ClN ₄ O ₃	409,08	409,1
3-23		F	H	CH	CH	CN	H	H	C ₂₁ H ₁₇ FN ₄ O ₃	393,11	393,1

3-24		H	H	CH	CH	H	H	Me	Me	C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃	435,22	435,0
3-25		H	H	CH	CH	H	H	Me	Me	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378,16	378,1
3-26		Cl	H	CH	CH	H	H	Me	Me	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	412,12	412,2
3-27		F	H	CH	CH	H	H	Me	Me	C ₂₅ H ₂₉ FN ₄ O ₃	453,21	453,2
3-28		F	H	CH	CH	H	H	Me	Me	C ₂₂ H ₂₂ FN ₃ O ₃	393,15	396,3
3-29		H	H	CH	N	H	H	H	H	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,0
3-30		H	H	CH	CH	H	Me	H	H	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,20	421,2
3-31		H	H	N	N	H	Me	H	H	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₃	366,13	366,1
3-32		H	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₄	437,20	437,3
3-33		H	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	380,14	380,2
3-34		Cl	H	CH	N	H	H	H	H	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₅ O ₃	442,14	442,1
3-35		Cl	H	CH	N	H	H	H	H	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄ O ₃	385,08	385,0
3-36		F	H	CH	N	H	H	H	H	C ₂₂ H ₂₄ FN ₅ O ₃	426,17	426,0
3-37		F	H	CH	N	H	H	H	H	C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₃	369,11	369,1
3-38		Cl	H	N	N	H	H	H	H	C ₁₈ H ₁₆ ClN ₅ O ₃	386,08	386,2
3-39		F	H	N	N	H	H	H	H	C ₁₈ H ₁₆ FN ₅ O ₃	370,11	370,1
3-40		F	H	CH	CH	F	H	H	H	C ₂₃ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₃	443,17	443,1
3-41		F	H	CH	CH	F	H	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	386,11	386,2

3-60		Cl	H	N	N	H	H	H	H	C ₂₁ H ₂₃ ClN ₆ O ₃	443,14	443,1
3-61		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃	436,21	436,1
3-62		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,0
3-63		H	H	N	N	Et	H	H	H	C ₂₀ H ₂₁ N ₅ O ₃	380,15	380,2
3-64		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃	436,21	436,1
3-65		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,0
3-66		Cl	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	413,11	413,1
3-67		F	H	N	N	Et	H	H	H	C ₂₀ H ₂₀ FN ₅ O ₃	398,14	398,1
3-68		Cl	H	N	CH	Et	H	H	H	C ₂₄ H ₂₈ ClN ₅ O ₃	470,17	470,2
3-69		Cl	H	N	CH	Et	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	413,11	413,2
3-70		F	H	N	CH	Et	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397,14	397,2
3-71		Cl	H	CH	N	CN	H	H	H	C ₂₃ H ₂₃ ClN ₆ O ₃	467,14	467,0
3-72		Cl	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ₄	471,16	471,2
3-73		Cl	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₄	414,10	414,2
3-74		F	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₄	455,19	455,1
3-75		F	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₄	398,13	398,2
3-76		H	H	N	N	OMe	H	H	H	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₄	382,13	382,1
3-77		H	H	N	N	H	H	H	Me	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₃	366,13	366,1

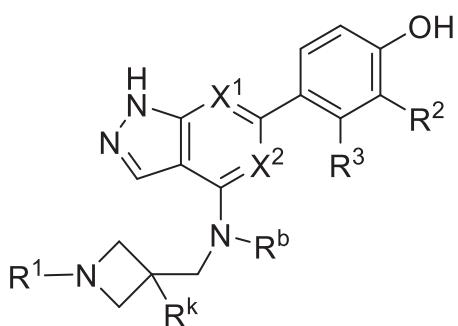
3-78		H	H	N	N	H	H	H	Me (S)	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₃	366,13	366,1
3-79		H	H	N	CH	H	H	H		C ₂₂ H ₂₅ N ₅ O ₃	408,18	408,1
3-80		Cl	H	N	CH	H	H	Me	Me	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	413,11	413,2
3-81		F	H	N	CH	H	H	Me	Me	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397,14	397,1
3-82		F	F	CH	CH	H	H	H		C ₂₃ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₃	443,17	443,7
3-83		OMe	H	CH	CH	H	H	H		C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	380,14	380,0
3-84		H	H	CH	CH	H	H	H		C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₃	348,11	348,1
3-85		H	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃	433,20	433,1
3-86		Cl	H	N	CH	H	H	H		C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄ O ₃	385,08	385,1
3-87		F	H	N	CH	H	H	H	H	C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₃	369,11	369,1
3-88		H	H	N	N	F	H	H	H	C ₂₁ H ₂₃ FN ₆ O ₃	427,17	427,2
3-89		H	H	N	CH	F	H	H	H	C ₂₂ H ₂₄ FN ₅ O ₃	426,17	426,2
3-90		H	H	CH	N	F	H	H	H	C ₁₉ H ₁₇ FN ₄ O ₃	369,11	369,1
3-91		Cl	H	CH	N	F	H	H	H	C ₂₂ H ₂₃ ClFN ₅ O ₃	460,13	460,0
3-92		Cl	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₈ H ₁₅ ClFN ₅ O ₃	404,07	404,1
3-93		F	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₈ H ₁₅ F ₂ N ₅ O ₃	388,10	388,1
3-94		Cl	H	N	CH	F	H	H	H	C ₁₉ H ₁₆ ClFN ₄ O ₃	403,07	403,1

3-95		Cl	H	CH	N	Me	H	H	C ₂₃ H ₂₆ ClN ₅ O ₃	456,16	456,2
3-96		F	H	CH	N	Me	H	H	C ₂₃ H ₂₆ FN ₅ O ₃	440,19	440,2
3-97		Cl	H	CH	N	Me	H	H	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399,10	399,2
3-98		F	H	N	CH	Me	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,2
3-99		Cl	H	CH	N	Et	H	H	C ₂₄ H ₂₈ ClN ₅ O ₃	470,17	470,1
3-100		F	H	CH	N	Et	H	H	C ₂₄ H ₂₈ FN ₅ O ₃	454,20	454,2
3-101		F	H	CH	N	Et	H	H	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397,14	397,2
3-102		H	H	CH	N	CN	H	H	C ₂₃ H ₂₄ N ₆ O ₃	433,18	433,2
3-103		H	H	CH	N	CN	H	H	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₃	376,12	376,2
3-104		H	H	N	N	CN	H	H	C ₁₉ H ₁₆ N ₆ O ₃	377,11	377,0
3-105		H	H	CH	N	CN	H	H	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₃	376,12	376,2
3-106		F	H	CH	N	CN	H	H	C ₂₃ H ₂₃ FN ₆ O ₃	451,17	451,1
3-107		Cl	H	CH	N	CN	H	H	C ₂₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₃	410,08	410,1
3-108		F	H	CH	N	CN	H	H	C ₂₀ H ₁₆ FN ₅ O ₃	394,11	394,2
3-109		Cl	H	N	N	CN	H	H	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₆ O ₃	411,07	411,1
3-110		F	H	N	N	CN	H	H	C ₁₉ H ₁₅ FN ₆ O ₃	395,10	395,1
3-111		F	H	N	CH	CN	H	H	C ₂₀ H ₁₆ FN ₅ O ₃	394,11	394,1
3-112		H	H	N	N	H	H	H	C ₂₁ H ₂₄ N ₆ O ₃	409,18	409,1

3-113		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃	435,22	435,1
3-114		H	H	CH	CH	H	Me	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,1
3-115		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃	433,20	433,1
3-116		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₆ H ₃₂ N ₄ O ₃	449,23	449,2
3-117		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₃	447,22	
3-118		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₆ H ₃₂ N ₄ O ₃	449,23	449,2
3-119		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₄	451,21	451,1
3-120		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₇ H ₃₄ N ₄ O ₅	495,24	
3-121		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₆ H ₃₂ N ₄ O ₅	481,22	
3-122		Cl	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441,15	441,1
3-123		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₄ H ₂₆ N ₄ O ₃	419,18	419,1
3-124		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃	433,20	
3-125		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₃ S	479,19	479,2
3-126		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃ S	467,18	

3-127		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ O ₄	477,23	
3-128		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ O ₄	477,23	477,2
3-129		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₄	449,20	449,1
3-130		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃ S	465,17	465,1
3-131		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ O ₃ S	493,20	493,2
3-132		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₄	449,20	
3-133		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₄	463,21	463,2
3-134		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ O ₄	477,23	

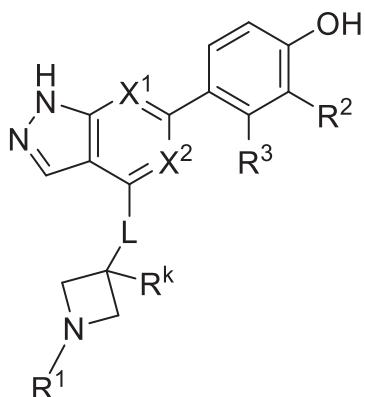
Tabela 4



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	R ^b	R ^k	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
4-1		H	H	Me	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₂	363,15	363,1
4-2		H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₂	363,15	363

4-3		H	H	H	H	CH	CH	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₂	349,14	349,1
4-4		Cl	H	Me	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ ClN ₅ O ₂	454,18	454,1
4-5		Cl	H	Me	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ O ₂	397,12	397,0
4-6		F	H	Me	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ FN ₅ O ₂	438,21	438,1
4-7		F	H	Me	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₂	481,15	381,0
4-8		H	H	Me	H	CH	N	C ₂₃ H ₂₈ N ₆ O ₂	421,21	421,2

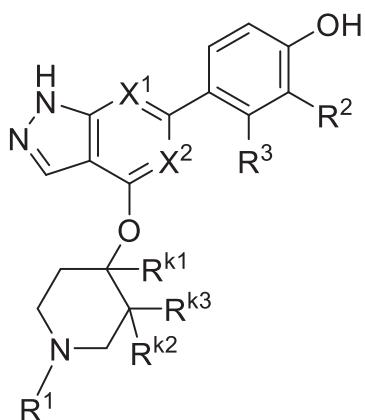
Tabela 5



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^k	L	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
5-1		H	H	CH	CH	H	O	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₃	393,17	393,4
5-2		H	H	CH	CH	H	O	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₃	336,11	336,2
5-3		Cl	H	CH	CH	H	O	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₄ O ₃	427,13	427,1
5-4		Cl	H	CH	CH	H	O	C ₁₉ H ₁₆ ClN ₃ O ₃	370,07	370,1

5-22		F	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₀ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₃	404,10	404,1
5-23		Cl	H	CH	CH	Me	O	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	384,09	384,2
5-24		F	H	CH	CH	Me	O	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368,12	368,1
5-25		H	H	CH	CH	CF ₃	O	C ₂₃ H ₂₃ F ₃ N ₄ O ₃	461,16	461,2
5-26		H	H	CH	CH	CF ₃	O	C ₂₀ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₃	404,10	404,1

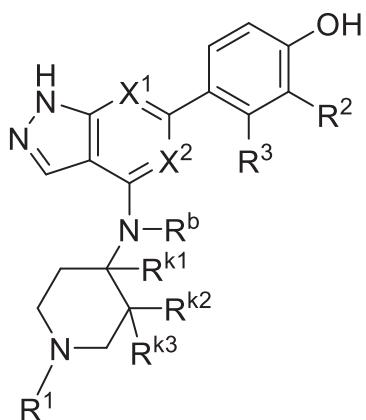
Tabela 6

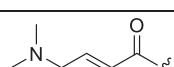
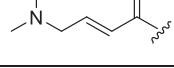
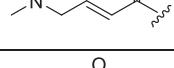


Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	R ^{k3}	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
6-1		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,20	421,2
6-2		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,2
6-3		H	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378,16	378,1
6-4		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₅ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	469,18	469,2
6-5		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	412,12	412,2

6-23		F	H	N	N	H	H	H	C ₁₉ H ₁₈ FN ₅ O ₃	384,12	384,0
------	---	---	---	---	---	---	---	---	--	--------	-------

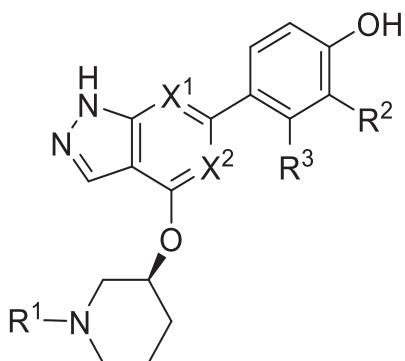
Tabela 7



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	R ^{k3}	R ^b	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
7-1		H	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₅ H ₃₁ N ₅ O ₂	434,22	434,2
7-2		H	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂	377,17	377,3
7-3		H	H	CH	CH	H	H	H	Me	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂	377,17	377
7-4		H	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₂	363,15	363
7-5		H	H	CH	CH	H	F	F	H	C ₂₄ H ₂₇ F ₂ N ₅ O ₂	456,19	456,2
7-6		H	H	CH	CH	H	F	F	H	C ₂₁ H ₂₀ F ₂ N ₄ O ₂	399,13	399,2
7-7		Cl	H	CH	CH	H	H	H	Me	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₄ O ₂	411,14	411,2
7-8		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₅ H ₃₀ ClN ₅ O ₂	468,19	468,2
7-9		F	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₂ H ₂₃ FN ₄ O ₂	395,16	395,1

7-10		F	H	CH	CH	H	H	H	Me	C ₂₂ H ₂₃ FN ₄ O ₂	395,16	395,3
7-11		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₄ O ₂	411,13	411,2
7-12		F	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₅ H ₃₀ FN ₅ O ₂	452,21	452,2
7-13		H	H	CH	N	Me	H	H	H	C ₂₁ H ₂₃ N ₅ O ₂	378,16	378,2
7-14		Cl	H	CH	N	Me	H	H	H	C ₂₁ H ₂₂ ClN ₅ O ₂	412,12	412,2

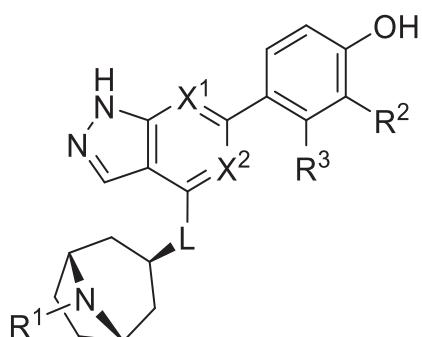
Tabela 8



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
8-1		H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364
8-2		Cl	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ₃	455,16	455,1
8-3		Cl	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398,10	398,0
8-4		F	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439,19	439,2
8-5		F	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,0
8-6		H	H	N	CH	C ₂₀ H ₂₀ FN ₄ O ₃	365,14	365,1

8-7		H	H	CH	N	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365, 14	365, 1
8-8		F	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383, 13	383, 0
8-9		F	H	CH	N	C ₂₃ H ₂₆ FN ₅ O ₃	440, 19	440, 2
8-10		Cl	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399, 10	399, 1
8-11		F	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383, 13	383, 1
8-12		Cl	H	N	N	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	400, 09	400, 2
8-13		F	H	N	N	C ₁₉ H ₁₈ FN ₅ O ₃	384, 12	384, 0
8-14		Cl	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399, 10	399, 0

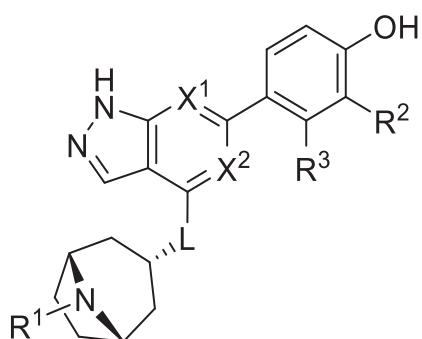
Tabela 9



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	L	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
9-1		H	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₃	390, 16	390, 1
9-2		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	424, 12	424, 0
9-3		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	481, 18	481, 1

9-4		F	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₂ FN ₃ O ₃	408, 15	408, 1
9-5		F	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ O ₃	465, 21	465, 1
9-6		H	H	CH	N	O	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₃	391, 15	391, 1
9-7		Cl	H	CH	N	O	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	425, 11	425, 0
9-8		Cl	H	CH	N	O	C ₂₅ H ₂₈ ClN ₅ O ₃	482, 17	482, 1
9-9		H	H	CH	CH	NH	C ₂₃ H ₂₄ N ₄ O ₂	389, 17	389, 2
9-10		F	H	CH	N	O	C ₂₂ H ₂₁ FN ₄ O ₃	409, 14	409, 0
9-11		H	H	N	N	O	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₃	392, 15	392, 2

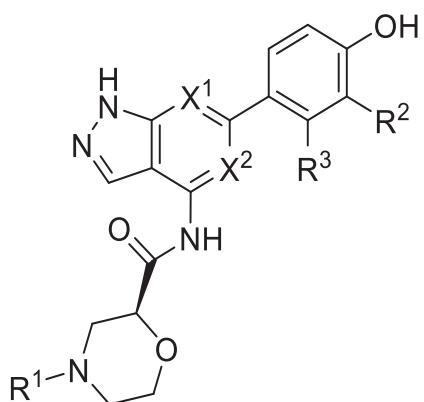
Tabela 10



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	L	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
10-1		H	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₃	447, 22	447, 2
10-2		H	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₃	390, 16	390, 2

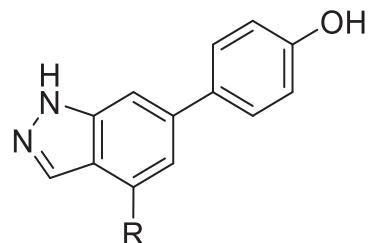
10-3		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	481,18	481,3
10-4		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	424,12	424,2
10-5		F	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ O ₃	465,21	465,2
10-6		F	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₂ FN ₃ O ₃	408,15	408,1
10-7		H	H	CH	CH	NH	C ₂₃ H ₂₄ N ₄ O ₂	389,17	389,3

Tabela 11

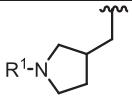
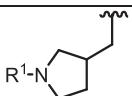
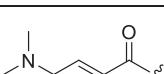
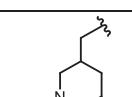
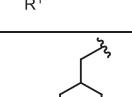
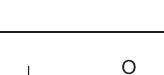
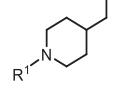
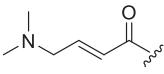
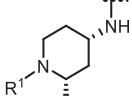
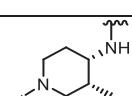
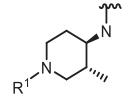
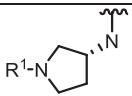
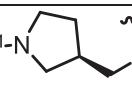
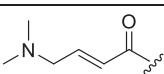
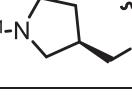
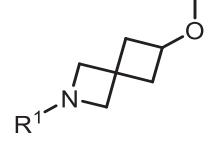
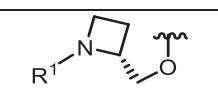
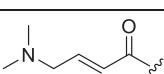


Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
11-1		H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₄	393,12	393,1
11-2		H	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₄	450,18	450,2

Tabela 12

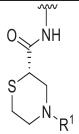
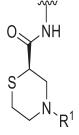
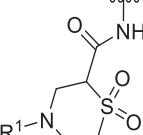
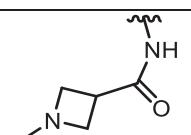
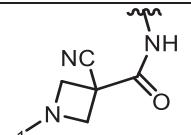
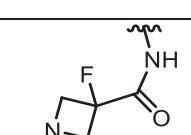
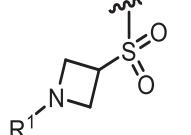
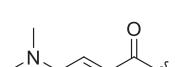
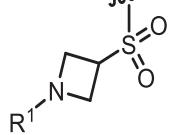
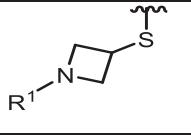
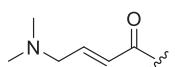


Ex. No.	R	R ¹	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
12-1			C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₂ S	423,16	423,1
12-2			C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂ S	366,10	366,2
12-3			C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₂ S	423,16	423,2
12-4			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₂ S	380,12	380,3
12-5			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₂ S	437,18	437,2
12-6			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₂ S	380,12	380,2
12-7			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₂ S	437,18	437,2
12-8			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄ S	412,11	412,1
12-9			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄ S	412,11	412,1

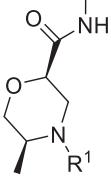
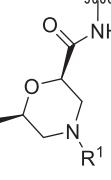
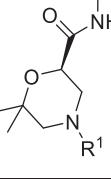
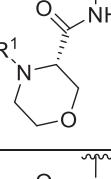
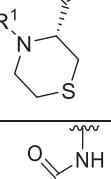
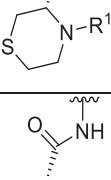
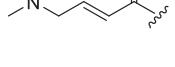
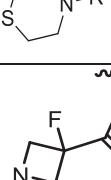
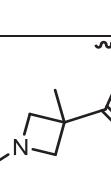
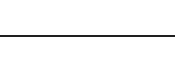
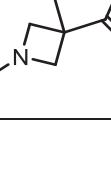
12-10 (racemic)			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₂	348, 15	348, 2
12-11 (racemic)			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₂	405, 21	405, 2
12-12 (racemic)			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₂	362, 16	362, 3
12-13 (racemic)			C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₂	419, 22	419, 2
12-14			C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₂	149, 22	419, 2
12-15			C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂	377, 17	377
12-16			C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂	377, 17	377, 2
12-17			C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂	377, 17	377, 3
12-18			C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₂	349, 14	349, 2
12-19			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421, 20	421, 3
12-20			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364, 14	364, 2
12-21			C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃	376, 14	376, 4
12-22			C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₃	407, 18	407, 1

12-23			C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	350, 13	350, 1
12-24			C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₃	407, 18	407, 2
12-25			C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	350, 13	350, 2
12-26			C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃	435, 22	435, 1
12-27			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378, 16	378, 1
12-28			C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃	435, 22	435, 2
12-29			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378, 16	378, 2
12-30			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378, 16	378, 2
12-31			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378, 16	378, 2
12-32			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378, 16	378, 1
12-33			C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378, 16	378, 2

12-34			C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂ S	366, 10	366, 1
12-35			C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₂ S	352, 09	352, 3
12-36			C ₂₅ H ₂₇ FN ₄ O ₃	451, 19	451, 2
12-37			C ₂₂ H ₂₀ FN ₃ O ₃	394, 13	394, 2
12-38			C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₃	407, 18	407, 3
12-39			C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	350, 13	350, 1
12-40			C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₃	391, 15	391, 1
12-41			C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₃	416, 14	416, 1
12-42			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	409, 10	409, 1

12-43			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	409, 10	409, 3
12-44			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	409, 10	409, 3
12-45			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₅ S	441, 09	441, 1
12-46			C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₃	363, 11	363, 1
12-47			C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O ₃	388, 11	388, 0
12-48			C ₂₀ H ₁₇ FN ₄ O ₃	381, 10	381, 0
12-49			C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₄ S	441, 14	441, 2
12-50			C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₄ S	384, 08	384, 0
12-51			C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂ S	409, 15	409, 3

12-52			C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃	433, 20	433, 2
12-53			C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃	433, 20	433, 5
12-54			C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃	376, 14	376, 5
12-55			C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₃	391, 15	391, 1
12-56			C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₃	391, 15	391, 0
12-57			C ₂₃ H ₂₄ N ₄ O ₃	405, 16	405, 2
12-58			C ₂₂ H ₂₁ FN ₄ O ₃	409, 14	409, 3
12-59			C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₃	391, 15	391, 1

12-60			C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₄	407, 14	407, 1
12-61			C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₄	407, 14	407, 1
12-62			C ₂₃ H ₂₄ N ₄ O ₄	421, 16	421, 1
12-63			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₄	393, 12	393, 1
12-64			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	409, 10	409, 1
12-65			C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₃ S	466, 16	466, 1
12-66			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	409, 10	409, 1
12-67			C ₂₃ H ₂₄ FN ₅ O ₃	438, 16	438, 1
12-68			C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	377, 13	377, 1

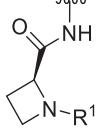
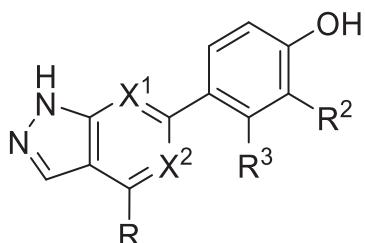
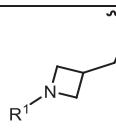
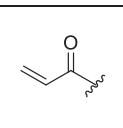
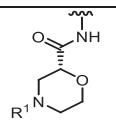
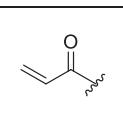
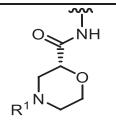
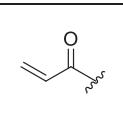
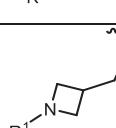
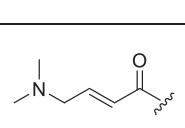
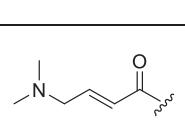
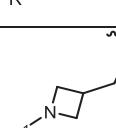
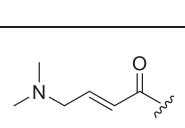
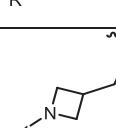
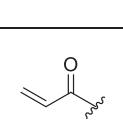
12-69			C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₃	363, 11	363, 0
-------	---	---	---	---------	--------

Tabela 13

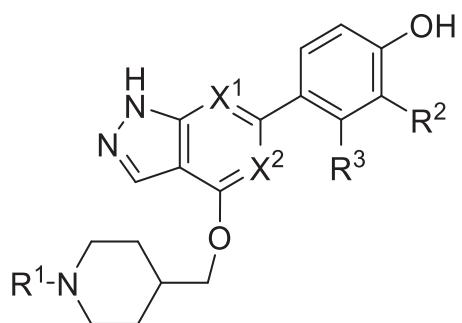


Ex. No.	R	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
13-1			Cl	H	N	CH	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄ O ₂ S	401,06	401,1
13-2			Cl	H	CH	CH	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₄	427,09	427,0
13-3			F	H	CH	CH	C ₂₁ H ₁₉ FN ₄ O ₄	411,12	411,0
13-4			H	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₂ S	423,16	423,1
13-5			F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₂ S	441,15	441,2
13-6			Cl	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₂ S	457,12	457,1
13-7			F	H	CH	CH	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₂ S	384,09	384,1

13-8			Cl	H	CH	CH	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₂ S	400,07	400,1
13-9			H	H	N	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₂ S	367,10	367,0
13-10			H	H	CH	CH	C ₂₀ H ₂₁ N ₅ O ₃	380,15	380,2
13-11			H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,0
13-12			H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,0
13-13			H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,0
13-14			H	Cl	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398,10	398,3
13-15			H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,5
13-16			H	H	N	N	C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O ₃	378,13	378,5

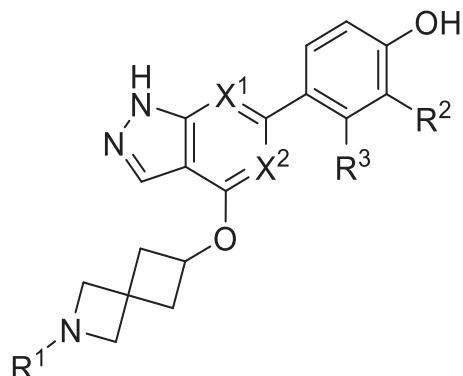
13-17			Cl	H	N	N	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	412, 09	412, 4
13-18			F	H	N	N	C ₂₀ H ₁₈ FN ₅ O ₃	396, 12	396, 2
13-19			H	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O ₄	394, 12	394, 1
13-20			Cl	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₅ O ₄	428, 08	428, 0
13-21			F	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₈ FN ₅ O ₄	412, 11	412, 1
13-22			Cl	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₅ O ₄	428, 08	428

Tabela 14

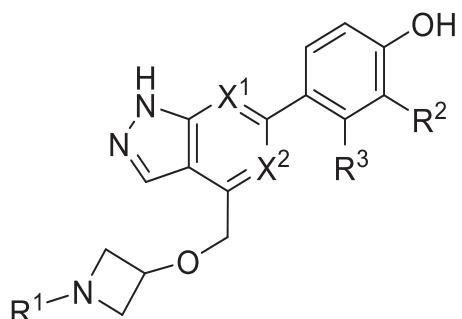


Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
14-1		Cl	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	412,12	412,0
14-2		H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,1
14-3		Cl	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	469,18	469,1
14-4		F	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₉ FN ₄ O ₃	453,21	453,1
14-5		F	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₂ FN ₃ O ₃	396,15	396,1
14-6		H	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379,15	379,1
14-7		Cl	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	413,11	413,0
14-8		F	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397,14	397,1
14-9		F	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397,14	397,1
14-10		Cl	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₈ ClN ₅ O ₃	470,17	470,1
14-11		F	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₈ FN ₅ O ₃	454,20	454,1
14-12		H	H	N	N	C ₂₀ H ₂₁ N ₅ O ₃	380,15	380,2

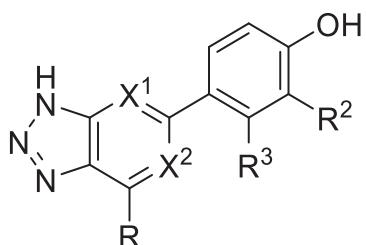
Tabela 15



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
15-1		Cl	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	410,10	409,9
15-2		F	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₀ FN ₃ O ₃	394,13	393,4
15-3		H	H	N	N	C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O ₃	378,13	378,1
15-4		Cl	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₇ ClN ₄ O ₃	467,16	467,1
15-5		F	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₇ FN ₄ O ₃	451,19	451,1
15-6		H	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₃	434,20	434,1
15-7		H	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	377,14	377,2
15-8		H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	377,14	377,0
15-9		Cl	H	N	N	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	412,09	412,2
15-10		F	H	N	N	C ₂₀ H ₁₈ FN ₅ O ₃	396,12	396,1

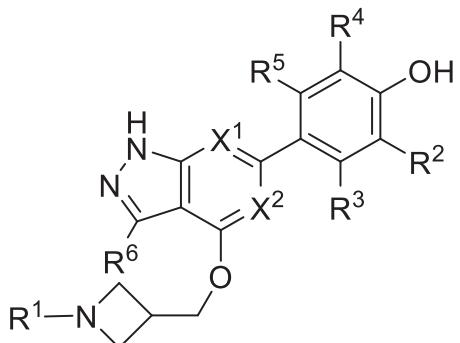
Tabela 16

Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
16-1		Cl	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441,15	441,2
16-2		Cl	H	CH	CH	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	384,09	384,1
16-3		F	H	CH	CH	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368,12	368,2
16-4		H	H	N	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,0
16-5		H	H	CH	N	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,0
16-6		H	H	CH	N	C ₂₂ H ₂₅ N ₅ O ₃	408,18	408,1
16-7		F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₃	425,18	425,2

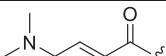
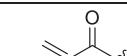
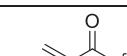
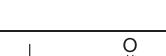
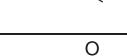
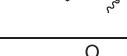
Tabela 17

Ex. No.	R	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
17-1			H	H	CH	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,0
17-2			H	H	CH	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351,12	351,2

Tabela 18



Ex. No.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	Fórmula	[M+H] ⁺ calculado	[M+H] ⁺ encontrado
18-1		Cl	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ₃	455,16	455,0
18-2		H	F	H	F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₃	443,17	443,2
18-3		F	H	H	F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₃	443,17	443,0
18-4		H	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,2	421,0
18-5		H	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364
18-6		Cl	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398,10	398,0

18-7		F	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,0
18-8		Me	H	H	H	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,2	421,0
18-9		Me	H	H	H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,0
18-10		H	H	H	H	SMe	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃ S	396,11	396,0
18-11		H	H	H	H	NMe ₂	CH	CH	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₃	393,17	393,0
18-12		H	H	H	H	CF ₃	CH	CH	C ₂₄ H ₂₅ F ₃ N ₄ O ₃	475,17	475,0
18-13		H	H	H	H	CF ₃	CH	CH	C ₂₁ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	418,11	418,0
18-14		H	H	H	H	Cl	CH	CH	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	384,09	384,2

Ensaios biológicos

[00375] Os compostos da divulgação foram caracterizados em um ou mais dos seguintes ensaios biológicos.

Ensaios bioquímicos de JAK e Tyk2 quinase

[00376] Um painel de quatro ensaios bioquímicos

LanthaScreen JAK (JAK1, 2, 3 e Tyk2) foi realizado em um tampão de reação comum para quinase (50 mM de HEPES, pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 mM de MgCl₂ e 1 mM de EGTA). As enzimas JAK marcadas com GST recombinante e o substrato de peptídio STAT1 marcado com GFP foram adquiridos da Life Technologies.

[00377] Compostos com diluição em série ou em separado foram pré-incubados com cada uma das quatro enzimas JAK e o substrato em 384 microplacas de poço brancas (Corning) à temperatura ambiente durante 1 hora. ATP foi adicionado

posteriormente para iniciar as reações de quinase em 10 L de volume total, com 1% de DMSO. As concentrações enzimáticas finais para JAK1, 2, 3 e Tyk2 são 4,2 nM, 0,1 nM, 1 nM, e 0,25 nM, respectivamente; as concentrações correspondente de Km ATP usadas são 25 M, 3 M, 1,6 M, e 10 μ M; enquanto a concentração de substrato é de 200 nM para todos os quatro ensaios. As reações da quinase continuaram por 1 hora à temperatura ambiente antes de serem adicionadas uma preparação de 10 μ L de EDTA (10mM de concentração final) e anticorpo Tb-anti-pSTAT1 (pTyr701) (Life Technologies, 2nM concentração final) em tampão de diluição TR-FRET (Life Technologies). As placas foram incubadas à temperatura ambiente por 1 hora antes de serem lidas no leitor EnVision (Perkin Elmer). Os sinais de taxa de emissão (520 nm/495 nm) foram registrados e usados para calcular a percentagem de valores de inibição com base no DMSO e nos controles de fundo.

[00378] Para a análise de dose-resposta, dados de inibição percentual foram aplicados em um gráfico versus as concentrações dos compostos, e os valores de IC₅₀ foram determinados a partir de um modelo de ajuste robusto de 4 parâmetros com o software Prism (GraphPad Software). Os resultados foram expressos como pIC₅₀ (logaritmo negativo de IC₅₀) e, posteriormente, convertidos para pKi (logaritmo negativo da constante de dissociação, Ki) utilizando a equação de Cheng-Prusoff.

Ensaio 2: Ensaio da potência celular da JAK3: Inibição de pSTAT5 estimulada por IL-2 em células T Tall-1

[00379] A potência dos compostos de teste para inibição da fosforilação de STAT5 estimulada pela interleucina-2 (IL-2) foi medida na linhagem celular de células T Tall-1 humanas (DSMZ) usando AlphaLisa. Como a IL-2 sinaliza por meio da JAK3, este ensaio fornece uma medida de potência celular de JAK3.

[00380] STAT5 fosforilado foi medido através do kit AlphaLisa SureFire Ultra pSTAT5 (Tyr694/699) (PerkinElmer).

[00381] As células T humanas da linhagem celular Tall-1 foram cultivadas a 37 °C, em incubadora umidificada a 5% de CO₂ em RPMI (Life Technologies), suplementadas com 15% de Soro Fetal Bovino Inativado pelo Calor (SFB, Life Technologies), 2 mM de Glutamax (Life Technologies), 25 mM HEPES (Life Technologies) e 1X Pen/Strep (Life Technologies). Os compostos foram diluídos em série em DMSO e distribuídos acusticamente em poços vazios. Os meios de ensaio (DMEM sem fenol vermelho (Life Technologies) suplementado com FBS a 10% (ATCC)) foram distribuídos (4 µl/placa) e as placas foram agitadas a 900 rpm durante 10 minutos. As células foram semeadas como 45.000 células/poço nos meios de ensaio (4 µl/poço) e incubadas a 37°C, 5% de CO₂ durante 1 hora, seguida pela adição de IL-2 (R&D Systems; concentração final 300 ng/ml) em meios de ensaio pré-aquecido (4 µl) durante 30 minutos. Após a estimulação com citocinas, as células foram lisadas com 6 µl de tampão de lise 3x AlphaLisa (PerkinElmer) contendo 1x PhosStop e comprimidos Complete (Roche). O lisado foi agitado a 900 rpm durante 10 minutos à temperatura ambiente (TA). STAT5 fosforilado foi medido através do kit pSTAT5 AlphaLisa kit (PerkinElmer). A mistura

de pérolas aceptoras recém-preparadas foi distribuída no lisado (5 μ l) sob luz verde filtrada <100 lux. As placas foram agitadas a 900 rpm durante 2 minutos, giradas levemente e incubadas durante 2 horas a TA no escuro. As pérolas doadoras foram distribuídas (5 μ l) sob luz verde filtrada <100 lux. As placas foram agitadas a 900 rpm durante 2 minutos, giradas levemente e incubadas durante a noite a TA no escuro. A luminescência foi medida com excitação a 689 nm e emissão a 570 nm usando um leitor de placas EnVision (PerkinElmer) sob luz verde filtrada <100 lux.

