(11) Número de Publicação: **PT 1713806 E**

(51) Classificação Internacional:
C07D 471/04 (2013.01) ***C07D 487/04*** (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)

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

(22) Data de pedido: **2005.02.14**

(30) Prioridade(s): **2004.02.14 US 544944 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2006.10.25**

(45) Data e BPI da concessão: **2013.05.08**
162/2013

(73) Titular(es):
IRM LLC
P.O.BOX HM 2899 HAMILTON, HM LX **BM**

(72) Inventor(es):
TAEBO SIM **US**
HA-SOON CHOI **US**
NATHANAEL SCHIANDER GRAY **US**
YI LIU **US**
TAO JIANG **US**

(74) Mandatário:
LUÍS MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DA PROTEÍNA QUINASE**

(57) Resumo:
A INVENÇÃO PROVIDENCIA UMA NOVA CLASSE DE COMPOSTOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO TAIS COMPOSTOS E MÉTODOS DE UTILIZAÇÃO DE TAIS COMPOSTOS PARA TRATAR OU PREVENIR DOENÇAS OU PATOLOGIAS ASSOCIADAS À ATIVIDADE DE QUINASE ANORMAL OU DESREGULADA, PARTICULARMENTE AS DOENÇAS OU PATOLOGIAS QUE ENVOLVEM A ATIVAÇÃO ANORMAL DAS QUINASES FAK, ABL, BCR-ABL, PDGF-R, C- KIT, NPM-ALK, FLT-3, JAK2 E C-MET.

RESUMO

"COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DA PROTEÍNA QUINASE"

A invenção providencia uma nova classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo tais compostos e métodos de utilização de tais compostos para tratar ou prevenir doenças ou patologias associadas à atividade de quinase anormal ou desregulada, particularmente as doenças ou patologias que envolvem a ativação anormal das quinases FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e c-Met.

DESCRIÇÃO

"COMPOSTOS E COMPOSIÇÕES COMO INIBIDORES DA PROTEÍNA QUINASE"

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Campo da Invenção

A invenção providencia uma nova classe de compostos, composições farmacêuticas compreendendo tais compostos e métodos de utilização de tais compostos para tratar ou prevenir as doenças ou patologias associadas à atividade de quinase anormal ou desregulada, particularmente as doenças ou patologias que envolvem a ativação anormal das quinases FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e c-Met.

Fundamento

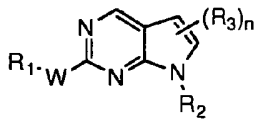
As proteínas quinases representam uma grande família de proteínas, que desempenham um papel central na regulação de uma vasta variedade de processos celulares e na manutenção do controlo sobre a função celular. Uma lista parcial, não limitante, destas quinases inclui: tirosina quinases receptoras tais como quinase receptora do fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF-R), a quinase receptora do fator de célula estaminal, c-kit, o receptor

do fator de crescimento do nervo, trkB, c-Met, e o receptor do fator de crescimento de fibroblasto, FGFR3; tirosina quinases não receptoras tais como Abl e a quinase de fusão BCR-Abl, quinase de adesão focal (FAK), Fes, Lck e Syk; e serina/treonina quinases tais como quinases b-RAF, MAP (*e.g.*, MKK6) e SAPK2β. A atividade de quinase aberrante foi observada em muitos estados de doença incluindo patologias proliferativas benignas e malignas bem como doenças resultantes da ativação inadequada dos sistemas nervoso e imune. A WO 03/074530 A1 descreve certos derivados bicíclicos de piridina e pirimidina.

Os novos compostos desta invenção inibem a atividade de uma ou mais proteína quinases e é, portanto, esperado que sejam úteis no tratamento de doenças associadas a quinase.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Num aspecto, a presente invenção providencia compostos de Fórmula Ia:



Ia

em que:

n é 0 ou 1;

w é selecionado a partir de $-NR_4-$, e $-O-$, em que R_4 é selecionado a partir de hidrogénio e C_{1-6}alquilo;

R_1 é selecionado a partir de C_{6-10}aril-C_{0-4}alquilo, C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo, C_{3-12}cicloalquilC_{0-4}alquilo e C_{3-8} heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo; em que qualquer arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo ou heterociclo-alquilalquilo de R_1 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de halogeno, nitro, ciano, C_{6-10}arilo, C_{5-10}heteroarilo, C_{3-12}cicloalquilo, C_{3-8}heterocicloalquilo, C_{1-6}alquilo, C_{1-6}alcoxi, C_{1-6}alquilo substituído com halogéneo, C_{1-6}alcoxi substituído com halogéneo, $-XNR_5R_5$,$-XNR_5XNR_5R_5$, $-NR_5XOR_5$, $-XOR_5$, $-XSR_5$, $-XS(O)R_5$, $-XS(O)_2R_5$, $-XC(O)NR_5R_5$, $-XOXR_6$ e $-XC(O)R_6$, em que X é uma ligação ou C_{1-6}alcileno; R_5 é selecionado a partir de hidrogénio, C_{1-6}alquilo e C_{3-12}cicloalquil-C_{0-4}alquilo, e R_6 é selecionado a partir de C_{3-8} heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e $-C(O)OH$, em que qualquer arilo, heteroarilo, cicloalquilo ou substituinte hétero-cicloalquilo de R_1 é ainda opcionalmente substituído por 1 a 5 radicais, independentemente selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e C_{1-6}alcoxi;

R_2 é selecionado a partir de C_{6-10}aril-C_{0-4}alquilo e C_{5-10} heteroaril-C_{0-4}alquilo, em que qualquer arilalquilo ou heteroarilalquilo de R_2 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de halogeno, nitro, ciano, C_{1-6}alquilo, C_{1-6}alcenilo, C_{1-6}alcoxi, C_{1-6}alquilo substituído com halogéneo, C_{1-6}alcoxi substituído com halogéneo, C_{3-8}heteroarilC_{0-4}alquilo, $-XNR_5R_5$, $-XOR_5$, $-XSR_5$, $-XS(O)_2NR_5R_5$, $-XC(O)OR_5$, $-XOC(O)R_5$, $-XC(O)NR_5XNR_5R_5$,

$-XC(O)NR_5XC(O)OR_5$, $-XC(O)NR_5XNR_5C(O)R_5$, $-XC(O)NR_5XNR_5C(O)OR_5$, $-XC(O)NR_5XOR_5$, $-XC(O)N(XOR_5)_2$, $-XNR_5C(O)R_5$, $-XC(O)NR_5R_6$, $-XC(O)R_6$, $-XR_7$, $-XR_6$ e $-XC(O)NR_5XR_7$, em que X é uma ligação ou C_{1-6}alcileno, e R_5 é selecionado a partir de hidrogénio, C_{1-6}alquilo e C_{3-12}cicloalquil-C_{0-4}alquilo, R_6 é selecionado a partir de C_{3-8}heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo e C_{5-10} heteroaril-C_{0-4}alquilo opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e $-C(O)OH$, e R_7 é ciano;

R_3 é selecionado a partir de halogeno, hidroxi, $-C(O)OH$ e $-C(O)OCH_3$; e os sais farmaceuticamente aceitáveis de tais compostos.

Num segundo aspecto, a presente invenção providencia uma composição farmacêutica que contém um composto de Fórmula I ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em mistura com um ou mais excipientes adequados.

Num terceiro aspecto, a presente invenção providencia a utilização de um composto de fórmula I no fabrico de um medicamento para tratar uma doença num animal em que a atividade quinase, particularmente a atividade de FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e/ou de c-Met, contribui para a patologia e/ ou sintomatologia da doença.

Num quarto aspecto, a presente invenção providencia um processo para preparar compostos de Fórmula I e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Definições

"Alquilo" como um grupo e como um elemento estrutural de outros grupos, por exemplo alquilo e alcoxi substituídos com halogéneo, pode ser de cadeia linear ou ramificada. C_{1-4}-alcoxi inclui, metoxi, etoxi, e semelhantes. Alquilo halogeno-substituído inclui trifluorometilo, pentafluoroetilo, e semelhantes.

"Arilo" significa uma sistema anelar aromático monocíclico ou bicíclico fundido contendo seis a dez átomos de carbono. Por exemplo, arilo poderá ser fenilo ou naftilo, preferencialmente fenilo.

"Arileno" significa um radical divalente derivado de um grupo arilo. "Heteroarilo" é como definido para arilo em que um ou mais dos membros do anel é um heteroátomo. Por exemplo heteroarilo inclui piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzofuranilo, benzopiranilo, benzotiopiranilo, benzo[1,3]dioxole, imidazolilo, benzo-imidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

"Cicloalquilo" significa um sistema anelar bicíclico fundido ou policíclico em ponte, saturado ou parcialmente insaturado, monocíclico, contendo o número de átomos de anel indicado. Por exemplo, C_{3-10}cicloalquilo

inclui ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, etc. "Heterocicloalquilo" significa cicloalquilo, como definido neste pedido, na condição de que um ou mais dos carbonos do anel indicados, são substituídos por uma unidade selecionada a partir de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- ou $-S(O)_2-$, em que R é hidrogénio, C_{1-4}alquilo ou um grupo protetor de nitrogénio. Por exemplo, C_{3-8} heterocicloalquilo como utilizado neste pedido para descrever compostos da invenção inclui morfolino, pirrolidinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]dec-8-ilo, 1,1-dioxo-116-tiomorfolin-4-ilo, etc.

"Halogénio" (ou halogeno) representa preferencialmente cloro ou flúor, mas poderá também ser bromo ou iodo.

"Tratar", "tratando" e "tratamento" referem-se a um método de aliviar ou diminuir uma doença e/ou os seus sintomas concomitantes.

Descrição das Concretizações Preferidas

Os compostos desta invenção são úteis na inibição de quinases e são ilustrados através de um composto de Fórmula I tal como descrito no Sumário da Invenção.

Numa concretização adicional, R_1 é selecionado a partir de C_{6-10}aril-C_{0-4}alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo;

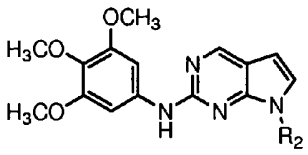
em que qualquer arilalquilo e heteroarilalquilo de R_1 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente entre halogeno, nitro, C_{5-10}heteroarilo, C_{1-6}alquilo, C_{1-6}alcoxi, C_{1-6}alquilo halogeno-substituído, $-XNR_5R_5$, XOR_5-, $-XSR_5$, $-XNR_5XNR_5R_5$, $-XNR_5XNR_5R_5$, $-XNR_5XOR_5$, $-XC(O)NR_5R_5$,$-XOXR_6$ e $-XC(O)R_6$; em que X é uma ligação ou C_{1-6}alcileno; R_5 é selecionado a partir de hidrogénio, C_{1-6}alquilo e C_{3-12}cicloalquil-C_{0-4}alquilo; e R_6 é selecionado a partir de C_{3-8}-heterocicloalquil-C_{0-4}-alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e -C(O)OH, em que qualquer substituinte heteroarilo de R_1 é ainda opcionalmente substituído por 1 a 5 radicais C_{1-6}alquilo.

