

(11) Número de Publicação: **PT 1784409 E**

(51) Classificação Internacional:

**C07D 495/04** (2007.10) **C07D 513/04** (2007.10)

**A61K 31/425** (2007.10) **A61P 25/24** (2007.10)

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

(22) Data de pedido: **2005.08.18**

(30) Prioridade(s): **2004.08.19 US 603347 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2007.05.16**

(45) Data e BPI da concessão: **2010.06.16**  
**172/2010**

(73) Titular(es):

**AVENTIS PHARMACEUTICALS INC.**  
**300 SOMERSET CORPORATE BLVD.**  
**BRIDGEWATER, NEW JERSEY 08807** **US**

(72) Inventor(es):

**YULIN CHIANG** **US**  
**DAVID MARC FINK** **US**  
**NICOLA DAWN COLLAR** **US**

(74) Mandatário:

**PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA**  
**RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA** **PT**

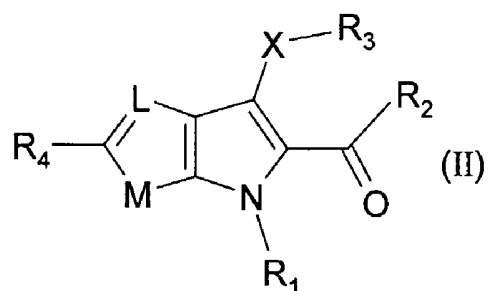
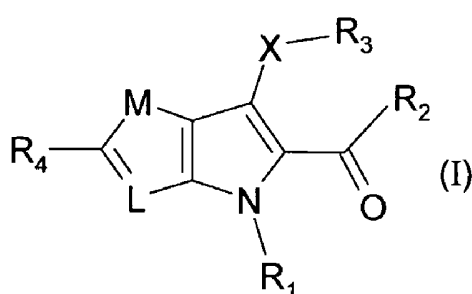
(54) Epígrafe: **AMIDAS DO ÁCIDO TIENOPIRROLECARBOXÍLICO, AMIDAS DO ÁCIDO  
PIRROLOTIAZOLE CARBOXÍLICO SUBSTITUÍDAS E ANÁLOGOS RELACIONADOS, COMO  
INIBIDORES DE CASEÍNA CINASE I ÉPSILON**

(57) Resumo:

## RESUMO

### **"AMIDAS DO ÁCIDO TIENOPIRROLECARBOXÍLICO, AMIDAS DO ÁCIDO PIRROLOTIAZOLE CARBOXÍLICO SUBSTITUÍDAS E ANÁLOGOS RELACIONADOS, COMO INIBIDORES DE CASEÍNA CINASE I ÉPSILON"**

A presente invenção descreve e reivindica compostos como inibidores de caseína cinase Iε humana e métodos para utilizar os referidos compostos para tratar doenças do sistema nervoso central e distúrbios, incluindo distúrbios de humor e distúrbios de sono. Também são divulgadas e reivindicadas composições farmacêuticas compreendendo os referidos compostos e um método para a preparação.



## DESCRIÇÃO

### "AMIDAS DO ÁCIDO TIENOPIRROLECARBOXÍLICO, AMIDAS DO ÁCIDO PIRROLOTIAZOLE CARBOXÍLICO SUBSTITUÍDAS E ANÁLOGOS RELACIONADOS, COMO INIBIDORES DE CASEÍNA CINASE I ÉPSILON"

#### Antecedentes da Invenção

##### 1. Campo da Invenção

Esta invenção refere-se a uma série de amidas de ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, amidas do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico substituídas e análogos relacionados. Mais especificamente, a invenção refere-se a amidas do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, amidas do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico 3-ariltio-substituídas e 3-heterociclotio-substituídas, e análogos relacionados, e a métodos para preparar os compostos da invenção. Os compostos da invenção são inibidores de fosforilação pela caseína cinase Iε humana do Período de proteína do relógio humano (hPER) e, assim, são úteis como agentes farmacêuticos, especialmente no tratamento e/ou prevenção de doenças e distúrbios relacionados com o sistema nervoso central.

## 2. Descrição da Técnica

As variações rítmicas no comportamento são apresentadas por vários organismos, desde células unitárias até ao homem. Quando o ritmo persiste sob condições constantes e tem um período de cerca de um dia, dependendo pouco da temperatura, o ritmo é designado "circadiano" (Konopka, R.J. e Benzer, S. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **68**, 2112-2116).

Os ritmos circadianos são gerados por estimuladores cardíacos biológicos endógenos (relógios circadianos) e estão presentes na maioria dos organismos vivos incluindo humanos, fungos, insectos e bactérias (Dunlap, J.C. (1999) *Cell* **96**, 271-290; Hastings, J.W. et al. *Circadian Rhythms, The Physiology of Biological Timing*. Em: Prosser, C.L. ed. *Neural and Integrative Animal Physiology*, Nova Iorque: Wiley-Liss (1991) 435-546; Allada, R. et al. (1998) *Cell* **93**, 791-804; Kondo et al. (1994) *Science* **266**, 1233-1236; Crosthwaite, S.K. et al. (1997) *Science* **276**, 763-769; Shearman, L.P. et al. (1997) *Neuron*, **19**, 1261-1269). Os ritmos circadianos são auto-sustentáveis e constantes, até mesmo sob condições de escuridão total, mas podem ser sincronizados (arrastados) para um novo regime dia/noite por sinais ambientais, tais como ciclos de luz e temperatura (Pittendrigh, C.S. (1993) *Annu. Rev. Physiol.*, **55**, 16-54; Takahashi, J.S. (1995) *Annu. Rev. Neurosci.* **18**, 531-553; Albrecht, U. et al. (1997) *Cell*, **91**, 1055-1064). Os relógios circadianos são essenciais para manter ritmos biológicos e regular uma variedade de comportamentos circadianos, tais como flutuações diárias no comportamento, alimentação e o ciclo sono/vigília, bem como variações fisiológicas, tais como secreção hormonal e flutuações na temperatura corporal

(Hastings, M. (1997) Trends Neurosci. **20**, 459-464; Reppert, S.M. e Weaver, D.R. (1997) Cell **89**, 487-490).

Estudos genéticos e moleculares na mosca da fruta *Drosophila melanogaster* conduziram à elucidação de alguns dos genes envolvidos na ritmicidade circadiana. Estes estudos conduziram ao reconhecimento de uma via que é estritamente auto-regulada e compreendida por um ciclo de retroalimentação negativo com base em transcrição/translação (Dunlap, J.C. (1999) Cell, **96**, 271-290; Dunlap, J.C. (1996) Annu. Rev. Genet. **30**, 579-601; Hall, J.C. (1996) Neuron, **17**, 799-802). Os elementos nucleares do oscilador circadiano na *Drosophila* consistem em duas proteínas estimuladoras dCLOCK/dBMAL (CICLO) e duas proteínas inibidoras dPERIOD (dPER) e dTIMELESS (dTIM). As dCLOCK e dBMAL heterodimerizam formando o factor de transcrição dCLOCK/dBMAL que promove a expressão de dois genes designados *Drosophila Period* (*dper*) e *Drosophila Timeless* (*dtim*). Por último, os mRNA destes genes são transcritos, para proporcionar as proteínas dPER e dTIM, respectivamente. Durante várias horas, os produtos de proteína dPER e dTIM são sintetizados e fosforilados no citoplasma, atingem um nível crítico e formam heterodímeros que são translocalizados para o núcleo. Uma vez no núcleo, dPER e dTIM funcionam como reguladores negativos da sua própria transcrição, a acumulação de dPER e dTIM diminui e a activação de *dper* e *dtim* pelas dCLOCK/dBMAL inicia-se novamente (Zylka, M.J. et al. (1998) Neuron **20**, 1103-1110; Lowrey, P.L. et al. (2000) **288**, 483-491). Demonstrou-se que o gene *dper* é um elemento necessário no controlo de ritmos circadianos no comportamento da eclosão no adulto (a emergência da mosca adulta a partir da pupa) e actividade locomotora (Konopka, R.J., & Benzer, S. (1971) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **68**, 2112-2116). As mutações sem sentido do gene *per* podem encurtar (*per<sup>S</sup>*) ou alongar

(*per<sup>L</sup>*) o período de ritmos circadianos, enquanto as mutações sem sentido (*per<sup>o</sup>*) provocam arritmicidade nos seus comportamentos (Hall, J.C. (1995) Trends Neurosci. **18**, 230-240).

Em mamíferos, os núcleos supraquiasmáticos (SCN) do hipotálamo anterior são o local de um relógio biológico principal (para revisão, ver Panda et al, (2002) Nature 417, 329-335; Reppert, S.M. e Weaver, D.R. (1997) Cell, **89**, 487-490). O relógio de SCN está ligado ao dia de 24 horas pelo ciclo diário luz/escuro, com a luz a actuar através de vias retina-para-SCN directa como indirecta (Klein, D.C. et al. (1991) Suprachiasmatic Nuclei: The Mind's Clock, Oxford University Press, Nova Iorque). No SCN de roedores, três genes *Per* foram identificados e clonados e são designados como *Per1* (*mPer1*), *mPer2* e *mPer3* de murganho. Os produtos de proteína destes genes de mamífero (*mPER1*, *mPER2*, *mPER3*) partilham várias regiões de homologia entre si e cada gene *Per* de mamífero codifica uma proteína com um domínio de dimerização de proteína designado por PAS (PAS é um acrónimo para as três primeiras proteínas PER, ARNT e SIM identificadas partilharem este domínio de dimerização importante do ponto de vista funcional) que é altamente homólogo ao domínio PAS do PER de insecto. Todos os RNA mensageiros de *Per* (mRNA) e níveis de proteína oscilam durante o dia circadiano e estão intimamente envolvidos na regulação positiva e negativa do relógio biológico, mas apenas *mPER1* e *mPER2* oscilam em resposta à luz (Zylka, M.J. et al. (1998) Neuron **20**, 1103-1110; Albrecht, U. et al., (1997) Cell **91**, 1055-1064; Shearman, L.P. et al. (1997) Neuron **19**, 1261-1269). O homólogo mamífero do gene *tim* de *Drosophila* foi clonado e designado por *mTim*. No entanto, não houve nenhuma evidência de interacções *mPER*-*mTIM* análogas às observadas em *Drosophila* e foi sugerido que interacções PER-PER podem ter substituído a função de dímeros PER-TIM nas operações

moleculares do relógio circadiano de mamífero (Zylka, M.J. *et al.*, (1998) *Neuron* **21**, 1115-1122). Outra possibilidade é que os ritmos em PER1 e PER2 formam ciclos de retroalimentação negativos que regulam a actividade de transcrição da proteína Clock (via os seus domínios PAS) que, por sua vez, regulam a expressão de um, outro ou ambos os genes *Per* (Shearman, L.P. *et al.* (1997) *Neuron* **19**, 1261-1269).

Entender os papéis dos três genes *mPer* no mecanismo de relógio de mamífero tem sido o objectivo de muita investigação. A homologia estrutural das proteínas mPER relativamente a dPER conduziu à expectativa de que as proteínas mPER funcionariam como elementos negativos no ciclo de retroalimentação de mamífero. Acredita-se que a PER1 está envolvida na regulação negativa da sua própria transcrição no ciclo de retroalimentação, mas provas recentes apontam para o seu envolvimento na via de entrada (Hastings, M.H. *et al.* (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **26**, 15211-15216). A PER2 é a proteína melhor caracterizada, e um murganho knock-out em mPER2 (*mPer2<sup>Brdm1</sup>*), sem 87 resíduos na porção carboxilo do domínio de dimerização PAS, tem um ciclo circadiano encurtado em valores de luz-escuro normais, mas demonstram arritmicidade em escuridão total. A mutação também diminui a expressão oscilante de *mPer1* e *mPer2* no SCN, indicando que a *mPer2* poderá regular *mPer1* *in vivo* (Zheng, B. *et al.* (1999) *Nature* **400**, 169-173). Foi demonstrado que a PER2 tem uma função dupla na regulação das “transmissões” do relógio central (Shearman, L.P. *et al.* (2000) *Science* **288**, 1013-1018). Nesse estudo, foi demonstrado que PER2 se liga a proteínas do criptocromo (CRY) e translocaliza-se para o núcleo onde o CRY regulou negativamente a transcrição é conduzida pelos complexos transcripcionais positivos CLOCK e BMAL1. Após entrada no núcleo, a PER2 iniciou o braço positivo do

relógio por regulação positiva da transcrição por BMAL1 por um mecanismo ainda não identificado. A função de PER3 é pouco entendida; no entanto, em murganhos “knockout” *mPer3*, é observado um efeito subtil na actividade circadiana e, assim, tem sido sugerido que a PER3 está envolvida nas vias de saída controladas de forma circadiana (Shearman, L.P. et al. (2000) Mol. Cell. Biol. **17**, 6269-6275). Foi descrito que as proteínas mPER interagem entre si e que a mPER3 pode servir como um veículo de mPER1 e mPER2 para trazê-las para o núcleo, o que é crítico para a geração de sinais circadianos no SCN (Kume, K. et al. (1999) Cell **98**, 193-205; Takano, A. et al. (2000), FEBS Letters, **477**, 106-112).

Foi postulado que a fosforilação dos componentes do relógio circadiano regula a duração do ciclo. A primeira prova genética de que uma proteína cinase específica regula o ritmo circadiano de *Drosophila* foi a identificação do novo gene “doubletime” (*dbt*) que codifica uma proteína cinase serina/treonina (Price J.L. et al. (1998) Cell 94, 83-95; Kloss B. et al. (1998) Cell 94, 97-107). As mutações sem sentido no *dbt* resultam num ritmo circadiano alterado. Os alelos nulos de *dbt* resultam em hipofosforilação de dPER e arritmia.

As cinases de mamífero mais intimamente relacionadas com DBT são caseína cinase Iε (CKIε) e caseína cinase Iδ (CKIδ). Foi demonstrado que ambas as cinases se ligam a mPER1 e vários estudos demonstraram que CKIε fosforila ambas as PER1 de murganho e de humano (Price J.L. et al. (1998) Cell 94, 83-95; Kloss B. et al. (1998) Cell 94, 97-107). Num estudo com células 293T renais embrionárias de humano co-transfectadas com hCKIε do tipo selvagem, a hPER1 mostrou um aumento significativo na fosforilação (evidenciado por uma variação na massa molecular).



Neste estudo, a hPER1 fosforilada tinha uma meia vida de aproximadamente doze horas, ao passo que hPER1 não fosforilada permaneceu estável na célula durante mais de 24 horas, sugerindo que a fosforilação de hPER1 conduz a um decréscimo na estabilidade da proteína (Kessler, G.A. *et al.* (2000) *NeuroReport*, **11**, 951-955). Outro estudo também mostrou que a consequência da fosforilação de PER1 por hCKI $\epsilon$  inclui retenção citoplasmática e instabilidade de proteína (Vielhaber, E. *et al.* (2000) *Mol. Cell. Biol.* **13**, 4888-4899; Takano, A. *et al.* (2000) *FEBS Letters* **477**, 106-112).

Não tem havido nenhuma razão bioquímica para escolher entre CKI $\epsilon$  ou CKI $\delta$  como um potencial regulador em mamíferos até que Lowery *et al.* [(2000) *Science* **288**, 483-491] constatou que em Hamsters Syrian Golden, mutações semidominantes em CKI $\epsilon$  (mutação *tau*, Ralph, M.R. e Menaker, M. (1988) *Science* **241**, 1225-1227) provocaram um dia circadiano encurtado em animais heterozigóticos (22 h) e homozigóticos (20 h). Neste caso, níveis reduzidos de actividade CKI $\epsilon$  resultaram em menor fosforilação de PER com níveis presumivelmente mais elevados de proteína PER citoplasmática conduzindo a entrada no núcleo melhorada e ciclos circadianos alterados. Mais recentemente, foi sugerido que CKI $\delta$  também pode estar envolvida na regulação da ritmicidade circadiana por modificação pós-translação de proteínas hPER1 e hPER2 de relógio de mamífero [Camacho, F. *et al.*, (2001) *FEBS Letters* **489**(2,3), 159-165]. Assim, inibidores, incluindo inibidores de moléculas pequenas, de CKI $\epsilon$  e/ou CKI $\delta$  de mamífero ou humano, proporcionam um novo meio para variação ou reinício de fase do relógio circadiano. Como discutido a seguir, a alteração de ritmo circadiano pode encontrar utilidade para o tratamento de distúrbios do sono ou de humor.

A patente US6555328 B1 descreve métodos de rastreamento em células para identificar compostos que alteram ritmos circadianos com base num composto de ensaio alterando a capacidade de caseína cinase 1 $\epsilon$  humana e/ou caseína cinase 1 $\delta$  humana em fosforilar as proteínas hPER1, hPER2 e hPER3 de relógio de humano. Por exemplo, as células HEK293T são co-transfectadas com hCKI $\epsilon$  e Per1 ou Per2. Para o objectivo de avaliar a importância da inibição de CKI $\epsilon$  e inibidores de CKI $\epsilon$  para a biologia circadiana, foi desenvolvido um ensaio celular de elevado rendimento (33<sup>rd</sup> Annual Meeting, Soc. for Neurosci., 8-12 de Novembro de 2003, Números de resumo 284.1, 284.2e 284.3) no qual o ritmo circadiano pudesse ser monitorizado de um modo rotineiro. O ensaio consiste em fibroblastos de Rat-1 que expressam, de um modo estável, uma construção *Mper1-luc*, permitindo assim a determinação da activação rítmica do promotor *Mper1* em células vivas por estimativa repetida de actividade de luciferase por monitorização da emissão de luz durante vários dias. O formato de medida repetida do ensaio permite a avaliação exacta e reprodutível dos efeitos dependentes da concentração de inibidores de CKI $\epsilon$  no ritmo circadiano e proporciona o elo para relacionar a inibição de CKI $\epsilon$  com a alteração do período circadiano.

Os distúrbios do sono têm sido classificados em quatro categorias principais que incluem distúrbios do sono primários (dissónias e parassónias), distúrbios do sono relacionados com distúrbios clínicos/psiquiátricos e uma categoria de distúrbios do sono proposta para distúrbios do sono que não podem ser classificados devido a dados insuficientes. Julga-se que os distúrbios do sono primários surgem de anomalias nos sistemas intrínsecos responsáveis pela produção (sistema homeostático) ou temporização (sistema circadiano) de sono-vigília. As dissónias

são distúrbios no início ou manutenção do sono e incluem insônia primária, hipersônia (sonolência excessiva), narcolepsia, distúrbio do sono relacionado com respiração, distúrbio do sono do ritmo circadiano e dissônias não especificadas de outro modo. A insônia primária é caracterizada pela persistência (>1 mês) na dificuldade de iniciar e manter o sono ou do sono não reparador. As dificuldades em dormir, relacionadas com insônia primária, conduzem a angústia ou disfunção significativa, incluindo irritabilidade durante o dia, perda de atenção e concentração, fadiga e mau estar, e deterioração do humor e motivação. Os distúrbios do sono do ritmo circadiano incluem síndrome de *jet lag*, distúrbio do sono devido a trabalho por turnos, síndrome da fase do sono avançado e síndrome da fase do sono atrasado (J. Wagner, M.L. Wagner e W.A. Hening, *Annals of Pharmacotherapy* (1998) **32**, 680-691). Os indivíduos num paradigma do sono forçado demonstram uma maior vigília, como uma percentagem de tempo de sono, em determinados períodos do dia circadiano (Dijk e Lockley, *J. Appl. Physiol.* (2002) 92, 852-862). Tem sido geralmente aceite que com a idade existe um avanço no nosso ritmo circadiano para o sono e resulta, frequentemente, em menor sono de qualidade (*Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2002) 282, E297-E303). Assim, o sono que ocorre fora da fase circadiana pode sofrer, em termos qualitativos e quantitativos, como ainda exemplificado por alterações no sono, em trabalho por turnos e *jet lag*. O distúrbio do relógio circadiano humano pode provocar distúrbios do sono e os agentes que modulam a ritmicidade circadiana, tais como um inibidor de CKI $\epsilon$  e/ou CKI $\delta$ , podem ser úteis para o tratamento de distúrbios do sono e, em particular, distúrbios do sono do ritmo circadiano.