[00382] Para determinar a potência inibitória dos compostos de teste em resposta a IL-2, foi medida a intensidade de emissão mediana das células ligadas a pSTAT5 em uma linhagem celular T humana. Os valores de IC₅₀ foram determinados a partir da análise das curvas de inibição da intensidade do sinal versus concentração do composto. Os dados foram expressos em valores pIC₅₀ (logaritmo decádico negativo IC₅₀) (média \pm desvio padrão).

Ensaio 3: Inibição de pSTAT5 estimulada por IL-2 em células T CD4+ isoladas de esplenócitos de murino

[00383] A potência dos compostos de teste para inibição da fosforilação de STAT5 estimulada por interleucina-2 (IL-2) foi medida nas células T CD4+ isoladas de esplenócitos de murinos usando AlphaLisa. Como a IL-2 sinaliza por meio da JAK3, este ensaio fornece uma medida de potência celular de JAK3 em camundongos.

[00384] STAT5 fosforilado foi medido através do kit AlphalISA SureFire Ultra pSTAT5 (Tyr694/699) (PerkinElmer).

[00385] As células T CD4+ foram isoladas dos esplenócitos de murino via seleção negativa em uma coluna magnética (Miltnyi Biotec) e ressuspensionadas em meios de ensaio (DMEM sem fenol vermelho (Life Technologies) suplementado com 10% de FBS (ATCC)). As células foram semeadas em 50.000 células/poço nos meios de ensaio (2 μ l/poço). Os compostos foram diluídos em série em DMSO e, diluídos para concentração final de 2x nos meios de ensaio. O composto (4 μ l/poço) foi adicionado e as células foram incubadas a 37 °C, 5% de CO₂ durante 1 hora, seguida pela adição de IL-2 (R&D Systems; concentração final 7 ng/ml) em meios de ensaio pré-aquecidos (2 μ l) durante 30 minutos. Após a estimulação com citocinas, as células foram lisadas com 2 μ l de tampão de lise 5x AlphaLisa (PerkinElmer). O lisado foi agitado a 900 rpm durante 10 minutos à temperatura ambiente (TA). STAT5 fosforilado foi medido através do kit pSTAT5 AlphaLisa kit (PerkinElmer). A mistura de pérolas aceitoras recém-preparadas foi distribuída no lisado (5 μ l) sob luz verde filtrada <100 lux. As placas foram agitadas a 900 rpm durante 2 minutos, giradas levemente e incubadas durante 2 horas a TA no escuro. As pérolas doadoras foram distribuídas (5 μ l) sob luz verde filtrada <100 lux. As placas foram agitadas a 900 rpm durante 2 minutos, giradas levemente e incubadas durante a noite à TA no escuro. A luminescência foi medida com excitação a 689 nm e emissão a 570 nm usando um leitor de placas EnVision (PerkinElmer) sob luz verde filtrada <100 lux.

[00386] Para determinar a potência inibitória dos compostos de teste em resposta a IL-2, foi medida a intensidade de emissão mediana das pérolas ligadas a pSTAT5 em células T

CD4+ primárias isoladas de esplenóticos de murino. Os valores de IC₅₀ foram determinados a partir da análise das curvas de inibição da intensidade do sinal vs. concentração do composto. Os dados foram expressos em valores pIC₅₀ (logaritmo decádico negativo IC₅₀) (média ± desvio padrão).

[00387] Os compostos 1-10, 19, 20, 21 e 22 tiveram todos valores de pIC₅₀ acima de 6,0 neste ensaio.

Ensaio 4: Inibição de pSTAT5 estimulada por IL-2 em células T PBMC CD4+ humanas

[00388] A potência dos compostos do teste para inibição da fosforilação de STAT5 estimulada pela interleucina-2 (IL-2) foi medida em células mononucleares CD4+ T do sangue periférico humano (PBMC) usando citometria de fluxo (Stanford Blood Center). Como a IL-2 sinaliza por meio da JAK3, este ensaio fornece uma medida de potência celular de JAK3 em células primárias humanas.

[00389] STAT5 fosforilado foi medido via citometria de fluxo ao medir a resposta de pSTAT5 em células T CD4+ (Becton Dickinson, AlexaFluor 647 Mouse anti-Human STAT5 (pY694) e anti-CD4 humano PE Mouse).

[00390] As células PBMCs humanas foram isoladas dos doadores por meio do gradiente Ficoll e congeladas a -80 °C. As PBMCs congeladas foram descongeladas e cultivadas a 37 °C, em incubadora umidificada a 5% de CO₂ em RPMI (Life Technologies), suplementadas com 10% de Soro Fetal Bovino Inativado pelo Calor (SFB, Life Technologies), 2 mM de Glutamax (Life Technologies), 25 mM de HEPES (Life Technologies) e 1X Pen/Strep (Life Technologies). As células foram semeadas em placas de 2 ml de poços de placa profundos a 4e6 células/ml (50 µl/poço). Os compostos foram diluídos

em série em DMSO e, diluídos para concentração final de 2x nos meios de ensaio. O composto foi adicionado (100 µl/poço) e as células foram incubadas a 37 °C, 5% de CO₂ durante 1 hora, seguida pela adição de IL-2 (R&D Systems; concentração final do ensaio 100 ng/ml) em meios de ensaio pré-aquecidos (50 µl/poço) durante 30 minutos. Após estimulação com citocinas, as células foram fixadas durante 10 minutos a 37 °C (Becton Dickinson). As células foram lavadas e ressuspensas em solução salina tamponada com fosfato Dulbecco (DPBS, Life Technologies). As células foram permeabilizadas durante 30 minutos com Perm Buffer III gelado (Becton Dickinson) e então lavadas e ressuspensas com DPBS contendo 2% de soro bovino fetal (tampão de coloração, Life Technologies). As células foram coradas durante 1 hora com uma diluição de 50x do marcador de superfície CD4 (anti-Humano CD4 PE Mouse) e diluição de 5x do anticorpo pSTAT5 (Becton Dickinson, AlexaFluor 647 Mouse anti-Human STAT5 (pY694)) em tampão de coloração. As células foram lavadas e ressuspensas em tampão de coloração antes do armazenamento a 4 °C.

[00391] Para determinar a potência inibitória dos compostos de teste em resposta à IL-2, foi medida a intensidade de fluorescência mediana de pSTAT5 em células CD4+ dependentes em PBMCs humanos com um BD LSRII com análise no FCS Express 6. Os valores de IC₅₀ foram determinados a partir da análise das curvas de inibição da intensidade do sinal vs. concentração do composto. Os dados foram expressos em valores pIC₅₀ (logaritmo decádico negativo IC₅₀) (média ± desvio padrão).

[00392] Os compostos 1-6, 8 e 9 foram testados neste ensaio e apresentaram valores muito semelhantes aos obtidos no ensaio 2 (pSTAT5 estimulado por IL-2 em ensaio de células T Tall-1).

Ensaio 5: Ensaio de citotoxicidade de JAK

[00393] Um ensaio luminescente de viabilidade celular/citotoxicidade Titer-Glo foi realizado em células epiteliais BEAS-2B do pulmão humano (ATCC), sob condição de crescimento normal.

[00394] As células foram cultivadas a 37 °C em uma incubadora umidificada a 5% de CO₂ no meio 50% DMEM/50% F-12 (Life Technologies), suplementado com 10% de FBS (Hyclone), 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina (Life Technologies) e 2 mM de GlutaMAX (Life Technologies). No dia 1 do ensaio, as células foram semeadas a uma densidade de 500 células/poço em placas com 384 poços para cultura de tecido (Corning) com 25 µl de meio, e ficaram durante a noite na incubadora para aderência. No dia 2 do ensaio, 5 µl de meio de cultura contendo as dose-respostas de compostos de teste foram adicionados, e incubado a 37 °C por 48 horas. 30 L de solução de detecção CellTiter-Glo (Promega) foi posteriormente adicionado, misturado em um agitador orbital por 5 min. e incubado por mais 10 min. antes de ser lido no leitor EnVision. Os sinais de luminescência foram registrados e calculados os valores de controle de DMSO.

[00395] Para a análise da dose-resposta, os dados de controle de percentagem de DMSO foram inseridos em gráfico versus as concentrações dos compostos para obter as curvas de dose-resposta por linha conectando cada ponto dos dados. A concentração na qual cada curva cruza o limiar de 15% de

inibição é definida como a CC₁₅. Os resultados eram expressos como o logaritmo negativo do valor de CC₁₅, pCC₁₅.

[00396] Esperava-se que os compostos de teste que tivessem um menor valor pCC₁₅ nesse ensaio tivessem menor probabilidade de causar citotoxicidade. Os compostos da divulgação testados nesse ensaio normalmente apresentaram valores de pCC₁₅ menor entre cerca de 5 e 6.

Ensaio 6: Ensaio de permeação Caco-2

[00397] O ensaio de permeação Caco-2 foi realizado para modelar a capacidade dos compostos de teste de passar pelo intestino e entrar na corrente sanguínea após a administração oral. Foi determinada a taxa na qual os compostos de teste em solução permeiam uma monocamada celular projetada para imitar a junção apertada das monocamadas do intestino delgado humano.

[00398] As placas transwell CacoReady de 24 poços foram obtidas da ADMEcell (Alameda, CA). Os compostos foram avaliados numa concentração de 5 µM a partir de soluções estoque em DMSO de 10 mM em duplicata (n=2). A permeabilidade passiva dos compostos testados foi avaliada usando monocamadas de células Caco-2 juntamente com Verapamil (25 µM) para inibir as proteínas de transporte de P-gp na direção apical para basolateral (A-B). O experimento foi conduzido em uma incubadora a 37 °C, 5% de CO₂. Os meios de cultura Caco-2 consistiam em DMEM filtrado padrão, FCS 10%, L-Glutamina 1% e PenStrep 1%. A placa de ensaio basal foi preparada adicionando 750 µl de tampão de transporte aos poços A-B. Uma placa CacoReady™ foi preparada removendo os meios Caco-2 dos poços apicais e substituindo-os por meios de transporte fresco (200 µl repetidos para um total de

3 lavagens). Os meios branco (200 μ l) foram então substituídos por um composto diluído para os poços A-B. Para iniciar a incubação, a placa basal foi removida da incubadora e a secção apical foi adicionada por cima. Amostras (40 μ l) foram coletadas dos compartimentos apical e basal para o tempo zero (t0). As amostras foram coletadas novamente após 120 minutos (t120) dos compartimentos apical e basal. Todas as amostras foram diluídas e preparadas para bioanálise por LC-MS/MS. O coeficiente de permeação (K_p , média A a B + Verapamil Papparent) em cm/s foi calculado como dQ (fluxo) / (dt x Área x concentração).

[00399] Neste ensaio, um valor de K_p inferior a cerca de 5×10^{-6} cm/s, é considerado como favorável para minimizar a exposição sistêmica e atingir o cólon. Um valor de K_p inferior a cerca de 10×10^{-6} cm/s, também pode ser suficiente para minimizar a exposição sistêmica e atingir o cólon. Em comparação, PF-06651600, um inibidor JAK3 sistematicamente disponível (2-propen-1-ona, 1-[(2S,5R)-2-metil-5-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-1-piperidinil]) exibiu um valor de K_p de 25.

Resultados do ensaio in vitro

[00400] Todos os compostos dos Exemplos 1 a 18 e das Tabelas 1 a 12 foram testados em um ou mais dos ensaios descritos acima.

[00401] Na Tabela 13 abaixo, para os ensaios enzimáticos de JAK1, JAK 2, JAK3 e TYK2, A representa um valor de $pK_i \geq 10$ ($K_i \leq 0,1$ nM), B representa um valor de pK_i valor entre 9 e 10 (K_i entre 1 nM e 0,1 nM), C representa um valor de pK_i entre 8 e 9 (K_i entre 10 nM e 1 nM), D representa um valor de pK_i entre 7 e 8 (K_i entre 100 nM e 10 nM) e E representa

um valor de pK_i de 7 ou menor (K_i de 100 nM ou acima). Para o ensaio de potência de Tall-1, A representa um valor de $pIC_{50} \geq 7,5$ ($IC_{50} \leq 32$ nM), B representa um valor de pIC_{50} entre 6,7 (incluído) e 7,5 (IC_{50} entre 200 nM e 32 nM), e C representa um valor de pIC_{50} entre 6 e 6,7 (IC_{50} entre 1 μ M e 200 nM). Para os valores JAK3 (pK_i)-JAK1 (pK_i), A representa um valor de 3 ou superior, B representa um valor de 2,3 a 3 e C representa um valor de 1,8 a 2,3. Para o ensaio Caco, A representa um valor abaixo de 5×10^{-6} cm/s , B representa um valor entre 5×10^{-6} e 10×10^{-6} cm/s , C representa um valor entre 10×10^{-6} e 22×10^{-6} cm/s .

Tabela 13

Número do exemplo	JAK 1 (pK_i)	JAK 2 (pK_i)	JAK 3 (pK_i)	Tyk 2 (pK_i)	Tall-1 (pIC_{50})	JAK3 (pK_i)-JAK1 (pK_i)	Caco K_p 10^{-6} cm/s
1	E	D	A	E	B	A	A
2	E	E	A	E	A	A	A
3	E	E	B	E	B	A	A
4	E	E	A	E	B	A	A
5	E	D	A	E	B	A	A
6	E	D	A	E	A	A	A
7	E	D	B	E	B	A	B
8	E	D	A	E	A	A	A
9	E		B		B	A	A
10	E	E	A	E	B	A	A
11	E	E	B	E	B	A	A
12	E	E	B	E	B	B	A
13	E	E	A	E	B	A	A
14	E	E	B	E	B	A	C
15	E		B		C	A	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
16	E		B		B	A	A
17	E		B		C	B	
18	E	D	B	E	A	A	C
19	E	E	A	E	B	A	A
20	E	E	A	E	A	A	A
21	E	E	A	E	B	A	B
22	E	E	A	E	B	A	A
23	E	D	A	E	B	A	A
24	E	E	B	E	A	A	A
1-1	E	D	B	E		A	
1-2	E	D	A	E	A	A	C
1-3	E		B		B	A	
1-4	E		B		C	A	
1-5	E	D	A	E	A	A	B
1-6	E		B		C	A	
1-7	E		B		C	B	
1-8	E	E	B	E	B	A	B
1-9	E		A		C	A	
1-10	E		B		C	A	
1-11	E	E	A	E	A	A	C
1-12	E		B		B	A	
1-13	E		B		B	B	A
1-14	E		A		B	A	A
1-15	E	E	A	E	B	A	A
1-16	E	D	B	E	B	B	A
1-17	E	D	B	E	A	A	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
1-18	D	D	B	E	A	B	A
1-19	E	D	B	E	B	A	A
1-20	E	D	B	E	A	B	A
1-21	E	E	B	E	B	A	A
1-22	E	D	A	E	B	A	A
1-23	D		B		A	B	A
1-24	E	E	B	E	C	A	C
1-25	E		B		B	A	C
1-26	E	E	A	E	B	A	B
1-27	E	D	A	E	B	A	
1-28	E		B		C	B	
1-29	D	D	B	E	B	B	
1-30	D		A		B	B	
1-31	E	E	A	E	B	A	
1-32	E		B		C	A	
1-33	E	E	B	E	B	A	
1-34	E	D	B	E	A	A	
1-35	D		A		A	A	
1-36	D	D	B	E	A	B	
1-37	E		B		C	A	
1-38	E	E	A	E	B	A	
1-39	E		B		B	A	B
1-40	E	E	B	E	B	B	
1-41	E	E	B	E	B	A	
1-42	E		B		C	A	B
1-43	E		A		A	A	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
1-44	E	E	A	E	A	A	C
1-45	E	E	A	E	A	A	
1-46	E	E	B	E	C	A	
1-47	E	E	B	E	B	B	C
1-48	E		C		B	B	
2-1	D		A		C	B	
2-2	E	D	B	E	B	A	A
2-3	E	D	B	E	B	A	B
2-4	E		B		C	B	
2-5	E	D	B	E	B	A	B
2-6	E		A		C	A	C
2-7	E		B		B	A	A
2-8	E	D	B	E	B	A	A
2-9	E		B		B	B	A
2-10	E	D	B	E	A	A	A
2-11	E	E	B	E	B	A	B
2-12	E		A		C	A	C
2-13	E		B		C	B	
2-14	E		A		A	A	
2-15	E	E	A	E	B	A	C
2-16	E		B		C	A	
2-17	E	E	A	E	B	A	
3-1	E	E	B	E	A	A	A
3-2	E	E	B	E	B	A	A
3-3	E	E	B	E	A	A	B
3-4	E	D	B	E	A	A	B