Numa concretização adicional, W é selecionado a partir de -NH- e -O-; e R_1 é selecionado a partir de fenilo, benzilo, 5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, benzo[1,3] dioxolilo, 1H-indazol-7-ilo, indan-4-ilo e 1H-indolilo, em que qualquer arilalquilo e heteroarilalquilo de R_1 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de metoxi, metilo, amino, halogeno, hidroximetilo, hidroxi, quinoxalinilo, etilo, piridinilo, metoxi-fenilo, piperazinil-carbonilo, etil-(2-hidroxi-etil)-amino-2-(4-metil-piperazin-1-il)-etoxi, formamilo, isopropilo, metil-sulfanilo, tri-fluoro-metilo, etoxi, 3-isopropilamino-propilamino, dimetil-amino, morfolino, ciclopropil-metoxi, butoxi, cicloheptil-oxi e 1,4,5,7-tetrametil-pirrolo[3,4-d]piridazinilo.

Numa forma de realização adicional, R_2 é selecionado a partir de piridinilo, fenilo, tiazolilo, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, benzilo, quinolinilo, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, naftilo e pirimidinilo; em que qualquer arilalquilo ou heteroarilalquilo de R_2 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente entre halogeno, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoilo, metil-sulfamoilo, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, ciano-etilo, ciano-metilo, etenilo, tri-fluoro-metilo, hidroxi-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidil)-etilo, 2-(amino-etil-formamidil)-etilo, 2-(amino-propil-formamidil)-etilo, 2-(propil-formamidil)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidil-metilo, hidroxi-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentil-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-

etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidil)-etilo, 1H-tetrazolilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-metilo, 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidilo, hidroxi-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-metil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il-carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butil)-formamidilo, 2-(metoxi-carbonil-metil-formamidil)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-terc-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo e 1-carboxi-etil-formamidilo.

Numa outra concretização são compostos de Fórmula geral Ig:



Ig

em que R_2 é selecionado a partir de piridinilo, fenilo, tiazolilo, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, benzilo, quinolinilo, 7-oxo-5,6,7,8-tetra-hidro-naftalenilo, naftilo e pirimidinilo, em que qualquer

arilalquilo ou heteroarilalquilo de R_2 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de halogeno, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoilo, metil-sulfamoilo, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, cianoetilo, ciano-metilo, etenilo, tri-fluoro-metilo, hidroxi-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidilo-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidil)-etilo, 2-(amino-etil-formamidil)-etilo, 2-(amino-propil-formamidil)-etilo, 2-(propil-formamidilo)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidil-metilo, hidroxi-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)- formamidilo, ciclopentilo-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidil)-etilo, 1H-tetrazolilo, 2-H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-metilo, 2-(1-metil-lH-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-

formamidilo, hidroxi-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidil-metilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il-carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butil)-formamidilo, 2-(metoxi-carbonil-metil-formamidil)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-*terc*-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo e 1-carboxi-etil-formamidilo.

Os compostos preferidos de Fórmula I são detalhados nos Exemplos e Tabela I, *infra*.

Farmacologia e Utilidade

Os compostos da invenção modulam a atividade de proteína tirosina quinases e, como tal, são úteis para tratar doenças ou patologias em que as proteína tirosina quinases, particularmente FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e c-Met quinases, contribuem para a patologia e / ou sintomatologia da doença.

A quinase de adesão focal (FAK), uma proteína tirosina quinase não receptora, está localizada em locais

de contacto de célula de matriz extracelular de substrato (ECM), que funcionam como parte de uma rede associada ao citoesqueleto de proteínas de sinalização (Schlaepfer *et al.*, Prog. Diophys., Mol., 1999,71, 435-478. Em células aderentes, a FAK está frequentemente associada às integrinas em adesões focais (Schlaepfer *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992, 89, 5192-5196). A fosforilação da FAK resulta na ativação da via de proteína quinase ativada por mitógeno. A sobre-expressão de FAK está envolvida na progressão de cancro. Os elevados níveis de FAK correlacionam-se com a capacidade de invasão e potencial metastático em tumores do cólon (Weiner, T.M., *et al*. Lancet, 1993, 342, 1024-1025), tumores de mama (Owens, L.V., *et al.*, Cancer Res., 1995, 55, 2752-2755) e cancros orais (Kornberg, L.J., Head Neck, 1998,20, 634-639). O papel da FAK na migração celular conduziu à especulação de que poderá ser relevante noutras doenças tais como disfunções do desenvolvimento embrionário e patologias angiogénicas (Kornberg, L.J., Head Neck, 1998, 20, 634-639).

A tirosina-quinase de Abelson (*i.e.* Abl, c-Abl) está envolvida na regulação do ciclo celular, na resposta celular à tensão genotóxica, e na transmissão de informação sobre o meio celular por meio de sinalização de integrina. Globalmente, parece que a proteína Abl desempenha um papel complexo como um módulo celular que integra sinais a partir de várias fontes extracelulares e intracelulares e que influencia decisões em relação ao ciclo celular e apoptose.

A tirosina-quinase de Abelson inclui derivados de subtipos tais como a fusão quimérica (oncoproteína) BCR-Abl com a atividade desregulada de tirosina quinase ou a de v-Abl. A BCR-AB1 é crítica na patogénese de 95% de leucemia mielóide crónica (CML) e 10% de leucemia linfocítica aguda. A STI-571 (Gleevec) um inibidor da tirosina-quinase BCR-Abl oncogénica e é utilizado para o tratamento de leucemia mielóide crónica (CML). No entanto, alguns doentes na fase de crise blástica de CML são resistentes a STI-571 devido às mutações na quinase BCR-Abl. Mais de 22 mutações foram relatadas até ao momento sendo as mais comuns G250E, E255V, T315I, F317L e M351T.

Os compostos da presente invenção inibem a quinase abl, especialmente a quinase v-abl. Os compostos da presente invenção também inibem a quinase BCR-Abl de tipo selvagem e mutações de quinase BCR-Abl e são portanto adequados para o tratamento de cancro positivo para BCR-ABL e doenças tumorais, tais como leucemias (especialmente leucemia mielóide crónica e leucemia linfoblástica aguda, em que se encontram especialmente mecanismos apoptóticos de ação), e também revela efeitos no subgrupo de células estaminais leucémicas bem como potencial para a purificação destas células *in vitro* após remoção das referidas células (por exemplo, remoção da medula óssea) e reimplante das células uma vez que tenham sido eliminadas de células de cancro (por exemplo, reimplante de células da medula óssea purificadas).

O PDGF (Factor de Crescimento Derivado de Plaquetas) é um factor de crescimento que ocorre muito comummente, que desempenha um papel importante tanto no crescimento normal e também na proliferação de células patológicas, tal como é observado em carcinogénese e em doenças das células do músculo liso de vasos sanguíneos, por exemplo em aterosclerose e trombose. Os compostos da invenção podem inibir a atividade do receptor de PDGF (PDGFR) e são, consequentemente, adequados para o tratamento de doenças tumorais, tais como gliomas, sarcomas, tumores de próstata, e tumores do cólon, mama e ovário.

Os compostos da presente invenção podem ser usados não apenas como uma substância inibidora de tumor, por exemplo no cancro do pulmão de célula pequena, mas também como um agente para tratar patologias proliferativas não malignas, tais como aterosclerose, trombose, psoríase, escleroderma e fibrose, assim como para a proteção de células estaminais, por exemplo para combater o efeito hemotóxico de agentes quimioterapêuticos, tais como 5-fluoruracilo, e em asma. Os compostos da invenção podem ser especialmente utilizados para o tratamento de doenças, que respondem a uma inibição da quinase do receptor de PDGF.

Os compostos da presente invenção exibem efeitos úteis no tratamento de patologias que surjam como resultado de transplante, por exemplo, transplante alogénico, especialmente rejeição de tecido, tal como especialmente

bronquiolite obliterante (OB), *i.e.*, uma rejeição crónica de transplantes de pulmão alogénicos. Em contraste com pacientes sem OB, aqueles com OB revelam muitas vezes uma concentração elevada PDGF em fluidos de lavagem broncoalveolar.

Os compostos da presente invenção também são eficazes em doenças associadas à migração e proliferação celular de músculo liso vascular (em que PDGF e PDGF-R frequentemente também desempenham um papel), tais como restenose e aterosclerose. Estes efeitos e as suas consequências para a proliferação ou migração de células do músculo liso vascular *in vitro* e *in vivo* podem ser demonstrados através da administração dos compostos da presente invenção, e também através da investigação do seu efeito sobre o espessamento da íntima vascular após lesão mecânica *in vivo*.

Os compostos da presente invenção também inibem processos celulares que envolvem o factor de células estaminais (SCF, também conhecido como ligando *c-kit* ou factor de aço), tal como a inibição da autofosforilação do receptor de SCF (kit) e ativação estimulada por SCF de MAPK quinase (proteína quinase ativada por mitógeno). As células M07e constituem uma linha celular de leucemia promegalcariocítica humana, que depende de SCF para a proliferação. Os compostos da invenção podem inibir a autofosforilação de receptores de SCF.

A via de sinalização de Ras-Raf-MEK-ERK media a resposta celular para os sinais de crescimento. Ras sofre mutação para uma forma oncogénica em ~15% de cancro humano. A família de Raf pertence à serina / treonina proteína quinase e inclui três membros, A-Raf, B-Raf e c-Raf (ou Raf-1). O foco em Raf sendo um fármaco alvo centrou-se na relação de Raf como um efector a jusante de Ras. No entanto, dados recentes sugerem que B-Raf poderá ter um papel importante na formação de certos tumores sem o requisito de um alelo de Ras ativado (Nature 417,949-954 (01 de Julho de 2002). Em particular, as mutações de B-Raf foram detectadas numa grande percentagem de melanomas malignos.

Os tratamentos médicos existentes para melanoma estão limitados na sua eficácia, especialmente para melanomas de fase tardia. Os compostos da presente invenção também inibem processos celulares que envolvem quinase b-Raf, proporcionando uma nova oportunidade terapêutica para o tratamento de cancros humanos, especialmente para melanoma.