Os distúrbios de humor estão divididos em distúrbios depressivos (“depressão unipolar”), distúrbios bipolares e dois distúrbios baseados em etiologia que incluem distúrbio de humor devido a um estado clínico geral e distúrbio de humor induzido por substância. Os distúrbios depressivos são sub-classificados como distúrbio depressivo principal, distúrbio distímico e distúrbio depressivo não indicado de outra forma. Os distúrbios bipolares são sub-classificados como distúrbio bipolar I e distúrbio bipolar II. Tem sido observado que o “padrão sazonal” especificador pode ser aplicado a distúrbios depressivos principais que são recorrentes e ao padrão de episódios depressivos principais em distúrbio bipolar I e distúrbio bipolar II. A anergia proeminente, hipersonia, sobre-alimentação, aumento de peso e uma apetência para hidratos de carbono, caracterizam, frequentemente, episódios depressivos principais que ocorrem num padrão sazonal. Não é claro se um padrão sazonal é mais provável num distúrbio depressivo principal que é recorrente ou em distúrbios bipolares. No entanto, nos distúrbios bipolares, um padrão sazonal parece ser mais provável no distúrbio bipolar II do que no distúrbio bipolar I. Em alguns indivíduos, o início de episódios maníacos ou hipomaníacos também pode estar ligado a uma estação em particular. O padrão sazonal do tipo inverno parece variar com a latitude, idade e sexo. A prevalência aumenta com latitudes mais elevadas, pessoas mais novas têm um risco mais elevado para episódios depressivos de Inverno e as mulheres compreendem 60% a 90% das pessoas com padrão sazonal. O distúrbio afectivo sazonal (SAD), um termo normalmente utilizado em literatura, é um subtipo de distúrbio de humor que no Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV (DSM-IV) (American Psychiatric Association: “Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders”, Quarta Edição, Revisão

de Texto. Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000) é denominado pelo termo “com padrão sazonal” ao descrever um padrão sazonal de episódios depressivos principais em distúrbio bipolar I, distúrbio bipolar II ou distúrbio depressivo principal recorrente (E. M. Tam *et al.*, Can. J. Psychiatry (1995) **40**, 457-466). As características e diagnósticos de distúrbios depressivos, distúrbio depressivo principal e episódio depressivo principal, distúrbio bipolar I, distúrbio bipolar II e efeitos sazonais estão descritos em DSM-IV.

Tem sido demonstrado que doentes que sofrem de distúrbios depressivos principais, incluindo SAD que é caracterizada por episódios depressivos recorrentes, tipicamente, no Inverno, respondem positivamente a terapia de luz (Kripke, Journal of Affective Disorders (1998) **49**(2), 109-117). O sucesso de tratamento com luz clara para doentes com SAD e depressão principal resultou na proposta de várias hipóteses para explicar o mecanismo de acção subjacente para o efeito terapêutico da luz. Estas hipóteses incluíram a “hipótese de ritmo circadiano” que sugere que o efeito anti-depressivo da luz clara podia estar associado a variação de fase do pacemaker circadiano relativo ao sono (E. M. Tam *et al.*, Can. J. Psychiatry (1995) **40**, 457-466). Suportando a ligação entre terapia de luz e ritmo circadiano, a terapia de luz clinicamente eficaz em distúrbios depressivos principais provoca uma variação concomitante na fase circadiana e a eficácia clínica da terapia de luz parece depender da capacidade de variação de fase da terapia de luz (Czeisler *et al.*, The Journal of Physiology (2000) 526 (Part 3), 683-694; Terman *et al.*, Arch. Gen. Psychiatry (2001) **58**, 69-75). Adicionalmente, foi demonstrado que a terapia de luz acelera e aumenta a eficácia do tratamento farmacológico de distúrbios

depressivos principais (Benedetti et al., J. Clin. Psychiatry (2003) **64**, 648-653). Assim, esperar-se-ia que a inibição de caseína cinase I $\epsilon$  e/ou caseína cinase I $\delta$  poderia provocar uma variação da fase circadiana e tal inibição representa uma potencial terapia mono ou combinada para distúrbios do humor.

Deve ser notado que o distúrbio do sono é um critério sintomático para vários distúrbios psiquiátricos (W.V. McCall, J. Clin. Psychiatry (2001) **62** (suppl 10), 27-32). Os distúrbios do sono são uma característica comum de distúrbios depressivos e a insónia é o distúrbio do sono que é frequentemente documentado na depressão, ocorrendo em mais de 90% de doentes deprimidos (M.E. Thase, J. Clin. Psychiatry (1999) **60** (suppl 17), 28-31). Várias provas suportam uma patogénese comum para insónia primária e distúrbio depressivo principal. Tem sido considerado como hipótese que a hiperactividade do factor de libertação da corticotrofina (CRF) (devido a predisposição genética ou, possivelmente, stress prematuro) e stress induz um processo conduzindo a perturbações do sono exageradas e prolongadas e, eventualmente, insónia primária. A ritmicidade circadiana em secreção de CRF sob condições de não stress poderá desempenhar um papel na expressão sono-vigia normal (G.S. Richardson e T. Roth, J. Clin Psychiatry (2001) **62** (suppl 10), 39-45). Assim, os agentes que modulam a ritmicidade circadiana, por exemplo, por inibição de caseína cinase I $\epsilon$  e/ou caseína cinase I $\delta$ , podem ser úteis para o tratamento de distúrbios depressivos devido a efeitos na secreção de CRF.

Todas as referências aqui referidas acima, são aqui incorporadas por referência na sua totalidade.

Meggio, F et al. European Journal of Biochemistry, vol. 187, 1990, 89-94 descrevem um estudo da especificidade e modo de acção de 17 análogos de 5,6-Dicloro-1-( $\beta$ -D-ribofuranosil)benzimidazole como inibidores de caseína cinase.

Mashhoon, N. et al. J. Biol. Chem., vol. 275, 2000, 20052-20060 descrevem um estudo da capacidade de 3-[(2,4,6-trimetoxifenil)metilidenil]-indolin-2-ona (IC261) para inibir a caseína cinase-1.

Ning, K. et al. Nature Neuroscience, vol. 7, Maio de 2004, 489-490 descrevem um estudo do papel das caseína cinases I $\epsilon$ -I $\delta$  na modulação da função do receptor GABA<sub>A</sub> em células "clock" de núcleos supraquiasmáticos (SCN).

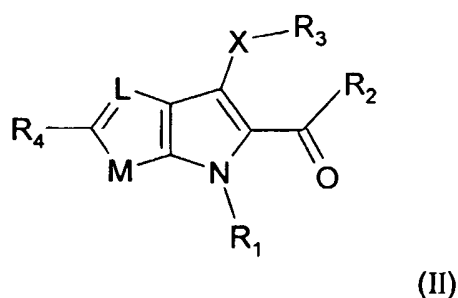
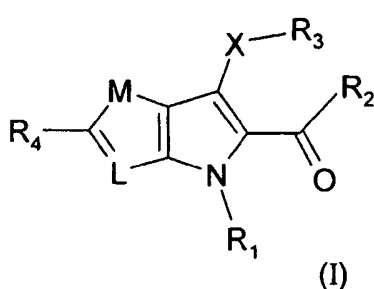
Assim, é um objecto desta invenção proporcionar uma série de amidas do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, amidas do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico substituídas e análogos relacionados que são inibidores de caseína cinase I $\epsilon$ . Este objecto e outros objectos desta invenção tornam-se evidentes a partir da discussão detalhada da invenção que se segue.

## **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

A presente invenção proporciona amidas do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, amidas do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico, amidas do ácido 4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico substituídas e análogos

relacionados de fórmula (I) e fórmula (II), e os estereoisómeros, enantiómeros, racematos e tautómeros dos referidos compostos e os seus sais farmacêuticamente aceitáveis, como inibidores de actividade de caseína cinase Iε humana, e os compostos de fórmula (I) e fórmula (II) para utilização como agentes farmacêuticos no tratamento de doenças e distúrbios do sistema nervoso central, tais como, por exemplo, distúrbios do humor, incluindo distúrbio depressivo principal, distúrbio bipolar I e distúrbio bipolar II, e distúrbios do sono, incluindo distúrbios do sono de ritmo circadiano, tais como, por exemplo, distúrbio do sono devido a trabalho por turnos, síndrome de *jet lag*, síndrome da fase do sono avançado e síndrome da fase do sono retardado. A presente invenção também proporciona métodos para preparar os compostos de fórmula (I) e fórmula (II) da invenção.

Em conformidade, uma forma de realização alargada da invenção é dirigida para um composto de fórmula (I) ou fórmula (II):



em que

X é S ou S(O)<sub>n</sub>;

R<sub>1</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;



$R_2$  é  $NR_5R_6$ ;

$R_3$  é arilo ou heterociclo;

$R_4$  é H, alquilo $C_1-C_6$ , alcenilo $C_2-C_6$ , alcinilo $C_2-C_6$ ,  
aril-(alquilo $C_1-C_6$ ), heterociclo-(alquilo $C_1-C_6$ ),  
alcoxilo $C_1-C_6$ , aril-(alcoxilo $C_1-C_6$ ), heterociclo-  
(alcoxilo $C_1-C_6$ ),  $CF_3$ , halogéneo, SH, alquil $C_{1-6}$ tio,  
aril-(alquil $C_{1-6}$ tio), heterociclo-(alquil $C_{1-6}$ tio),  $NO_2$ ,  $NH_2$ ,  
 $NR_5R_6$ , aril-(alquil $C_{1-6}$ amino), heterociclo-  
(alquil $C_{1-6}$ amino), ou  $XR_3$  em que X e  $R_3$  são como definidos  
acima;

$R_5$  é H ou alquilo $C_1-C_6$ ;

$R_6$  é H ou alquilo $C_1-C_6$ ;

L é N ou  $CR_7$ , em que  $R_7$  é H ou alquilo $C_1-C_6$ ;

M é S, O ou  $NR_8$ , em que  $R_8$  é H, alquilo $C_1-C_6$ ,  
aril-(alquilo $C_1-C_6$ ), heterociclo-(alquilo $C_1-C_6$ ) ou acilo;

n é 1 ou 2; ou

um seu estereoisómero, um enantiómero, um racemato ou um  
tautómero; ou

um seu sal farmaceuticamente aceitável.

Outra forma de realização da presente descrição refere-se a  
um método para inibir a actividade da caseína cinase I $\epsilon$ , num

doente compreendendo administrar, ao referido doente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II).

Outra forma de realização da presente descrição refere-se a um método para tratar um doente que sofre de uma doença ou distúrbio melhorado pela inibição da actividade de caseína cinase I $\epsilon$  que compreende administrar, ao referido doente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula I ou fórmula II.

Uma outra forma de realização da presente invenção refere-se a um processo para preparar um composto de fórmula (I) ou fórmula (II).

#### **DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO**

Como aqui utilizado, "estereoisómero" é um termo geral utilizado para todos os isómeros de moléculas individuais que diferem apenas na orientação dos seus átomos no espaço. O termo estereoisómero inclui isómeros de imagem no espelho (enantiómeros), misturas de isómeros de imagem no espelho (racematos, misturas racémicas), isómeros geométricos (cis/trans ou E/Z) e isómeros de compostos com mais do que um centro quiral que não são imagens no espelho um do outro (diaestereoisómeros). Os compostos da presente invenção podem ter centros assimétricos e ocorrem como racematos, misturas racémicas, diaestereoisómeros individuais, ou enantiómeros, ou podem existir como isómeros geométricos, com todas as formas isoméricas dos referidos compostos estando incluídas na presente invenção.

Como aqui utilizado, "R" e "S" são utilizados como geralmente utilizados em química orgânica para referir a configuração específica de um centro quiral. O termo "R" (*rectus*) refere-se à configuração de um centro quiral com uma relação de prioridades de grupo no sentido dos ponteiros do relógio (do mais elevado para o segundo mais baixo) quando visionado ao longo da ligação de encontro ao grupo de menor prioridade. O termo "S" (*sinister*) refere-se à configuração de um centro quiral com uma relação de prioridades de grupo no sentido inverso ao dos ponteiros do relógio (do mais elevado para o segundo mais baixo) quando visionado ao longo da ligação de encontro ao grupo de menor prioridade. A prioridade de grupos é baseada em regras de sequência em que a prioridade é baseada em primeiro lugar, no número atômico (por ordem de número atômico decrescente). Uma listagem e discussão de prioridades está contida em *Stereochemistry of Organic Compounds*, Ernest L. Eliel, Samuel H. Wilen e Lewis N. Mander, editors, Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, Inc., Nova Iorque, 1994.

Além do sistema (R)-(S), o sistema D-L mais antigo também pode ser aqui utilizado para referir configuração absoluta, especialmente com referência a aminoácidos. Neste sistema, uma fórmula de projecção de Fischer é orientada de modo a que o carbono número 1 da cadeia principal está no topo. O prefixo "D" é utilizado para representar a configuração absoluta do isómero no qual o grupo funcional (determinante) está à direita do carbono, no centro quiral e "L", a do isómero no qual está à esquerda.

Como aqui utilizado, "tautómero" ou "tautomerismo" refere-se à co-existência de dois (ou mais) compostos que diferem entre si apenas na posição de um (ou mais) átomos lábeis

e na distribuição de electrões, por exemplo, tautómeros ou tautomerismo ceto-enólico.

Como aqui utilizado, "alquilo" refere-se a um grupo hidrocarboneto alifático de cadeia linear ou ramificada tendo desde um até seis átomos de carbono e inclui metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo e grupos semelhantes. Incluído no significado de "alquilo" estão "alquilenos" ou "alcilenilos" como definidos abaixo.

Como aqui utilizado, "alquilenos" ou "alcilenilos" refere-se a uma cadeia alifática linear ou ramificada, divalente, saturada, de um a seis carbonos e inclui metilenilo, etilenilo, propilenilo, isopropilenilo, butilenilo, isobutilenilo, t-butilenilo, pentilenilo, isopentilenilo, hexilenilo e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "alcenilos" refere-se a uma cadeia alifática não saturada, monovalente, linear ou ramificada, tendo desde dois a seis átomos de carbono e inclui etenilo (também conhecido como vinilo), 1-metiletenilo, 1-metil-1-propenilo, 1-butenilo, 1-hexenilo, 2-metil-2-propenilo, 2,4-hexadienilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-butenilo, 2-pentenilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "alcinilos" é uma cadeia alifática, linear ou ramificada, monovalente, não saturada, tendo desde dois a seis átomos de carbono com, pelo menos, uma ligação tripla e inclui etinilo, 1-propinilo, 1-butinilo, 1-hexinilo, 2-propinilo, 2-butinilo, 2-pentinilo e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "alcoxilo" ou "alquilo" referem-se a um substituinte monovalente que consiste numa cadeia alquilo, linear ou ramificada, tendo desde um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de oxigénio éter e tendo a sua ligação de valência livre a partir do oxigénio éter e inclui metoxilo, etoxilo, propoxilo, isopropoxilo, butoxilo, sec-butoxilo, terc-butoxilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "alquiltio" refere-se a um substituinte monovalente que consiste numa cadeia alquilo, linear ou ramificada, tendo desde um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de enxofre e tendo a sua ligação de valência livre a partir do enxofre e inclui metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, butiltio, sec-butiltio, terc-butiltio, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "alceniloxilo" refere-se a uma cadeia alifática, linear ou ramificada, monovalente não saturada, tendo desde dois a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de oxigénio éter e tendo a sua ligação de valência livre a partir do oxigénio éter e inclui eteniloxilo (também conhecido como viniloxilo), 1-metiletetiloxilo, 1-metil-1-propeniloxilo, 1-buteniloxilo, 1-hexeniloxilo, 2-metil-2-propenilo, 2,4-hexadieniloxilo, 1-propeniloxilo, 2-propeniloxilo, 2-buteniloxilo, 2-penteniloxilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "alciniloxilo" refere-se a uma cadeia alifática, linear ou ramificada, monovalente não saturada, tendo desde dois a seis átomos de carbono com, pelo menos, uma ligação tripla ligados através de um átomo de oxigénio éter e tendo a sua ligação de valência livre a partir do

oxigénio éter e inclui etiniloxilo, 1-propiniloxilo, 1-butiniloxilo, 1-hexiniloxilo, 2-propiniloxilo, 2-butiniloxilo, 2-pentiniloxilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo cicloalquiloC<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> refere-se a uma estrutura anelar hidrocarbonada saturada contendo desde três a oito átomos de carbono e inclui ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo, e semelhantes.

Como aqui utilizado, "arilo" ou "Ar" significa qualquer anel carbonado monocíclico, bicíclico ou tricíclico, estável, cpm até sete membros em cada anel, em que, pelo menos, um anel é aromático e não substituído ou substituído com desde um até três substituintes seleccionados do grupo consistindo de metilenodioxilo, hidroxilo, alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halogéneo, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, trifluorometoxilo, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -NH-acilo e -N(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)acilo. Exemplos de "arilo" ou "Ar", incluem fenilo, 2-clorofenilo, 3-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2-fluorofenilo, 3-fluorofenilo, 4-fluorofenilo, 2-bromofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 2-trifluorometilfenilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-trifluorometilfenilo, 2-metoxifenilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 2-aminofenilo, 3-aminofenilo, 4-aminofenilo, 2-metilfenilo, 3-metilfenilo, 4-metilfenilo, 2-nitrofenilo, 3-nitrofenilo, 4-nitrofenilo, 2,4-diclorofenilo, 2,3-diclorofenilo, 3,5-dimetilfenilo, 2-trifluorometoxifenilo, 3-trifluorometoxifenilo, 4-trifluorometoxifenilo, naftilo, tetra-hidronaftilo e bifenilo.