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
3-5	D	D	B	E	A	B	A
3-6	D		A		A	A	
3-7	E	D	A	E	B	A	A
3-8	E	E	B	E	A	A	A
3-9	E		B		B	B	A
3-10	E		B		A	A	A
3-11	E	D	A	E	B	A	A
3-12	E		B		B	B	A
3-13	E	D	B	E	A	A	A
3-14	E		B		B	A	
3-15	E	E	A	E	B	A	A
3-16	E		A		B	A	A
3-17	E	D	A	E	A	A	A
3-18	E		A		B	A	A
3-19	E	E	B	E	B	A	A
3-20	E	D	B	E	B	B	A
3-21	E	E	B	E	A	A	A
3-22	E	E	A	E	B	A	A
3-23	E	D	A	E	B	A	A
3-24	E	E	B	E	B	A	A
3-25	E		C		B	B	A
3-26	E		B		B	A	A
3-27	E	E	A	E	B	A	A
3-28	E		A		A	A	B
3-29	E		B		A	A	A
3-30	E	D	A	E	B	A	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _P 10 ⁻⁶ cm/s
3-31	E	E	A	E	B	A	B
3-32	E	E	B	E	A	A	A
3-33	E	E	B	E	B	B	A
3-34	E	E	A	E	B	A	A
3-35	E	E	B	E	A	A	A
3-36	E	E	A	E	B	A	A
3-37	E	D	A	E	A	A	A
3-38	E	E	A	E	B	A	A
3-39	E	E	A	E	B	A	A
3-40	B	D	A	E	A	A	A
3-41	B	C	B	E	A	B	A
3-42	B	D	B	E	A	B	A
3-43	E	D	B	E	A	A	A
3-44	D	D	B	E	A	B	A
3-45	E	E	B	E	A	A	A
3-46	E	E	A	E	A	A	A
3-47	E	D	B	E	A	B	A
3-48	D	D	A	E	A	A	A
3-49	E	D	B	E	A	B	A
3-50	E	E	B	E	B	A	A
3-51	E	E	B	E	C	A	A
3-52	E	E	B	E	B	A	A
3-53	E	E	B	E	B	A	A
3-54	E	E	B	E	A	A	A
3-55	E	E	A	E	B	A	A
3-56	E	D	A	E	A	A	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
3-57	E	E	A	E	B	A	A
3-58	E	E	A	E	B	A	A
3-59	E	D	B	E	A	B	A
3-60	E	E	A	E	B	A	
3-61	E	D	A	E	A	A	A
3-62	E	D	B	E	A	A	A
3-63	E	E	A	E	B	A	A
3-64	E	D	A	E	A	A	A
3-65	E	D	B	E	A	A	A
3-66	E	E	B	E	A	A	A
3-67	E	E	B	E	B	A	A
3-68	D	E	B	E	C	B	A
3-69	E	E	A	E	B	A	A
3-70	E	E	A	E	B	A	A
3-71	E	E	A	E	A	A	A
3-72	E	E	B	E	A	A	A
3-73	E	E	A	E	A	A	A
3-74	E	E	A	E	A	A	A
3-75	E	E	B	E	A	A	A
3-76	E		A		B	A	A
3-77	E	E	A	E	B	A	A
3-78	E	E	B	E	B	A	A
3-79	E	E	B	E	B	A	
3-80	E	E	A	E	B	A	A
3-81	E	E	A	E	A	A	A
3-82	D		A		A	B	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
3-83	E	E	A	E	A	A	B
3-84	E		A		B	A	
3-85	E	D	A	E	A	A	A
3-86	E	E	A	E	B	A	
3-87	E	E	B	E	B	A	
3-88	E	E	B	E	B	A	
3-89	E	E	A	E	B	A	
3-90	D		A		A	B	
3-91	D	D	A	E	A	A	
3-92	E	E	A	E	A	A	
3-93	E	E	A	E	A	A	
3-94	E	E	A	E	A	A	
3-95	E	E	A	E	A	A	
3-96	E	E	B	E	B	A	
3-97	E	E	B	E	A	B	
3-98	E	E	A	E	B	A	
3-99	E	E	A	E	A	A	
3-100	E	E	B	E	A	A	
3-101	E	D	A	E	A	A	
3-102	E	E	B	E	B	A	
3-103	E	D	A	E	A	A	
3-104	E	E	A	E	A	A	
3-105	E	D	A	E	A	A	
3-106	E	E	B	E	B	A	
3-107	E	E	A	E	A	A	
3-108	E	D	A	E	A	A	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
3-109	E	E	B	E	B	A	
3-110	E	E	B	E	B	A	
3-111	E	E	B	E	C	A	
3-112	E	E	B	E	B	A	A
3-113	E	D	A	E	A	A	A
3-114	E	E	B	E	A	A	
3-115	E	B	B	E	B	A	A
3-116	E	D	B	E	B	B	
3-117	E	D	B	E	B	B	
3-118	E	E	B	E	A	A	
3-119	E	D	A	E	B	B	A
3-120	E	D	A	E	B	A	A
3-121	E	D	B	E	B	A	A
3-122	E	D	A	E	A	A	
3-123	E		A		C	A	
3-124	E		B		B	A	
3-125	E	E	B	E	B	A	
3-126	E	D	A	E	C	A	
3-127	E	D	A	E	B	A	
3-128	E	B	A	E	B	A	
3-129	E		B		C	A	A
3-130	E		B		B	A	A
3-131	E	B	B	E	A	B	
3-132	E	E	B	E	C	A	
3-133	E	D	A	E	C	A	
3-134	E		B		B	A	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
4-1	E	E	B	E	B	A	A
4-2	D	D	B	E	B	B	A
4-3	E		B		B	B	A
4-4	E	E	A	E	B	A	A
4-5	E	E	B	E	A	A	A
4-6	E	E	B	E	B	A	A
4-7	E	E	C	E	B	B	A
4-8	E		B		B	B	
5-1	E		B		C	A	
5-2	E	E	B	E	B	A	A
5-3	E	E	A	E	A	A	A
5-4	E	E	B	E	A	A	A
5-5	E	D	A	E	B	A	A
5-6	E	E	B	E	B	A	A
5-7	E	D	A	E	B	A	A
5-8	E		B		C	A	
5-9	E		B		C	A	A
5-10	E		B		B	A	A
5-11	E		B		B	A	A
5-12	E	E	B	E	B	A	A
5-13	E		B		B	B	A
5-14	E	E	A	E	A	A	A
5-15	E		A		B	A	A
5-16	E	6	A	E	A	A	A
5-17	E	E	B	E	A	A	A
5-18	E	E	A	E	A	A	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
5-19	E	E	B	E	B	A	A
5-20	E		B		C	A	
5-21	E	E	B	E	A	A	
5-22	E	E	B	E	B	A	
5-23	E	E	B	E	B	A	
5-24	E		B		B	A	
5-25	E		B		A	A	
5-26	E		B		C	B	
6-1	D		A		B	B	
6-2	D	D	A	E	A	B	C
6-3	E	D	B	E	A	A	C
6-4	E	D	A	E	B	A	A
6-5	E		B		A	A	A
6-6	E	D	B	E	A	A	A
6-7	E		B		A	A	B
6-8	D		A		A	B	
6-9	E		B		B	A	A
6-10	E	D	B	E	A	A	C
6-11	E		A		B	A	B
6-12	E		B		B	A	A
6-13	E	D	B	E	A	B	A
6-14	D		A		A	B	B
6-15	E	D	B	E	B	A	B
6-16	E	D	B	E	B	A	A
6-17	E	E	A	E	B	A	A
6-18	E	E	A	E	B	A	B

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
6-19	D		B		B	B	
6-20	D	C	B	E	B	B	A
6-21	D	D	B	E	B	B	
6-22	E		B		C	A	
6-23	E		B		C	A	
7-1	E		B		C	A	
7-2	E	D	B	E	A	A	A
7-3	E	E	B	E	B	A	C
7-4	D	C	B	E	A	B	C
7-5	D		B		B	C	
7-6	D		A		A	B	
7-7	E	D	B	E	B	A	A
7-8	E	E	A	E	B	A	A
7-9	E	D	A	E	A	A	A
7-10	E	D	B	E	B	A	C
7-11	E	D	A	E	A	A	
7-12	E	D	B	E	B	A	
7-13	E	D	A	E	A	A	
7-14	E	D	B	E	A	B	
8-1	E	D	B	E	A	B	C
8-2	E	D	B	E	B	A	A
8-3	E	D	B	E	A	A	A
8-4	E	D	B	E	B	B	A
8-5	E	D	A	E	A	A	A
8-6	E		B		B	A	B
8-7	E	D	B	E	B	A	B

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
8-8	E		A		B	A	B
8-9	E		B		C	B	
8-10	D		A		A	A	
8-11	D	D	A	E	A	B	
8-12	E		B		C	A	
8-13	E		B		C	A	
8-14	E	E	A	E	B	A	C
9-1	E	D	A	E	A	A	C
9-2	E	E	B	E	A	A	B
9-3	E		B		C	C	
9-4	E	C	A	E	A	A	C
9-5	D		B		C	C	
9-6	E		B		A	A	C
9-7	E		A		B	A	
9-8	D		B		C	C	
9-9	D	C	A	D	A	B	
9-10	E		B		A	A	C
9-11	E		A		B	A	C
10-1	D		A		B	B	A
10-2	D	C	A	D	A	B	C
10-3	D		B		B	B	
10-4	E	D	B	E	B	A	A
10-5	D		B		B	C	
10-6	D		B		A	B	
10-7	E	D	B	E	B	A	B
11-1	E		B		A	A	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
11-2	E		B		C	A	
12-1	E	D	B	E	B	A	
12-2	E		B		B	B	
12-3	D		B		C	B	
12-4	E	E	B	E	B	A	B
12-5	E		B		B	B	
12-6	D		B		B	B	
12-7	D		B		C	C	
12-8	E		B		C	A	A
12-9	E		B		C	A	A
12-10	E		C		B	B	
12-11	E		B		C	A	
12-12	E		B		B	A	
12-13	E		B		C	A	
12-14	E		B		C	C	
12-15	E		B		B	B	
12-16	D	C	B	E	A	B	
12-17	D	C	A	E	A	B	
12-18	D		A		B	B	
12-19	E		A		C	A	
12-20	E	D	B	E	A	A	B
12-21	E		B		A	B	A
12-22	E		B		C	A	A
12-23	E		B		B	A	B
12-24	E		B		C	A	A
12-25	E		B		C	B	A

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _P 10 ⁻⁶ cm/s
12-26	E	D	B	E	C	B	
12-27	E	D	A	E	A	A	C
12-28	E	C	A	E	B	A	C
12-29	E	D	B	E	A	A	C
12-30	E	C	A	E	A	A	C
12-31	E	C	A	E	B	A	C
12-32	E	D	A	E	A	A	C
12-33	E	E	B	E	B	A	A
12-34	E	E	B	E	A	B	A
12-35	E	E	B	E	B	B	A
12-36	D	E	A	E	A	A	A
12-37	D		B		B	B	A
12-38	E	E	A	E	B	A	A
12-39	E	E	B	E	A	A	B
12-40	E		B		C	B	A
12-41	E	E	B	E	A	A	A
12-42	E	D	B	E	B	B	A
12-43	E	D	A	E	A	A	A
12-44	E	D	A	E	B	A	A
12-45	E	E	A	E	C	A	A
12-46	E	D	A	E	B	A	A
12-47	E	E	B	E	B	A	A
12-48	E	E	B	E	A	A	A
12-49	E	E	B	E	C	A	
12-50	E	E	A	E	B	A	
12-51	D	D	A	E	B	A	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
12-52	D		B		C	B	
12-53	E	C	B	E	A	B	
12-54	E	D	B	E	A	B	
12-55	E		A		B	A	
12-56	E		A		B	A	
12-57	E	D	B	E	B	A	
12-58	E	D	A	E	B	A	
12-59	E		A		B	A	
12-60	E	E	B	E	B	A	
12-61	E	E	A	E	B	A	
12-62	E		A		B	A	
12-63	E	E	B	E	B	A	
12-64	E	E	A	E	A	A	
12-65	E	E	B	E	C	A	
12-66	E	E	B	E	B	A	
12-67	E	E	B	E	B	A	
12-68	E	E	B	E	C	A	
12-69	E		A		B	A	
13-1	E	E	B	E	B	A	A
13-2	E	E	B	E	A	A	A
13-3	E		A		A	A	A
13-4	E	D	A	E	B	A	
13-5	E	D	A	E	B	A	
13-6	E	E	A	E	A	A	
13-7	E	D	A	E	B	A	
13-8	E	E	B	E	A	A	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _P 10 ⁻⁶ cm/s
13-9	E	E	B	E	B	A	
13-10	E	E	B	E	B	A	
13-11	E	E	A	E	A	A	C
13-12	E	E	B	E	B	A	C
13-13	E	E	B	E	C	A	C
13-14	E	D	A	E	A	A	
13-15	E	D	B	E	B	A	
13-16	E	E	B	E	B	A	C
13-17	E		A		B	A	
13-18	E		B		B	A	
13-19	E	E	A	E	B	A	
13-20	E	E	B	E	B	B	
13-21	E	D	B	E	A	B	
13-22	E	E	B	E	B	A	
14-1	E	E	B	E	A	A	A
14-2	E	E	A	E	B	A	A
14-3	E		B		B	B	
14-4	D		B		B	B	
14-5	D		B		A	B	
14-6	D		A		A	B	
14-7	D		A		A	B	
14-8	D		A		A	B	
14-9	E	E	B	E	B	A	
14-10	D		B		C	C	
14-11	D		B		C	B	
14-12	E	E	B	E	C	A	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _p 10 ⁻⁶ cm/s
15-1	E	E	B	E	A	A	A
15-2	D	D	A	E	A	B	A
15-3	E	E	A	E	A	A	A
15-4	E		A		B	A	
15-5	D	D	B	E	B	B	
15-6	D		A		C	B	
15-7	E	D	B	E	A	B	
15-8	D		B		B	B	
15-9	E	E	A	E	B	A	
15-10	E	E	A	E	A	A	
16-1	E	E	A	E	B	A	A
16-2	E	E	A	E	A	A	A
16-3	E	E	B	E	A	A	A
16-4	E		B		B	A	A
16-5	E	E	A	E	A	A	A
16-6	E	E	B	E	C	A	
16-7	E	E	A	E	B	A	
17-1	E	E	B	E	B	A	A
17-2	E		A		C	A	A
18-1	E	D	B	E	A	B	A
18-2	D		A		A	C	
18-3	D	D	A	E	A	B	
18-4	D		A		B	B	
18-5	D		B		A	B	
18-6	D		B		A	B	
18-7	D		B		A	C	

Número do exemplo	JAK 1 (pKi)	JAK 2 (pKi)	JAK 3 (pKi)	Tyk 2 (pKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	JAK3 (pKi) - JAK1 (pKi)	Caco K _P 10 ⁻⁶ cm/s
18-8	E	E	B	E	B	A	
18-9	E	E	A	E	A	A	
18-10	E	D	A	E	B	A	
18-11	E		B		C	A	
18-12	D	D	B	E	B	B	
18-13	E	D	A	E	A	A	
18-14	E		B		B	A	

Ensaio 7: Farmacocinética de cólon e plasma de camundongo

[00402] Seis camundongos machos Balb/c receberam 10 mg/kg do composto em HPMC a 1% + 0,1% Tween-80 por administração VO. A 0,5, 2 e 6 horas após a administração da dose, os animais foram anestesiados e as amostras de sangue terminal foram coletadas por punção cardíaca, seguida pela coleta do conteúdo e do tecido do cólon.

[00403] As amostras de sangue foram coletadas no K₂EDTA e armazenadas em gelo úmido até serem processadas ao plasma por centrifugação (12000 rpm a 4 °C). As amostras de plasma foram transferidas para tubos de aglomerado e colocadas em gelo seco antes do armazenamento no congelador. O conteúdo do cólon de cada animal foi coletado em cada período de coleta de sangue. Os tecidos do cólon foram lavados com soro fisiológico e secos com suaves batidas. O cólon e os tecidos do cólon foram homogeneizados utilizando água esterilizada contendo 0,1% de ácido fórmico 9:1 (água:tecido, v/p). Os tecidos homogeneizados e conteúdo do cólon foram transferidos para tubos de aglomerado e colocadas em gelo

seco antes do armazenamento no congelador. Todas as amostras foram analisadas usando LC/MS/MS em relação a padrões analíticos.

[00404] Os parâmetros farmacocinéticos compostos dos compostos foram determinados por análise não compartmental usando Phoenix WinNonlin Versão 6 (Certara, St. Louis, MO) e usando valores médios a partir de 2 animais/periódico. Para concentrações plasmáticas abaixo do limite de quantificação (BQL), foi utilizada a menor concentração mensurável ou o BLOQ (limite abaixo da quantificação).

[00405] Uma relação entre plasma e cólon foi determinada como a razão da AUC do cólon para o ASC plasmático. Os compostos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 21 e 22 exibiram uma razão cólon/plasma superior a cerca de 1250. Os compostos 9, 5, 19 e 20 exibiram uma razão cólon/plasma superior a cerca de 200.

[00406] Em comparação, o composto de referência (PF-06651600, um inibidor JAK3 sistematicamente disponível) 2-propen-1-ona, 1-[(2S,5R)-2-metil-5-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-1-piperidinil] exibiu uma relação cólon para plasma de 2,8

Ensaio 8: Modelo de camundongo para colite induzida por oxazolona

[00407] A colite induzida por oxazolona é um modelo experimental com semelhança histológica em relação a colite ulcerativa (Heller et al. *Immunology*, 2002, 17, 629-638). Foram usados camundongos adultos BALB/C de Harlan no ensaio. No dia 1, os animais foram anestesiados com isoflurano e os pelos entre o ombro foram cuidadosamente removidos antes que

a solução de oxazolona (4%, 150 µl, 4:1 de acetona: formulação com azeite) ou veículo fosse aplicado lentamente para a sensibilização da pele. Sete dias após a sensibilização da pele, os camundongos ficaram em jejum 6 horas antes, foram anestesiados com injeção de cetamina/xilazina, e uma seringa de 1 ml, equipada com um cateter 3,5-F, preenchida com solução de oxazolona, foi inserida cuidadosamente em cerca de 4 cm no cólon do camundongo. Após a inserção, 50 µl da solução oxazolona (0,8% em formulação 1:1 de etanol:água) foram injetados muito lentamente (mais de 30 segundos usando uma bomba de injeção) no cólon. O tratamento com fármaco (VO, 1 vez ao dia, 2 vezes ao dia ou 3 vezes ao dia) ou veículo foi iniciado um dia antes do desafio intrarrectal de oxazolona (IR). Dois dias após o desafio intrarrectal de oxazolona, a doença (DAI) foi avaliada por experimentadores cegados para o experimento para cada camundongo de acordo com os critérios de pontuação: pontuação de consistência de fezes (0, normal; 2, solto; 4, diarreia), sangramento bruto (0, ausência; 2, tingido de sangue; 4, presença), desfecho de pontuação de sangue combinado = pontuação de consistência das fezes + pontuação de sangue nas fezes.

[00408] Os compostos selecionados foram testados no ensaio. A eficácia do modelo é evidenciada pela diminuição estatisticamente relevante na pontuação de fezes combinado, em comparação com a pontuação de animais tratados com veículo.

[00409] Os compostos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 3-11, 5-10, 19, 15-1, 3-55, 3-34, 15-3, 21, 3-80, 3-81, 3-72 e 3-57 apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa

no desfecho da pontuação combinada de fezes em comparação com os animais tratados com veículos no modelo de oxazolona na dose de 3 mg/kg (VO, 2 vezes ao dia). Os compostos 3-113 e 3-74 exibiram uma diminuição estatisticamente significativa no desfecho da pontuação combinada de fezes em comparação com animais tratados com veículos no modelo de oxazolona na dose de 1 e 10 mg/kg apenas (VO, 2 vezes ao dia).

Ensaio 9: Efeitos da imunossupressão em células extermadoras naturais de baço de camundongos

[00410] A depleção de células esplênicas de camundongos é um modelo experimental de imunossupressão (Kudlacz et al., *Am. J. of Transplantation*, **2004**, 4, 51-57). Os compostos selecionados foram avaliados no modelo de células esplênicas de camundongos seguindo o mesmo paradigma de tratamento utilizado no modelo de colite induzida por oxazolona (ensaio 8).

[00411] Foram usados camundongos adultos machos Balb/C de Harlan no estudo. O composto de teste é um inibidor covalente padrão de Jak3 2-propen-1-uma, 1-[(2S,5R)-2-metil-5-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-ilamino)-1-piperidinil] (30 mg/kg, 2 vezes ao dia) como controle positivo foram administrados pela via oral durante três dias para ratos sem exposição prévia. Os baços foram retirados até 4 horas após a última dose e triturados imediatamente para coloração do subtipo de células. Antes da fixação, anticorpos marcados com fluoroforo para CD19 (FITC; células B), CD3e (PE; células T pan) e CD49e (APC; células NK) foram incubados com amostras de esplenócitos de cada animal para

permitir análise % de subtipos múltiplos, simultâneos em citômetro de fluxo. O número total de células do baço de cada animal foi medido pelo Contador de Células Automatizado Scepter™ 2.0 Handheld.