Os compostos da presente invenção também exibem inibição potente da atividade de tirosina quinase de quinase do linfoma anaplásico (ALK) e da proteína de fusão da NPM-ALK. Esta proteína tirosina quinase resulta de uma fusão de genes de nucleofosmina (NPM) e a quinase de linfoma anaplásico (ALK), tornando a atividade da proteína tirosina quinase de ALK independente do ligando. A NPM-ALK

desempenha um papel chave na transmissão de sinal numa série de células humanas hematopoiéticas e outras conduzindo a doenças hematológicas e neoplásicas, por exemplo em linfoma de célula grande anaplásico (ALCL) e linfomas diferentes de Hodgkin (NHL), especificamente em ALK + NHL ou Alkomas, em tumores miofibroblásticos inflamatórios (IMT) e neuroblastomas (Duyster, J. *et al*., 2001, Oncogene 20, 5623-5637). Além de NPM-ALK, foram identificadas outras fusões de genes em doenças hematológicas e neoplásicas humanas, principalmente TPM3-ALK (uma fusão de tropomiosina de não músculo com ALK). A inibição de atividade da tirosina quinase ALK pode ser demonstrada utilizando métodos conhecidos, por exemplo utilizando o domínio da quinase recombinante do ALK em analogia com o ensaio de quinase VEGF-R descrito em J. Wood *et al*. Cancer Res. 60, 2178-2189 (2000).

A Flt3 é um membro da família de receptor de tirosina quinase (RTK) de tipo III. A Flt3 (fms semelhante à tirosina quinase) é também conhecida como FLK-2 (quinase 2 de fígado fetal). A expressão aberrante do gene de Flt3 foi documentada em ambas as leucemias no adulto e infantil, incluindo leucemia mielóide aguda (AML), AML com mielodisplasia de linhagem tripla (AML / TMDS), leucemia linfoblástica aguda (ALL), e síndrome mielodisplásica (SMD).

Foram encontradas mutações ativadoras do receptor de Flt3 em cerca de 35% dos pacientes com leucemia

mieloblástica aguda (AML), e estão associadas a um mau prognóstico. A mutação mais comum envolve a duplicação em enquadramento no domínio da justamembrana, com um adicional de 5-10% dos pacientes possuindo um ponto de mutação na asparagina 835. Ambas estas mutações estão associadas à ativação constitutiva da atividade de tirosina quinase de Flt3, e resultam em sinais de proliferação e de viabilidade na ausência de ligando. Os pacientes que expressam a forma mutante do receptor demonstraram ter uma probabilidade menor de cura. Assim, existe uma evidência cumulativa de um papel para a atividade de quinase Flt3 hiper-ativada (mutada) em leucemias humanas e síndrome mielodisplásica. Isto levou o requerente a procurar novos inibidores do receptor de Flt3 como uma possível abordagem terapêutica nestes pacientes, para quem as terapias farmacêuticas atuais oferecem pouca utilidade, e para tais pacientes para os quais falharam previamente as terapias farmacêuticas atualmente disponíveis e / ou terapias de transplante de células estaminais.

As leucemias resultam geralmente de uma lesão genética adquirida (não hereditária) no ADN de células hematopoiéticas imaturas na medula óssea, nódulos linfáticos, baço ou outros órgãos sanguíneos e do sistema imunitário. Os efeitos são: o crescimento acelerado e bloqueio na maturação de células, resultando na acumulação de células chamadas "blastos leucémicos", que não funcionam como células sanguíneas normais; e uma falha para produzir células de medula normais, levando a uma deficiência de

glóbulos vermelhos (anemia), plaquetas e glóbulos brancos normais. Os blastócitos são normalmente produzidos pela medula óssea e desenvolvem-se usualmente em células sanguíneas maduras, que compreendem cerca de 1 por cento de todas as células da medula. Na leucemia, os blastos não amadurecem de forma adequada e acumulam-se na medula óssea. Na leucemia mielóide aguda (LMA), estes são chamados de mieloblastos enquanto que na leucemia linfoblástica aguda (ALL) são conhecidos como linfoblastos. Outra leucemia é leucemia de linhagem mista (MLL).

O termo "AML com mielodisplasia de linhagem tripla (AML/TMDS)" relaciona-se com uma forma rara de leucemia caracterizada por um quadro dishematopoiético que acompanha a leucemia aguda, uma má resposta à quimioterapia de indução, e uma tendência para recaídas com síndrome mielodisplásica pura.

O termo "Síndrome Mielodisplásica (SMD)" refere-se a um grupo de patologias do sangue em que a medula óssea pára de funcionar normalmente, o que resulta numa deficiência no número de células sanguíneas saudáveis. Comparado com a leucemia, em que um tipo de célula sanguínea é produzido em grandes quantidades, qualquer e por vezes todos os tipos de células sanguíneas são afectadas em MDS. Pelo menos 10 000 novos casos ocorrem anualmente nos Estados Unidos. Até um terço de pacientes diagnosticados com MDS vão desenvolver leucemia mielóide aguda. Por esta razão a doença é muitas vezes referida como

pré-leucemia. A síndrome mielodisplásica é por vezes também chamada de dismielopoiese mielodisplasia ou leucemia oligoblástica. A MDS é também referida como leucemia num estado de latência quando números elevados de células blásticas permanecem na medula.

A síndrome mielodisplásica, tal como a leucemia, resulta de uma lesão genética no ADN de uma única célula da medula óssea. Certas anormalidades nos cromossomas estão presentes em pacientes com MDS. Estas anormalidades são chamadas translocações, que ocorrem quando uma parte de um cromossoma quebra e se liga a uma parte quebrada de um cromossoma diferente. Os mesmos defeitos são frequentemente encontrados na leucemia mielóide aguda. No entanto, a MDS difere da leucemia porque todas as células sanguíneas do paciente são anormais e são todas derivadas a partir da mesma célula estaminal danificada. Em pacientes com leucemia, a medula óssea contém uma mistura de células sanguíneas saudáveis e doentes.

A AML e as síndromes mielodisplásicas avançadas são atualmente tratadas com elevadas doses de fármacos quimioterapêuticos citotóxicos tais como citosina arabinósida e daunorubicina. Este tipo de tratamento induz cerca de 70% de pacientes a entrar em remissão hematológica. No entanto, mais de metade dos pacientes que entram em remissão irá depois recair apesar da administração de quimioterapia durante longos períodos de tempo. Quase todos os pacientes que não conseguem entrar em

remissão inicialmente, ou que recaem após a obtenção de remissão, acabarão por morrer por causa da leucemia. O transplante de medula óssea pode curar até 50 - 60% dos pacientes que se submetem ao procedimento, mas apenas cerca de um terço de todos os pacientes com AML ou MDS são elegíveis para receber um transplante. São urgentemente necessários fármacos novos e eficazes para tratar os pacientes que não conseguem entrar em remissão com as terapias padrão, os pacientes que mais tarde recaem, e os pacientes que não são elegíveis para o transplante de células estaminais. Além disso, um novo medicamento eficaz poderia ser adicionado à terapia padrão com a expectativa razoável de que irá resultar numa melhoria da quimioterapia de indução para todos os pacientes.

Em conformidade com o acima exposto, a presente invenção descreve adicionalmente um método para prevenir ou tratar qualquer uma das doenças ou patologias acima descritas num sujeito em necessidade de um tal tratamento, cujo método compreende administrar ao referido sujeito uma quantidade terapeuticamente eficaz (Ver, "*Administration and Pharmaceutical Compositions*", *infra*) de um composto de Fórmula I ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável. Para qualquer uma das utilizações anteriores, a dosagem requerida irá variar dependendo do modo de administração, do estado particular a ser tratado e do efeito desejado.

Administração e Composições Farmacêuticas

Em geral, os compostos da invenção serão administrados em quantidades terapeuticamente eficazes através de qualquer um dos modos habituais e aceitáveis conhecidos na técnica, quer isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos. Uma quantidade terapeuticamente eficaz poderá variar amplamente dependendo da gravidade da doença, da idade e da saúde relativa do indivíduo, da potência do composto utilizado e de outros fatores. Em geral, os resultados satisfatórios são indicados para serem obtidos sistemicamente com dosagens diárias de desde cerca de 0,03 até 2,5 mg/kg de peso corporal. Uma dosagem diária indicada num mamífero de maior porte, *e.g.* seres humanos, está no intervalo de cerca de 0,5 mg até cerca de 100 mg, convenientemente administrada, *e.g.*, em doses divididas até quatro vezes por dia ou em forma retardada. As formas de dosagem unitárias apropriadas para administração oral compreendem desde *ca.* 1 até 50 mg de componente ativo.

Os compostos da invenção podem ser administrados como composições farmacêuticas através de qualquer via convencional, em particular entericamente, *e.g*, oralmente, *e.g.*, na forma de comprimidos ou cápsulas, ou parentericamente, *e.g.*, na forma de soluções ou suspensões injetáveis, topicamente, *e.g.*, na forma de loções, géis, unguentos ou cremes, ou numa forma nasal ou de supositório. As composições farmacêuticas compreendendo um composto da

presente invenção na forma livre ou numa forma de sal farmaceuticamente aceitável em associação com pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável podem ser fabricadas de um modo convencional, através de métodos de mistura, granulação ou revestimento. Por exemplo, as composições orais podem ser comprimidos ou cápsulas de gelatina compreendendo o componente ativo juntamente com a) diluentes, *e.g.*, lactose, dextrose, sacarose, manitol, sorbitol, celulose e/ou glicina, b) lubrificantes, *e.g.*, sílica, talco, ácido esteárico, seu sal de magnésio ou de cálcio e/ou polietilenoglicol; para comprimidos também c) aglomerantes, *e.g.*, aluminossilicato de magnésio, pasta de amido, gelatina, tragacanta, metilcelulose, carboxi-metilcelulose de sódio e ou polivinilpirrolidona; se desejado d) desintegrantes, *e.g.*, amidos, ágar, ácido algínico ou o seu sal de sódio, ou misturas efervescentes e/ou e) absorventes, corantes, aromatizantes e edulcorantes. As composições injetáveis podem ser soluções ou suspensões isotónicas aquosas, e os supositórios podem ser preparados a partir de emulsões ou suspensões gordas. As composições poderão ser esterilizadas e/ou conter adjuvantes, tais como agentes conservantes, estabilizantes, agentes molhantes ou emulsionantes, promotores de solução, sais para regular a pressão osmótica e/ou tampões. Além disso, poderão também conter outras substâncias terapeuticamente valiosas. As formulações adequadas para aplicações transdérmicas incluem uma quantidade eficaz de um composto da presente invenção com um veículo. Um veículo pode incluir solventes absorvíveis farmacologicamente

aceitáveis para auxiliar a passagem através da pele do hospedeiro. Por exemplo, os dispositivos transdérmicos estão na forma de uma ligadura compreendendo um membro de suporte, um reservatório contendo o composto opcionalmente com veículos, opcionalmente uma barreira controladora da velocidade para o fornecer o composto à pele do hospedeiro a uma taxa controlada e predeterminada durante um prolongado período de tempo, e meios para segurar o dispositivo à pele. Poderão também ser usadas formulações matriciais transdérmicas. As formulações apropriadas para aplicação tópica, *e.g.*, à pele e aos e olhos, são preferencialmente soluções aquosas, unguentos, cremes ou géis bem conhecidos na técnica. Tais poderão conter solubilizantes, estabilizantes, agentes melhoradores da tonicidade, tampões e conservantes.