Como aqui utilizado, o termo "aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" refere-se a um grupo arilo, como definido acima, ligado por uma cadeia

alquilenos, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono e tendo a sua ligação de valência livre a partir de um dos carbonos alquilenos da cadeia. Exemplos de "aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" incluem fenilmetilo (benzilo), feniletilo, p-metoxibenzilo, p-fluorobenzilo, p-clorobenzilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "aril-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" refere-se a um grupo arilo, como definido acima, ligado por uma cadeia alquilenos, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de oxigénio éter e tendo a sua ligação de valência livre a partir do oxigénio éter. Exemplos de aril-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) incluem fenilmetoxilo (benziloxilo), feniletoxilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino)" refere-se a um grupo arilo, como definido acima, ligado por uma cadeia alquilenos, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de azoto e tendo a sua ligação de valência livre a partir do azoto em que o referido azoto está, opcionalmente, substituído com um hidrogénio ou um alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Exemplos de aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino) incluem fenilmetilamino (benzilamino), feniletilamino, N-metil-N-benzilamino, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio)", refere-se a um grupo arilo, como definido acima, ligado por uma cadeia alquilenos, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de enxofre e tendo a sua ligação de valência livre a partir do enxofre. Exemplos de aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio) incluem fenilmetiltio (benziltio), feniletiltio, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "acilo" refere-se a um grupo  $\text{H}-(\text{C}=\text{O})-$ ,  $\text{alquilC}_1\text{-C}_6-(\text{C}=\text{O})-$ ,  $\text{aril}-(\text{C}=\text{O})-$ ,  $\text{aril}(\text{alquilC}_1\text{-C}_6)-(\text{C}=\text{O})-$ ,  $\text{heterociclo}-(\text{C}=\text{O})-$  ou  $\text{heterociclo}(\text{alquilC}_1\text{-C}_6)-(\text{C}=\text{O})-$ , em que alquilo, arilo e heterociclo são como aqui definidos e tendo a sua ligação de valência livre a partir da unidade carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ). Incluído no significado de acilo estão acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, trifluoroacetilo, tricloroacetilo, benzoílo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "heterociclo" ou "heterocíclico" significa um anel heterocíclico monocíclico estável de 5 a 7 membros ou bicíclico estável de 8 a 11 membros, o qual está saturado ou não saturado, e que consiste em átomos de carbono e de um a três heteroátomos seleccionados do grupo que consiste em N, O e S, e em que os heteroátomos azoto e enxofre podem estar, opcionalmente, oxidados e o heteroátomo azoto pode ser, opcionalmente, quaternário e incluindo qualquer grupo bicíclico em que qualquer dos anéis heterocíclicos acima definidos está fundido a um anel benzeno. O anel heterocíclico pode estar ligado a qualquer heteroátomo ou átomo de carbono que resulte na formação de uma estrutura estável. O anel heterocíclico pode ser não substituído ou substituído com desde um a três substituintes seleccionados do grupo que consistindo de alcóxilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ , hidróxilo, halogéneo, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ , alcenilo $\text{C}_2\text{-C}_6$ , alcinilo $\text{C}_2\text{-C}_6$ , trifluorometilo, trifluorometóxilo,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NH}(\text{alquiloC}_1\text{-C}_6)$ ,  $-\text{N}(\text{alquiloC}_1\text{-C}_6)_2$ ,  $-\text{NH-acilo}$  e  $-\text{N}(\text{alquilC}_1\text{-C}_6)\text{acilo}$ . Exemplos de tais elementos heterocíclicos incluem piperidinilo, piperazinilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, 2-oxoazepinilo, azepinilo, pirrolilo, pirrolidinilo, pirazolilo, pirazolidinilo, imidazolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, oxazolilo,



oxazolidinilo, isoxazolilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolilo, tiazolidinilo, isotiazolilo, quinuclidinilo, isotiazolidinilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzimidazolilo, tiadiazolilo, benzopiranilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, furilo, tetra-hidrofurilo, benzofuranilo, tetra-hidropiranilo, tienilo, benzotienilo, tiamorfolinilo e oxadiazolilo.

Como aqui utilizado, o termo "heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" ou "heterocíclico-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" refere-se a um heterociclo ou anel heterocíclico, como definido acima, ligado por uma cadeia alquileno, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono, a outro átomo de carbono ou a um heteroátomo seleccionado do grupo consistindo de O, N e S. Incluído no significado de heterociclo(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) ou heterocíclico(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) estão 4-piridinilmetilo, 3-piridinilmetilo, 2-piridinilmetilo, 2-furanometilo, 2-tenil(2-tiofenometilo), 5-nitro-2-tenilo, 5-(2-clorofenil)-2-furanometilo, 1-(fenilsulfonil)-1H-pirrole-2-metilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "heterociclo-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" ou "heterocíclico-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" refere-se a um heterociclo ou anel heterocíclico, como definido acima, ligado por uma cadeia alquileno, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de oxigénio éter e tendo a sua ligação de valência livre a partir do oxigénio éter. Incluído no significado de heterociclo(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) ou heterocíclico(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) estão 2-tienilmetoxilo, 3-tienilmetoxilo, 2-furanometoxilo, 3-furanometoxilo, 4-piridinilmetoxilo, 3-piridinilmetoxilo, 2-piridinilmetoxilo, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino)" ou "heterocíclico-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino)" refere-se a um heterociclo ou anel heterocíclico, como definido acima, ligado por uma cadeia alquileno, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de azoto e tendo a sua ligação de valência livre a partir do azoto, em que o referido azoto está, opcionalmente, substituído com um hidrogénio ou um alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Incluído no significado de heterociclo(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino) ou heterocíclico(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino) estão 2-tienilmetilamino, 3-tienilmetilamino, 2-furanometilamino, 3-furanometilamino, 4-piridinilmetilamino, 3-piridinilmetilamino, 2-piridinilmetilamino e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, o termo "heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio)" ou "heterocíclico-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio)" refere-se a um heterociclo ou anel heterocíclico, como definido acima, ligado por uma cadeia alquileno, linear ou ramificada, contendo um a seis átomos de carbono ligados através de um átomo de enxofre e tendo a sua ligação de valência livre a partir do enxofre. Incluído no significado de heterociclo(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio) ou heterocíclico(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio) estão 2-tienilmetiltio, 3-tienilmetiltio, 2-furanometiltio, 3-furanometiltio, 4-piridinilmetiltio, 3-piridinilmetiltio, 2-piridinilmetiltio, e os grupos semelhantes.

Como aqui utilizado, "halogéneo", "hal" ou "halo" referem-se a um membro da família de flúor, cloro, bromo ou iodo.

Quando qualquer variável (e. g., arilo, heterociclo, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, X) ocorre mais do que uma vez em qualquer

constituente ou num composto de fórmula (I) ou fórmula (II) desta invenção, a sua definição em cada ocorrência é independente da sua definição em qualquer outra ocorrência, a menos que indicado de outra forma. Além disso, combinações de substituintes e/ou variáveis são permitidas apenas se tais combinações resultarem em compostos estáveis.

Como aqui utilizado, “tratar”, “tratando” ou “tratamento” referem-se a:

(i) prevenir uma doença, distúrbio ou estado de ocorrer num doente que pode estar predisposto à doença, distúrbio e/ou condição, mas que ainda não foi diagnosticado como tendo a mesma;

(ii) inibir uma doença, distúrbio ou estado, *i.e.*, travar o seu desenvolvimento; ou

(iii) aliviar uma doença, distúrbio ou estado, *i. e.*, provocar a regressão da doença, distúrbio e/ou estado.

Como aqui utilizado, o termo “doente” refere-se a um animal de sangue quente, tal como um mamífero que está afectado com uma doença, distúrbio ou estado em particular. Está explicitamente entendido que cobaias, cães, gatos, ratos, murganhos, cavalos, gado, bovídeos e humanos são exemplos de animais que estão no âmbito do significado do termo.

Como aqui utilizado, “doença” refere-se a uma doença, enfermidade ou uma interrupção, cessação ou distúrbio de funções, sistemas ou órgãos corporais.

Como aqui utilizado, “distúrbio” refere-se a um distúrbio da função, estrutura ou ambos resultando de falha genética ou embriológica em desenvolvimento, ou de factores exógenos, tais como veneno, lesão ou doença.

Como aqui utilizado, “estado” refere-se a um estado de ser, saúde ou aptidão física.

Como aqui utilizado, “profilaxia” refere-se à prevenção de doença.

Como aqui utilizado, o termo “distúrbio do sono”, “distúrbios do sono” ou “perturbação do sono” significa insónia.

Como aqui utilizado, o termo “insónia” significa a incapacidade para dormir na ausência de impedimentos externos, tais como barulho, luz clara, etc., durante o período em que dormir deveria ocorrer naturalmente e a incapacidade para dormir pode variar em grau desde agitação ou sono perturbado a uma redução da duração normal do sono ou uma vigília absoluta. O termo “insónia” inclui insónia primária, insónia relacionada com um distúrbio mental, insónia induzida por substância e insónia de ritmo circadiano que é a insónia devido a uma alteração no plano sono-vigília normal (alterações de turno, distúrbio do sono devido a trabalho por turnos, *jet lag* ou síndrome de *jet lag*, etc.).

Como aqui utilizado o termo “insónia primária” significa dificuldade em iniciar o sono, em manter o sono ou ter sono reparador, a qual não é provocada por um distúrbio mental ou devido a efeitos fisiológicos de tomada ou abstinência de determinadas substâncias (insónia induzida por substância).

Como aqui utilizado o termo “distúrbio do sono do ritmo circadiano” inclui *jet lag* ou síndrome de *jet lag*, distúrbio do sono devido a trabalho por turnos, síndrome da fase do sono avançado síndrome da fase do sono retardado.

Como aqui utilizado o termo “quantidade inibidora eficaz de um composto” ou “quantidade eficaz de um composto inibidora de caseína cinase I $\epsilon$ ” significa o suficiente de um composto que se torna biodisponível, através da via adequada de administração, para tratar um doente assolado com uma doença, distúrbio ou estado receptivo ao referido tratamento.

Como aqui utilizado, o termo “uma quantidade terapeuticamente eficaz” significa uma quantidade de um composto que é eficaz no tratamento da doença, distúrbio ou estado referido.

Como aqui utilizado, a frase “alargamento do período do ritmo circadiano” refere-se ao aumento do intervalo entre eventos seminais num processo que ocorre regularmente com uma frequência de, aproximadamente, uma vez a cada 24 horas.

Como aqui utilizado, a frase “encurtamento do período do ritmo circadiano” refere-se ao decréscimo do intervalo entre eventos seminais num processo que ocorre regularmente com uma frequência de aproximadamente uma vez a cada 24 horas.

Como aqui utilizado, o termo “sal farmaceuticamente aceitável” pretende ser aplicado a qualquer sal previamente conhecido ou identificado no futuro que é utilizado por um especialista na técnica que é um sal de adição orgânico ou inorgânico não tóxico que é adequado para utilização como um

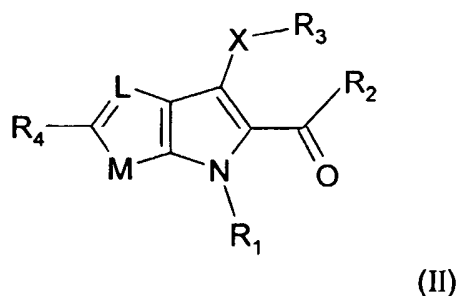
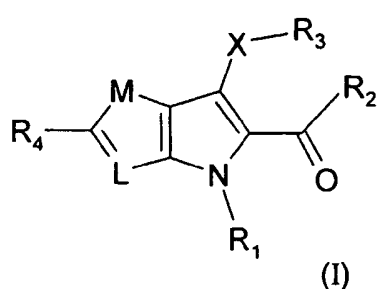
fármaco. Bases ilustrativas que formam sais adequados incluem hidróxidos de metal alcalino ou metal alcalino-terroso, tais como hidróxidos de sódio, potássio, cálcio ou magnésio; amónia e aminas alifáticas, cíclicas ou aromáticas, tais como metilamina, dimetilamina, trietilamina, dietilamina, isopropildietilamina, piridina e picolina. Ácidos ilustrativos que formam sais adequados incluem ácidos inorgânicos, tais como, por exemplo, clorídrico, bromídrico, sulfúrico, fosfórico, e ácidos semelhantes, e ácidos carboxílicos orgânicos, tais como, por exemplo, acético, propiónico, glicólico, láctico, pirúvico, malónico, succínico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maléico, hidroximaléico e di-hidroximaléico, benzóico, fenilacético, 4-aminobenzóico, 4-hidroxibenzóico, antranílico, cinâmico, salicílico, 4-aminossalicílico, 2-fenoxibenzóico, 2-acetoxibenzóico, mandélico, e ácidos semelhantes, e ácidos sulfónicos orgânicos, tais como ácidos metanossulfónico, benzenossulfónico e p-toluenossulfónico.

Como aqui utilizado, “veículo farmacêutico” ou “veículo farmacêuticamente aceitável” refere-se a excipientes farmacêuticos conhecidos úteis na formulação de compostos farmacêuticamente activos para administração e que são, substancialmente, não tóxicos e não sensibilizadores sob condições de utilização. A proporção exacta destes excipientes é determinada pela solubilidade e propriedades químicas do composto activo, a via de administração escolhida, bem como a prática farmacêutica corrente. Na prática dos métodos desta invenção, o ingrediente activo é incorporado, de um modo preferido, numa composição contendo um veículo farmacêutico, apesar dos compostos serem eficazes e poderem ser administrados, por si só. Dito isso, a proporção de ingrediente activo pode variar desde cerca de 1% a cerca de 90% em peso.

Outras abreviaturas que podem aparecer nesta aplicação terão os seguintes significados:

Me (metilo), Et (etilo), Ph (fenilo), Et<sub>3</sub>N (triethylamina), p-TsOH (ácido para-toluenossulfônico), TsCl (cloreto de para-toluenossulfonilo), hept (heptano), DMF (dimetilformamida), NMP (1-metil-2-pirrolidinona ou N-metil-2-pirrolidinona), IPA (isopropanol ou álcool isopropílico), DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno), DBN (1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno), ta ou t.a. (temperatura local ou temperatura ambiente), min ou min. (minutos), h (hora ou horas), UV (ultravioleta), LCMS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa), t-Boc ou Boc (terc-butoxicarbonilo), Bn (benzilo), t-Bu (butilo terciário), i-Pr (isopropilo), TFA (ácido trifluoroacético), HOAc (ácido acético), EtOAc (acetato de etilo), Et<sub>2</sub>O (éter dietílico), EtOH (etanol), DIEA (diisopropiletilamina), EDC (cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida); HOBT (1-hidroxibenzotriazole), g (grama), mg (miligrama), µg (micrograma), ng (nanograma), mL (mililitro), µL (microlitro), L (litro), HPLC (cromatografia líquida de elevada performance), TLC, tlc ou Tlc (cromatografia em camada fina), g/L (grama por litro), SiO<sub>2</sub> (sílica gel), L/min (litros por minuto), mL/min (mililitros por minuto), mmol (milimole), M (molar), mM (milimolar), µM (micromolar), nM (nanomolar), µCi (microCurie), CPM (contagens por minuto), rpm (rotações por minuto), mm (milímetro), µm (micrómetro), µ (micron), nm (nanómetro), ppm (partes por milhão), psi (libras por polegada ao quadrado), eq. ou equiv. (equivalente), R<sub>T</sub> (tempo de retenção), °C (graus Celsius) e K (Kelvin).

Em conformidade, uma forma de realização alargada da invenção é dirigida para um composto de fórmula (I) ou fórmula (II):



em que X é S ou S(O)<sub>n</sub>; R<sub>1</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; R<sub>2</sub> é NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>; R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo; R<sub>4</sub> é H, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), CF<sub>3</sub>, halogéneo, SH, alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio, aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio), heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio), NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino), heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino), ou XR<sub>3</sub> em que X e R<sub>3</sub> são como definidos acima; R<sub>5</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; R<sub>6</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; L é N ou CR<sub>7</sub> em que R<sub>7</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; M é S, O ou NR<sub>8</sub> em que R<sub>8</sub> é H, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) ou acilo; e n é 1 ou 2.

Uma outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (I) ou fórmula (II), em que M e X são cada um S.

Outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (I) em que L é CR<sub>7</sub> e M e X são cada um S.

Uma outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (I), em que M e X são cada um S, L é CR<sub>7</sub> e



R<sub>7</sub> é H. Os seguintes compostos são exemplos representativos no âmbito desta forma de realização:

amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(4-clorofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-aminofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(piridin-2-ilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-p-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(tiofen-2-il-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3,5-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(piridin-4-ilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-m-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-o-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2,3-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2,5-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-etil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-bromo-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3,5-dimetil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-metoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-metoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-trifluorometil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-fluoro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico, e

amida do ácido 6-(3-trifluorometoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico.

Outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (I), em que L é N e M e X são cada um S. Os seguintes compostos são exemplos representativos no âmbito desta forma de realização:

amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluoro-fenilsulfanil)-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, e

amida do ácido 6-(piridin-2-ilsulfanil)-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico.

Outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (II) em que L é CR<sub>7</sub> e M e X são cada um S.

Uma outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (II), em que M e X são cada um S, L é CR<sub>7</sub> e R<sub>7</sub> é H. Os seguintes compostos são exemplos representativos no âmbito desta forma de realização:

amida do ácido 4-(piridin-2-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(fenilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(piridin-4-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]-  
pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3,5-diclorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(tiofen-2-il-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3-bromofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3-metoxifenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(2-metoxifenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3-clorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico, e

amida do ácido 4-(3-metilfenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-  
b]pirrole-5-carboxílico.

Outra forma de realização desta invenção refere-se a compostos de fórmula (II), em que L é N e M e X são cada um S. Os seguintes compostos são exemplos representativos no âmbito desta forma de realização:

amida do ácido 2-metil-6-fenil-sulfanil-4H-pirrólo[3,2-  
d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-metoxifenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-clorofenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-trifluorometoxi-fenilsulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 2,6-bis-fenilsulfanil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 2,6-bis-(3-metoxi-fenilsulfanil)-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico, e

amida do ácido 6-(3-metoxifenil-sulfanil)-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico.

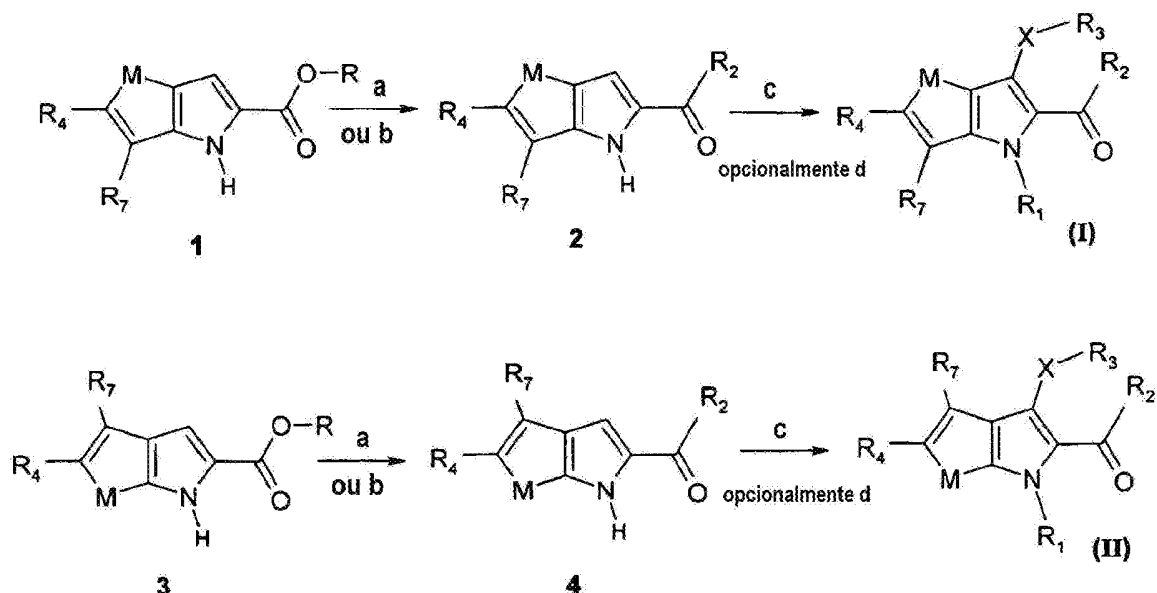
Outra forma de realização da presente invenção, refere-se a um método para inibir a actividade da caseína cinase Iε num doente que compreende administrar, ao referido doente, uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) que resulta num prolongamento do período de ritmo circadiano.

Outra forma de realização da presente invenção, refere-se a um método para tratar um doente que sofre de uma doença ou distúrbio melhorado por inibição de actividade de caseína cinase Iε que compreende administrar, ao referido doente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que a referida inibição de actividade de caseína cinase Iε resulta num prolongamento do período de ritmo circadiano.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados por processos análogos aos conhecidos na técnica. Os esquemas reaccionais 1, 2 e 3, e o texto descritivo correspondente, descrevem a preparação dos vários compostos da invenção. Os métodos e exemplos descritos são apresentados com objectivos ilustrativos e não limitam de forma alguma o âmbito da presente invenção. Reagentes alternativos, condições reaccionais e outras combinações e modificações dos passos aqui descritos, para conseguir os compostos individuais, são prontamente evidentes para alguém com conhecimentos gerais na técnica. As tabelas 1, 2, 3 e 4 proporcionam sumários dos compostos exemplo e os dados biológicos para os compostos exemplo da invenção são resumidos na Tabela 5.