[00412] O número absoluto de população de subtipo de linfócito (por exemplo, células B, T e NK esplênicas) foi calculado a partir da percentagem de cada subtipo multiplicado pelo total de células do baço para cada animal. Uma via ANOVA, com *post hoc* teste LSD de Fisher, foi usada para comparar o número de linfócitos esplênicos dos grupos de veículo e compostos do teste. O nível de α foi fixado em $p < 0,05$. Os dados foram apresentados como média \pm SEM para cada grupo.

[00413] O controle positivo PF-06651600, um inibidor JAK3 sistematicamente disponível (2-propen-1-ona, 1-[(2S,5R)-2-metil-5-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ilamino)-1-piperidinil]) (30 mg/kg VO, 2 vezes ao dia), reduziu de forma significativa as contagens de células NK do baço. A contagem das células NK esplênicas não foi afetada pelo composto 1 (VO, 2 vezes ao dia) em doses de até 300 mg/kg (dose máxima testada). A contagem das células NK esplênicas não foi afetada pelo composto 4, 6 e 8 (VO, 2 vezes ao dia) em doses de até 100 mg/kg (dose máxima testada). A contagem das células NK esplênicas não foi afetada pelo composto 3 (VO, 2 vezes ao dia) em doses de até 85 mg/kg (dose máxima testada). A contagem das células NK esplênicas não foi afetada pelo composto 2 (VO, 2 vezes ao dia) em doses de até 30 mg/kg (dose máxima testada). A contagem das células NK esplênicas não foi afetada pelo composto 5 (VO, 2 vezes ao dia) em doses de até 80 mg/kg (dose máxima testada). Nenhum

efeito do tratamento foi observado para as populações de células B e T com nenhum dos compostos testados.

Ensaio 10: Ensaio do envolvimento do alvo sistêmico: Modelo Murino de indução de pSTAT5 induzida por IL-2 no timo

[00414] A IL-2 é uma importante citocina subjacente à fisiopatologia de doenças gastrointestinais como a síndrome do intestino irritável (SII; Guan e Zhang. *Mediators Inflamm*, 2017; 4810258). A IL-2 se liga aos receptores de superfície celular ativando os membros da família de Janus de quinases (JAK), especificamente JAK3, que então fosforila STAT5 e subsequentemente ativa as vias de transcrição. Neste modelo, uma dose de IL-2 foi liberada sistematicamente no camundongo para induzir a fosforilação de STAT5 (pSTAT5) que é então medida como o resultado. Os compostos testados neste ensaio que não apresentam inibição significativa do pSTAT5 induzido pela IL-2 em comparação com os animais tratados com veículo; animais de controle desafiados pela IL-2, demonstram falta de atividade sistêmica.

[00415] Foram usados camundongos adultos machos balb/c de Harlan no ensaio. Os animais receberam a administração como teste composto por via oral (VO, 10 ou de 30 mg/kg para estudos de dose única; 10 - 60 mg/kg para estudos de resposta à dose) na tarde do dia anterior ao estudo e depois pela manhã no dia do estudo. Duas horas após a segunda administração da dose VO, foi aplicada uma injeção intraperitoneal (i.p.), nos camundongos, com 100 µl de uma dose IL-2 apropriada (para um total de 1 - 5 µg/camundongo dependendo do lote de IL-2; R&D Systems). 90 - 120 minutos após a dose de IL-2, as amostras de timo foram colhidas. Os

níveis de STAT5 fosforilado (pSTAT5) foram determinados no timo usando AlphaLISA (AlphaLISA® SureFire® Ultra™ p-STAT5 (Tyr694/699) HV (alto volume). A atividade no modelo é evidenciada por uma perda de inibição significativa no nível de pSTAT5 presente no timo dos animais tratados em 1,5 a 2 horas após o desafio com IL-2.

[00416] Os compostos 6 e 7 foram testados a 10 mg/kg e não apresentaram inibição significativa do pSTAT5 induzido pela IL-2 em comparação ao veículo tratado; animais com controle desafiado com IL-2; portanto, demonstrando falta de atividade sistêmica. O composto 1 foi testado a 10, 30, 60 e 100 mg/kg e não apresentou inibição significativa do pSTAT5 induzido pela IL-2 em comparação com o veículo. O composto 2 foi testado a 10, 30 e 60 mg/kg e não apresentou inibição significativa do pSTAT5 induzido pela IL-2 em comparação com o veículo. O composto 3 foi testado a 30 e 100 mg/kg e não apresentou inibição significativa do pSTAT5 induzido pela IL-2 em comparação com o veículo. Os compostos 8, 5 e 4 foram testados a 30 mg/kg e não apresentaram inibição significativa do pSTAT5 induzido pela IL-2 em comparação com o veículo.

[00417] Em comparação, o composto de referência (PF-06651600, um inibidor JAK3 sistematicamente disponível) 2-propen-1-ona, 1-[*(2S,5R)*-2-metil-5-(7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-ilamino)-1-piperidinil] exibiu significativa inibição da indução do pSTAT5 no timo a 10, 30 e 50 mg/kg, demonstrando atividade sistêmica.

Estruturas cristalinas

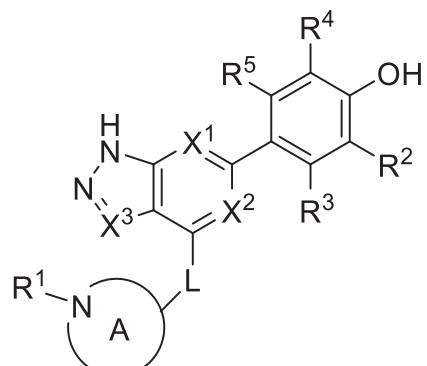
[00418] Foram obtidas estruturas de cocristais para os compostos 1, 3 e 4, cada um associado a JAK3 humana. As

resoluções para as estruturas complexas foram 2,73 Å, 2,80 Å e 2,64 Å para o composto 1, composto 3 e composto 4, respectivamente. Em cada caso, foi observado que os ligantes se ligam ao sítio de ligação do ATP. Com base numa distância inferior a 3,5 Å dos átomos doador e acceptor, foram identificadas quatro ligações específicas de hidrogênio para cada um dos ligantes, nomeadamente para os átomos da cadeia principal de Glu903, Leu905 e Phe968, assim como para os átomos da cadeia lateral do Glu871. Foi identificada uma ponte de hidrogênio adicional para o composto 1 aos átomos da cadeia lateral do Asp 912. Importante citar, os ligantes estavam cada um ligados por ligação covalente ao Cys909 de JAK3, localizada pouco depois da região da dobradiça. A porção S-H da proteína do resíduo de cisteína faz uma reação de adição ao sistema Michael. Os resultados observados da interação da ligação covalente nas estruturas cristalinas confirmam a natureza de ligação irreversível para cada um destes ligantes à JAK3.

[00419] Embora a presente invenção tenha sido descrita com referência a aspectos específicos ou suas modalidades, aqueles que são versados na técnica compreenderão que diversas alterações podem ser feitas ou equivalentes podem ser substituídos, sem se afastar do verdadeiro espírito e do escopo da invenção. Além disso, na medida do permitido pelos estatutos e pelos regulamentos aplicáveis sobre patentes, todas as publicações, patentes e pedidos citados aqui são incorporados por referência em sua totalidade, da mesma forma como se cada documento tivesse sido incorporado individualmente por sua referência.

O QUE SE REIVINDICA É:

1. Um composto da fórmula (I):



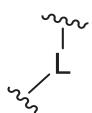
(I)

ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,

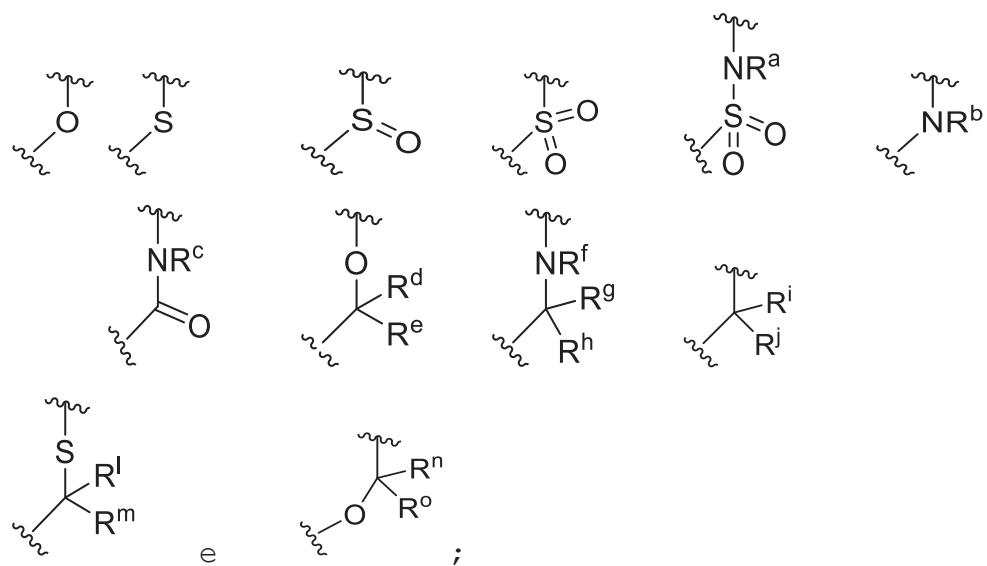
caracterizado por

X^1 e X^2 serem cada um selecionado de forma independente de N e CH;

X^3 ser selecionado do grupo composto por N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃, C-Cl, C-CN e C-OMe;



ser selecionado a partir do grupo composto por



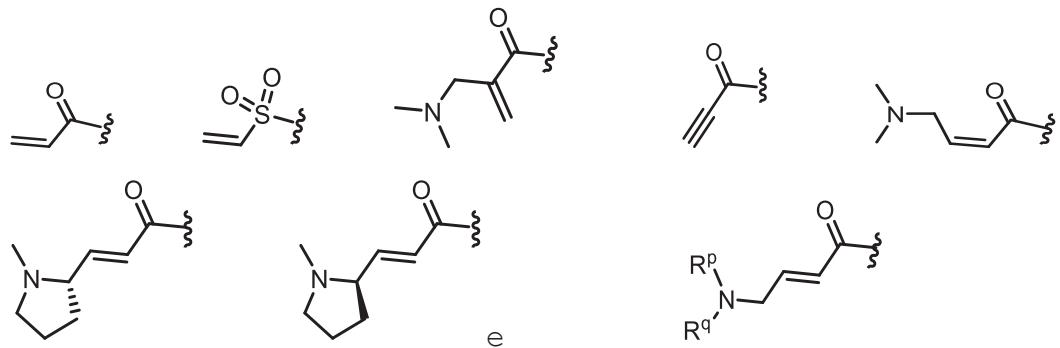
R^a , R^b , R^c , e R^f serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil; R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n e R^o serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil onde o grupo C_{1-3} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 halogênios; opcionalmente, R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil;

A ser selecionado a partir do grupo consistindo em

(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, $S(O)_2$ e O, e

(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído pelos grupos 1 a 3 R^k ; cada R^k ser selecionado de forma independente do grupo composto por F, CN, C_{1-3} alcoxi, ciclopropil, e C_{1-3} alquil, onde o grupo C_{1-3} alquil pode ser opcionalmente substituído por OH, OMe ou 1 a 3 halogênios;

R^l ser selecionado a partir do grupo composto por



onde R^p e R^q são selecionados de forma independente do grupo composto por H, C₃₋₅ cicloalquil e C₁₋₆ alquil, onde o grupo C₁₋₆ alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independentemente do grupo composto por C₁₋₃ alcoxi e -S-C₁₋₃ alquil, ou R^p e R^q formarem um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde o grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros é opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por C₁₋₆ alquil, C₁₋₃ alcoxi, -S-C₁₋₃ alquil e -C₁₋₃ alquil-C₁₋₃ alcoxi;

R² ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl, OMe, Me e F;

R³ ser selecionado a partir do grupo composto por H e F;

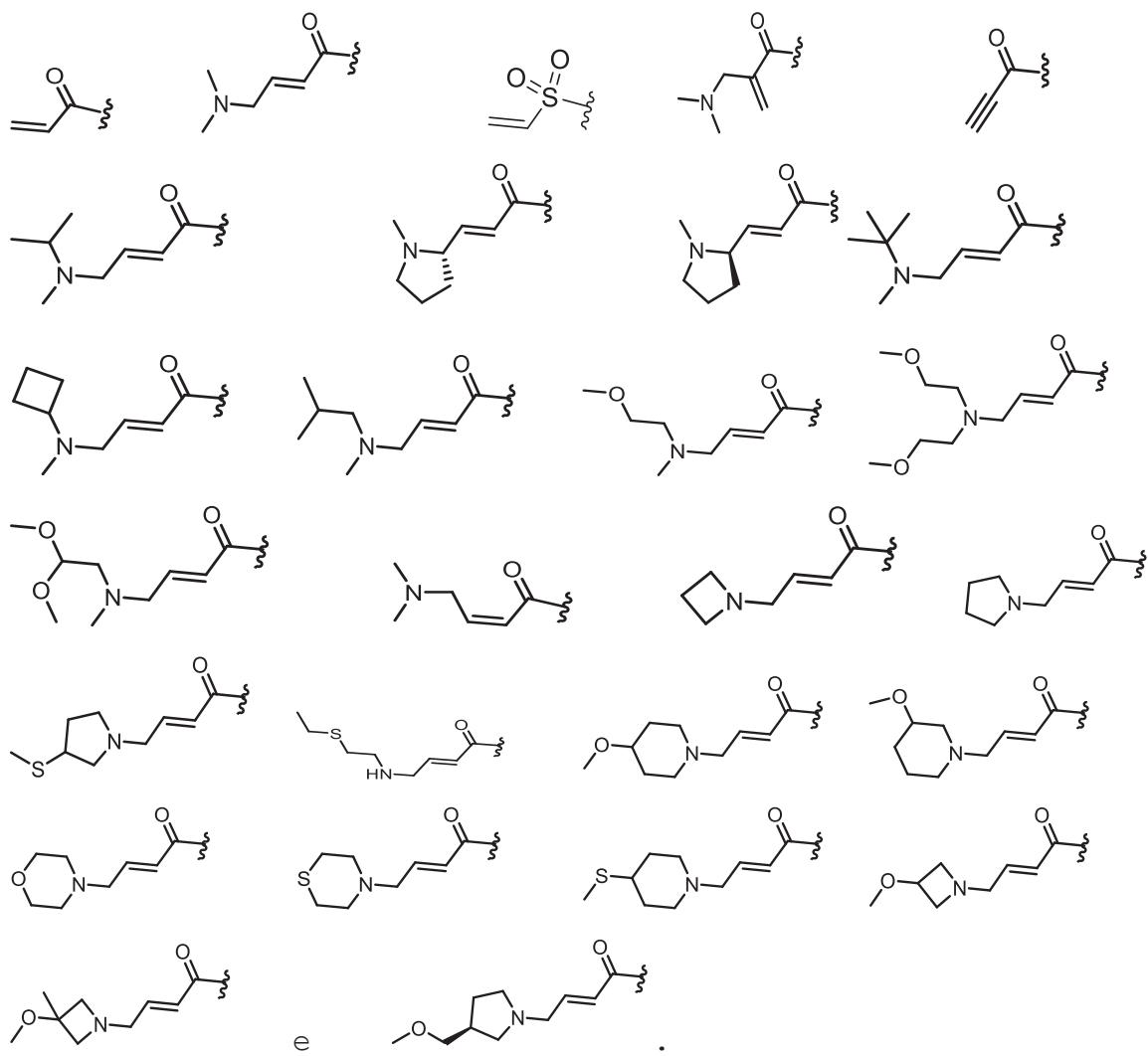
R⁴ ser selecionado a partir do grupo composto por H e F; e

R⁵ ser selecionado a partir do grupo composto por H, Me e F.

2. O composto da Reivindicação 1, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado pelo X³ que é CH.

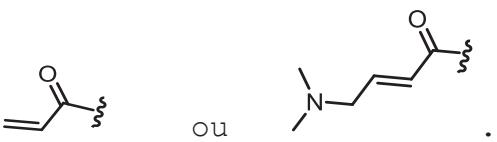
3. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 ou 2, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,

caracterizado pelo R¹ que é selecionado a partir do grupo composto por



4. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 ou 2, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,

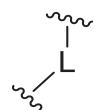
caracterizado pelo R^1 que é

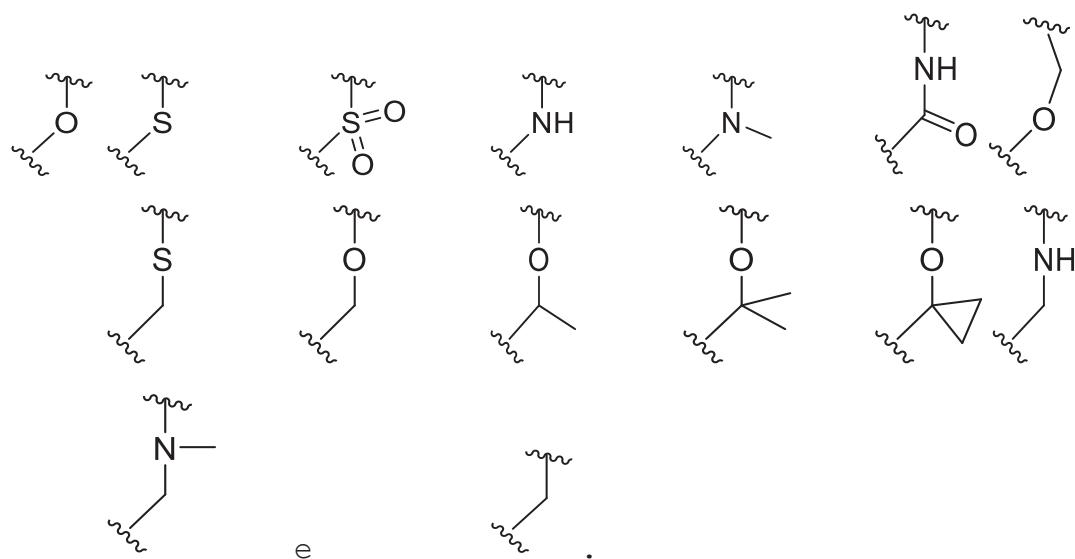


5. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 4, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,
caracterizado por A ser selecionado a partir do grupo

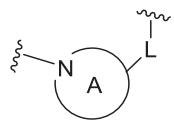
composto por azetidina, pirrolidina, piperidina, morfolina, 2-azaspiro[3.3]heptano, tiomorfolina e nortropano.