Os compostos da invenção poderão ser administrados em quantidades terapeuticamente eficazes em combinação com um ou mais agentes terapêuticos (combinações farmacêuticas). Por exemplo, os efeitos sinergéticos podem ocorrer com outros imunomoduladores, anti-inflamatórios ou quaisquer substâncias utilizadas no tratamento das doenças acima mencionadas, por exemplo, quando utilizado em combinação com ciclosporina, rapamicina ou ascomicina ou seus análogos imunossupressores, por exemplo ciclosporina A (CsA), ciclosporina G, FK-506, rapamicina, ou compostos comparáveis, corticosteróides, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, brequinar, leflunomida, mizoribina, ácido micofenólico, micofenolato de mofetilo, 15-

desoxiespergualina, anticorpos imunossupressores, especialmente anticorpos monoclonais para receptores de leucócitos, por exemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD45, CD58 ou seus ligandos, ou outros compostos imunomoduladores, tais como CTLA41g. Quando os compostos da invenção são administrados conjuntamente com outras terapias, as dosagens dos compostos coadministrados irão naturalmente variar dependendo do tipo de cofármaco empregue, do fármaco específico empregue, do estado a ser tratada e assim por diante.

A invenção também providencia combinações farmacêuticas, *e.g.*, um *kit* (conjunto), compreendendo a) um primeiro agente que é um composto da invenção tal como revelado aqui, na forma livre ou na forma de sal farmaceuticamente aceitável, e b) pelo menos um coagente. O *kit* (conjunto), pode compreender instruções para a sua administração.

Os termos "coadministração" ou "administração combinada" ou semelhantes como utilizado aqui pretendem abranger a administração dos agentes terapêuticos selecionados a um único paciente e pretendem incluir regimes de tratamento nos quais os agentes não são necessariamente administrados pela mesma via de administração ou ao mesmo tempo.

O termo "combinação farmacêutica", como utilizado aqui, significa um produto que resulta da mistura ou

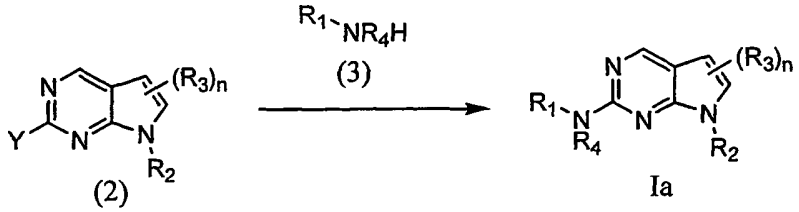
combinação de mais do que um componente ativo e inclui tanto as combinações fixas e não fixas dos componentes ativos. O termo "combinação fixa" significa que os componentes ativos, *e.g.*, um composto de Fórmula I e um coagente, são ambos administrados a um paciente simultaneamente na forma de uma entidade ou dosagem única. O termo "combinação não fixa" significa que os componentes ativos, *e.g.*, um composto de Fórmula I e um coagente, são ambos administrados a um paciente como entidades separadas quer simultaneamente, concorrentemente ou sequencialmente sem limites de tempo específicos, em que uma tal administração providencia níveis terapeuticamente eficazes dos 2 compostos no organismo do paciente. Este último também se aplica à terapia de cocktail, *e.g.*, a administração de 3 ou mais componentes ativos.

Processos para Preparar os Compostos da Invenção

A presente invenção também inclui processos para a preparação de compostos da invenção. Nas reações descritas, pode ser necessário proteger grupos funcionais reativos, por exemplo grupos hidroxi, amino, imino, tio ou carboxi, quando estes são desejados no produto final, para evitar a sua participação indesejada nas reações. Os grupos protetores convencionais podem ser utilizados de acordo com a prática padrão, por exemplo, ver T.W. Greene e P.G.M. Wuts em "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

Os compostos de Fórmula I, em que W é $-NR_4-$, podem ser preparados procedendo como no seguinte Esquema Reacional I:

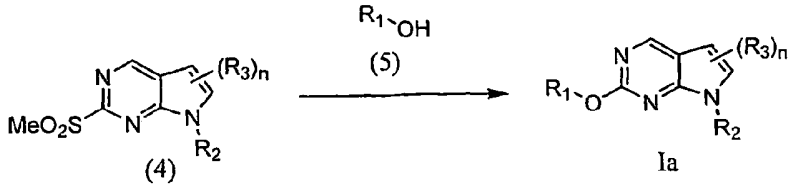
Esquema Reacional I



em que R_1, R_2, R_3, R_4 e n são como definidos para a Fórmula I no Sumário da Invenção e Y é um grupo de saída tal como halogéneo (*e.g.*, cloro, e semelhantes). Um composto de fórmula Ia pode ser preparado pela reação de um composto de fórmula 2 com um composto de fórmula 3 na presença de uma base apropriada (*e.g.*, butóxido de potássio terciário e diisopropiletilamina, e semelhantes), um solvente apropriado (*e.g.*, 1,4-dioxano e butanol, e semelhantes). A reação é levada a cabo a 50 até 130°C, e pode levar até 4 horas para estar completa. Do mesmo modo, utilizando materiais de partida apropriados, a reação com um composto de fórmula 3 resulta em compostos de Fórmula Ib, Ic, Id e Ie.

Os compostos de Fórmula I, em que W é -O-, podem ser preparados procedendo como no seguinte Esquema Reacional II:

Esquema Reacional II



em que R_1, R_2, R_3, R_4 e n são como definidos para a Fórmula I no Sumário da Invenção. Um composto de fórmula Ia pode ser preparado por reação de um composto de fórmula 4 com um composto de fórmula 5, na presença de um solvente apropriado (e.g., DMSO, e semelhantes) e uma base adequada (*e.g.*, butóxido de potássio terciário, e semelhantes). A reação é levada a cabo a 50 até 130°C, e pode levar até 4 horas para ficar completa.

As descrições detalhadas da síntese de um composto de Fórmula I podem ser encontradas nos Exemplos, *infra*.

Processos Adicionais para a Preparação de Compostos da Invenção

Um composto da invenção pode ser preparado como um sal de adição de ácido farmaceuticamente aceitável pela reação da forma de base livre do composto com um ácido inorgânico ou orgânico farmaceuticamente aceitável. Alternativamente, um sal de adição de base farmaceuticamente aceitável de um composto da invenção pode ser preparado por reação da forma de ácido livre do composto com uma base inorgânica ou orgânica farmaceuticamente aceitável. Alternativamente, as formas de

sal dos compostos da invenção podem ser preparadas utilizando sais dos materiais de partida ou intermediários.

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

Os compostos da invenção na forma não oxidada podem ser preparados a partir de N-óxidos de compostos da invenção por tratamento com um agente de redução (*e.g.*, enxofre, dióxido de enxofre, trifenilfosfina, borohidreto de lítio, borohidreto de sódio, tricloreto de fósforo, tribrometo, ou semelhantes) num solvente orgânico inerte apropriado (*e.g.*, acetonitrilo, etanol, dioxano aquoso, ou semelhantes) a 0 até 80°C.

Os derivados de pró-fármaco dos compostos da invenção podem ser preparados por métodos conhecidos daqueles peritos na técnica (*e.g.*, para mais detalhes ver Saulnier *et al.*, (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4., p. 1985). Por exemplo, os pró-fármacos

apropriados podem ser preparados por reação de um composto não derivatizado da invenção com um agente de carbamilação apropriado (*e.g.*, 1,1-aciloxialquilcarbanocloridrato, carbonato de para-nitrofenilo ou semelhantes).

Os derivados protegidos dos compostos da invenção pode ser preparados através de meios conhecidos daqueles peritos na técnica. Uma descrição detalhada de técnicas aplicáveis à criação de grupos protetores e sua remoção pode ser encontrada em T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edição, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Os compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados, ou formados durante o processo da invenção, como solvatos (*e.g.*, hidratos). Os hidratos de compostos da presente invenção podem ser convenientemente preparados por recristalização a partir de uma mistura de solvente aquoso/orgânico, utilizando solventes orgânicos tais como dioxina, tetrahidrofurano ou metanol.

Os compostos da invenção podem ser preparados como os seus estereoisómeros individuais através da reação de uma mistura racémica do composto com um agente de resolução opticamente ativo para formar um par de compostos diastereoisoméricos, separando os diastereómeros e recuperando os enantioméros opticamente puros. Enquanto que a resolução de enantiómeros pode ser levada a cabo utilizando derivados diastereoméricos covalentes dos

compostos da invenção, são preferidos os complexos dissociáveis (*e.g.*, sais diastereoméricos cristalinos). Os diastereómeros possuem propriedades físicas distintas (*e.g.*, pontos de fusão, pontos de ebulição, solubilidades, reatividade, etc.), e podem ser prontamente separados tirando vantagem destas diferenças. Os diastereómeros podem ser separados por cromatografia, ou, preferencialmente, por técnicas de separação/resolução baseadas em diferenças na solubilidade. O enantiómero opticamente puro é seguidamente recuperado, juntamente com o agente de resolução, por quaisquer meios práticos que não resultem em racemização. Uma descrição mais pormenorizada das técnicas aplicáveis à resolução de estereoisómeros de compostos a partir da sua mistura racémica pode ser encontrada em Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981.