## SÍNTESE QUÍMICA

Esquema 1



O esquema 1 descreve a síntese de 4H-tieno[3,2-b]pirroles (M é S), 4H-furo[3,2-b]pirroles (M é O) e 1,4-di-hidropirrolo[3,2-b]pirroles (M é  $NR_8$ ) de fórmula (I), em que L é  $CR_7$  e a síntese de 6H-tieno[2,3-b]pirroles (M é S), 6H-furo[2,3-b]pirroles (M é O) e 1,6-di-hidropirrolo[2,3-b]pirroles (M é  $NR_8$ ) de fórmula (II), em que L é  $CR_7$ , a partir de ésteres ou ácidos carboxílicos conhecidos ou comercialmente disponíveis **1** e **3** respectivamente, em que R é alquilo ou H.

No esquema 1, passo a, os ésteres de partida **1** ou **3**, em que R é alquilo, são convertidos em amidas **2** ou **4**, respectivamente, por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Assim, tratar uma mistura de amónia a cerca de 7 M amónia e éster **1** ou **3** num solvente polar adequado, tal como, por exemplo, metanol ou etanol, com uma pastilha de hidróxido de lítio e aquecer a

mistura resultante num vaso sob pressão a cerca de 100 °C, durante cerca de 16 horas, proporciona, após purificação cromatográfica, como é bem conhecido pelo especialista na técnica, a amida primária **2** ou **4**, respectivamente. Em alternativa, outras condições reaccionais bem conhecidas pelo especialista na técnica podem ser utilizadas, tal como tratar uma solução de éster **1** ou **3** num solvente polar adequado, tal como, por exemplo, metanol ou etanol, com solução de amónia de cerca de 5 M a cerca de 7 M, durante cerca de um dia a cerca de três dias, à temperatura ambiente ou por aquecimento da solução a cerca de 55 °C, durante cerca de 10 horas, proporciona a amida primária **2** ou **4**, respectivamente, após isolamento por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Em alternativa, o éster **1** ou **3** pode ser suspenso numa mistura de solução de hidróxido de amónio concentrado e cloreto de lítio, à temperatura ambiente, durante cerca de três a cerca de cinco dias até que a análise por cromatografia em camada fina, ou outra análise cromatográfica adequada, como bem conhecida pelo especialista na técnica, indique que a reacção está substancialmente completa. As amidas primárias **2** ou **4** são isoladas da mistura reaccional por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Se as alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>aminas primárias ou secundárias são utilizadas em vez de amónia ou hidróxido de amónio, são então obtidas as amidas secundárias e terciárias correspondentes **2** ou **4**, em que R<sub>2</sub> é NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, R<sub>5</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e R<sub>6</sub> é alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

Como mostrado no esquema I, passo b, os ácidos carboxílicos comercialmente disponíveis ou conhecidos **1** ou **3** (em que R é H) podem ser convertidos em amidas **2** ou **4**, respectivamente, por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Quando desejado, os ácidos carboxílicos **1** ou **3** (R é H) também podem ser



preparados por hidrólise dos ésteres correspondentes **1** ou **3** (R é alquilo) por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Por exemplo, uma base adequada, tais como, por exemplo, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio, hidróxido de lítio e bases semelhantes, é adicionada a uma mistura de éster **1** ou **3** num solvente adequado, tal como, por exemplo, uma mistura de tetra-hidrofurano e água. A mistura é aquecida a cerca de 90 °C a cerca de 110 °C, durante cerca de 0,5 hora a cerca de 2 horas. O produto é recuperado como um sal por filtração e o filtrado é concentrado para proporcionar material adicional como um resíduo. O bolo de filtração e resíduo são combinados e acidificados por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica, tal como, por exemplo, acidificação com um ácido adequado, tal como ácido acético, num solvente adequado, tais como metanol, etanol, e solventes semelhantes, para proporcionar ácidos carboxílicos **1** ou **3**, respectivamente, em que R é H. Como mostrado no esquema I, passo b, por exemplo, uma solução do ácido carboxílico **1** ou **3** num solvente adequado, tal como dimetilformamida, é tratada com uma base, tal como diisopropiletilamina, uma carbodiimida, tal como, por exemplo, cloridrato de (1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazole e cloreto de amónio. Quando a reacção está completa, como determinado por cromatografia em camada fina, ou outra análise cromatográfica adequada, como bem conhecida pelo especialista na técnica, a mistura é diluída com um solvente adequado, e o produto é isolado e purificado por cromatografia, por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica, para proporcionar amidas primárias **2** ou **4**, respectivamente, em que R<sub>2</sub> é NH<sub>2</sub>. Se as alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>aminas primárias ou secundárias são utilizadas em vez de cloreto de amónio, são, então, obtidas as amidas secundárias e terciárias

correspondentes **2** ou **4**, em que  $R_2$  é  $NR_5R_6$ ,  $R_5$  é H ou alquilo $C_1-C_6$  e  $R_6$  é alquilo $C_1-C_6$ .

Como mostrado no esquema 1, passo c, as amidas intermediárias **2** ou **4** são, cada, tioariladas na posição 3 do anel pirrole que contém a amida por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Por exemplo, uma suspensão de amida intermediária **2** ou **4** num solvente adequado, tais como, por exemplo, dimetilformamida ou NMP, é tratada com uma base adequada, tal como, por exemplo, hidreto de sódio ou hidreto de lítio, à temperatura ambiente, seguido por tratamento com um diarildissulfureto ou di-heterociclodissulfureto adequado e, em seguida, a mistura é agitada, à temperatura ambiente, a cerca de 100 °C, durante cerca de 12 horas a cerca de 20 horas. O curso da reacção é seguido por análise cromatográfica em camada fina ou outros métodos cromatográficos, como são bem conhecidos pelo especialista na técnica. Quando completa, a reacção é tratada por métodos extractivos, como são bem conhecidos pelo especialista na técnica. Os 4H-tieno[3,2-b]pirroles (M é S), 4H-furo[3,2-b]pirroles (M é O) e 1,4-di-hidropirrolo[3,2-b]pirroles (M é  $NR_8$ ) desejados de fórmula (I), em que L é  $CR_7$ , X é S e  $R_3$  é arilo ou heterociclo e 6H-tieno[2,3-b]pirroles (M é S), 6H-furo[2,3-b]pirroles (M é O) e 1,6-di-hidropirrolo[2,3-b]pirroles (M é  $NR_8$ ) de fórmula (II), em que L é  $CR_7$ , X é S e  $R_3$  é arilo ou heterociclo, são cada isolados e purificados por cromatografia por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica.

Alternativamente, uma mistura do diarildissulfureto ou di-heterociclodissulfureto e cerca de um equivalente de carbonato de cézio, num solvente adequado, tais como, por exemplo, dimetilformamida ou NMP, é tratada com a amida

intermediária **2** ou **4** e, em seguida, a mistura é aquecida a cerca de 80 °C a cerca de 120 °C, durante cerca de uma a cerca de seis horas. A reacção é monitorizada por cromatografia em camada fina ou outros métodos cromatográficos, como são bem conhecidos pelo especialista na técnica. Os 4H-tieno[3,2-b]pirroles (M é S), 4H-furo[3,2-b]pirroles (M é O) e 1,4-di-hidropirrolo[3,2-b]pirroles (M é NR<sub>3</sub>) de fórmula (I) desejados, em que L é CR<sub>7</sub>, X é S e R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo, 6H-tieno[2,3-b]pirroles (M é S), 6H-furo[2,3-b]pirroles (M é O) e 1,6-di-hidropirrolo[2,3-b]pirroles (M é NR<sub>3</sub>) de fórmula (II), em que L é CR<sub>7</sub>, X é S e R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo, são, cada, isolados e purificados por cromatografia por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica.

Como mostrado no esquema 1, passo opcional d, o azoto do anel pirrole de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que R<sub>1</sub> é H, é N-alquilado por tratamento de uma solução do composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que R<sub>1</sub> é H e um solvente adequado, tal como, por exemplo, 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetra-hidro-2(1H)-pirimidinona, com um sulfato de dialquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e uma base adequada, tal como, por exemplo, carbonato de cézio, à temperatura ambiente, durante cerca de 12 horas a cerca de 20 horas. O final da reacção é determinada por análise cromatográfica em camada fina ou outros métodos cromatográficos, como são bem conhecidos pelo especialista na técnica. Quando completa, a mistura reaccional é diluída com água e o composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que R<sub>1</sub> é alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, é isolado e purificado por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica.

Alternativamente, o azoto do anel pirrole de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 1 é alquilado por

tratamento de uma solução de piridina de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que  $R_1$  é H, com um haleto de alquilo $C_1-C_6$  na presença de uma base adequada, tal como, por exemplo, carbonato de cézio, com aquecimento, durante cerca de 0,25 hora a cerca de 3 horas. A mistura reaccional é arrefecida, diluída com água ou concentrada à secura e extraída com acetato de etilo. Concentração e subsequente purificação por métodos cromatográficos, como são bem conhecidos pelo especialista na técnica, proporciona o composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 1, em que  $R_1$  é alquilo $C_1-C_6$ .

Adicionalmente, a N-alquilação do azoto do anel pirrole de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que  $R_1$  é H, é conseguida por outros métodos que são bem conhecidos pelo especialista na técnica, por exemplo, por tratamento de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que  $R_1$  é H, num solvente polar adequado, tais como, por exemplo, dimetilformamida ou NMP, com uma base adequada, tais como, por exemplo, hidreto de sódio ou t-butóxido de potássio e, em seguida, é adicionado um haleto de alquilo $C_1-C_6$ , tal como, por exemplo, iodeto de propilo. O final da reacção é determinado por análise cromatográfica em camada fina ou outros métodos cromatográficos bem conhecidos pelo especialista na técnica. Quando completa, a mistura reaccional é diluída com água e o composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema I, em que  $R_1$  é alquilo $C_1-C_6$ , é isolado e purificado por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica.

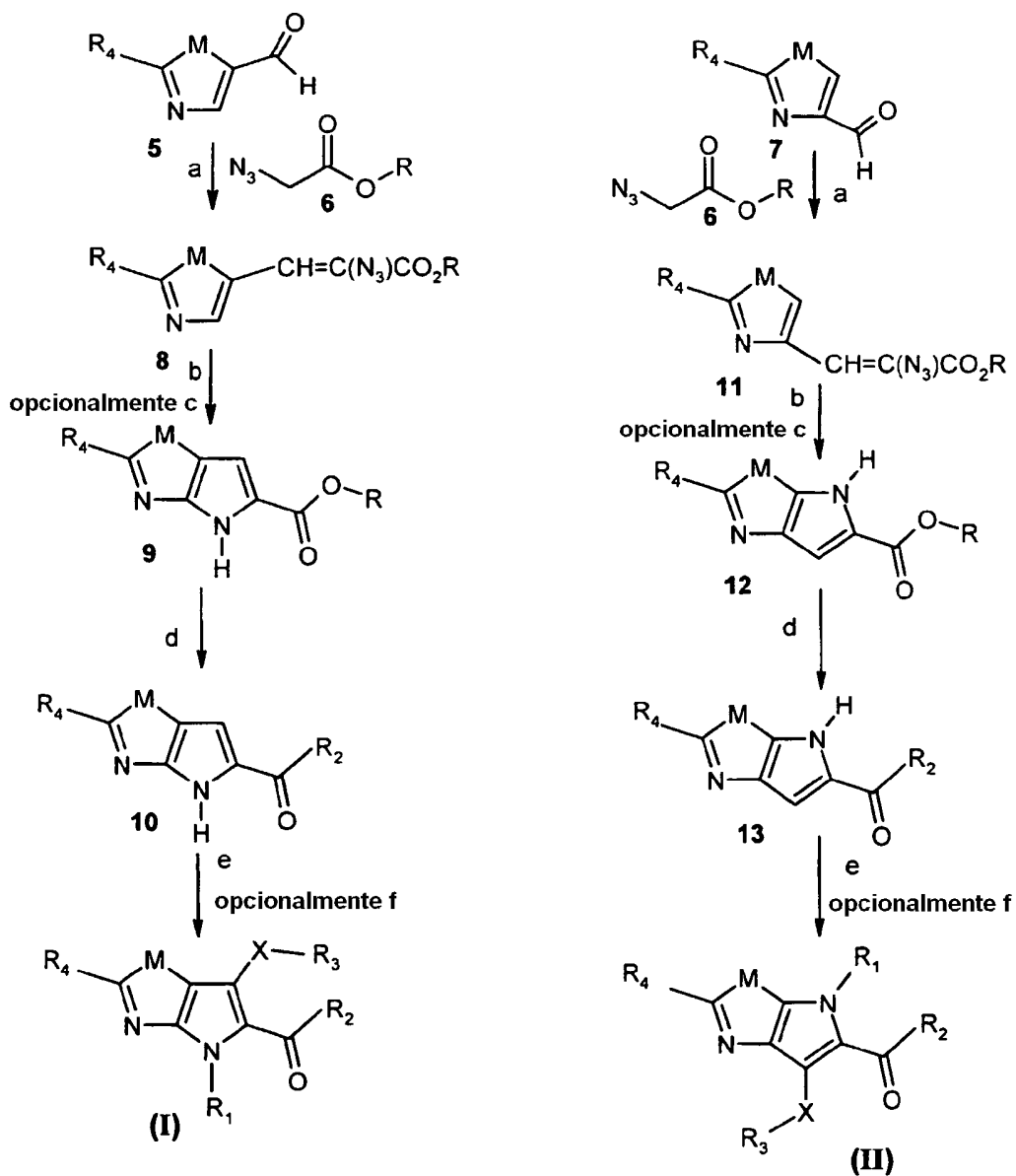
Como é bem reconhecido pelo especialista na técnica, quando M é  $NR_8$  e  $R_8$  é H, sob as condições descritas acima, a N-alquilação também pode ocorrer no azoto de  $NR_8$ , acima referido, para proporcionar os compostos de fórmula (I) ou fórmula (II) do

esquema 1, em que  $R_1$  e  $R_8$  são, cada, o mesmo grupo alquilo $C_1-C_6$ . A preparação de ésteres de partida **1**, em que  $R$  é etilo,  $R_4$  e  $R_7$  são, cada, H,  $M$  é  $NR_8$  e  $R_8$  é metilo, é conhecida por termólise de 2-azidoacrilatos (também conhecidos como ésteres do ácido 2-azidopropenóico), como também está descrita no esquema 2 a seguir (H. Hemetsberger e D. Knittel, *Monatsh. Chem.* (1972) 103(1), 194-204). O éster de partida **1**, em que  $M$  é  $NR_8$  e  $R_8$  é alquilo $C_1-C_6$ , é preparado como descrito e, em seguida, convertido como descrito no esquema 1, num composto de fórmula (I), em que  $M$  é  $NR_8$ ,  $R_8$  é alquilo $C_1-C_6$  e  $R_1$  é H ou alquilo $C_1-C_6$  e em que os referidos grupos  $R_1$  e  $R_8$  alquilo $C_1-C_6$  podem ser os mesmos ou diferentes. Esta metodologia também é utilizada para proporcionar ésteres **3** substituídos semelhantes que são convertidos como descrito no esquema 1 num composto de fórmula (II), em que  $R_8$  é alquilo $C_1-C_6$  e  $R_1$  é H ou alquilo $C_1-C_6$  e em que os referidos grupos  $R_1$  e  $R_8$  alquilo $C_1-C_6$  podem ser os mesmos ou diferentes.

Adicionalmente, um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 1, em que  $R_1$  é H ou alquilo $C_1-C_6$  e  $X$  é S, é, opcionalmente, oxidado a uma sulfona ou um sulfóxido, em que  $X$  é  $S(O)_n$  e  $n$  é 1 ou 2, respectivamente, por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica, tal como, por exemplo, tratar uma solução do referido composto de fórmula (I) ou fórmula (II) com  $H_2O_2$  e  $Na_2CO_3$ . Em alternativa, o composto **2** ou **4** do esquema 1 é tratado com um cloreto de arilsulfonilo, um cloreto de arilsulfinilo, um cloreto de heterociclossulfonilo ou um cloreto de heterociclossulfinilo (utilizado em vez do diarildissulfureto ou di-heterociclodissulfureto) como descrito no passo c acima, para proporcionar um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 1, em que  $X$  é  $S(O)_n$ ,  $n$  é 1 ou 2 e  $R_3$  é arilo ou heterociclo.

O esquema 2, como mostrado a seguir, descreve a síntese de 4H-pirrólo[2,3-d]tiazoles (M é S), 4H-pirrólo[2,3-d]oxazoles (M é O) e 1,4-di-hidro-pirrólo[2,3-d]imidazoles (M é NR<sub>8</sub>) de fórmula (I), em que L é N e a síntese de 6H-pirrólo[3,2-d]tiazoles (M é S), 6H-pirrólo[3,2-d]oxazoles (M é O) e 3,4-di-hidro-pirrólo[2,3-d]imidazoles (M é NR<sub>8</sub>) de fórmula (II), em que L é N, a partir de materiais conhecidos ou comercialmente disponíveis. Um especialista na técnica entenderá prontamente que quando L é N, M é NR<sub>8</sub> e R<sub>8</sub> é H que o anel imidazole pode existir em formas tautoméricas. No esquema 2, passo a, o carboxaldeído **5** ou **7** é condensado com um éster 2-azidoacetato **6**, em que R é alquilo, na presença de uma base adequada, tais como, por exemplo, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio ou bases semelhantes, para proporcionar o éster do ácido 2-azidopropenóico correspondente **8** ou **11**, respectivamente, em que R é alquilo.

Esquema 2



Como mostrado no esquema 2, passo b, a termólise de éster do ácido 2-azidopropenóico **8** ou **11** é realizada por aquecimento de uma mistura de éster do ácido 2-azidopropenóico **8** ou **11** num solvente adequado, tal como, por exemplo, xileno a cerca de 120 °C a cerca de 140 °C, durante cerca de 30 a 90 minutos para proporcionar, após purificação cromatográfica

por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica, o éster correspondente **9** ou **12**, respectivamente, em que R é alquilo.

Como mostrado no esquema 2, passo opcional c, o éster **9** ou **12** obtido no passo b pode ser hidrolizado por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica para proporcionar o ácido carboxílico correspondente **9** ou **12**, respectivamente, em que R é H. Por exemplo, uma base adequada, tais como, por exemplo, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio, hidróxido de lítio e bases semelhantes, é adicionada a uma mistura de éster **9** ou **12** e um solvente adequado, tal como, por exemplo, uma mistura de tetra-hidrofurano e água. A mistura é aquecida a cerca de 90 °C a cerca de 110 °C, durante cerca de 0,5 hora a 2 horas. O produto é recuperado como um sal por filtração e o filtrado é concentrado para proporcionar mais material como um resíduo. O bolo de filtração e resíduo são combinados e acidificados por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica, tal como, por exemplo, acidificação com um ácido adequado, tal como ácido acético, num solvente adequado, tais como metanol, etanol e solventes adequados, para proporcionar ácido carboxílico **9** ou **12**, respectivamente, em que R é H.