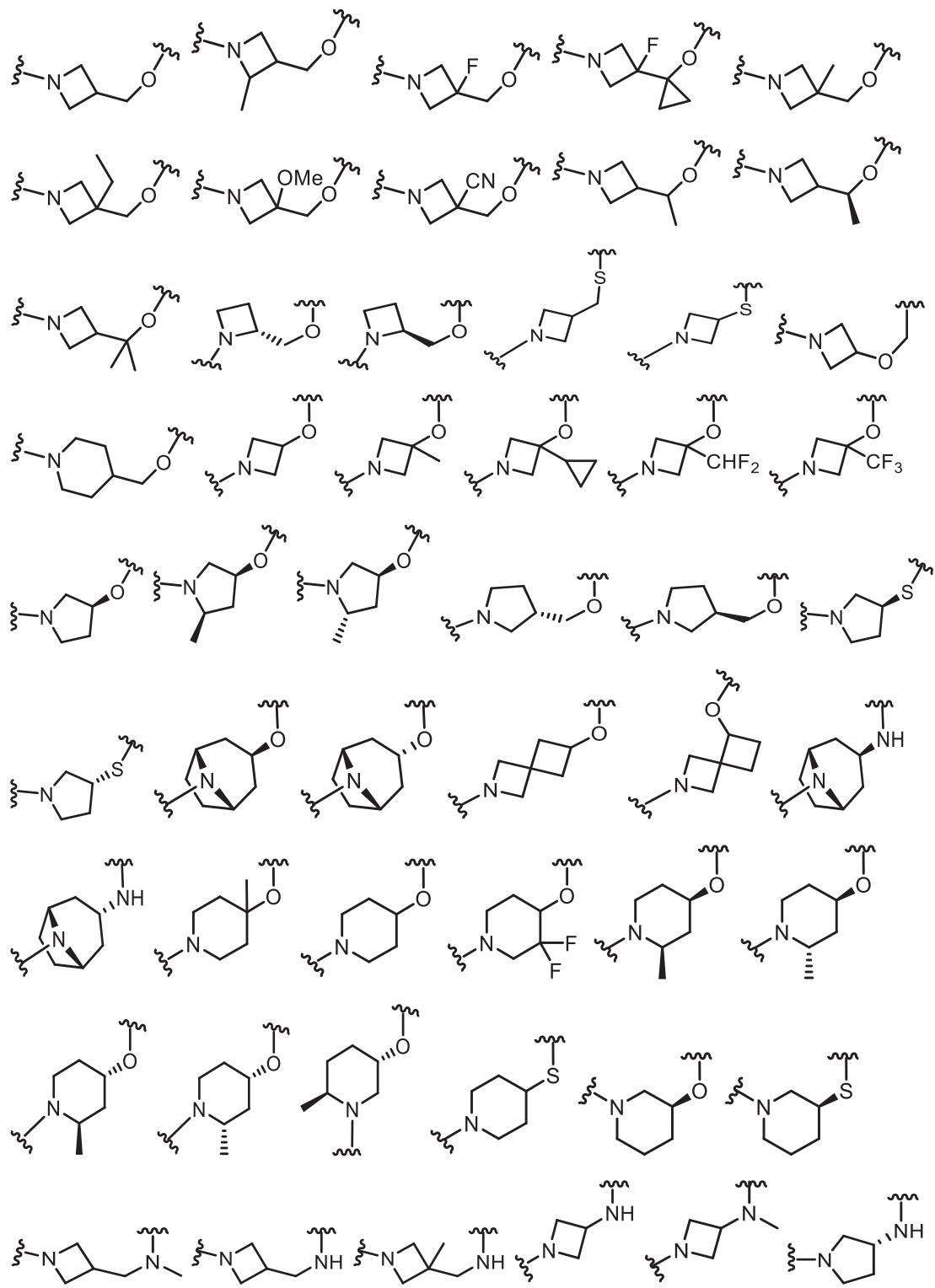
6. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 5, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,

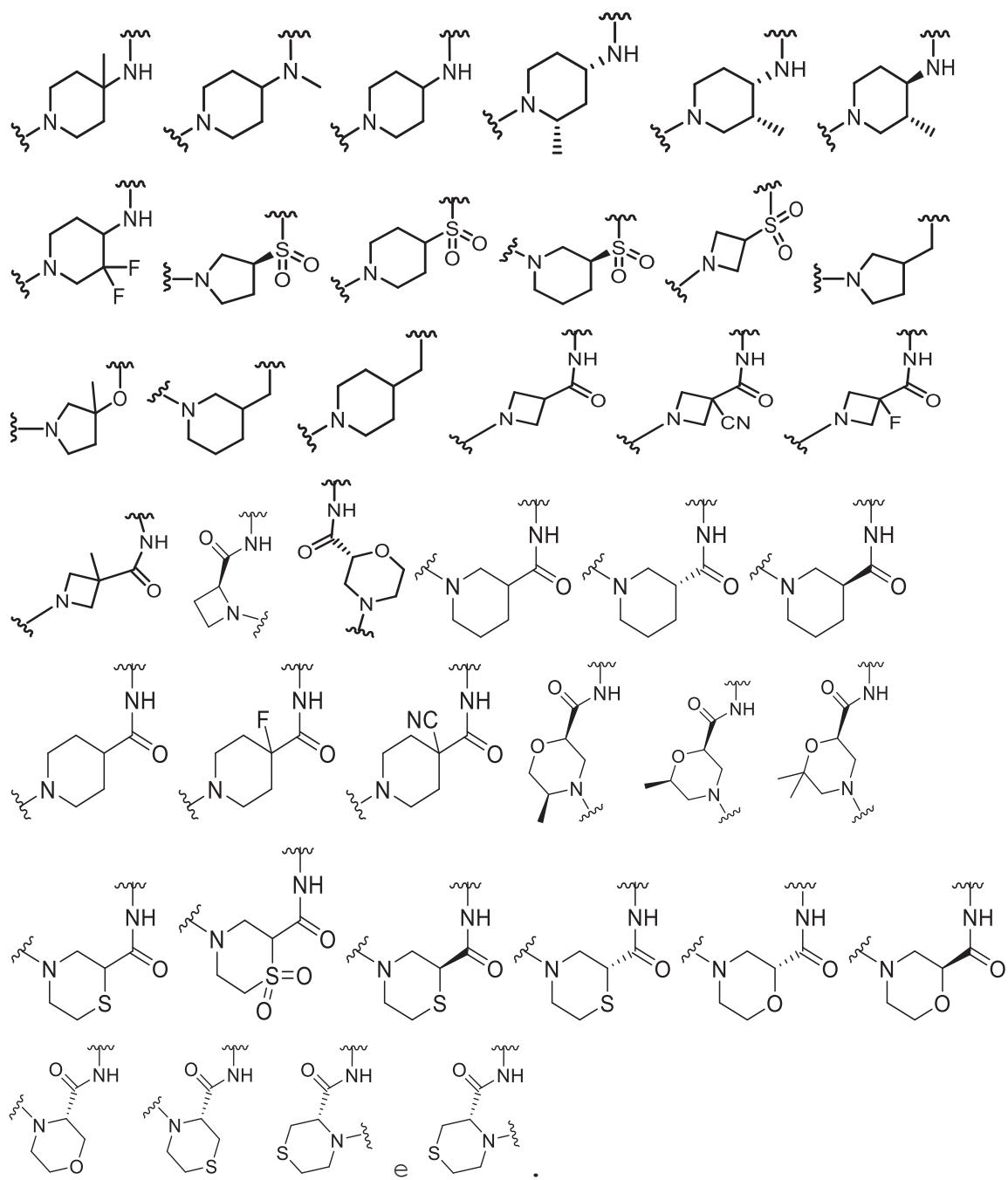
caracterizado por  ser selecionado a partir do grupo composto por



7. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 4, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,

caracterizado por  ser selecionado a partir do grupo composto por:





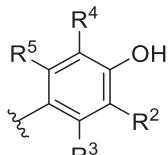
8. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 7, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por X¹ e X² serem ambos CH.

9. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 7, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por X^1 que é N e X^2 que é CH.

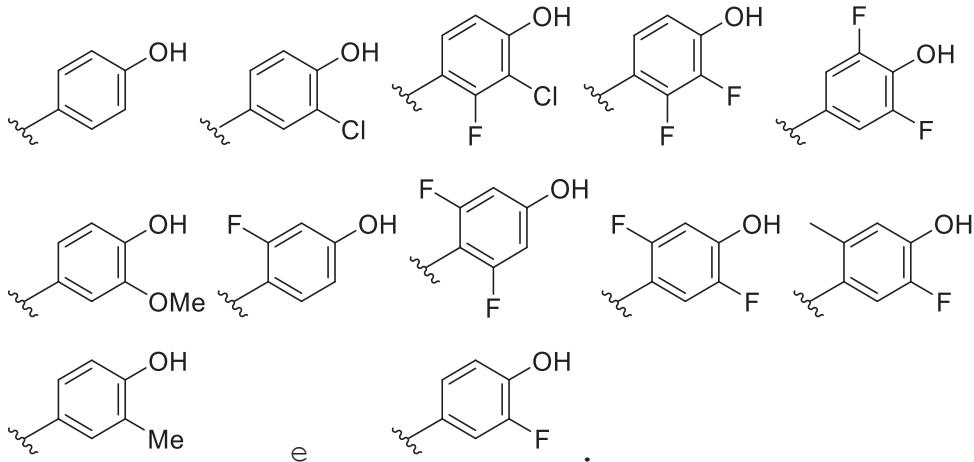
10. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 7, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por X^1 e X^2 que são ambos N.

11. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 7, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por X^1 que é CH e X^2 que é N.

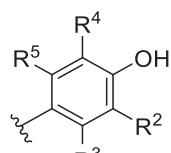
12. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 11, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,



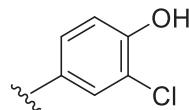
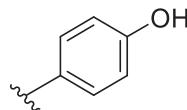
caracterizado por ser selecionado a partir do grupo composto por:



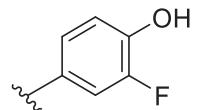
13. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 11, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,



caracterizado por ser selecionado a partir do grupo composto por:

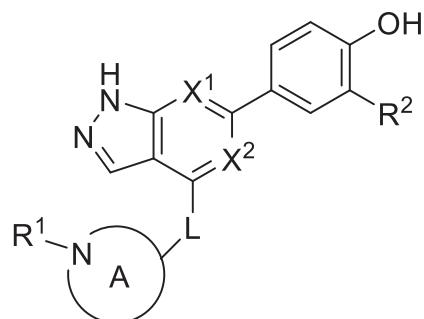


e



.

14. O composto da Reivindicação 1, onde a fórmula (II):

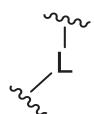


(II)

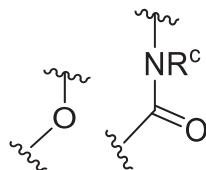
ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,

caracterizado por

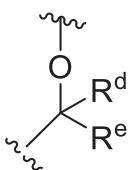
X^1 e X^2 serem ambos CH, ou X^1 e X^2 serem ambos N, ou X^1 é N e X^2 ser CH;



ser selecionado a partir do grupo composto por



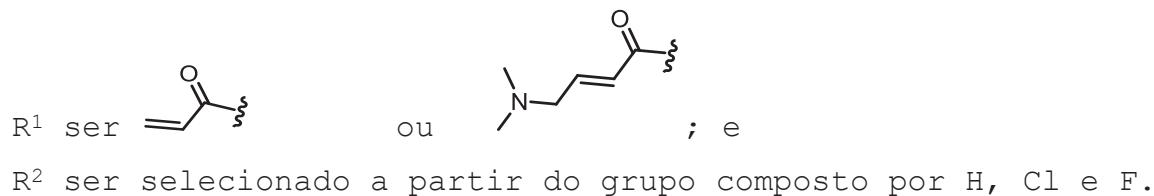
e



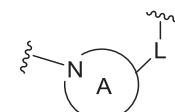
;

R^c , R^d , e R^e serem cada um selecionados de forma independente a partir do grupo composto por H e metil;

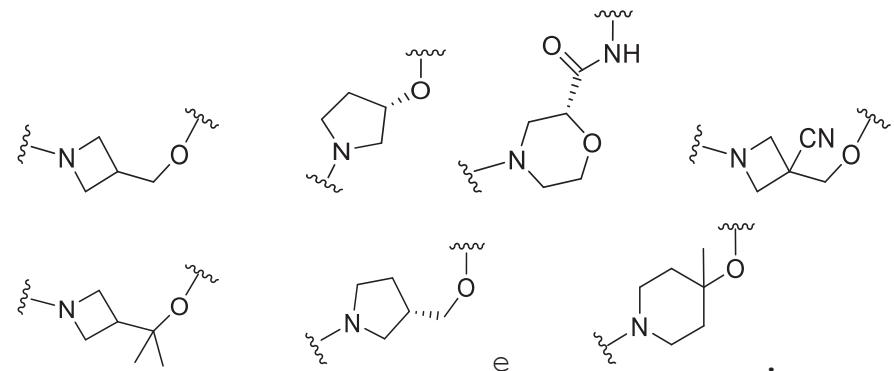
A ser selecionado a partir do grupo composto por azetidina, pirrolidina, piperidina e morfolina; onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído pelos grupos 1 a 2 R^k; Cada R^k ser selecionado de forma independente do grupo composto por F, CN, metil, etil e C₁₋₂ haloalquil;



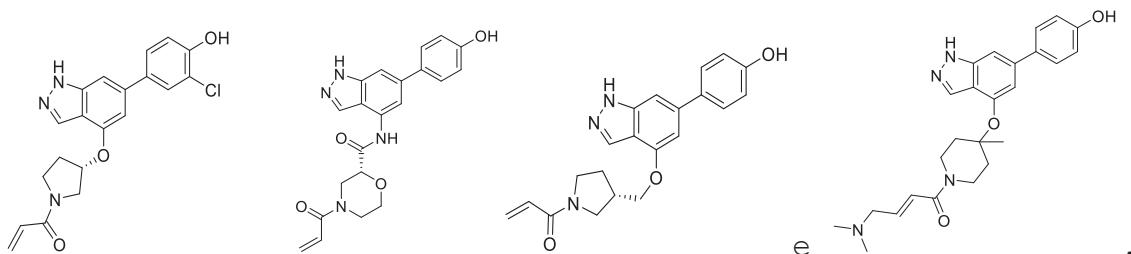
15. O composto da Reivindicação 14, ou um sal aceitável do

ponto de vista farmacêutico, caracterizado por  ser

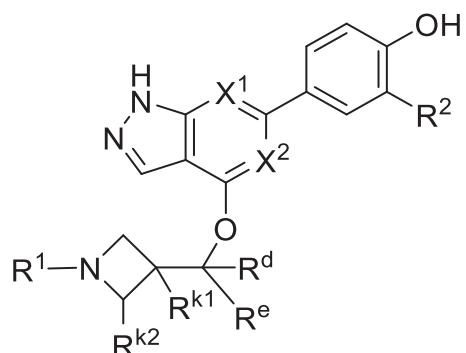
selecionado a partir do grupo composto por:



16. O composto da Reivindicação 14, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, **caracterizado pelo** composto ser selecionado a partir do grupo composto por



17. Um composto de fórmula (B):



(B)

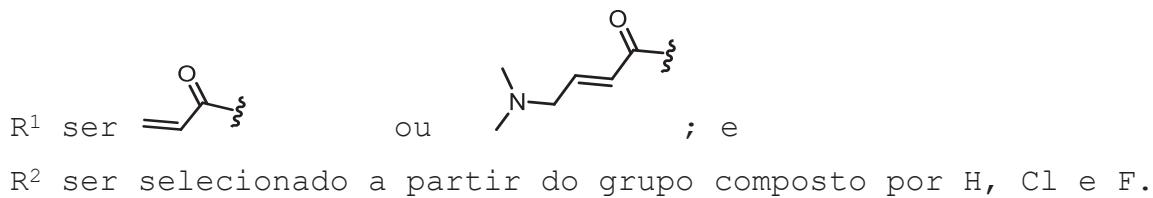
ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico,
caracterizado por

X¹ e X² serem cada um selecionado de forma independente de N e CH;

R^d e R^e serem selecionados de forma independente do grupo composto por H e C₁₋₃ alquil; opcionalmente R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil;

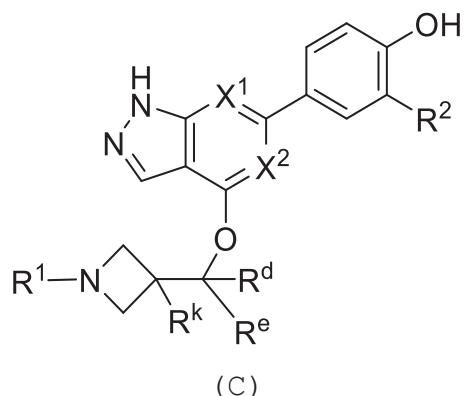
R^{k1} ser selecionado a partir do grupo composto por H, F, CN, OMe, Me e C₁₋₃ alquil;

R^{k2} ser selecionado a partir do grupo composto por H e metil;



18. O composto da Reivindicação 17, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por R^d e R^e serem selecionados de forma independente do grupo composto por H e metil; opcionalmente R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil; e R^{k1} ser selecionado a partir do grupo composto por H, F, CN, OMe, metil e etil.