Em resumo, os compostos de Fórmula I podem ser preparados por um processo, que envolve:

(a) aquele dos esquemas reacionais I e II; e

(b) opcionalmente converter um composto da invenção num sal farmaceuticamente aceitável,

(c) opcionalmente converter uma forma de sal de um composto da invenção numa forma de não sal;

(d) opcionalmente converter uma forma não oxidada de um composto da invenção num N-óxido farmaceuticamente aceitável;

(e) opcionalmente converter uma forma de N-óxido de um composto da invenção na sua forma não oxidada;

(f) opcionalmente resolver um isómero individual de um composto da invenção a partir de uma mistura de isómeros;

(g) opcionalmente converter um composto não derivatizado da invenção num derivado de pró-fármaco farmaceuticamente aceitável, e

(h) opcionalmente converter um derivado de pró-fármaco de um composto da invenção na sua forma não derivatizada.

Na medida em que a produção dos materiais de partida não está particularmente descrita, os compostos são conhecidos ou podem ser preparados analogamente com métodos conhecidos na técnica ou como revelado nos Exemplos daqui em diante.

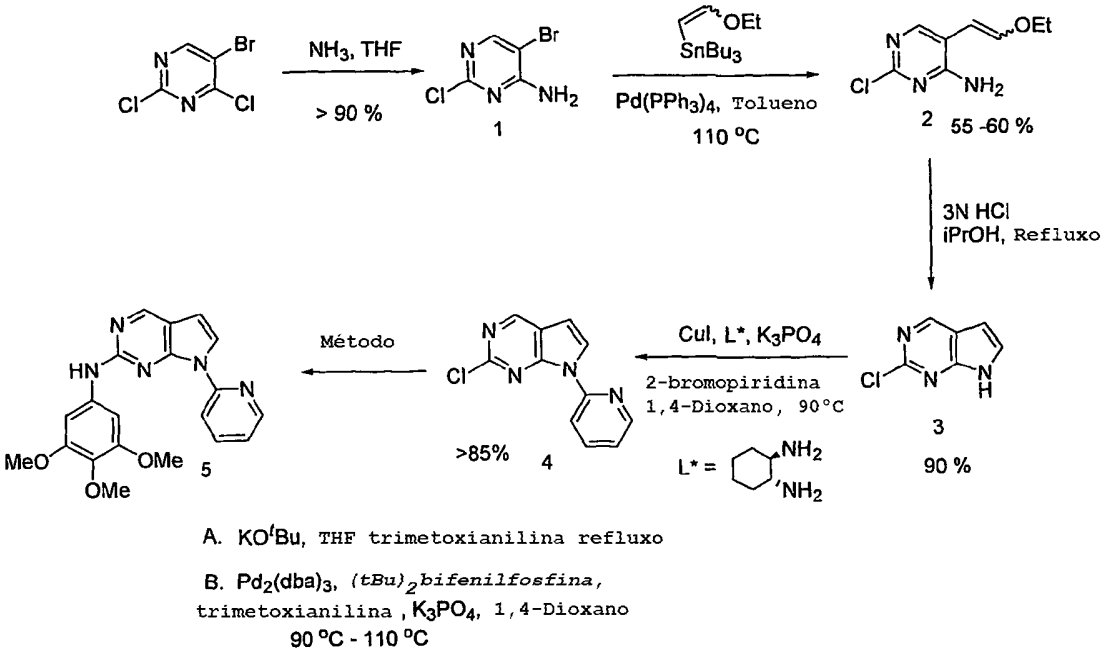
Um especialista na técnica apreciará que as transformações acima são apenas representativas de métodos para a preparação dos compostos da presente invenção, e que outros métodos bem conhecidos podem ser utilizados semelhantemente.

Exemplos

A presente invenção é adicionalmente exemplificada, mas não limitada, pelos seguintes exemplos que ilustram a preparação de compostos de Fórmula I (Exemplos) e intermediários (Referências) de acordo com a

invenção. Compostos 61, 62, 63, 66, 67, 68 e 179 são providenciados com o propósito de referência.

Exemplo I



Síntese de 5-Bromo-2-cloropirimidin-4-ilamina (1): Uma solução de 5-bromo-2,4-dicloropirimidina (25 g, 110 mmol) em 200 mL de THF é tratada com 47 mL de amónia (330 mmol, 7,0 M solução em metanol). Após agitação durante 15 horas a solução é concentrada sob pressão reduzida e purificada por filtração rápida (SiO_2, Hexanos : Acetato de etilo / 1:1) para originar 21 g (92%) de 1 como um sólido branco.

Síntese de 2-Cloro-5-(2-etoxivinil)-pirimidin-4-ilamina (2): Um balão de fundo redondo de 500 mL é carregado com 5-bromo-2-cloropirimidin-4-ilamina (1) (10 g,

48 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paládio(0) (2,8 g, 2,5 mmol), e tolueno (200 mL). É adicionado tributil-(2-etoxivinil)-estanano (22 g, 60 mmol) e a reação aquecida até 110°C com agitação durante aproximadamente 15 horas. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, a solução é diluída com 100 mL de acetato de etilo e lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. O extracto orgânico é seco sobre Na_2SO_4, filtrado e concentrado sob pressão reduzida. A purificação por cromatografia em coluna (SiO_2, Hexano:Acetato de etilo / 5:1) providencia **2** (4,4 g, 46%) como um sólido amarelo.

Síntese de 2-Cloro-7*H*-pirrolo-[2,3-*d*]pirimidina 3: Um balão de fundo redondo de 500 mL foi carregado com 2-Cloro-5-(2-etoxivinil)-pirimidin-4-ilamina **2** (4,4 g, 20 mmol). É adicionado isopropanol (200 mL) seguido de 25 mL de ácido clorídrico concentrado. A solução é aquecida até 90°C e agitada durante duas horas. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, a solução é concentrada sob pressão reduzida, seguidamente basificada até pH 9 com $NaHCO_3$ aquoso saturado. A fase aquosa é extraída com acetato de etilo, e os extractos orgânicos são combinados e lavados com $NaHCO_3$ aquoso saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Os extractos orgânicos são secos sobre Na_2SO_4, filtrados, e concentrados sob pressão reduzida. A purificação por filtração rápida (SiO_2, Hexanos : Acetato de etilo / 1:1) origina **3** (3,1 g, 92%) como um sólido branco.

Síntese de 2-Cloro-7-piridin-2-il-7*H*-pirrolo-[2, 3-*d*]pirimidina 4: Uma suspensão de 2-cloro-7*H*-pirrolo-[2,3-*d*] pirimidina **3** (0,53 g, 3,5 mmol), 2-bromopiridina (0,66 mL, 1,1 g, 6,9 mmol), iodeto de cobre(I) (0,20 g, 1,0 mmol), *trans*-1,2-diaminociclohexano (0,12 mL, 0,11 g, 1,0 mmol), e fosfato de potássio (2,2 g, 10 mmol) em 10 mL de 1,4-dioxano é aquecida até 100 °C e agitada durante quatro horas. A mistura reacional é arrefecida até à temperatura ambiente, diluída com acetato de etilo, e lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. O extracto orgânico foi seco sobre $MgSO_4$, filtrado e concentrado sob pressão reduzida. A purificação por cromatografia em coluna (SiO_2, Hexano : Acetato de etilo / 5:1) providenciou **4** (0,69 g, 87%) como um sólido branco.

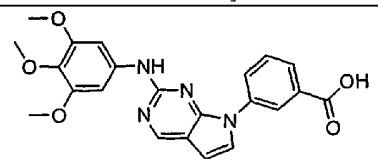
Síntese de (7-Piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina (5):

Método 1. A uma solução de 2-cloro-7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina em 1,4-dioxano é adicionada 3,4,5-trimetoxianilina (3 equivalentes), seguido pela adição de solução de *terc*-butóxido de potássio (1,0 M em tetrahidrofurano, 3 equivalentes) gota a gota. Após a adição, a mistura reacional é aquecida até 80 °C durante 2 horas. O solvente é removido após arrefecimento até à temperatura ambiente. A purificação por HPLC em fase reversa origina (7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il)- (3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina como um sólido branco.

Método 2. Um balão de fundo redondo carregado com 2-cloro-7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, 0,1 equivalentes de tri(dibenzilidenoacetona)dipaládio(0), 0,2 equivalentes de bifenil-2-il-di-*terc*-butil-fosfano, 3 equivalentes de fosfato de potássio e 1,5 equivalentes de 3,4,5-trimetoxi-anilina é purgado com nitrogénio seguido pela adição de 1,4-dioxano. A suspensão é aquecida até 110 °C durante 18 horas. A filtração através de uma compressa de Celite removeu o sólido. O filtrado é diluído com acetato de etilo, e lavado com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Após secagem sobre sulfato de magnésio, o produto é concentrado e purificado por cromatografia (acetato de etilo : hexanos 1:1) para originar 7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina como um sólido branco.

Exemplo 2

Ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d] pirimidin-7-il]-benzóico

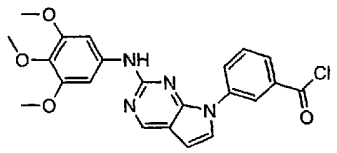


Uma solução de éster metílico do ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzóico em hidróxido de sódio 1 N (metanol : água 1:1) é agitada à temperatura ambiente durante 15 horas. A acidificação com ácido clorídrico 1 N até pH 6, origina um precipitado. A filtração e lavagem com água origina o ácido

3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzóico como um sólido branco.

Exemplo 3

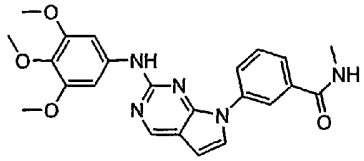
Cloreto de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoilo



Um balão de fundo redondo seco carregado com ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d] pirimidin-7-il]-benzóico é purgado com nitrogénio, são adicionados diclorometano e algumas gotas de *N,N'*-dimetilformamida. É adicionada gota a gota uma solução de cloreto de oxalilo (2,0 M em diclorometano). A mistura reacional é agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos, resultando numa solução de cloreto de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoilo.