Como mostrado no esquema 2, passo d, o éster **9** ou **12**, em que R é alquilo, é convertido em amida **10** ou **13**, respectivamente, como foi descrito acima para o esquema 1, passo a. Alternativamente, o ácido carboxílico **9** ou **12**, em que R é H, é convertido na amida correspondente **10** ou **13**, respectivamente, por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica e como descrito no esquema 1, passo b. Por exemplo, uma solução do ácido carboxílico **9** ou **12** num solvente adequado, tal como dimetilformamida, é tratada com uma base, tal como diisopropiletilamina, uma carbodiimida, tal como, por exemplo,



cloridrato de (1-(3-dimetilamino-propil)-3-etilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazole e cloreto de amónio. Quando a reacção está completa, a mistura é diluída com um solvente adequado e o produto é isolado e purificado por cromatografia por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica para dar a amida **10** primária 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole (M é S), 4H-pirrolo[2,3-d]oxazole (M é O) ou 1,4-di-hidro-pirrolo[2,3-d]imidazole (M é NR<sub>8</sub>) ou amida **13** primária 6H-pirrolo[3,2-d]tiazole (M é S), 6H-pirrolo[3,2-d]oxazole (M é O) ou 3,4-di-hidro-pirrolo[2,3-d]imidazole (M é NR<sub>8</sub>) correspondentes, respectivamente, em que R<sub>2</sub> é NH<sub>2</sub>. Se uma alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amina primária ou secundária é utilizada em vez de cloreto de amónio é, então, obtida a amida secundária ou terciária correspondente **10** ou **13**, respectivamente, em que R<sub>2</sub> é NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, R<sub>5</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e R<sub>6</sub> é alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

Como mostrado no esquema 2, passo e, a amida intermediária **10** ou **13** é tioarilada na posição 3 do anel pirrole que contém a amida por métodos análogos aos métodos descritos acima para o esquema 1, passo c, para proporcionar a amida 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole (M é S), 4H-pirrolo[2,3-d]oxazole (M é O) ou 1,4-di-hidro-pirrolo[2,3-d]imidazole (M é NR<sub>8</sub>) de fórmula (I), ou a amida 6H-pirrolo[3,2-d]tiazole (M é S), 6H-pirrolo[3,2-d]oxazole (M é O) ou 3,4-di-hidro-pirrolo[2,3-d]imidazole (M é NR<sub>8</sub>) de fórmula (II), respectivamente, em que X é S e R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo.

Quando R<sub>4</sub> é halogéneo, tal como, por exemplo Br, na amida intermediária **10** ou **13**, a tioarilação na posição 3 do anel pirrole que contém a amida e deslocalização do átomo de halogéneo acima referido, podem ocorrer ambas sob as condições descritas. A deslocalização concomitante do halogéneo acima

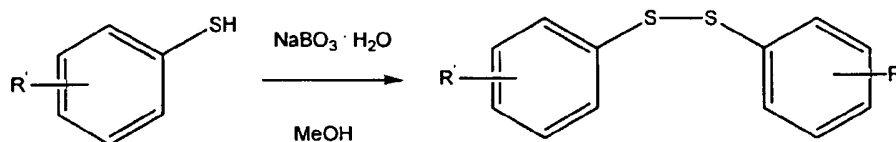
referido da amida intermediária **10** ou **13**, sob as condições descritas para o passo e acima, utilizando um diarildissulfureto ou di-heterociclodissulfureto, é assim utilizada, de um modo vantajoso, para proporcionar um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 2, em que  $R_4$  é um ariltio ou uma unidade heterociclotio (ou seja,  $XR_3$ ) que é idêntica à unidade  $XR_3$  do anel pirrole, em que X é S e  $R_3$  é arilo ou heterociclo. Adicionalmente, a deslocalização do átomo de halogéneo acima referido da amida intermediária **10** ou **13**, ou de um intermediário anterior, tal como, por exemplo, um éster intermediário **9** ou **12**, com um anião preparado por tratamento de um ariltiol ou heterociclotiol com uma base adequada, também proporciona, de um modo vantajoso, um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que  $R_4$  é um ariltio ou uma unidade heterociclotio que pode ser o mesmo ou diferente da unidade  $XR_3$  introduzida por tioarilação, como descrito acima para o esquema 2, passo e. Adicionalmente, a deslocalização do halogéneo acima referido do éster intermediário **9** ou **12** ou da amida intermediária **10** ou **13**, com um anião preparado por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica a partir de um  $\text{alquilC}_1\text{-C}_6\text{-OH}$ , um  $\text{aril(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)-OH}$ , um  $\text{heterociclo(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)-OH}$ , um  $\text{alquilC}_1\text{-C}_6\text{-SH}$ , um  $\text{aril(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)-SH}$ , um  $\text{heterociclo(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)-SH}$ , uma  $\text{alquilC}_1\text{-C}_6\text{-NH}_2$ , uma  $\text{(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)}_2\text{NH}$  ou uma  $\text{aril(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)-amina}$  ou uma  $\text{heterociclo(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)amina}$ , em que o referido azoto de amina está, opcionalmente, substituído com  $\text{alquiloC}_1\text{-C}_6$ , proporciona, após tioarilação, um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 2, em que  $R_4$  é  $\text{alcoxiloC}_1\text{-C}_6$ ,  $\text{aril-(alcoxiloC}_1\text{-C}_6\text{)}$ ,  $\text{heterociclo-(alcoxiloC}_1\text{-C}_6\text{)}$ ,  $\text{alquilC}_1\text{-C}_6\text{tio}$ ,  $\text{aril-(alquilC}_1\text{-C}_6\text{tio)}$ ,  $\text{heterociclo-(alquilC}_1\text{-C}_6\text{tio)}$ ,  $\text{NR}_5\text{R}_6$ , em que  $R_5$  é H ou  $\text{alquiloC}_1\text{-C}_6$  e  $R_6$  é  $\text{alquiloC}_1\text{-C}_6$ , ou  $\text{aril(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)amino}$  ou  $\text{heterociclo(alquilC}_1\text{-C}_6\text{)amino}$ , em que o

referido azoto de amina está, opcionalmente, substituído com alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

Como mostrado no esquema 2, passo opcional f, o azoto do anel pirrole de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que R<sub>1</sub> é H, é N-alquilado por métodos como descrito acima para o esquema 1, passo opcional d, para proporcionar um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 2, em que R<sub>1</sub> é alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

Adicionalmente, um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 2 em que R<sub>1</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e X é S, é, opcionalmente, oxidado a uma sulfona ou um sulfóxido, em que X é S(O)<sub>n</sub> e n é 1 ou 2, respectivamente, por métodos bem conhecidos pelo especialista na técnica, tal como, por exemplo, tratar uma solução do referido composto de fórmula (I) ou fórmula (II), em que X é S, com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Alternativamente, o composto **10** ou **13** do esquema 2 é tratado com um cloreto de arilsulfonilo, um cloreto de arilsulfinilo, um cloreto de heterociclossulfonilo ou um cloreto de heterociclossulfinilo (utilizado em vez do diarildissulfureto ou di-heterociclodissulfureto) como descrito no passo e acima, para proporcionar um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) do esquema 2, em que X é S(O)<sub>n</sub>, n é 1 ou 2 e R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo.

**Esquema 3**



Como mostrado no esquema 3, os diarildissulfuretos são preparados por tratamento de uma solução de um arilsulfureto num solvente orgânico adequado, tal como, por exemplo, metanol, com uma solução aquosa de perborato de sódio e deixando a mistura em repouso, durante cerca de 12 horas a cerca de 24 horas, à temperatura ambiente. O diarildissulfureto pode ser isolado e purificado por métodos, como bem conhecidos pelo especialista na técnica. Os di-heterociclodissulfuretos, tal como, por exemplo, bis(2-piridinil)dissulfureto, são preparados de um modo semelhante. O arilsulfureto e heterociclossulfureto estão, cada, , opcionalmente, substituídos, tal como definido acima para "arilo" e "heterociclo".

Todas as várias formas de realização dos compostos desta invenção como aqui apresentadas podem ser utilizadas nos métodos para tratar várias doenças e distúrbios como aqui descritos. Como aqui referido, os compostos utilizados no método desta descrição são capazes de inibir os efeitos de caseína cinase Iε.

Uma forma de realização desta descrição proporciona um método para tratar um distúrbio de humor ou um distúrbio do sono. Uma outra forma de realização da presente descrição proporciona um método para tratar um distúrbio de humor, em que o distúrbio de humor é um distúrbio depressivo ou um distúrbio bipolar. Outra forma de realização da presente descrição proporciona um método para tratar um distúrbio depressivo, em

que o distúrbio depressivo é distúrbio depressivo principal. Outra forma de realização da presente descrição proporciona um método para tratar distúrbio de humor em que o distúrbio de humor é distúrbio bipolar e o distúrbio bipolar é seleccionado do grupo que consistindo de distúrbio bipolar I e distúrbio bipolar II. Outra forma de realização da presente descrição proporciona um método para tratar um distúrbio de sono. Outra forma de realização da presente descrição proporciona um método para tratar distúrbio do sono, em que o distúrbio do sono é um distúrbio do sono do ritmo circadiano. Uma outra forma de realização da presente descrição proporciona um método para tratar distúrbio do sono de ritmo circadiano em que o distúrbio do sono ritmo circadiano é seleccionado do grupo consistindo em distúrbio do sono devido a trabalho por turnos, síndrome de *jet lag*, síndrome da fase do sono avançado e síndrome da fase do sono atrasado. Um especialista na técnica entenderá prontamente que as doenças e distúrbios aqui expressamente apresentados não pretendem ser limitativos, mas sim ilustrar a eficácia dos compostos da presente invenção. Assim, entender-se-á que os compostos da invenção podem ser utilizados para tratar qualquer doença ou distúrbio melhorado pela inibição de caseína cinase I $\epsilon$ .

Noutra forma de realização da presente invenção, composições farmacêuticas compreendendo um veículo farmaceuticamente aceitável e um composto de fórmula (I) ou fórmula (II), ou um estereoisómero, um enantiómero, um racemato ou um tautómero do referido composto; ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, são preparados de um modo bem conhecido pelo especialista nas técnicas farmacêuticas. O veículo ou excipiente pode ser um material sólido, semi-sólido ou líquido, que pode servir como um veículo ou meio para o

ingrediente activo. Veículos ou excipientes adequados são bem conhecidos na técnica. A composição farmacêutica pode ser adaptada para utilização oral, inalação, parentérica ou tópica, e pode ser administrada ao doente na forma de comprimidos, cápsulas, suspensões, xaropes, aerossóis, inalantes, supositórios, unguentos, pós, soluções e semelhantes. Como aqui utilizado, o termo "veículo farmacêutico" significa um ou mais excipientes. Como aqui descrito, as composições farmacêuticas da invenção proporcionam inibição de caseína cinase I $\epsilon$  e são, assim, úteis para o tratamento de doenças ou distúrbios melhorados por inibição de caseína cinase I $\epsilon$

Na preparação de composições ou formulações farmacêuticas dos compostos da presente invenção, deve-se ter cuidado para assegurar biodisponibilidade de uma quantidade terapêutica eficaz do composto ou compostos activos pela via de administração seleccionada, incluindo vias oral, parentérica e subcutânea. Por exemplo, vias de administração eficazes podem incluir vias subcutânea, intravenosa, transdérmica, intranasal, rectal, vaginal e semelhantes, incluindo libertação de implantes, bem como injeção do ingrediente activo e/ou composição directamente no tecido.

Para administração oral, os compostos da presente invenção podem ser formulados em preparações sólidas ou líquidas, com ou sem solventes inertes ou veículos comestíveis, tais como cápsulas, pílulas, comprimidos, trociscos, pós, soluções, suspensões ou emulsões. As cápsulas, pílulas, comprimidos, trociscos e semelhantes também podem conter um ou mais dos seguintes adjuvantes: ligantes, tais como celulose microcristalina, goma de tragacanto; excipientes, tais como amido ou lactose, agentes desintegrantes, tais como ácido

algínico, amido de milho e semelhantes; lubrificantes, tais como ácido esteárico, estearato de magnésio ou Sterotex® (Stokely-Van Camp Inc., Indinapolis, Indiana), glidantes tais como dióxido de silicone coloidal; agentes adoçantes, tais como sacarose ou sacarina; e agentes de sabor, tais como hortelã-pimenta, salicilato de metilo ou aroma de fruta. Quando a forma de dosagem unitária é uma cápsula, também pode conter um veículo líquido, tais como polietilenoglicol ou um óleo gordo. Os materiais utilizados devem ser farmacêuticamente puros e não tóxicos nas quantidades utilizadas. Em alternativa, as composições farmacêuticas podem ser preparadas numa forma adequada para libertação prolongada, para proporcionar uma quantidade terapêutica de um composto de fórmula (I) da invenção numa forma adequada uma vez por dia, uma vez por semana ou uma vez por mês, utilizando métodos como serão conhecidos por um especialista na técnica. Por exemplo, pode ser considerado um polímero erodível contendo o ingrediente activo.

Para administração parentérica, os compostos da presente invenção podem ser administrados como dosagens injectáveis de uma solução ou suspensão do composto num diluente fisiologicamente aceitável, com um veículo farmacêutico que pode ser um líquido esterilizado, tal como água em óleo, ou sem a adição de um emulsionante e outros excipientes farmacêuticamente aceitáveis. Óleos ilustrativos que podem ser utilizados nas preparações são os de origem de petróleo, animal, vegetal ou sintética, tais como, por exemplo, óleo de amendoim, óleo de soja e óleo mineral. Em geral, água, soro fisiológico, dextrose aquosa e soluções de açúcar relacionadas, etanol e glicóis, tal como propilenoglicol são veículos líquidos preferidos, particularmente para soluções injectáveis. A preparação parentérica pode estar incluída em ampolas, seringas

descartáveis ou frascinhos de doses múltiplas, feitos de plástico ou vidro inertes.

As soluções ou suspensões descritas acima, também podem incluir um ou mais dos seguintes adjuvantes: diluentes esterilizados, tais como água para injeção, solução salina, óleos fixos, polietilenoglicóis, glicerina, propilenoglicol ou outros solventes sintéticos, agentes antibacterianos, tais como ácido ascórbico ou bissulfito de sódio; agentes quelantes, tal como ácido etilenodiaminotetra-acético; tampões, tais como acetatos, citratos ou fosfatos e agentes para o ajuste de tonicidade, tais como cloreto de sódio ou dextrose.

Os compostos da presente invenção podem ser administrados na forma de um penso cutâneo, um depósito de injeção ou preparação para implante que pode ser formulada de tal modo que permita uma libertação sustentada do ingrediente activo. O ingrediente activo pode ser comprimido em comprimidos ou pequenos cilindros e implantados subcutaneamente ou intramuscularmente como depósitos de injeção ou implantes. O implantes podem utilizar materiais inertes, tais como polímeros biodegradáveis e silicones sintéticos. Os veículos farmacêuticos e técnicas de formulações adequados são encontrados em textos correntes, tal como Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>a</sup> edição, Volumes 1 e 2, 1995, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, U.S.A., o qual é aqui incluído por referência.

No tratamento de várias doenças, distúrbios e estados como aqui descritos, um nível de dosagem adequado é cerca de 0,01 mg/kg por dia a cerca de 250 mg/kg por dia, de um modo preferido, cerca de 0,05 mg/kg por dia a cerca de 100 mg/kg por



dia e, especialmente, de cerca de 0,05 mg/kg por dia a cerca de 40 mg/kg por dia. Os compostos da presente invenção podem ser administrados num regime de 1 a 4 vezes por dia e, em função da natureza da doença, distúrbio ou estado a ser tratado.

## **EXEMPLOS**

Os seguintes exemplos pretendem servir para ilustrar a invenção em maior pormenor, sem restringir de modo algum o âmbito da invenção. As tabelas 1, 2, 3 e 4 proporcionam sumários dos compostos exemplo que são aqui preparados.

A não ser que de outro modo indicado, todos os materiais de partida, reagentes e solventes foram obtidos a partir de fornecedores comerciais e utilizados sem outra purificação. Todas as reacções foram realizadas sob atmosfera inerte com reagentes e solventes secos. A cromatografia flash foi realizada utilizando sílica gel 60 (35-70  $\mu\text{m}$ ) de acordo com o processo da literatura (Still, W.C.; Kahn, M; Mitra, A. J. Org. Chem. **1978** 43, 2923) ou uma variação deste método utilizando um cartucho de sílica gel comercialmente disponível (por exemplo, Isco Redi Sep). A cromatografia em camada fina (TLC) foi realizada em placas de sílica gel com suporte de vidro 60F-254 (EM), revestidas até uma espessura de 0,25 mm. As placas foram eluídas com sistemas de solventes (v/v) como descrito, e visualizadas com vapor de iodo, luz UV ou um reagente de revelação, tal como solução de  $\text{KMnO}_4$ .

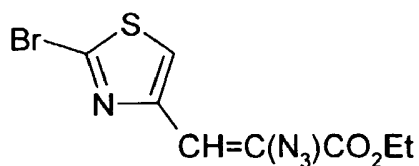
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram registados em espectrómetros Varian Gemini 300, Unity 300, Unity 400 ou Unity 500 com os desvios químicos ( $\delta$ ) registados em ppm, relativamente ao

tetrametilsilano (0,00 ppm) ou clorofórmio (7,26 ppm), como uma referência. A cromatografia líquida com análise espectral de massa (LCMS) foi registada num Espectrómetro de Massa Micromass LCTAPI LC-TOF (tempo de voo) e Masslynx Data System. Modo de ionização = electrospray (esi), os valores foram determinados para os iões moleculares protonados ( $M^+1$ ) utilizando uma coluna Synergi 2U HYDRO-RP 20x4 mm, eluindo com TFA a 0,1% e água/acetonitrilo.

O éster etílico do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico e éster etílico do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico foram preparados como descrito em Eras, J.; Galvez, C.; Garcia, F. *Journal of Heterocyclic Chemistry* (1984), 21(1), 215-17. Os ésteres etílicos do ácido 4H-pirrolo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, ácido 6H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico e ácido 2-metil-4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico foram preparados do mesmo modo como descrito no documento W09940914. Os ésteres do ácido pirrolo[2,3-d]imidazole-5-carboxílico substituídos por 2-alquiltio, 2-arilalquiltio e 2-alquilo podem ser preparados como descrito em Shafiee, A. e Hadizadeh, F., *J. of Heterocyclic Chemistry* (1997), 34, 549-550 e em Shafiee, A.; Shahbazi Mojarrad, J.; Jalili, M.A.; Adhami, H.R. e Hadizadeh, F. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 39, 367-373. 4-Tiazolecarboxaldeído, 5-tiazolecarboxaldeído e 2-metil-5-tiazolecarboxaldeído foram comercialmente obtidos. O éster etílico do ácido 1,4-di-hidro-4-metilpirrolo[3,2-b]pirrole-2-carboxílico é preparado como descrito por H. Hemetsberger e D. Knittel, *Monatsh. Chem.* (1972) 103(1), 194-204.

**Preparação de éster etílico do ácido 2-bromo-6H-pirrolo[3,2-d]thiazole-5-carboxílico**

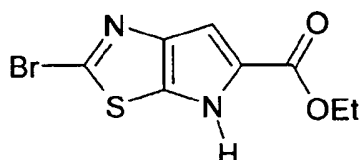
Éster etílico do ácido 2-azido-3-(2-bromo-4-tiazolil)propenóico



Adicionar, lentamente, a uma solução de etóxido de potássio (30 mL, 24% p:p, 3 eq. de EtOK) uma suspensão de 2-bromo-4-tiazolilcarboxialdeído (3,87 g, 30 mol) e éster etílico de 2-azidoacetato (11,5 g, 3 eq.) num solvente misto de etanol (150 mL), DMF (5 mL) e cloreto de metileno (DCM, 20 mL), a 0 °C, durante 15-20 minutos. Agitar a mistura final, de um dia para o outro, (18 h) à temperatura ambiente, parar a reacção com cloreto de amónio e remover o etanol (-50 mL), num evaporador rotativo. Extrair a mistura aquosa com DCM (3 x porções de 250 mL), lavar a fase orgânica com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e secar sobre MgSO<sub>4</sub>. Filtrar e concentrar o filtrado e purificar a mistura em bruto (12,2 gm) por cromatografia flash [ISCO, SiO<sub>2</sub>, cartucho de 120 g, eluir com metanol:DCM (0-5%)] para dar o composto em epígrafe (3,6 g, 45%).