19. Um composto de fórmula (C) :



ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, caracterizado por

X^1 e X^2 serem ambos CH, ou X^1 e X^2 serem ambos N, ou X^1 é N e X^2 ser CH;

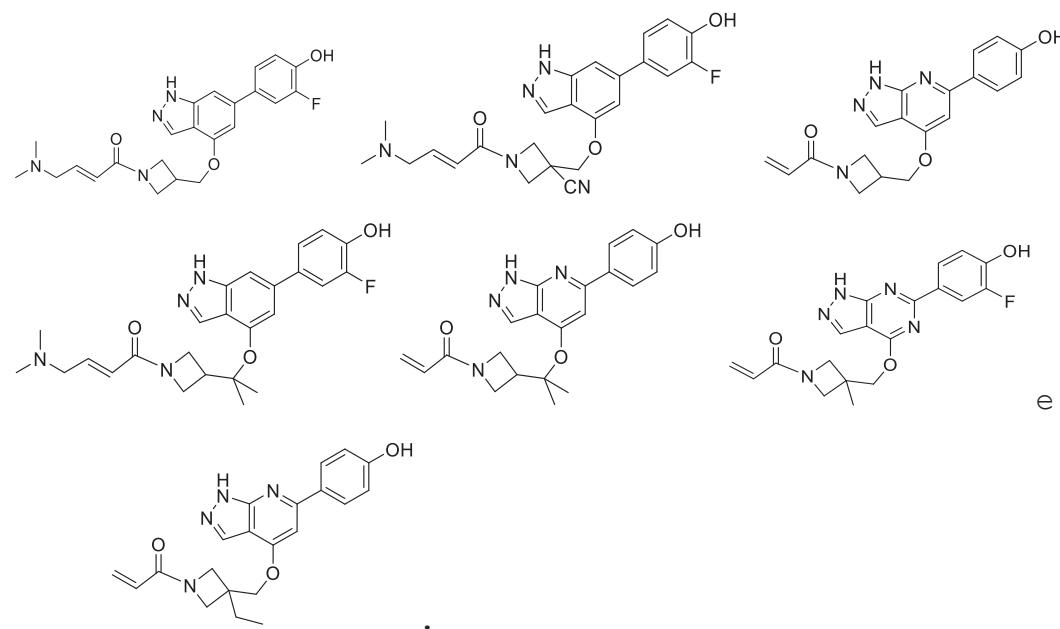
R^d e R^e serem cada um selecionados de forma independente a partir do grupo composto por H e metil;

R^k ser selecionado a partir do grupo composto por H, CN, metil e etil.;

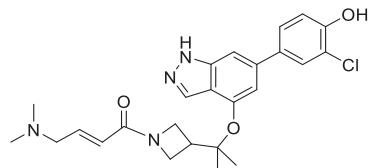


R^2 ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl e F.

20. O composto da Reivindicação 19, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, **caracterizado pelo** composto ser selecionado a partir do grupo composto por

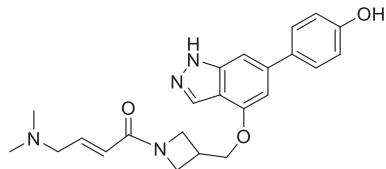


21. Um composto de fórmula:



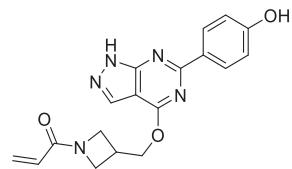
ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

22. Um composto de fórmula:



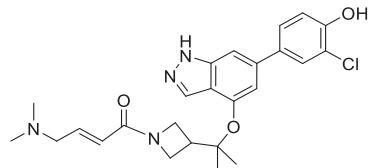
ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

23. Um composto de fórmula:



ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

24. Uma forma cristalina do composto de fórmula:



onde a forma cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raio X do pó que inclui picos de difração nos 2θ valores de $5,65\pm0,20$, $14,22\pm0,20$, $15,16\pm0,20$ e $19,31\pm0,20$.

25. A forma cristalina da Reivindicação 24, onde o padrão de difração de raio X do pó é caracterizado por ter picos de difração adicionais nos 2θ valores de $7,12\pm0,20$, $10,02\pm0,20$, $11,16\pm0,20$, $17,06\pm0,20$ e $24,43\pm0,20$.

26. A forma cristalina da Reivindicação 25, onde o padrão de difração de raio X do pó é ainda caracterizado por ter dois ou mais picos de difração nos 2θ valores selecionados

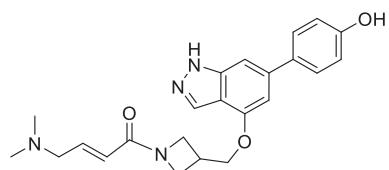
a partir de 13,10±0,20, 14,82±0,20, 16,55±0,20, 20,08±0,20, 21,08±0,20, 21,65±0,20, 22,51±0,20, 22,98±0,20, 25,02±0,20, 25,72±0,20, 26,80±0,20, 27,06±0,20, 28,31±0,20, 30,08±0,20, 30,31±0,20 e 32,08±0,20.

27. A forma cristalina da Reivindicação 24, onde a forma cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios X do pó, no qual as posições dos picos estão substancialmente de acordo com as posições dos picos do padrão mostrado na Figura 1.

28. A forma cristalina da Reivindicação 24 onde a forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria diferencial exploratória registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre 162,9 °C± 3 °C.

29. A forma cristalina da Reivindicação 24, onde a forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria diferencial exploratória substancialmente de acordo com o indicado na Figura 2.

30. Uma forma cristalina do composto de fórmula:



onde a forma cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raio X do pó que inclui picos de difração nos

2θ valores de 9,67±0,20, 11,61±0,20, 17,61±0,20, 18,88±0,20 e 23,33±0,20.

31. A forma cristalina da Reivindicação 30, onde o padrão de difração de raio X do pó é ainda caracterizado por ter picos de difração adicionais nos 2θ valores de 4,82±0,20, 15,69±0,20 e 16,19±0,20.

32. A forma cristalina da Reivindicação 31, onde o padrão de difração de raio X do pó é ainda caracterizado por ter dois ou mais picos de difração nos 2θ valores selecionados a partir de 11,92±0,20, 12,98±0,20, 13,23±0,20, 16,45±0,20, 16,67±0,20, 19,39±0,20, 19,96±0,20, 20,14±0,20, 22,14±0,20, 23,84±0,20, 24,06±0,20, 24,29±0,20, 25,31±0,20, 25,63±0,20, 27,06±0,20, 27,31±0,20, 30,10±0,20 e 30,53±0,20.

33. A forma cristalina da Reivindicação 30, onde a forma cristalina é caracterizada por um padrão de difração de raios X do pó, no qual as posições dos picos estão substancialmente de acordo com as posições dos picos do padrão mostrado na Figura 9.

34. A forma cristalina da Reivindicação 30 onde a forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria exploratória diferencial registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre 201,3 °C± 2 °C.

35. A forma cristalina da Reivindicação 30 onde a forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria diferencial exploratória registrado a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, que mostra um máximo no fluxo de calor endotérmico a uma temperatura entre 198 °C e 204 °C.

36. A forma cristalina da Reivindicação 30, onde a forma cristalina é caracterizada por um traço de calorimetria diferencial exploratória substancialmente de acordo com o indicado na Figura 10.

37. Uma composição farmacêutica **caracterizada por** compreender o composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23 ou a forma cristalina de qualquer uma das Reivindicações 24 a 36 e um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico.

38. A composição farmacêutica da Reivindicação 37, **caracterizada por** ser composta por um ou mais agentes terapêuticos, úteis no tratamento de doença inflamatória gastrintestinal.

39. Um composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina de qualquer uma das Reivindicações 24 a 36 **caracterizada pelo** uso no tratamento de uma doença inflamatória gastrintestinal em um mamífero.

40. O composto da Reivindicação 39 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou a forma cristalina da Reivindicação 39, caracterizado pela doença inflamatória gastrointestinal ser selecionada a partir do grupo que consiste na colite induzida por inibidor de checkpoint (ponto de verificação) imunológico, colite induzida por inibidor de CTLA-4, colite relacionada à doença enxerto versus hospedeiro, doença celíaca, colite colagenosa, colite linfocítica, doença de Behcet, ileite, esofagite eosinofílica e colite infecciosa.

41. O composto da Reivindicação 39 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou a forma cristalina da Reivindicação 39, caracterizado pela doença inflamatória gastrointestinal ser a colite ulcerativa.

42. O composto da Reivindicação 39 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou a forma cristalina da Reivindicação 39, caracterizado pela doença inflamatória gastrointestinal ser a doença de Crohn.

43. O composto da Reivindicação 39, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou a forma cristalina da Reivindicação 39, caracterizado pelo uso em combinação com ou mais agentes terapêuticos úteis para o tratamento da doença inflamatória gastrointestinal.

44. Uso de um composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina de qualquer uma das Reivindicações

24 a 36 **caracterizada por** produção de um medicamento para o tratamento de uma doença inflamatória gastrointestinal em um mamífero.

45. O uso da Reivindicação 44, **caracterizado pela** doença inflamatória gastrointestinal ser selecionada a partir do grupo que consiste na colite induzida por inibidor de checkpoint (ponto de verificação) imunológico, colite induzida por inibidor de CTLA-4, colite relacionada à doença enxerto versus hospedeiro, doença celíaca, colite colagenosa, colite linfocítica, doença de Behcet, ileíte, esofagite eosinofílica e colite infecciosa.

46. O uso da Reivindicação 44 **caracterizada pela** doença inflamatória gastrintestinal ser a colite ulcerativa.

47. O uso da Reivindicação 44, **caracterizada pela** doença inflamatória gastrointestinal ser a doença de Crohn.

48. Um composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico **caracterizada pelo** uso no tratamento de uma doença inflamatória gastrointestinal em um mamífero.

49. O composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico **caracterizada pelo** uso no tratamento de linfoma cutâneo de células T.

50. Uso de um composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina de qualquer uma das Reivindicações 24 a 36 **caracterizada pela** produção de um medicamento para o tratamento de uma doença inflamatória da pele em um mamífero.

51. Uso de um composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23, ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou uma forma cristalina de qualquer uma das Reivindicações 24 a 36 **caracterizada pela** produção de um medicamento para o tratamento de linfoma cutâneo de células T.

52. Um método de tratamento de uma doença inflamatória gastrointestinal em um mamífero, **caracterizado pelo** método que compreende administrar ao mamífero um composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico ou a forma cristalina de qualquer uma das Reivindicações 24 a 36 e um carreador aceitável do ponto de vista farmacêutico.

53. O método da Reivindicação 52, **caracterizado pelo** método que compreende administrar um ou mais agentes terapêuticos, úteis no tratamento de uma doença gastrointestinal inflamatória.

54. O método da Reivindicação 52, **caracterizado pela** doença inflamatória gastrointestinal ser selecionada a partir do grupo que consiste na colite induzida por inibidor de checkpoint (ponto de verificação) imunológico,

colite induzida por inibidor de CTLA-4, colite relacionada à doença enxerto versus hospedeiro, doença celiaca, colite colagenosa, colite linfocítica, doença de Behcet, ileite, esofagite eosinofílica e colite infecciosa.

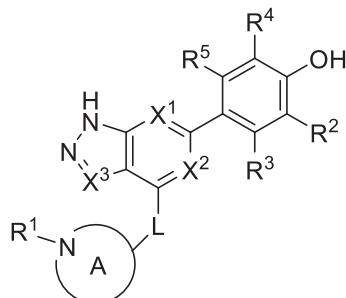
55. O método da Reivindicação 52, caracterizada pela doença inflamatória gastrintestinal ser a colite ulcerativa.

56. O método da Reivindicação 52, caracterizada pela doença inflamatória gastrointestinal ser a doença de Crohn.

57. Um método de tratamento de uma doença inflamatória de pele em um mamífero, caracterizado pelo método que compreende a aplicação de uma composição farmacêutica compreendendo o composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico à pele do mamífero.

58. Um método de tratamento de linfoma cutâneo de células T em um mamífero, caracterizado pelo método que compreende a aplicação de uma composição farmacêutica compreendendo o composto de qualquer uma das Reivindicações 1 a 23 ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico a pele do mamífero.

59. Um processo para preparar um composto de fórmula (I) ou seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico

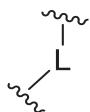


(I)

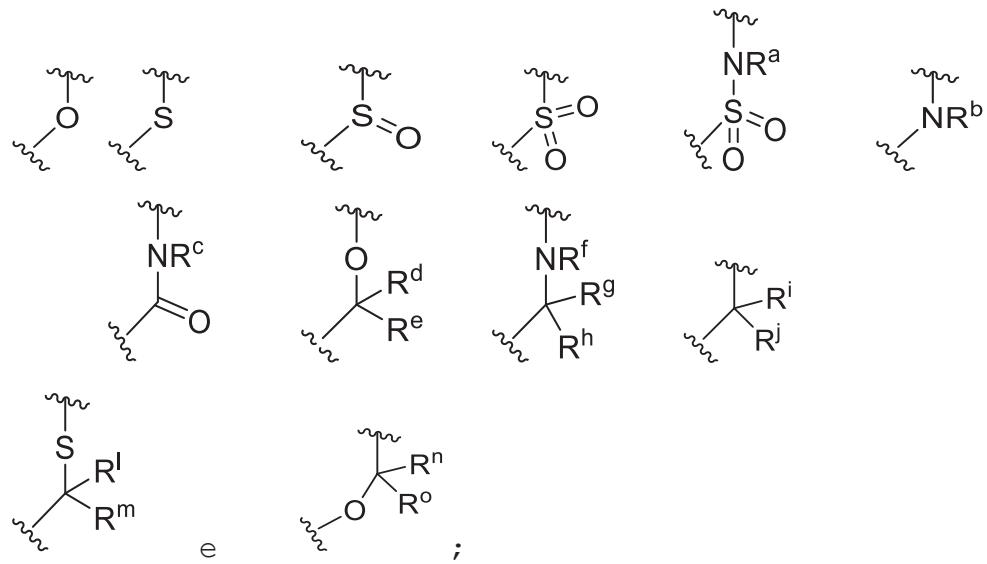
caracterizado por

X^1 e X^2 serem cada um selecionado de forma independente de N e CH;

X^3 ser selecionado do grupo composto por N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃, C-Cl, C-CN e C-OMe;



ser selecionado a partir do grupo composto por



R^a , R^b , R^c , e R^f serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C₁₋₃ alquil;

R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n e R^o serem selecionados cada um de forma independente do grupo composto por H e C_{1-3} alquil onde o grupo C_{1-3} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 halogênios;

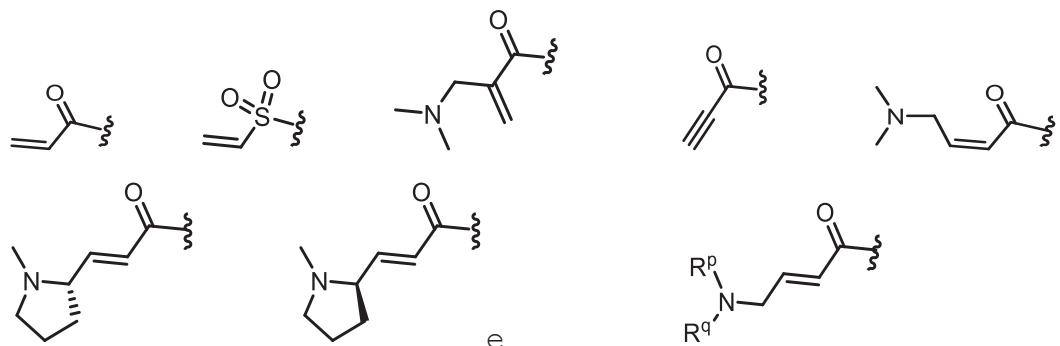
Opcionalmente, R^d e R^e podem ser unidos para formar um anel ciclopropil;

A ser selecionado a partir do grupo consistindo em

(a) um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo uma heteroátomo adicional selecionado a partir de N, S, $S(O)_2$ e O, e

(b) um grupo heterocíclico multicíclico de 6 a 10 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde L é ligado a um átomo de carbono em A e A é opcionalmente substituído pelos grupos 1 a 3 R^k ; cada R^k ser selecionado de forma independente do grupo composto por F, CN, C_{1-3} alcoxi, ciclopropil, e C_{1-3} alquil, onde o grupo C_{1-3} alquil pode ser opcionalmente substituído por OH, OMe ou 1 a 3 halogênios;

R^l ser selecionado a partir do grupo composto por



onde R^p e R^q são selecionados de forma independente do grupo composto por H, C_{3-5} cicloalquil e C_{1-6} alquil, onde o grupo

C_{1-6} alquil pode ser opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independentemente do grupo composto por C_{1-3} alcoxi e $-S-C_{1-3}$ alquil, ou R^p e R^q formarem um grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros contendo um átomo de nitrogênio e opcionalmente contendo um heteroátomo adicional selecionado de N, S e O, onde o grupo monocíclico heterocíclico de 4 a 6 membros é opcionalmente substituído por 1 a 3 substituintes selecionados de forma independente do grupo composto por C_{1-6} alquil, C_{1-3} alcoxi, $-S-C_{1-3}$ alquil e $-C_{1-3}$ alquil- C_{1-3} alcoxi;

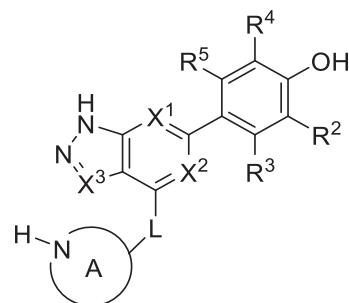
R^2 ser selecionado a partir do grupo composto por H, Cl, OMe, Me e F;

R^3 ser selecionado a partir do grupo composto por H e F;

R^4 ser selecionado a partir do grupo composto por H e F; e

R^5 ser selecionado a partir do grupo composto por H, Me e F.