Exemplo 4

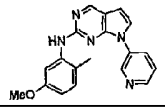
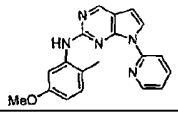
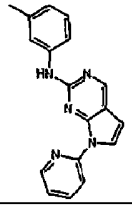
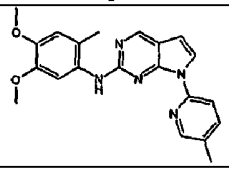
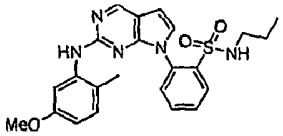
N-Metil-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d] pirimidin-7-il]-benzamida

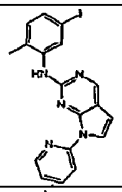
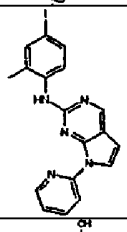
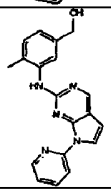
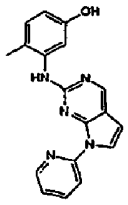
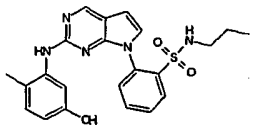
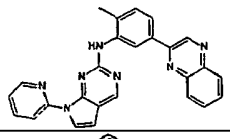
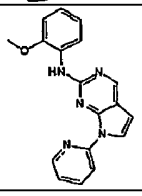


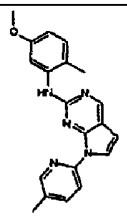
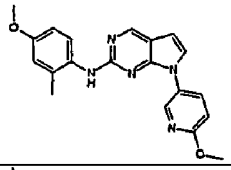
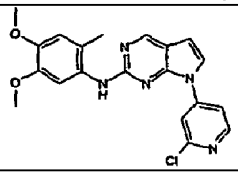
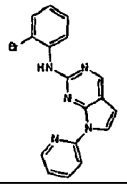
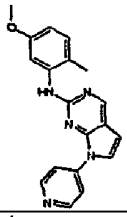
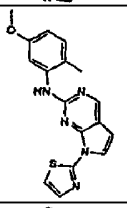
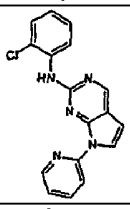
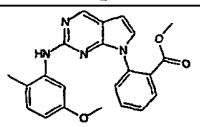
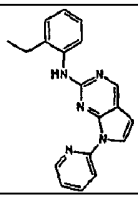
A uma solução de cloreto de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoílo em diclorometano são adicionados 5 equivalentes de

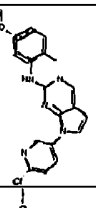
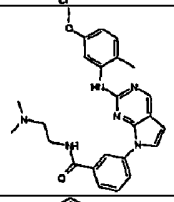
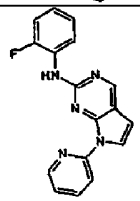
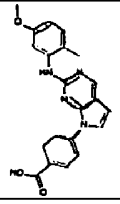
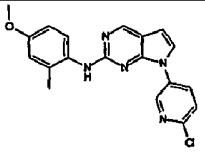
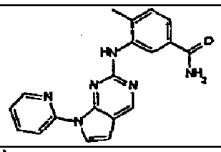
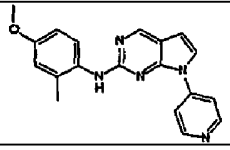
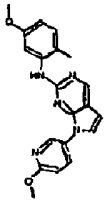
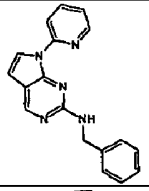
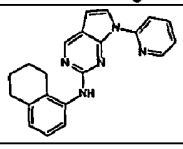
uma solução de metilamina (2,0 M em tetrahidrofurano). Após agitação à temperatura ambiente durante 1 hora, a reação é extinta com água. A remoção do solvente seguido de purificação com HPLC de fase reversa origina *N*-metil-3-[2(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida como um sólido branco.

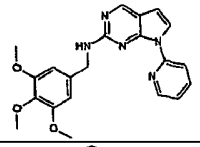
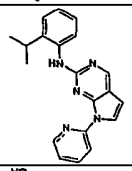
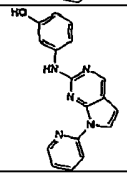
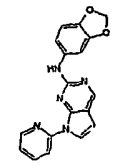
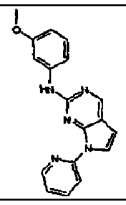
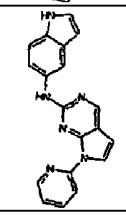
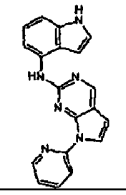
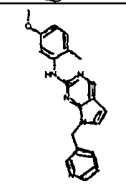
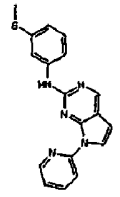
São obtidos, pela repetição dos procedimentos descritos nos exemplos acima, utilizando materiais de partida apropriados, os seguintes compostos de Fórmula I, tal como identificados na Tabela 1.

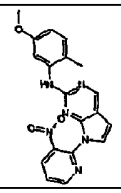
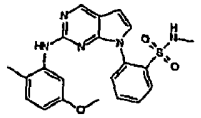
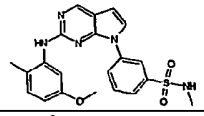
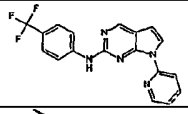
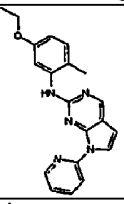
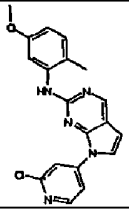
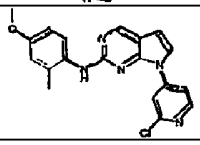
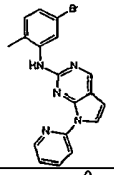
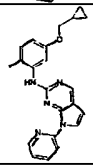
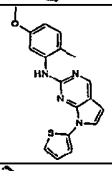
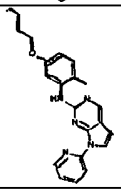
Número do Composto	**Estrutura**	**Dados Físicos de RMN ^{1}H e EM (m/z)**
1		EM (m/z) 332,3 (M+1)
2		EM (m/z) 332,2 (M+1)
3		EM (m/z) 302,2 (M+1)
4		EM (m/z) 376,3 (M+1)
5		EM (m/z) 452,2 (M+1)

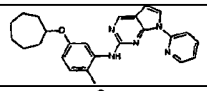
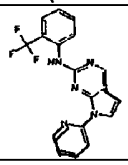
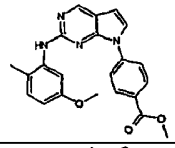
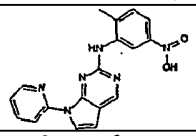
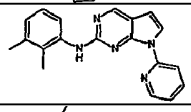
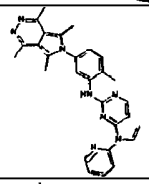
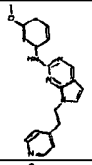
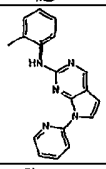
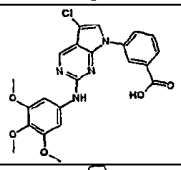
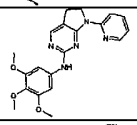
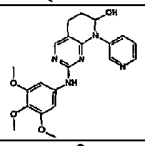
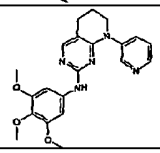
6		EM (m/z) 428,1 (M+1)
7		EM (m/z) 428,1 (M+1)
8		EM (m/z) 332,2 (M+1)
9		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,68 (s, 1H), 8,32 (m, 2H), 8,05 (d, 1H), 7,73 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 6,80 (d, 1H), 6,62 (d, 1H), 6,36 (d, 1H), 6,23 (m, 1H); EM (m/z) 318,2 (M+1).
10		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 10,35 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,07 (dd, 1H), 7,70 (m, 2H), 7,37 (dd, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,94 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,52 (dd, 1H), 5,28 (b, 1H), 3,02 (m, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,27 (m, 2H), 0,76 (t, 3H); EM (m/z) 438,2 (M+1).
11		EM (m/z) 430,2 (M+1).
12		EM (m/z) 418,2 (M+1).

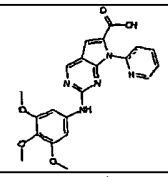
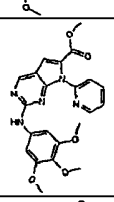
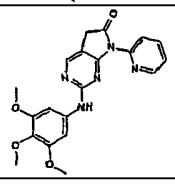
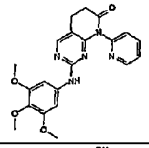
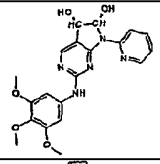
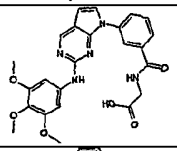
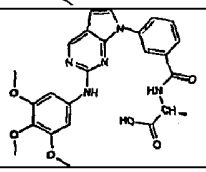
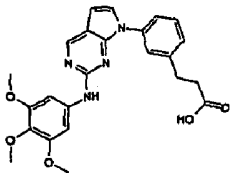
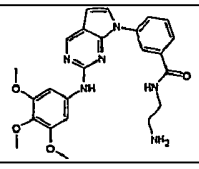
13		EM (m/z) 436,2 (M+1).
14		EM (m/z) 362,3 (M+1).
15		EM (m/z) 396,2 (M+1).
16		EM (m/z) 366,1 (M+1).
17		EM (m/z) 332,3 (M+1).
18		EM (m/z) 338,3 (M+1).
19		EM (m/z) 306,2 (M+1).
20		EM (m/z) 389,2 (M+1).
21		EM (m/z) 316,2 (M+1).

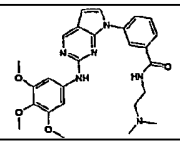
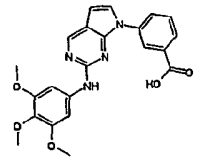
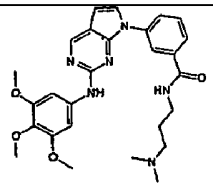
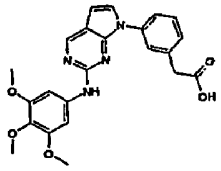
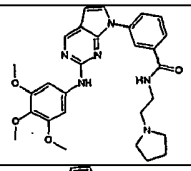
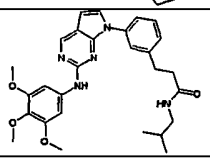
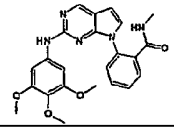
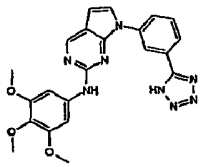
22		EM (m/z) 366,1 (M+1).
23		EM (m/z) 445,2 (M+1).
24		EM (m/z) 306,1 (M+1).
25		EM (m/z) 375,2 (M+1).
26		EM (m/z) 366,1 (M+1).
27		EM (m/z) 345,2 (M+1).
28		EM (m/z) 332,1 (M+1).
29		EM (m/z) 362,2 (M+1).
30		EM (m/z) 302,1 (M+1).
31		EM (m/z) 342,2 (M+1).