LCMS: tempo de retenção = 3,68 min, (M<sup>+</sup>) = 302,98

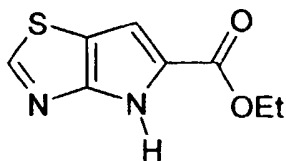
Éster etílico do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico



Adicionar, gota a gota, a xileno quente (130 °C, 4 mL), uma solução de éster etílico do ácido 2-azido-3-(2-bromo-4-tiazolil)propenóico (60 mg, 0,2 mmol) em DCM (1 mL). Aquecer a mistura durante uma hora, em seguida, arrefecer até à temperatura ambiente, depositar a mistura numa camada de sílica gel e eluir com heptano:DCM (50%-100%) para proporcionar o composto em epígrafe (14 mg).

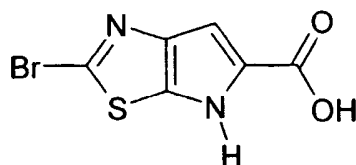
LCMS: tempo de retenção = 3,04 min, ( $M^+$ ) = 274,92.

**Preparação de Éster etílico do ácido 4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico**



Preparar éster etílico do ácido 4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico a partir de 4-tiazolilcarboxialdeído, de um modo semelhante, como descrito acima, para a preparação de éster etílico do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico a partir de 2-bromo-4-tiazolilcarboxialdeído.

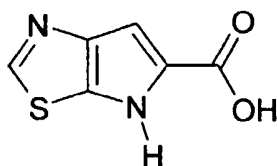
**Preparação do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico**



Adicionar KOH (1,07 g, 2 eq) a uma mistura de éster etílico do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico (2,6 g, 9,38 mmol) em THF (15 mL) e água (20 mL) e, em seguida, aquecer a 100 °C, durante 1 h. Deixar em repouso, de um dia para o outro, à temperatura ambiente, e recolher os sólidos cristalinos por filtração (peso 1,7 g). Concentrar a solução aquosa *in vacuo* e combinar o resíduo com o sólido cristalino anteriormente isolado. Acidificar com ácido acético em metanol para proporcionar o composto em epígrafe (2,31 g).

LCMS: tempo de retenção = 2,35 min, ( $M^+$ ) = 246,93

**Preparação do ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico**

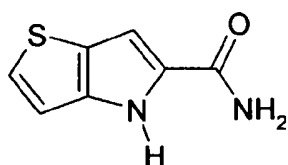


Preparar ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico por hidrólise de éster etílico do ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico de um modo semelhante, como descrito acima, para a preparação do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-

carboxílico a partir de éster etílico do ácido 2-bromo-6H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico.

### **Preparação de Intermediários Amida do ácido Carboxílico**

Amida do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico

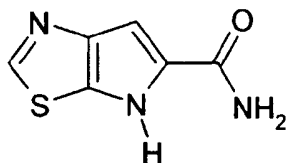


Adicionar a éster etílico do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico (1,74 g, 8,9 mmol) e amónia a 7 M em metanol (100 mL), numa bomba de aço, uma pastilha de hidróxido de lítio (0,1 gm). Sellar a bomba e aquecer a 100 °C, durante 16 h. Arrefecer até à temperatura ambiente e concentrar para remover os voláteis. Purificar o produto em bruto via cromatografia flash (ISCO, cartucho de sílica, 40 g, eluir com metanol 0-5% em cloreto de metileno) para proporcionar o composto em epígrafe (560 mg, 38%) como um sólido branco sujo.

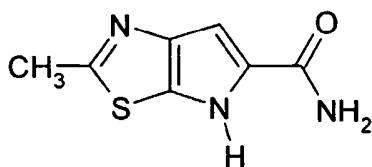
LCMS: tempo de retenção = 2,08 min, ( $M^+$ ) = 166,02

RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  ppm 6,95 (d,  $J$  = 5,25 Hz, 1H) 7,05-7,08 (m, 1H) 7,11 (br s, 1H) 7,37 (d,  $J$  = 5,25 Hz, 1H) 7,68 (br s, 1H) 11,64 (s, 1H)

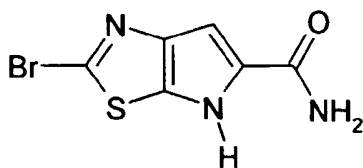
As seguintes amidas também foram preparadas pelo processo acima: Amida do ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico (LCMS: tempo de retenção = 1,63 min, ( $M^+ + H$ ) = 168,00)



Amida do ácido 2-metil-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico (LCMS: tempo de retenção = 1,28 min, ( $M^+ + H$ ) = 182)



Amida do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico

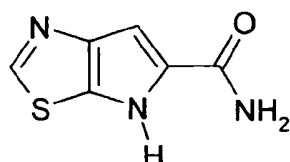


Adicionar a uma solução do ácido 2-bromo-6H-pirrólo [3,2-d]tiazole-5-carboxílico (2,53 g, 10 mmol) em DMF (45 mL), DIEA (diisopropiletilamina, 10 mL, 6 eq), EDC (1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida HCl, 5,0 g, 3,5 eq); HOBT (1-hidroxibenzotriazole, 1,91 g, 14 mmol, 1,4 eq) e  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2,25 g, 42 mmol). Agitar a mistura, à temperatura ambiente, durante 6 h e monitorizar por LC-MS. Quando completa,

diluir a mistura com acetato de etilo e lavar com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Recolher o sólido por filtração (2,21 gm) e purificar por cromatografia em sílica gel (cartucho de sílica ISCO, 4 g, eluir com metanol (10-40%) em cloreto de metileno), para dar o composto em epígrafe (550 mg).

LCMS: tempo de retenção = 2,11 min, ( $M^+$ ) = 245,98

Amida do ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico



Preparar a amida do ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico por aminação do ácido 6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico de um modo semelhante, como descrito acima, para a preparação de amida do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico a partir do ácido 2-bromo-6H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico.

### **Preparação geral de diarildissulfuretos e di-heterociclodissulfuretos**

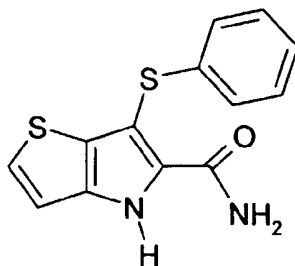
Adicionar a uma solução do ariltiol não substituído ou apropriadamente substituído (17,2 milimol, 1,0 equivalente) e MeOH (30 mL), uma solução de perborato de sódio (22 milimol) e água (20 mL) com agitação e, em seguida, deixar a reacção em repouso à ta, de um dia para o outro. Recolher o sólido por filtração e lavar com metanol, para dar o diarildissulfureto



desejado. Outros dissulfuretos incluindo di-heterociclodissulfuretos (e.g., bis(2-tienil)dissulfureto) podem ser preparados de um modo semelhante, como descrito para a preparação dos diarildissulfuretos desejados.

### Métodos para Tioarilação da Unidade Pirrole

**Método 1: Amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico (Ia)**

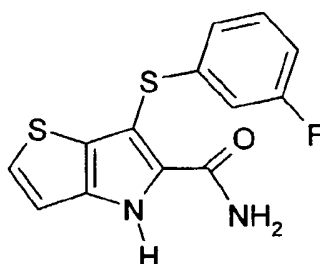


Tratar a amida do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico (75 mg, 0,45 mmol) com NaH (45 mg, 60% em óleo, 1,12 mmol, 2,5 eq) em N,N-dimetilformamida (1,3 mL), à temperatura ambiente, sob azoto, durante 35 minutos. Adicionar difenildissulfureto (137 mg, 1,4 eq) e aquecer a mistura a 70 °C, de um dia para o outro. Diluir a mistura com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 mL) e extrair com acetato de etilo. Concentrar a solução de acetato de etilo para dar um óleo e purificar por cromatografia em sílica gel (cartucho de sílica ISCO, 4 g, eluir com metanol 0-10% em cloreto de metileno) para dar o composto em epígrafe (55 mg).

LCMS: tempo de retenção = 3,03 min, ( $M^+H$ ) = 275,01

RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 5,94 (s, 1H) 7,03 (d,  $J = 5,25$  Hz, 1H) 7,14–7,27 (m, 6H) 7,79 (br s, 1H) 10,79 (br s, 1H)

**Método 2: Amida do ácido 6-(3-fluorofenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico (Ib)**



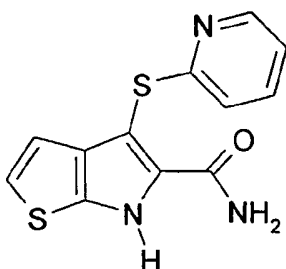
Adicionar amida do ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico (60 mg, 0,36 mmol) a uma mistura de bis(3-fluorofenil)dissulfureto (150 mg, 0,51 mmol) e carbonato de cério (120 mg, 1 eq.) em DMF (2,5 mL) e, em seguida, aquecer a 95 °C, durante 3 hr. Seguir a reacção por TLC. Quando completa, diluir a mistura reaccional com acetato de etilo (15 mL) e lavar com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). Secar a solução orgânica, concentrar para dar um óleo em bruto e purificar o óleo por cromatografia em sílica gel (cartucho de sílica ISCO, 4 g, eluir com metanol 0–10% em cloreto de metileno) para proporcionar o composto em epígrafe (81 mg).

LCMS: tempo de retenção = 3,47 min, ( $\text{M}^+\text{H}$ ) = 293

RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 5,67 (s, 1H), 6,82–6,90 (m, 2H), 6,96 (ddd,  $J = 7,87, 1,50, 1,37$  Hz, 1H), 7,03 (d,  $J = 5,25$  Hz,

1H), 7,17-7,24 (m, 1H), 7,31 (d, J = 5,25 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 9,96 (s, 1H)

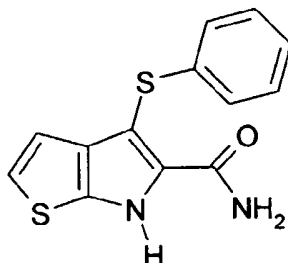
**Método 3: Amida do ácido 4-(piridin-2-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico (IIa)**



Tratar amida do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico (57 mg, 0,34 mmol) com NaH (19 mg, 0,78 mmol, 2,3 eq) em N,N-dimetilformamida (1 mL), à temperatura ambiente, sob azoto durante 45 minutos. Adicionar 2,2'-dipiridildissulfureto (106 mg, 1,4 eq) e agitar a mistura, de um dia para o outro, à temperatura ambiente. Diluir a mistura com água e extrair com acetato de etilo. Concentrar a solução de acetato de etilo para dar um resíduo que é purificado por cromatografia flash (ISCO, cartucho de sílica, eluir com metanol a 5% em cloreto de metileno (+1% amónia a 7 N em metanol) para proporcionar o composto em epígrafe (32 mg, 32%).

LCMS: tempo de retenção = 2,53 min, (M<sup>+</sup>+H) = 276,022

**Método 4: Amida do ácido 4-(fenilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico (IIb)**

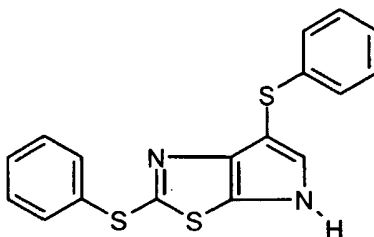


Tratar amida do ácido 6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico (50 mg, 0,30 mmol) em N,N-dimetilformamida (0,5 mL) com NaH (29 mg, 60% em óleo, 0,75 mmol, 2,5 eq) à temperatura ambiente, sob azoto, durante 45 minutos. Adicionar difenildissulfureto (92 mg, 0,4 mmol, 1,4 eq) e agitar a mistura, a 60 °C, de um dia para o outro. Aumentar a temperatura a 100 °C, durante 5 horas e arrefecer à temperatura ambiente. Diluir a reacção com água e acetato de etilo\*, após o que o composto em epígrafe cristaliza da solução. Recolher o produto por filtração e secar sob vácuo para dar o composto em epígrafe (28 mg).

LCMS: tempo de retenção = 3,068 min, ( $M^+H$ ) = 275,024

\* Em alguns casos (ver tabelas 1 e 2, coluna do método de síntese) quando o método 4 foi utilizado, os compostos não cristalizaram. Nesta situação, separar a porção de acetato de etilo e concentrar para dar um resíduo em bruto e purificar o resíduo por cromatografia flash (ISCO, cartucho de sílica, eluído com metanol a 10% em cloreto de metileno (+1% amónia a 7 N em metanol) para proporcionar o composto desejado.

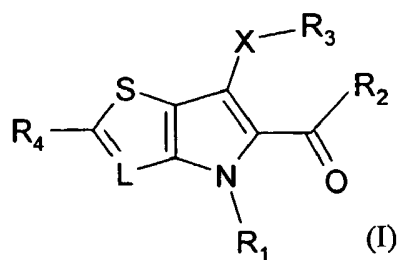
**Método 5: Amida do ácido 2,6-bis-fenilsulfanil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico (IIq)**



Adicionar difenildissulfureto (93 mg, 0,43 mmol, 1,25 eq) a uma mistura de amida do ácido 2-bromo-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico (85 mg, 0,34 mmol) e carbonato de cézio (140 mg, 1,25 eq) em DMF (4 mL). Aquecer a mistura a 100 °C, durante 16 horas. Remover a DMF sob pressão reduzida e dividir o resíduo em água e acetato de etilo. Lavar a fase orgânica com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e, em seguida, secar e filtrar a fase orgânica. Adicionar o filtrado a um vaso contendo uma pequena quantidade de sílica gel (cerca de 0,5 g) e evaporar o solvente para proporcionar o produto em bruto adsorvido em sílica gel. Colocar a sílica gel no topo de uma pequena coluna contendo cerca de 4 g de sílica gel e eluir com 0-10% de MeOH em DCM, para proporcionar 8 mg (6,5%) do composto em epígrafe.

LCMS: tempo de retenção = 3,30 min, ( $M^+$ ) = 383,02

Tabela 1  
Compostos de Fórmula (I)  
(M é S)



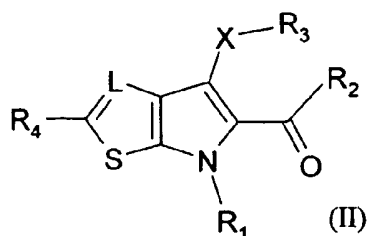
Exemplo N°	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub> X	R <sub>4</sub>	L	Método de Síntese
Ia	H	NH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	H	CH	1
Ib	H	NH <sub>2</sub>	3-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	1
Ic	H	NH <sub>2</sub>	4-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	1
Id	H	NH <sub>2</sub>	2-NH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	1
Ie	H	NH <sub>2</sub>	2-piridinils	H	CH	1
If	H	NH <sub>2</sub>	4-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	1
Ig	H	NH <sub>2</sub>	2-tienils	H	CH	2
Ih	H	NH <sub>2</sub>	3,5-(Cl) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> S	H	CH	2
Ii	H	NH <sub>2</sub>	4-piridinils	H	CH	2
Ij	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
Ik	H	NH <sub>2</sub>	2-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
Il	H	NH <sub>2</sub>	2,3-(Cl) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> S	H	CH	2
Im	H	NH <sub>2</sub>	2,5-(Cl) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> S	H	CH	2
In	H	NH <sub>2</sub>	2-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
Io	H	NH <sub>2</sub>	3-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
Ip	H	NH <sub>2</sub>	3,5-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> S	H	CH	2
Iq	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2

(continuação)

Exemplo N°	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub> X	R <sub>4</sub>	L	Método de Síntese
Ir	H	NH <sub>2</sub>	2-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	
Is	H	NH <sub>2</sub>	2-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
It	H	NH <sub>2</sub>	2-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
Iu	H	NH <sub>2</sub>	3-CF <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
Iv	H	NH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	H	N	4
Iw	H	NH <sub>2</sub>	3-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	N	4*
Ix	H	NH <sub>2</sub>	2-piridinils	H	N	4

Ver rodapé que acompanha o método 4

Tabela 2  
Compostos de Fórmula (II)  
(M é S)



Exemplo Nº	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub> X	R <sub>4</sub>	L	Método de Síntese
IIa	H	NH <sub>2</sub>	2-piridinilS	H	CH	3
IIb	H	NH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	H	CH	4
IIc	H	NH <sub>2</sub>	3-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	4*
IId	H	NH <sub>2</sub>	4-piridinilS	H	CH	1
IIe	H	NH <sub>2</sub>	3,5-(Cl) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> S	H	CH	1
IIf	H	NH <sub>2</sub>	2-tienilS	H	CH	1
IIg	H	NH <sub>2</sub>	3-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
IIh	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
IIi	H	NH <sub>2</sub>	2-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
IIj	H	NH <sub>2</sub>	3-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
IIk	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	CH	2
IIl	H	NH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	CH <sub>3</sub>	N	2
IIIm	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	CH <sub>3</sub>	N	2
IIIn	H	NH <sub>2</sub>	3-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	CH <sub>3</sub>	N	2
IIo	H	NH <sub>2</sub>	3-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	CH <sub>3</sub>	N	2
IIp	H	NH <sub>2</sub>	3-CF <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	CH <sub>3</sub>	N	2
IIq	H	NH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	N	5
IIr	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	3-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	N	5
IIs	H	NH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> S	H	N	2
IIt	H	NH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S	H	N	2
Ver rodapé acompanhando o método 4						



Tabela 3  
Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (I)  
(M é S)

Exemplo N°	Nome do Composto	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
Ia	Amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	275,011	3,034
Ib	Amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	293	3,47
Ic	Amida do ácido 6-(4-clorofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	308,967	3,268
Id	Amida do ácido 6-(2-aminofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	290,025	2,668
Ie	Amida do ácido 6-(piridin-2-il-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	276	2,57
If	Amida do ácido 6-p-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	289,024	3,218
Ig	Amida do ácido 6-(tiofen-2-il-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	281,02	2,97
Ih	Amida do ácido 6-(3,5-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	342,96	3,55

(continuação)

Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (I)

(M é S)

Exemplo Nº	Nome do Composto	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
Ii	Amida do ácido 6-(piridin-4-ilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	276	1,39
Ij	Amida do ácido 6-m-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	287	2,71
Ik	Amida do ácido 6-o-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	289	2,69
Il	Amida do ácido 6-(2,3-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	342,95	3,57
Im	Amida do ácido 6-(2,5-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	342,95	3,5
In	Amida do ácido 6-(2-etilfenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	303,06	3,45
Io	Amida do ácido 6-(3-bromo-fenilsulfanil)-4H-tieno-[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	352,932	3,4

(continuação)

Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (I)

(M é S)

Exemplo Nº	Nome do Composto	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
Ip	Amida do ácido 6-(3,5-dimetilfenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	303,05	3,47
Iq	Amida do ácido 6-(3-metoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	305,03	3,17
Ir	Amida do ácido 6-(2-metoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	305,36	3,13
Is	Amida do ácido 6-(2-trifluorometil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	343,01	3,37
It	Amida do ácido 6-(2-fluoro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	293,02	3,15
Iu	Amida do ácido 6-(3-trifluorometoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico	359,008	3,47

(continuação)

Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (I)

(M é S)

Exemplo Nº	Nome do Composto	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
Iv	Amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico	274	3,052
Iw	Amida do ácido 6-(3-fluoro-fenilsulfanil)-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico	294,013	2,851
Ix	Amida do ácido 6-(piridin-2-ilsulfanil)-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico	277,035	2,334