O método compreendendo reagir um composto de fórmula (III) :



(III)

com

- (i) $Cl-R^1$, ou
- (ii) $HO-R^1$

e opcionalmente formando um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico

para fornecer um composto de fórmula (I) ou seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

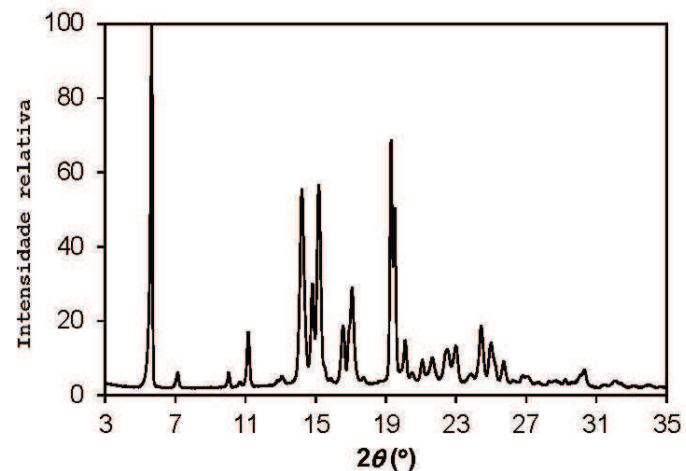


FIG.1

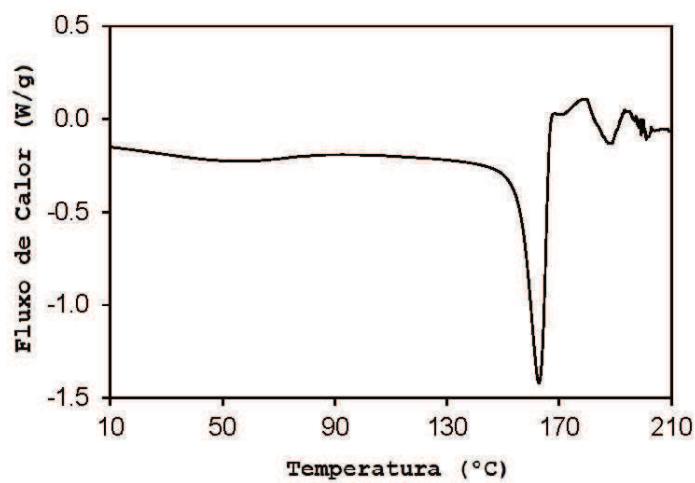


FIG.2

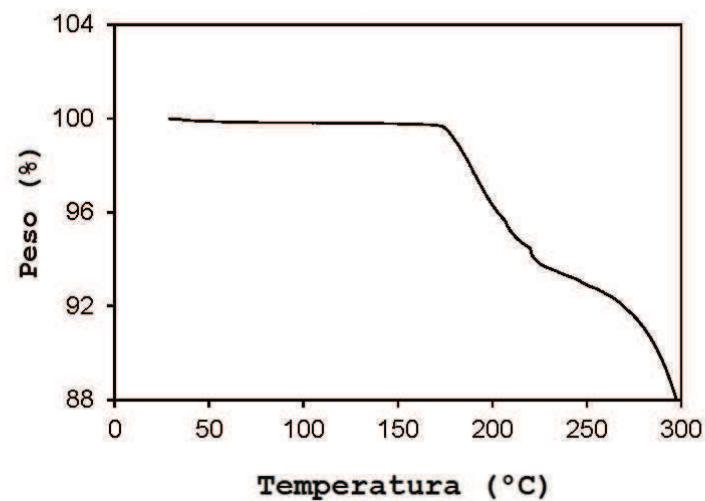


FIG. 3

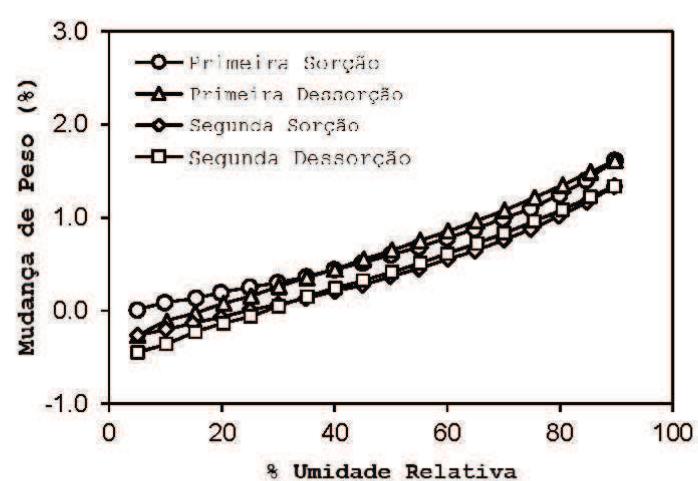


FIG. 4

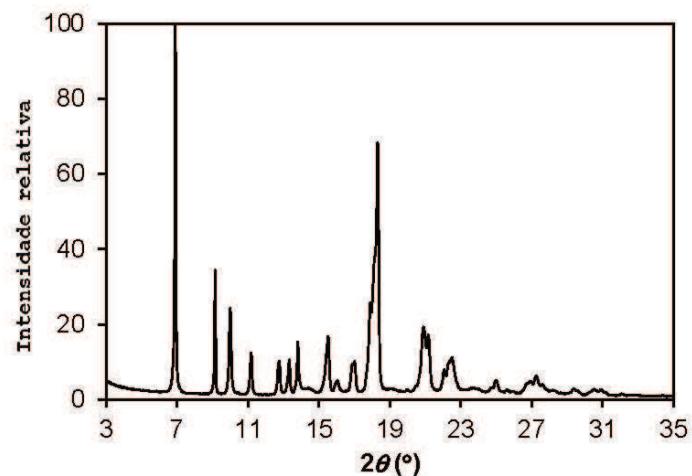


FIG. 5

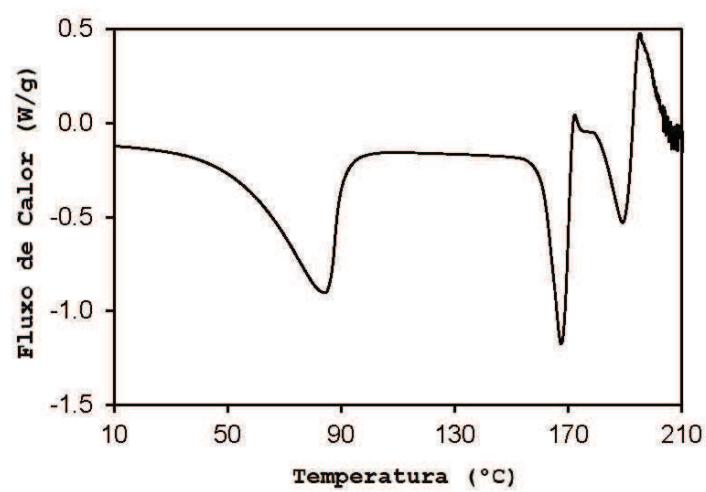


FIG. 6

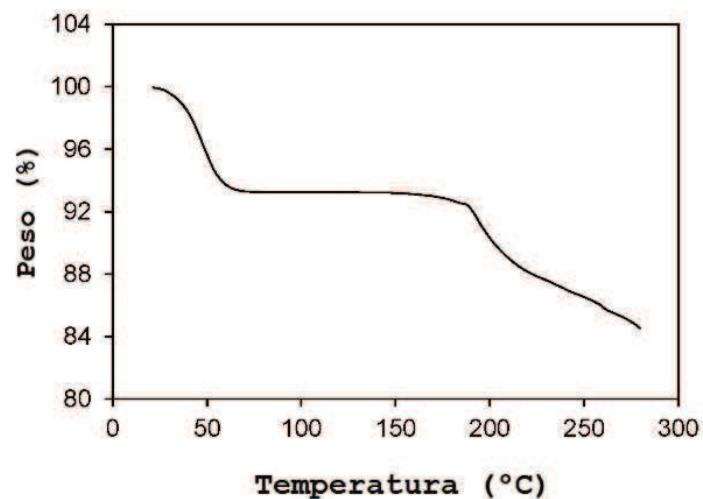


FIG. 7

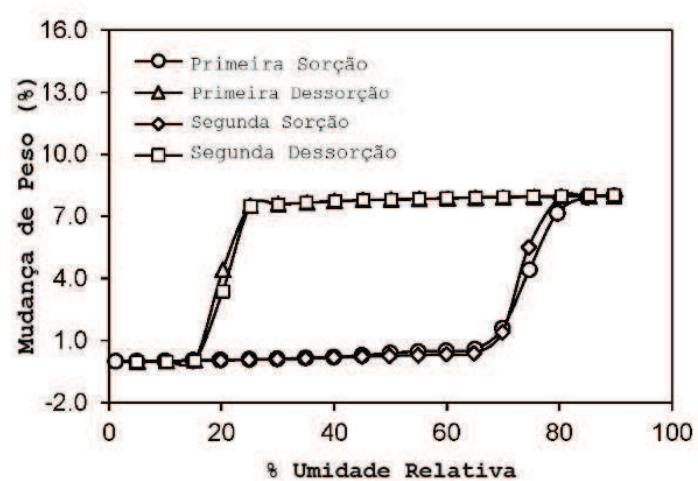


FIG. 8

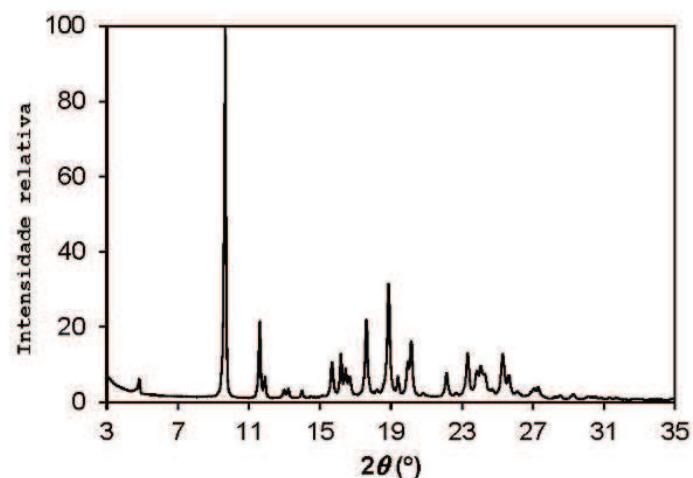


FIG. 9

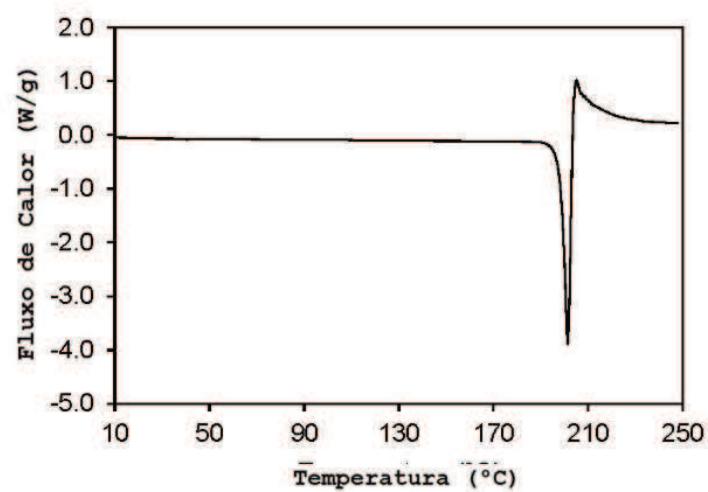


FIG. 10

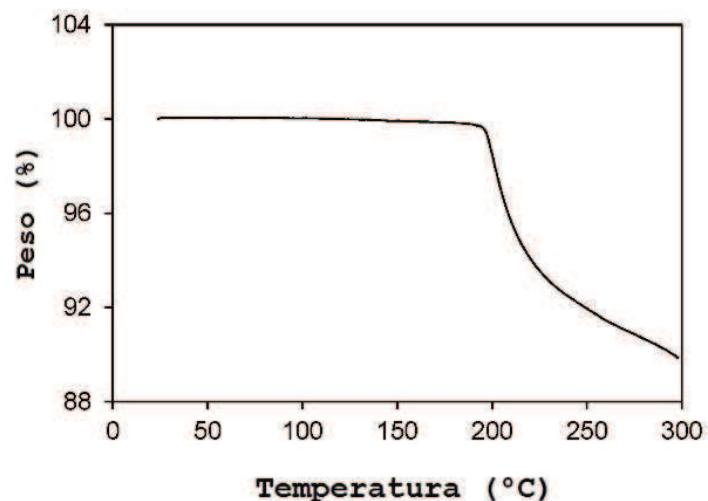


FIG.11

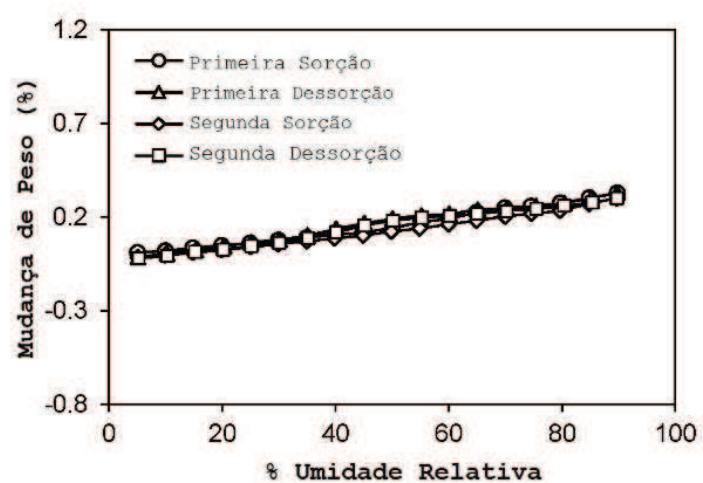


FIG.12

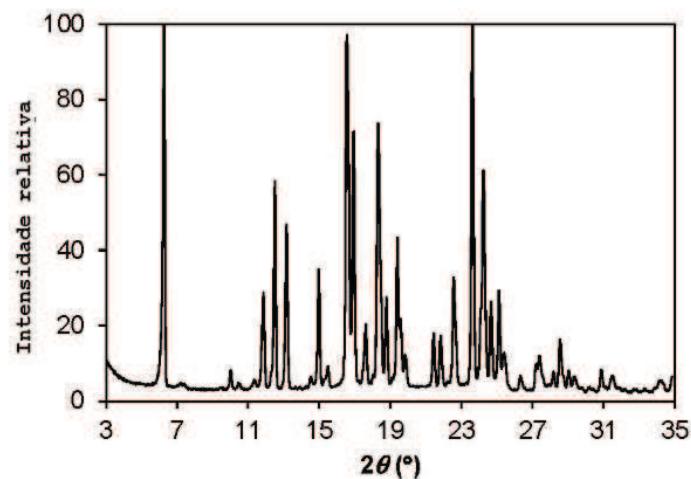


FIG.13

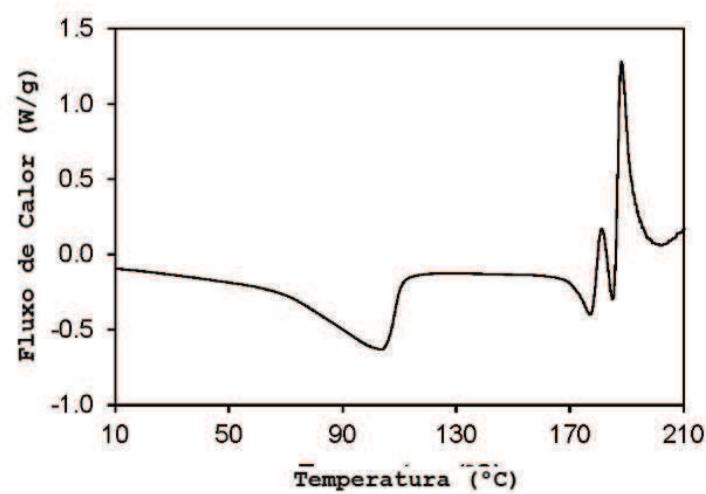


FIG.14

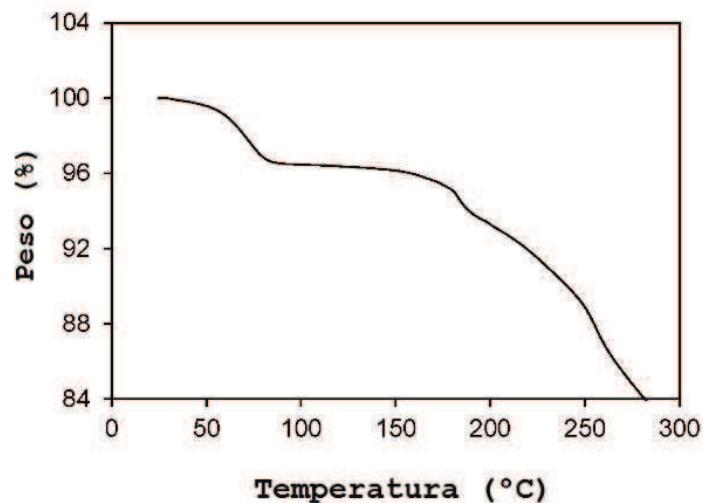


FIG.15

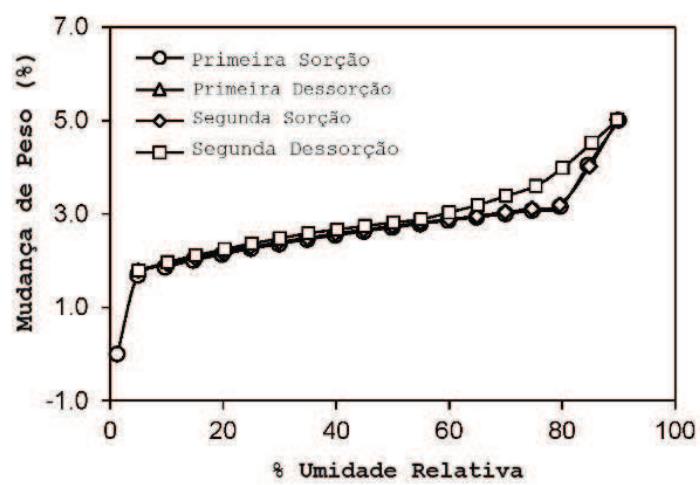


FIG.16

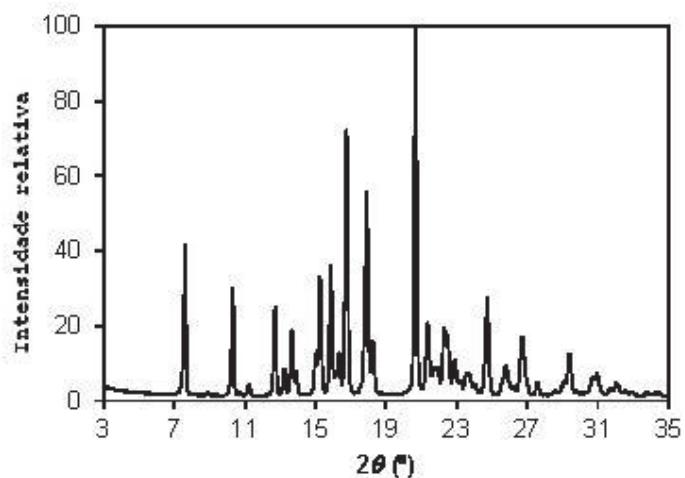
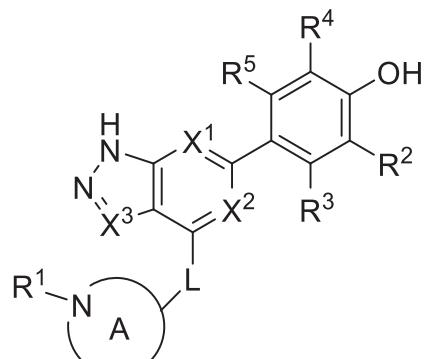


FIG. 17

RESUMO**COMPOSTOS PIRAZÓLICOS E TRIAZÓLICOS BICÍCLICOS COMO
INIBIDORES DE JAK QUIINASE**

A invenção fornece compostos de fórmula (I):



(I)

ou um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, onde as variáveis estão definidas na especificação, que são inibidores de JAK quinases, em particularmente da JAK3. A invenção também fornece formas cristalinas, composições farmacêuticas que incluem tais compostos, métodos de uso de tais compostos para tratar doenças inflamatórias gastrointestinais e outras doenças inflamatórias e processos e intermediários úteis para preparar tais compostos.