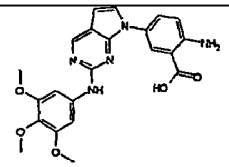
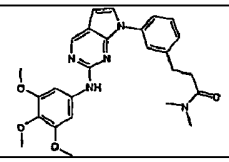
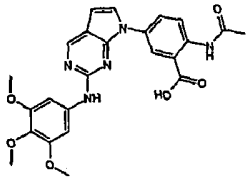
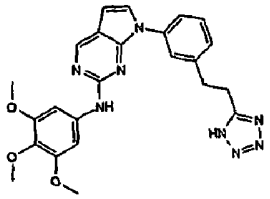
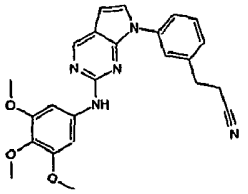
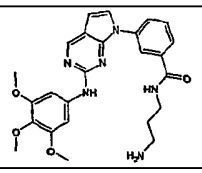
32		EM (m/z) 392,2 (M+1).
33		EM (m/z) 330,2 (M+1).
34		EM (m/z) 304,1 (M+1).
35		EM (m/z) 332,1 (M+1).
36		EM (m/z) 318,1 (M+1).
37		EM (m/z) 327,1 (M+1).
38		EM (m/z) 327,1 (M+1).
39		EM (m/z) 346,2 (M+1).
40		EM (m/z) 334,1 (M+1).

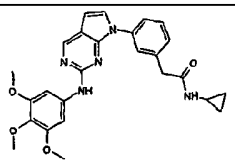
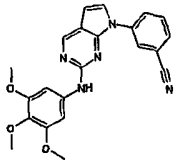
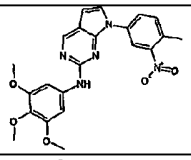
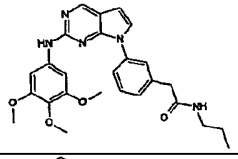
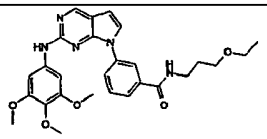
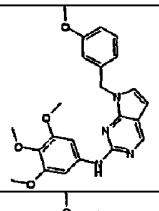
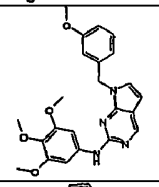
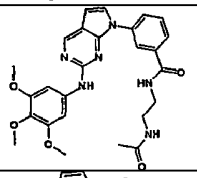
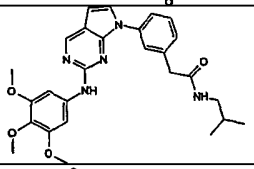
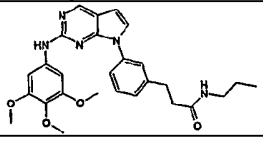
41		EM (m/z) 377,1 (M+1).
42		EM (m/z) 424,2 (M+1).
43		EM (m/z) 424,2 (M+1).
44		EM (m/z) 356,1 (M+1).
45		EM (m/z) 346,2 (M+1).
46		EM (m/z) 366,1 (M+1).
47		EM (m/z) 366,1 (M+1).
48		EM (m/z) 380,1 (M+1).
49		EM (m/z) 372,2 (M+1).
50		EM (m/z) 337,1 (M+1).
51		EM (m/z) 374,2 (M+1).

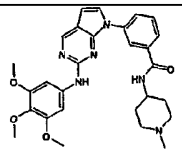
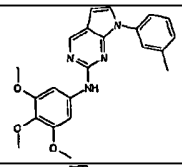
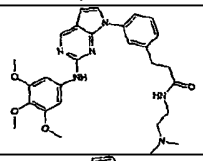
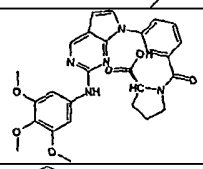
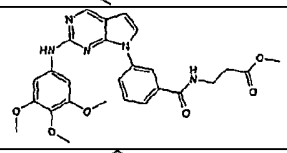
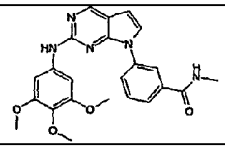
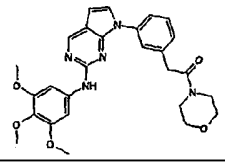
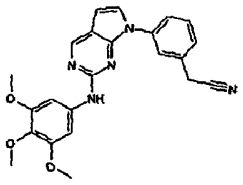
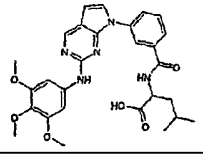
52		EM (m/z) 414,2 (M+1).
53		EM (m/z) 356,1 (M+1).
54		EM (m/z) 389,2 (M+1).
55		EM (m/z) 347,2 (M+1).
56		EM (m/z) 316,2 (M+1).
57		EM (m/z) 475,2 (M+1).
58		EM (m/z) 360,2 (M+1).
59		EM (m/z) 302,2 (M+1).
60		EM (m/z) 375,2 (M+1).
61		EM (m/z) 379,9 (M+1).
62		EM (m/z) 410,5 (M+1).
63		EM (m/z) 394,4 (M+1).

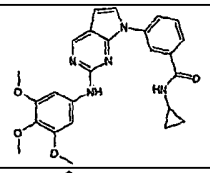
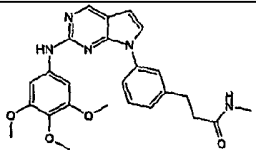
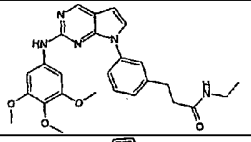
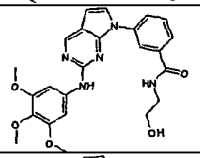
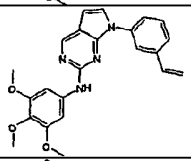
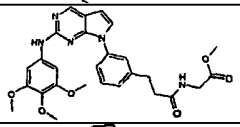
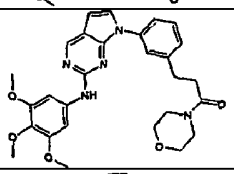
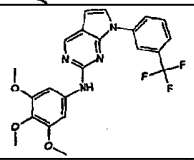
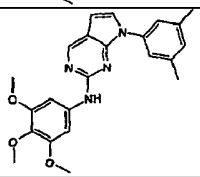
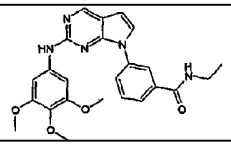
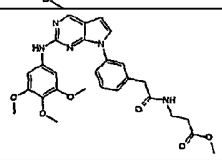
64		EM (m/z) 422,1 (M+1).
65		EM (m/z) 436,2 (M+1).
66		EM (m/z) 394,4 (M+1).
67		EM (m/z) 408,4 (M+1).
68		EM (m/z) 412,2 (M+1).
69		EM (m/z) 477,8 (M+1).
70		EM (m/z) 492,2 (M+1).
71		^{1}H RMN 400 MHz (DMSO-d_6) δ 9,31 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,39 (t, 1H), 7,21 (m, 1H), 7,13 (s, 2H), 6,61 (d, 1H), 5,83 (s, 1H), 3,53 (d, 9H), 2,85 (m, 2H), 2,54 (m,2H); EM (m/z) 449,0 (M+1).
72		EM (m/z) 463,2 (M+1).

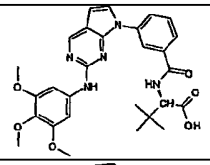
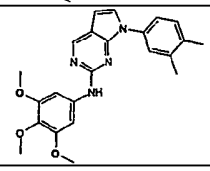
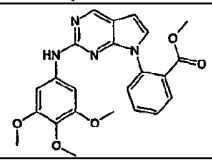
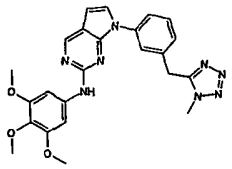
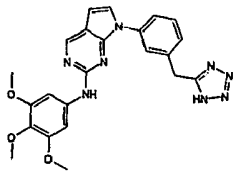
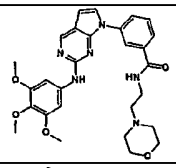
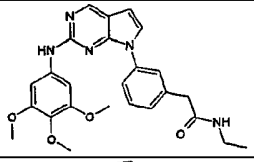
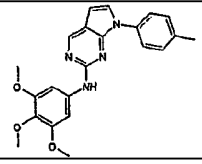
73		EM (m/z) 491,2 (M+1).
74		^{1}H RMN 400 MHz (DEMO-d_6) δ 9,30 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,13 (m, 1H), 8,02 (m, 1H), 7,87 (m, 1H), 7,59 (t, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,09 (s, 2H), 6,61 (d, 1H), 5,77 (s, 1H), 3,48 (d, 9H); EM (m/z) 421,1 (M+1).
75		EM (m/z) 505,3 (M+1).
76		^{1}H RMN 400 MHz (DEMO-d_6) δ 9,35 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,28 (d, 1H), 7,19 (s, 2H), 6,67 (d, 1H), 3,59 (m, 11H); EM (m/z) 435,2 (M+1).
77		EM (m/z) 516,3 (M+1).
78		EM (m/z) 504,3 (M+1).
79		EM (m/z) 434,2 (M+1).
80		^{1}H RMN 400 MHz (MeOH-d_4) δ 8,76 (s, 1H), 8,57 (t, 1H), 8,10 (m, 1H), 8,02 (m, 1H), 7,77 (m,2H), 6,97 (s, 2H), 6,86 (d, 1H), 3,69

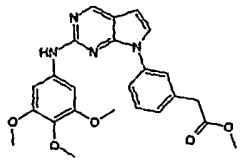
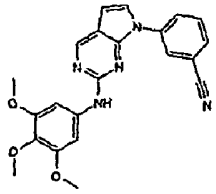
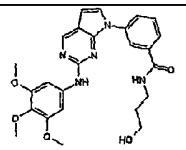
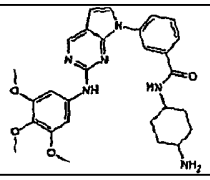
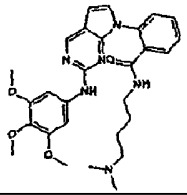
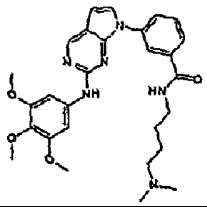
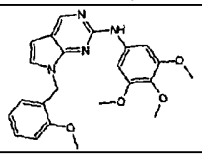
		(d, 9H); EM (m/z) 445,2 (M+1).
81		EM (m/z) 436,2 (M+1).
82		EM (m/z) 476,2 (M+1).
83		^{1}H RMN 400 MHz (DEMO-d_6) δ 11,17 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,72 (m, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,17 (m, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,32 (s, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,72 (d, 9H), 2,33 (s, 3H); EM (m/z) 478,2 (M+1).
84		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 11,6 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,69 (m, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,73 (m, 3 H), 3,98 (s, 3H), 3,66 (d, 6H), 3,09 (m, 2H), 2,92 (m, 2H); EM (m/z) 473,3 (M+1).
85		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,74 (s, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,49 (t, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,23 (m, 1H), 6,98 (d, 2H), 6,61 (d, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,77 (s, 6H), 3,07 (m, 2H), 2,70 (m, 2H); EM (m/z) 430,2 (M+1).
86		EM (m/z) 477,2 (M+1).