\* Tipo de ião é M+H a não ser que de outro modo indicado

Tabela 4  
Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (II)  
(M é S)

Exemplo Nº	Nome do Composto RMN (CDCl <sub>3</sub> )	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
IIa	Amida do ácido 4-(piridin-2-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	276,022	2,53
IIb	Amida do ácido 4-(fenilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	275,024	3,068
IIc	Amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	276	3,43
IId	Amida do ácido 4-(piridin-4-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]-pirrole-5-carboxílico	276,1	1,45
IIe	Amida do ácido 4-(3,5-diclorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	325,9	2,98
IIf	Amida do ácido 4-(tiofen-2-il-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	264	2,43
IIg	Amida do ácido 4-(3-bromofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	352,9	4,31

(continuação)

Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (II)

(M é S)

Exemplo N°	Nome do Composto RMN (CDCl <sub>3</sub> )	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
IIh	Amida do ácido 4-(3-metoxifenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	305	3,44
IIi	Amida do ácido 4-(2-metoxifenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	305	3,56
IIj	Amida do ácido 4-(3-clorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico RMN de <sup>1</sup> H (300 MHz) δ ppm 2,30 (s, 3H), 5,70 (br s, 1H), 6,89 (d, J = 5,25 Hz, 1H), 6,94-7,06 (m, 4H), 7,14 (t, J = 7,62 Hz, 1H), 7,87 (br s, 1H), 10,28 (br s, 1H)	309,2	3,47
IIk	Amida do ácido 4-(3-metilfenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico	289	4,1
IIl	Amida do ácido 2-metil-6-fenil-sulfanil-4H-pirroló[3,2-d]tiazole-5-carboxílico	290,04	2,8

(continuação)

Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (II)

(M é S)

Exemplo Nº	Nome do Composto RMN (CDCl <sub>3</sub> )	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
IIm	Amida do ácido 6-(3-metoxifenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico RMN de <sup>1</sup> H (300 MHz) δ ppm 2,75 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 5,69 (br s, 1H), 6,64-6,68 (m, 1H), 6,72-6,77 (m, 2H), 7,12 (t, J = 7,66 Hz, 1H), 7,86 (br s, 1H), 10,35 (br s, 1H)	320,05	2,69
IIn	Amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico	308,04	2,72
IIo	Amida do ácido 6-(3-clorofenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico RMN de <sup>1</sup> H (300 MHz) δ ppm 2,77 (s, 3H), 5,72 (br s, 1H), 7,03-7,18 (m, 4H), 7,76 (br s, 1H), 10,41 (br s, 1H)	323,99	2,82

(continuação)

Dados Espectroscópicos para Compostos de Fórmula (II)

(M é S)

Exemplo N°	Nome do Composto RMN (CDCl <sub>3</sub> )	MS: Massa Ion. Obs.* (amu)	MS: Tempo de retenção (min)
IIp	Amida do ácido 6-(3-trifluorometoxi-fenilsulfanil)-2-metil-4H-pirrolo[3,2-d]thiazole-5-carboxílico	374,02	3
IIq	Amida do ácido 2,6-bis-fenilsulfanil-4H-pirrolo[3,2-d]thiazole-5-carboxílico	384,05	3,3
IIr	Amida do ácido 2,6-bis-(3-metoxi-fenilsulfanil)-4H-pirrolo[3,2-d]thiazole-5-carboxílico	444,08	3,33
IIs	Amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-pirrolo[3,2-d]thiazole-5-carboxílico	275,98	2,77
IIt	Amida do ácido 6-(3-metoxifenil-sulfanil)-4H-pirrolo[3,2-d]thiazole-5-carboxílico RMN de <sup>1</sup> H (300 MHz) δ ppm 3,71 (s, 3H), 5,83 (br s, 1H), 6,66-6,70 (m, 1H), 6,77-6,81 (m, 2H), 7,13 (t, J = 8,00 Hz, 1H), 7,96 (br s, 1H), 8,55 (br s, 1H), 10,63 (br s, 1H)	306	2,77

\* Tipo de íão é M+H a não ser que de outro modo indicado. Para IIc, IIE, IIIf o tipo de íão observado foi (M+H)-NH<sub>3</sub>



## **Exemplos Biológicos**

**Ensaio de Placa de Filtro de Caseína Cinase Epsilon  $^{33}\text{P}$ -ATP para Propósito de Monitorizar Inibidores de CK1ε:** Este ensaio mede a capacidade de compostos em inibir a fosforilação do substrato caseína pela enzima caseína cinase 1ε utilizando um ensaio de filtração  $^{33}\text{P}$ -ATP *in vitro*. Os compostos são testados a cinco concentrações em duplicado de modo a gerar valores de  $\text{IC}_{50}$  ou % de inibição a uma concentração de 10 micromolar que estão resumidos na Tabela 4.

### **Materiais:**

#### Equipamento:

Robô Manipulador de Líquidos Beckman Biomek 2000

Pipetador de 96 Canais Automático Beckman Multimek 96

Kit Básico de Sistema de Vácuo Millipore N° MAVM0960R

Doseador de Líquidos Titertek Multidrop

Contador de Cintilação Líquida Topcount NXT

#### Placas:

Placa Costar EIA/RIA N° 9018

Placa Falcon de Poliestireno de 96 poços de fundo  
em U N° 353910

Placas Millipore Multiscreen de Filtração de  
96 poços N° MAPHNOB50

Placas Millipore Multiscreen TopCount Adapter N°  
SE3M203V6

Químicos:

EGTA da SIGMA N° E-3889

Caseína (desfosforilada) da SIGMA N° C-4032

ATP da SIGMA N° A-7699

DTT da Fisher Biotech N° BP1725

Ácido Tricloroacético da SIGMA N° T-6399

$\gamma$ -<sup>33</sup>P-ATP 1 mCi/37 MBq da Perkin Elmer Life  
Sciences N° NEG-602H

Enzima:

Caseína Cinase 1 $\epsilon$ , concentração final de  
0,58 mg/mL obtida a partir de processos de  
fermentação e purificação, como são bem conhecidos  
pelo especialista na técnica. A acima é armazenada  
como alíquotas de 100  $\mu$ L a menos 80 °C.

### Compostos:

Compostos fornecidos para teste como composto stock congelado dissolvido em DMSO a 100%.

### Condições de Ensaio:

O volume de ensaio total final por poço é igual a 50  $\mu$ L que se prepara como a seguir:

5  $\mu$ L de composto stock diluído (10, 1, 0,1, 0,01 ou 0,001  $\mu$ M),

5  $\mu$ L de caseína desfosforilada de concentração final de 0,2  $\mu$ g/ $\mu$ L,

20  $\mu$ L de CK1 $\epsilon$  de concentração final de 3 ng/ $\mu$ L, e

20  $\mu$ L de  $\gamma$ -<sup>33</sup>P-ATP de concentração final de 0,02  $\mu$ Ci/ $\mu$ L misturado com ATP frio (final de 10  $\mu$ M).


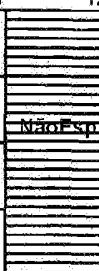

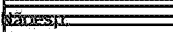
### Metodologia:

1. Preparar 500 mL de tampão de ensaio novo: Tris a 50 mM pH 7,5, MgCl<sub>2</sub> a 10 mM, DTT a 2 mM e EGTA a 1 mM

2. Obter compostos para serem avaliados como 10  $\mu$ L de a 10 mM dissolvido em DMSO a 100%. Utilizar um robô de manuseamento de líquidos Biomek 2000, fazer diluições em série para proporcionar diluições de composto final de 10,

1, 0,1, 0,01 e 0,001  $\mu\text{M}$  adicionado como adições de 5  $\mu\text{L}$  a placas Falcon de fundo em U. Tipicamente, testar 8 compostos por placa de 96 poços com coluna 1 e 12, servindo como poços de controlo. Um ensaio de monitorização de rotina consistirá de 32 compostos, que equivale a 4 placas de ensaio.

3. Mapas de placa de ensaio são construídos de acordo com o seguinte padrão CK1ePlateMap.xls

Mapa de Placa de Ensaio de Filtração CK1ε												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		Composto 1					Composto 5					
B		Composto 1					Composto 5					
C		Composto 2					Composto 6					
D		Composto 2					Composto 6					
E		Composto 3					Composto 7					
F		Composto 3					Composto 7					
G		Composto 4					Composto 8					
H		Composto 4					Composto 8					
		10	1	0,1	0,01	0,001 μM		10	1	0,1	0,01	0,001 μM
		Enzima+Caseína+Tampão+33P-ATP						Caseína+Tampão+33P-ATP				
	Teste	Enzima+Composto+Caseína+33P-ATP										

4. Adicionar 5  $\mu\text{L}$  de composto como indicado, em seguida, adicionar 5  $\mu\text{L}$  of caseína desfosforilada (dissolvida em  $\text{H}_2\text{O}$  destilada) (0,2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) e 20  $\mu\text{L}$  de CK1ε (3 ng/ $\mu\text{L}$ ) aos poços adequados.

5. Finalmente, adicionar 20  $\mu\text{L}$  de  $\gamma\text{-}^{33}\text{P}\text{-ATP}$  (0,02  $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ )/ATP frio a 10  $\mu\text{M}$  (equivale a, aproximadamente,  $2 \times 10^6$  CPM por poço).

6. Turbilhonar a placa de ensaio de Fundo em U Falcon contendo o volume reaccional de 50  $\mu\text{L}$  e, em seguida, incubar, à temperatura ambiente, durante 2 horas.

7. No final de 2 horas, parar a reacção pela adição de 65  $\mu$ L de ATP a 2 mM arrefecido em gelo (preparado em tampão de ensaio) às placas de ensaio utilizando um Beckman Multimek.
8. Ao mesmo tempo, adicionar 25  $\mu$ L de TCA a 100%, arrefecido em gelo, preparado em H<sub>2</sub>O destilada para um número correspondente de placas de filtro MAPH Millipore.
9. Utilizando um pipetador de 8 canais manual, transferir 100  $\mu$ L da mistura reaccional da Placa de Fundo em U Falcon para as placas de filtro MAPH Millipore pré-embebidas em TCA.
10. Misturar cuidadosamente as placas de filtro MAPH Millipore e permitir que assentem, à temperatura ambiente, durante, pelo menos, 30 minutos para precipitar as proteínas.
11. Após 30 minutos, colocar as placas de filtro num sistema de vácuo Millipore e filtrar a não mais de 8 mm Hg uma vez que os filtros MAPH tendem a “fechar por pressão” a valores de vácuo mais elevados.
12. Lavar sequencialmente as placas de filtro e filtrar com 2 x 150  $\mu$ L de TCA a 20%, 2 x 150  $\mu$ L de TCA a 10% e 2 x 150  $\mu$ L de TCA a 5% (total de 6 lavagens por placa/900  $\mu$ L por poço).
13. Permitir que as placas sequem de um dia para o outro à temperatura ambiente. No dia seguinte, adicionar 40  $\mu$ L de Fluido de Cintilação Packard Microscint-20 por poço utilizando um doseador Titertek Multidrop; selar as placas e contar durante 2 minutos/poço num Contador de Cintilação

Packard Topcount NXT (para proporcionar valores de CPM/poço).

### **Cálculo:**

1. Importar dados de Contagens Por Minuto (CPM) para um cálculo de dados e ficheiro de base de dados sob propriedade intelectual (Activity Base por IDBS versão 5.0).
2. A coluna 1 para cada placa reflecte a actividade de fosforilação total da enzima na ausência de qualquer composto de inibição e representa, assim, 100%. A coluna 12 reflecte qualquer actividade de fosforilação não específica/radioactividade retida na ausência de composto de inibição e enzima. Tipicamente, observa-se, aproximadamente, 1% de CPM Total que são “não específicos”.
3. Por determinação de CPM “total” e “não específico” para cada placa, é possível determinar a % de inibição da capacidade da enzima em fosforilar o substrato para cada concentração de composto de ensaio. Utilizar estes dados de % de inibição para calcular um valor de  $IC_{50}$  (concentração à qual um composto é capaz de inibir a actividade da enzima em 50%) para um composto utilizando um programa de ajuste de curva não linear contido no protocolo de cálculo Activitybase (DG0027-CK1-D-BL).
4. Estudos cinéticos determinaram o valor  $K_m$  para o ATP como sendo de 21  $\mu M$  neste sistema de ensaio.

**Ensaio de Membrana de Afinidade de Estreptavidina para Caseína cinase 1δ para propósito de inibidores de CK1δ:** Para avaliar os compostos de ensaio para actividade CK1δ em Placa de Captura de Biotina (Promega V7542) em Membrana de Afinidade de Estreptavidina (SAM).

#### Fornecedores e reagentes

HEPES Sigma N° H3375 PM = 238,3; Fosfato de β-glicerol Sigma N° G-9891 MW = 216,0; EDTA a 0,5 M, pH 8,0 GibcoBRL; Ortovanadato de sódio ACROS N° 205330500 MW = 183,9; DTT (DL-ditiotreitol) Sigma N° D-5545 MW = 154,2; Cloreto de Magnésio ACROS N° 41341-5000 MW = 203,3; ATP Sigma N° A-7699 MW = 551,1;  $\gamma^{33}\text{P}$  ATP NEN N° NEG602H; Caseína cinase 1δ Sigma N° C4455; Substrato de Caseína Cinase 1 New England Peptide Biotin-RRKDLHDDEEDEAMSITA MW = 2470

Preparar Tampão Cinase (KB, 100 mL) como se segue:

HEPES a 50 mM, pH 8,0	5 mL de stock a 1 M
MgCl a 10 mM	1 mL de stock a 1 M
β-glicerofosfato a 10 mM	1 mL de stock a 1 M
EDTA a 2,5 mM	500 µL de stock a 500 mM
ortovanadato de sódio a 1 mM	100 µL de stock a 1 M
DTT a 1 mM	100 µL de stock a 1 M
água	92,3 mL

Preparar Master Mix de ATP como se segue:

Preparar 1 mL de uma solução de ATP a 1 M em água (stock de ATP a 1 M).

Para 12 mL de KB:

Adicionar, em seguida, 12 µL de solução ATP a 1 M

Adicionar 12 µL de <sup>33</sup>P ATP (10 µCi/µL), NEG602H, Perkin Elmer

Preparar a placa de reacção e conduzir o ensaio como se segue:

1. Adicionar 10 µL de KB por poço com ou sem o composto de ensaio inibidor a poços da placa de reacção
2. Adicionar 60 µL de KB por poço
3. Adicionar 10 µL de Substrato Péptido a 500 µM por poço
4. Levar a placa até 37 °C
5. Adicionar 10 µL de diluição de CK1δ 1:10 por poço = 0,42 µg ou 0,68 unidades
6. Iniciar a reacção com 10 µL de ATP Master Mix por poço
7. Colocar a placa de reacção em incubador, a 37 °C, durante 10 min.
8. Parar a reacção com 10 µL de ATP a 1 M. Transferir 20 µL para a Placa SAM e deixar em repouso 10 min, à temperatura ambiente.



9. Lavar três vezes com 100 µL de solução de NaCl a 2 M, em seguida, três vezes com 100 µL de soluções de NaCl a 2 M e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 1% e, depois, três vezes com 100 µL de água num sistema de vácuo.
10. Secar a placa de filtro sob uma lâmpada, durante 30 min.
11. Sellar o fundo da placa e adicionar 20 µL de MicroScint 20
12. Ler em TOPCOUNT

### **Processos Experimentais de Ensaio Circadiano Celular**

**Cultura celular:** Dividir culturas de fibroblastos Rat-1 *Mper1-luc* (P2C4) cada 3-4 dias confluência de (~10-20%) em frascos de cultura tecidual de poliestireno de 150 cm<sup>2</sup> ventilados (Falcon N° 35-5001) e manter em meio de cultura [EMEM (Cellgro N° 10-010-C); soro fetal de bovino a 10% (FBS; Gibco N° 16000-044); e penicilina-estreptomicina a 50 I.U./mL (Cellgro N° 30-001-C1)] a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5%.

**Transfecção estável:** Culturas de fibroblasto Rat-1 co-transfectadas a confluência de 30-50% com vectores contendo o marcador selectivo resistente a Zeocina para transfecção estável e um gene repórter de luciferase controlado por promotor de *mPer-1*. Após 24-48 horas, dividir as culturas em placas de 96 poços e manter em meio de cultura com suplemento de Zeocina a 50-100 µg/mL (Invitrogen N° 45-0430) durante 10-14 dias. Avaliar

os transfectantes estáveis resistentes a Zeocina para expressão de repórter por suplemento do meio de cultura com luciferina a 100  $\mu$ M (Promega N° E1603) e avaliação da actividade luciferase num contador de cintilação TopCount (Modelo Packard N° C384V00). Sincronizar os clones de Rat-1 que expressam ambos a actividade de luciferase resistente a Zeocina e controlado por *mPer1*, por soro de cavalo a 50% [HS (Gibco N° 16050-122)] choque sérico e avaliar para a actividade de repórter circadiano. Seleccionar o clone P2C4 de fibroblastos de Rat-1 *Mper1-luc* para ensaio de composto.

**Protocolo de sincronização:** Colocar em placa fibroblastos de Rat-1 *Mper1-luc* (P2C4) (confluência a 40-50%) em placas de cultura tecidual de 96 poços opacos (PerkinElmer N° 6005680) e manter em meio de cultura com suplemento de Zeocina a 100  $\mu$ g/mL (Invitrogen N° 45-0430) até que as culturas atinjam confluência a 100% (48-72 h). Sincronizar as culturas com 100  $\mu$ L de meio de sincronização [EMEM (Cellgro N° 10-010-C); penincilina-estreptomicina a 100 I.U./mL (Cellgro N° 30-001-C1); HS a 50% (Gibco N° 16050-122)], durante 2 horas, a 37 °C e CO<sub>2</sub> a 5%. Após sincronização, lavar as culturas com 100  $\mu$ L de EMEM (Cellgro N° 10-010-C) durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Após lavagem, substituir o meio com 300  $\mu$ L de meio independente de CO<sub>2</sub> [CO<sub>2</sub>I (Gibco N° 18045-088); L-glutamina a 2 mM (Cellgro N° 25-005-C1); penincilina-estreptomicina a 100 I.U./mL (Cellgro N° 30-001-C1); luciferina a 100  $\mu$ M (Promega N° E1603)]. Adicionar os compostos a serem ensaiados para efeitos circadianos a meio independente de CO<sub>2</sub> em DMSO a 0,3% (concentração final). Sellar as culturas imediatamente com película TopSeal-A (Packard N° 6005185) e transferir para determinação de actividade luciferase.

**Determinação de Repórter Circadiano Automatizada:** Após sincronização, manter as placas de ensaio a 37 °C, num incubador de cultura tecidual (Forma Scientific Model N° 3914). Estimar a actividade luciferase *in vivo* por determinação da emissão de luz relativa num contador de cintilação TopCount (Packard Model N° C384V00). Transferir as placas do incubador para o leitor utilizando um braço robótico ORCA (Beckman Instruments) e software de programação automatizada SAMI-NT (Versão 3.3; SAGIAN/Beckman Instruments).

**Análise de Dados:** Utilizar Microsoft Excel e XLfit (Versão 2.0.9; IDBS) para importar, manipular e registar os dados em gráfico. Realizar análise de período tanto por determinação do intervalo entre o mínimo de emissão de luz relativa durante vários dias como por Transformada de Fourier. Ambos os métodos produzem estimativa de período quase idêntica ao longo de uma gama de períodos circadianos. Documentar a potência como  $EC_{\Delta t+1h}$ , que é a concentração micromolar real que induz um aumento do período em 1 hora. Analisar os dados por ajustamento de uma curva hiperbólica aos dados expressos como variação de período (eixo y) versus a concentração do composto de ensaio (eixo x) em XLfit e interpolar o  $EC_{\Delta t+1h}$  a partir desta curva.

### **Ensaio de Ciclo Circadiano em Rato**

Este ensaio proporciona um meio para avaliar o efeito de um composto de ensaio no ciclo circadiano *in vivo*. Utilizar ratos Wistar machos (Charles River) com uma massa corporal inicial de 200-250 g. Acondicionar cada animal, individualmente, antes do ensaio num ambiente controlado e manter uma temperatura ambiente

termoneutra de 24-28 °C, sob um ciclo de luz/escuro de 12/12 horas (h) (luzes ligadas às 06:00 h), e dar ração de laboratório padrão e água *ad libitum*. Implantar cada rato com um transmissor de biotelemetria intra-abdominal (Minnimitter-VMFH, series 4000, Sunriver, OR) para monitorizar a temperatura central do corpo e actividade geral. Implantar cada transmissor tal como as recomendações do fabricante sob anestesia geral com cetamina/xilazina (78/13 mg kg<sup>-1</sup>, *ip*) e permitir que os animais recuperem durante 7-10 dias. Após o período de recobro, para estabelecer o ciclo circadiano interno de cada animal, colocar os animais num ciclo de escuro constante (ciclo luz/escuro de 0/24 h) e permitir que os animais tenham liberdade de movimento durante 7-10 dias antes da administração do composto de ensaio. Durante o regime de dosagem, os animais receberam veículo ou composto (*ip*, *sc* ou *po*) a CT específicos (Tempos Circadianos) durante um período de 48 horas. Monitorizar os animais durante 5 a 7 dias, num ciclo de escuro constante (ciclo luz/escuro de 0/24 h) após fim do regime de dosagem. Para cada experiência, recolher amostras de temperatura abdominal e dados de actividade geral em intervalos de 5 minutos. Para análise, utilizar o software VitalView e Actiview fornecido por Minnimitter. Traçar as temperaturas abdominais observadas obtidas para cada rato no primeiro dia numa linha horizontal. Alinhar a linha das temperaturas abdominais observadas abaixo de uma linha de abcissa com o tempo circadiano (eixo de x). Traçar as temperaturas abdominais observadas para cada dia sucessivo como linhas individuais, de um modo semelhante, para proporcionar a ordenada (eixo y, em dias). Ligar o incremento inicial de temperatura central do corpo que ocorre em cada dia com uma linha recta, que permite a utilização de dias múltiplos para estimar a fase circadiana em qualquer dia para cada rato individual. Determinar o efeito do tratamento em fase por

utilização da estimativa multi-dia de linha recta de fase antes e após a dosagem. O tratamento com um composto activo irá provocar uma deslocalização maior entre a linha recta ligando o incremento inicial diário da temperatura central do corpo antes do tratamento com o composto e a linha recta que liga o incremento inicial de temperatura central do corpo após tratamento com composto *versus* o controlo com veículo antes e após as linhas de tratamento. Calcular a diferença entre essas fases projectadas para o dia anterior à dosagem para os animais tratados. Utilizar ANOVA, em conjunto com o teste t de Student, para comparar variações circadianas da temperatura corporal média, em minutos, entre grupos.

Tabela 5  
Dados Biológicos

Comp N°	Ensaio de Placa de Filtro Caseína Cinase Iε $^{33}\text{P}$ -ATP $K_i$ (nM)	Ensaio Celular $\text{EC}_{\Delta T+1h}$ (μM)
Ia	544	
Ib	157,35	
Ic	$>10^4$	
Id	110	$>30$
Ie	159	
If	3090	
Ig	915,49	
Ih	70,95	
Ii	1677,81	
Ij	116,26	

(continuação)

Comp N°	Ensaio de Placa de Filtro Caseína Cinase Iε <sup>33</sup> P-ATP K <sub>i</sub> (nM)	Ensaio Celular EC <sub>Δτ+1h</sub> (μM)
Ik	468,28	
Il	324,03	
Im	1266,59	
In	237,97	
Io	78,65	
Ip	356,87	
Iq	37,99	
Ir	331,34	
Is	481,08	
It	425,30	
Iu	562	
Iv	4550,66	
Iw	2025,39	
Ix	1750,71	
IIa	64,04	
Iib	811	0,874
Iic	256,88	
Iid	1067,73	
Iie	109,11	
Iif	1448,84	
Iig	30,64	2,492
Iih	24,73	
Iii	-----	
Iij	112,37	
Iik	70,56	
Iil	184,63	

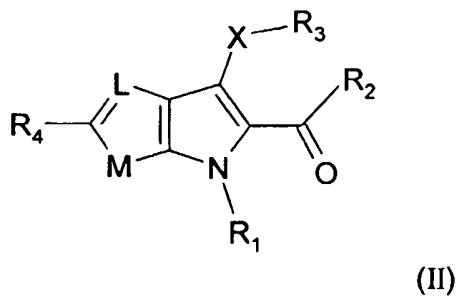
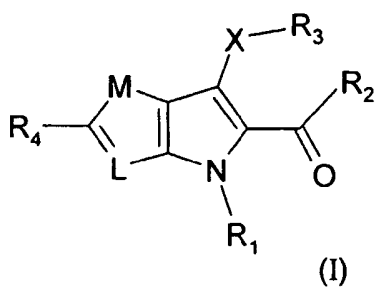
(continuação)

Comp N°	Ensaio de Placa de Filtro Caseína Cinase Iε $^{33}\text{P}$ -ATP $K_i$ (nM)	Ensaio Celular $\text{EC}_{\Delta\tau+1h}$ (μM)
Iim	68	
Iin	15,90	0,998
Iio	9,60	0,662
Iip	4030	
Iiq	334	
Iir	333	
Iis	47,00	1,155
Iit	22,00	1,974

Lisboa, 31 de Agosto de 2010

## REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula (I) ou fórmula (II)



em que

X é S ou S(O)<sub>n</sub>;

R<sub>1</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>2</sub> é NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;

R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo;

R<sub>4</sub> é H, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>,  
aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>),  
alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>),  
heterociclo-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), CF<sub>3</sub>, halogéneo, SH,  
alquilC<sub>1-6</sub>tio, aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio),  
heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio), NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>,  
aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino), heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino)  
ou XR<sub>3</sub>, em que X e R<sub>3</sub> são como definidos acima;

R<sub>5</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;



$R_6$  é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

L é N ou CR<sub>7</sub>, em que R<sub>7</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

M é S, O ou NR<sub>8</sub>, em que R<sub>8</sub> é H, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) ou acilo;

n é 1 ou 2;

em que arilo significa qualquer anel de carbono monocíclico, bicíclico ou tricíclico estável com até sete membros em cada anel, em que, pelo menos, um anel é aromático e não substituído ou substituído com desde um a três substituintes seleccionados do grupo consistindo de metilenodioxilo, hidroxilo, alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halogéneo, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, trifluorometoxilo, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -NH-acilo e -N(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)acilo;

em que acilo se refere a um grupo H-(C=O)-, alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-(C=O)-, aril-(C=O)-, aril(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(C=O)-, heterociclo-(C=O)- ou heterociclo(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(C=O)-;

em que heterociclo significa um anel heterocíclico monocíclico estável de 5 a 7 membros ou bicíclico estável de 8 a 11 membros, o qual é saturado e insaturado, e o qual consiste de átomos de carbono e desde um a três heteroátomos seleccionados do grupo consistindo de N, O e S, e em que os heteroátomos de

azoto e enxofre podem estar, opcionalmente, oxidados, e o heteroátomo azoto pode ser, opcionalmente, quaternário e incluindo qualquer grupo bicíclico em que qualquer dos anéis heterocíclicos acima definidos está fundido a um anel benzeno, sendo o heterociclo não substituído ou substituído com desde um a três substituintes seleccionados do grupo consistindo de alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, halogéneo, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, trifluorometoxilo, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -NH-acilo e -N(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)acilo;

ou um seu estereoisómero, um enantiómero, um racemato ou um tautómero; ou

um seu sal farmaceuticamente aceitável.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1 de fórmula (I) ou fórmula (II), em que M e X são, cada, S.
3. Composto de acordo com a reivindicação 2 de fórmula (I), em que L é CR<sub>7</sub>.
4. Composto de acordo com a reivindicação 3, em que R<sub>7</sub> é H.
5. Composto de acordo com a reivindicação 4 seleccionado do grupo consistindo em:

amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(4-clorofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-aminofenil-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(piridin-2-ilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-p-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(tiofen-2-il-sulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3,5-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(piridin-4-ilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-m-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-o-tolilsulfanil-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2,3-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2,5-dicloro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-etil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-bromo-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3,5-dimetil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-metoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-metoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-trifluorometil-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(2-fluoro-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico, e

amida do ácido 6-(3-trifluorometoxi-fenilsulfanil)-4H-tieno[3,2-b]pirrole-5-carboxílico.

6. Composto de acordo com a reivindicação 2 de fórmula (I), em que L é N.
7. Composto de acordo com a reivindicação 6 seleccionado do grupo consistindo de:

amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluoro-fenilsulfanil)-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico, e

amida do ácido 6-(piridin-2-ilsulfanil)-4H-pirrólo[2,3-d]tiazole-5-carboxílico.

8. Composto de acordo com a reivindicação 2 de fórmula (II), em que L é CR<sub>7</sub>.
9. Composto de acordo com a reivindicação 8, em que R<sub>7</sub> é H.
10. Composto de acordo com a reivindicação 9 seleccionado do grupo consistindo de:

amida do ácido 4-(piridin-2-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(fenilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(piridin-4-ilsulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3,5-diclorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(tiofen-2-il-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3-bromofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3-metoxifenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(2-metoxifenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico,

amida do ácido 4-(3-clorofenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico, e

amida do ácido 4-(3-metilfenil-sulfanil)-6H-tieno[2,3-b]pirrole-5-carboxílico.

11. Composto de acordo com a reivindicação 2 de fórmula (II), em que L é N.
12. Composto de acordo com a reivindicação 11 seleccionado do grupo consistindo de:

amida do ácido 2-metil-6-fenil-sulfanil-4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-metoxifenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrolo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-fluorofenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-clorofenil-sulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-(3-trifluorometoxi-fenilsulfanil)-2-metil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 2,6-bis-fenilsulfanil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

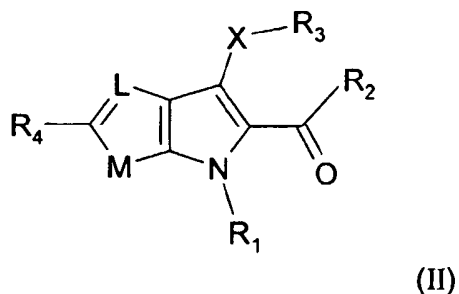
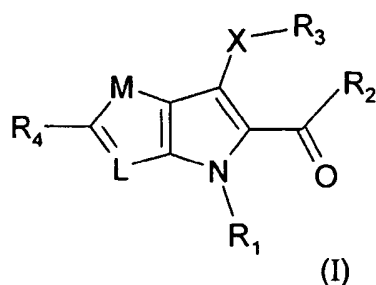
amida do ácido 2,6-bis-(3-metoxi-fenilsulfanil)-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico,

amida do ácido 6-fenilsulfanil-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico, e

amida do ácido 6-(3-metoxifenil-sulfanil)-4H-pirrólo[3,2-d]tiazole-5-carboxílico.

13. Composição farmacêutica compreendendo um veículo farmaceuticamente aceitável e um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) de acordo com a reivindicação 1, ou um esteroisómero, um enantiómero, um racemato ou um tautômero do referido composto; ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

14. Composto de fórmula (I) ou fórmula (II),



em que

X é S ou S(O)<sub>n</sub>;

R<sub>1</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>2</sub> é NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>;

R<sub>3</sub> é arilo ou heterociclo;

R<sub>4</sub> é H, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>,  
 aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>),  
 alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>),  
 heterociclo-(alcoxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), CF<sub>3</sub>, halogéneo, SH,  
 alquilC<sub>1-6</sub>tio, aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio),  
 heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tio), NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>,  
 aril-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino), heterociclo-(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>amino),  
 ou XR<sub>3</sub>, em que X e R<sub>3</sub> são como definidos acima;

R<sub>5</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>6</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;



L é N ou CR<sub>7</sub>, em que R<sub>7</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

M é S, O ou NR<sub>8</sub>, em que R<sub>8</sub> é H, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), heterociclo-(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) ou acilo;

n é 1 ou 2;

em que arilo significa qualquer anel de carbono monocíclico, bicíclico ou tricíclico estável com até sete membros em cada anel, em que, pelo menos, um anel é aromático e não substituído ou substituído com desde um a três substituintes seleccionados do grupo consistindo de metilenodioxilo, hidroxilo, alcóxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halogéneo, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, trifluorometoxilo, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -NH-acilo e -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)acilo;

em que acilo se refere a um grupo H-(C=O)-, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-(C=O)-, aril-(C=O)-, aril(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(C=O)-, heterociclo-(C=O)- ou heterociclo(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(C=O)-;

em que heterociclo significa um anel heterocíclico monocíclico estável de 5 a 7 membros ou bicíclico estável de 8 a 11 membros, o qual é saturado e insaturado, e o qual consiste de átomos de carbono e desde um até três heteroátomos seleccionados do grupo consistindo em N, O e S, e em que os heteroátomos de azoto e enxofre podem estar, opcionalmente, oxidados, e o heteroátomo azoto pode ser, opcionalmente,

quaternário e incluindo qualquer grupo bicíclico em que qualquer dos anéis heterocíclicos acima definidos está fundido a um anel benzeno, sendo o heterociclo não substituído ou substituído com desde um até três substituintes seleccionados do grupo consistindo em alcóxiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidróxilo, halogénio, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcíniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, trifluorometóxilo, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -NH-acilo e -N(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)acilo;

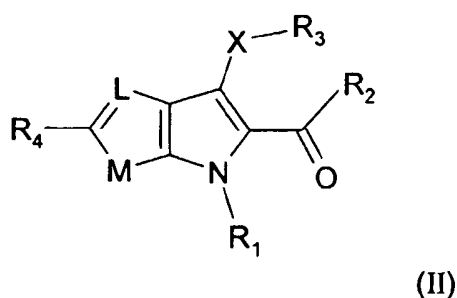
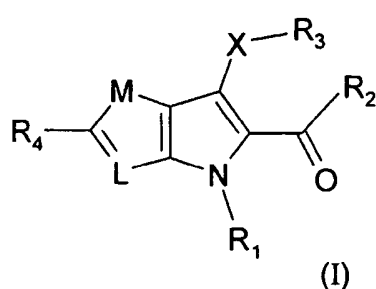
ou um seu estereoisómero, um enantiómero, um racemato ou um tautómero; ou

um seu sal farmacêuticamente aceitável;

para a sua utilização como um medicamento no tratamento de um distúrbio seleccionado de um distúrbio de humor ou de um distúrbio de sono.

15. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que o distúrbio é um distúrbio de humor.
16. Composto de acordo com a reivindicação 15, em que o distúrbio de humor é seleccionado de um distúrbio depressivo ou de um distúrbio bipolar.
17. Composto de acordo com a reivindicação 16, em que o distúrbio depressivo é o distúrbio depressivo principal.

18. Composto de acordo com a reivindicação 16, em que o distúrbio bipolar é seleccionado do grupo consistindo em distúrbio bipolar I e distúrbio bipolar II.
19. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que o distúrbio é um distúrbio de sono.
20. Composto de acordo com a reivindicação 19, em que o distúrbio do sono é um distúrbio do sono do ritmo circadiano.
21. Composto de acordo com a reivindicação 20, em que o distúrbio do sono do ritmo circadiano é seleccionado do grupo consistindo de distúrbio do sono devido a trabalho por turnos, síndrome de *jet lag*, síndrome da fase do sono avançado e síndrome da fase do sono retardado.
22. Processo para a preparação de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II)



em que

X é S;

R<sub>1</sub> é H ou alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

$R_2$  é  $NR_5R_6$ ;

$R_3$  é arilo ou heterociclo;

$R_4$  é  $XR_3$ , em que X e  $R_3$  são como definidos acima;

$R_5$  é H ou alquilo $C_1-C_6$ ;

$R_6$  é H ou alquilo $C_1-C_6$ ;

L é N;

M é S, O ou  $NR_8$  é alquilo $C_1-C_6$ , aril-(alquilo $C_1-C_6$ ), heterociclo-(alquilo $C_1-C_6$ ) ou acilo;

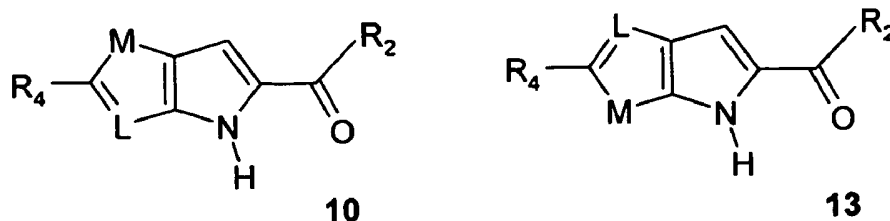
em que arilo significa qualquer anel de carbono monocíclico, bicíclico ou tricíclico estável até sete membros em cada anel, em que, pelo menos, um anel é aromático e não substituído ou substituído com desde um a três substituintes seleccionados do grupo consistindo em metilenodioxilo, hidroxilo, alcoxilo $C_1-C_6$ , halogéneo, alquilo $C_1-C_6$ , alcenilo $C_2-C_6$ , alcinilo $C_2-C_6$ , trifluorometilo, trifluorometoxilo,  $-NO_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(alquiloC_1-C_6)$ ,  $-N(alquiloC_1-C_6)_2$ ,  $-NH-acilo$  e  $-N(alquiloC_1-C_6)acilo$ ;

em que acilo se refere a um grupo  $H-(C=O)-$ , alquilo $C_1-C_6-(C=O)-$ , aril-( $C=O$ )-, aril(alquilo $C_1-C_6$ )-( $C=O$ )-, heterociclo-( $C=O$ )- ou heterociclo(alquilo $C_1-C_6$ )-( $C=O$ )-;

em que heterociclo significa um anel heterocíclico monocíclico estável de 5 a 7 membros ou bicíclico estável de 8 a 11 membros, o qual é saturado e insaturado, e o qual consiste de átomos de carbono e de desde um a três heteroátomos seleccionados do grupo consistindo em N, O e S, e em que os heteroátomos de azoto e enxofre podem estar, opcionalmente, oxidados, e o heteroátomo azoto pode ser, opcionalmente, quaternário, e incluindo qualquer grupo bicíclico em que qualquer um dos anéis heterocíclicos acima definidos está fundido a um anel benzeno, sendo o heterociclo não substituído ou substituído com desde um a três substituintes seleccionados do grupo consistindo em alcoxiC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, halogéneo, alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alceniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alciniloC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, trifluorometoxilo, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquiloC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -NH-acilo e -N(alquilC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)acilo;

compreendendo:

fazer reagir de um composto de fórmula 10 ou fórmula 13, em que R<sub>4</sub> é halogéneo e R<sub>2</sub> é como definido acima



com um diarildissulfureto ou um di-heterociclodissulfureto, na presença de uma base adequada num solvente polar adequado, e

isolar o composto de fórmula (I) ou fórmula (II), como definido acima, em que  $R_4$  é  $XR_3$ .

23. Processo da reivindicação 22, em que  $R_4$  do composto de fórmula 10 ou fórmula 13 é bromo, a base é carbonato de cézio, o solvente polar é dimetilformamida e a referida reacção é realizada a uma temperatura que varia desde cerca de 80 °C a cerca de 120 °C, por um período de tempo desde cerca de uma hora a cerca de 6 horas.

Lisboa, 31 de Agosto de 2010