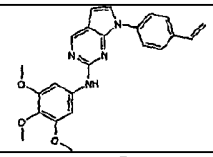
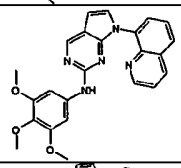
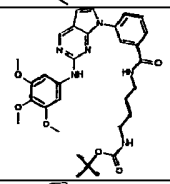
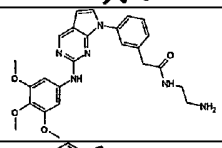
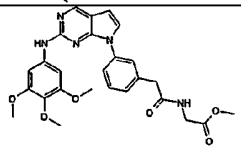
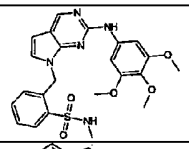
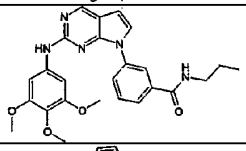
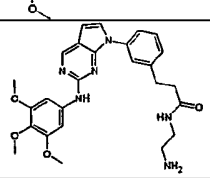
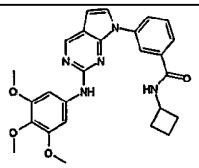
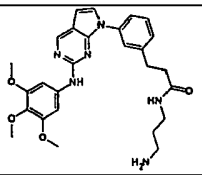
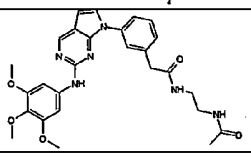
87		EM (m/z) 474,2 (M+1).
88		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,67 (s, 1H), 8,02 (m, 2H), 7,55 (m, 2H), 7,16 (d. 1H), 6,86 (s, 2H), 6,56 (d, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,72 (s, 6H); EM (m/z) 402,1 (M+1).
89		EM (m/z) 436,1 (M+1).
90		EM (m/z) 476,2 (M+1).
91		EM (m/z) 506,3 (M+1).
92		EM (m/z) 421,2 (M+1).
93		EM (m/z) 421,2 (M+1).
94		EM (m/z) 505,3 (M+1).
95		EM (m/z) 490,2 (M+1).
96		EM (m/z) 490,2 (M+1).

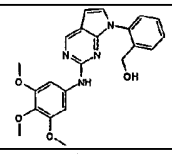
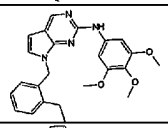
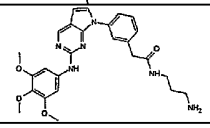
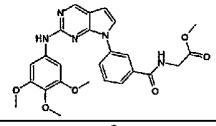
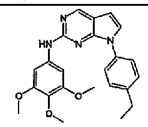
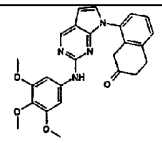
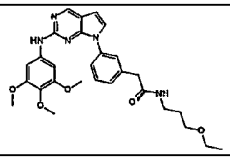
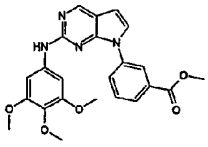
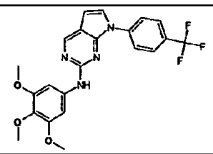
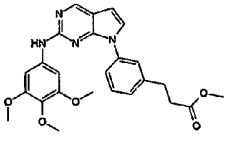
97		EM (m/z) 517,3 (M+1).
98		EM (m/z) 391,2 (M+1).
99		EM (m/z) 519,3 (M+1).
100		EM (m/z) 518,2 (M+1).
101		EM (m/z) 506,2 (M+1).
102		EM (m/z) 434,2 (M+1).
103		EM (m/z) 504,2 (M+1).
104		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,87 (s, 1H), 7,92 (m, 1H), 7,86 (m, 1 H), 7,66 (t, 1H), 7,48 (m, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,09 (s, 2H), 6,75 (d, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,88 (s, 6H); EM (m/z) 415,9 (M+1).
105		EM (m/z) 534,2 (M+1).

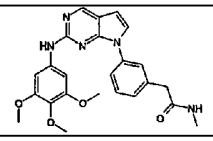
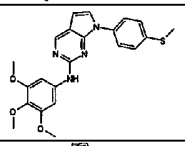
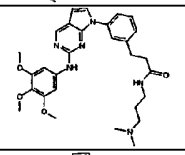
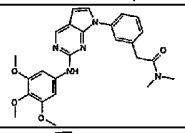
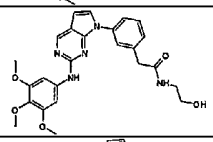
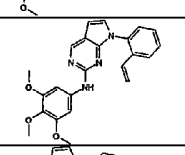
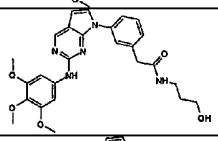
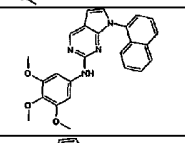
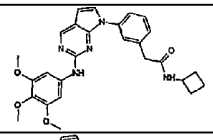
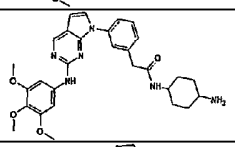
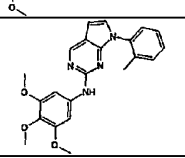
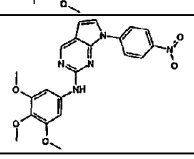
106		EM (m/z) 460,2 (M+1).
107		EM (m/z) 462,2 (M+1).
108		EM (m/z) 476,2 (M+1).
109		EM (m/z) 464,2 (M+1).
110		EM (m/z) 445,1 (M+1).
111		EM (m/z) 520,2 (M+1).
112		EM (m/z) 517,2 (M+1).
113		EM (m/z) 403,2 (M+1).
114		EM (m/z) 405,2 (M+1).
115		EM (m/z) 478,2 (M+1).
116		EM (m/z) 520,2 (M+1).

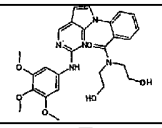
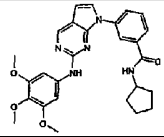
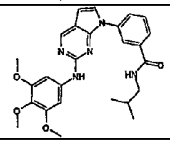
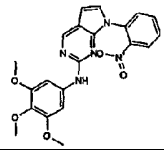
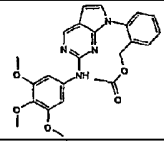
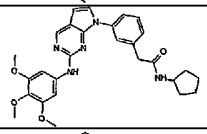
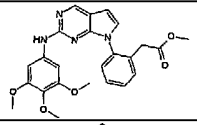
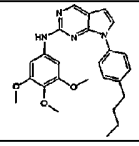
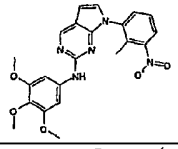
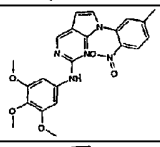
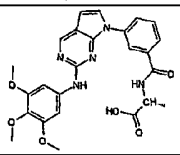
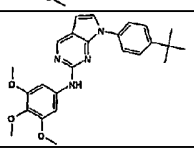
117		EM (m/z) 534,2 (M+1).
118		EM (m/z) 405,2 (M+1).
119		EM (m/z) 419,2 (M+1).
120		^{1}H RMN 400 MHz (MeOH-d_4) δ 8,61 (s, 1H), 7,64 (m, 2H), 7,49 (d, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,22 (d, 1H), 6,90 (s, 2H), 6,63 (d, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,56 (s, 6H); EM (m/z) 473,5 (M+1).
121		^{1}H RMN 400 MHz (MeOH-d_4) δ 8,62 (s, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,63 (m, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 6,86 (s, 2H), 6069 (d, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,63 (s, 3H), 3,58 (s, 6H); EM (m/z) 415,9 (M+1). EM (m/z) 459,2 (M+1).
122		EM (m/z) 533,2 (M+1).
123		EM (m/z) 462,2 (M+1).
124		EM (m/z) 391,2 (M+1).

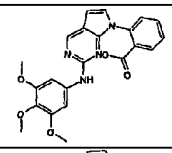
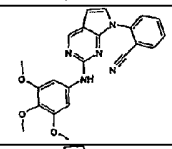
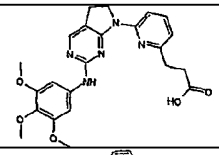
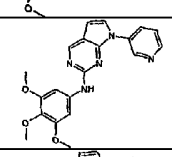
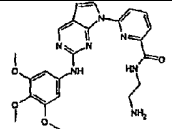
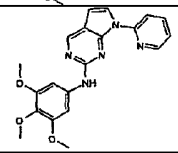
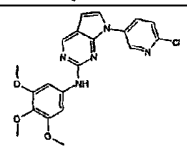
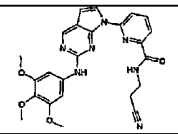
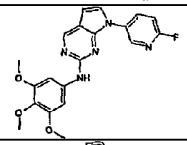
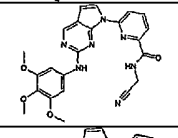
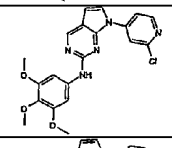
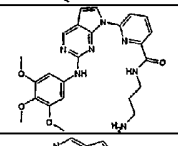
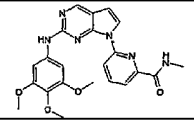
125		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,78 (s, 1H), 7,71 (m, 1H), 7,56 (m, 1H), 7,44 (t, 1H), 7,27 (m, 1H), 7,21 (d, 1H), 7,13 (b, 1H), 6,95 (s, 2H), 6,57 (d, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,70 (m, 9H); EM (m/z) 449,3 (M+1).
126		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,67 (s, 1H), 8,04 (m, 1H), 8,01 (m, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,16 (d, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,87 (s, 2H), 6,57 (d, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,71 (d, 6H); EM (m/z) 503,2 (M+1).
127		EM (m/z) 478,2 (M+1).
128		EM (m/z) 517,3 (M+1).
129		EM (m/z) 519,2 (M+1).
130		EM (m/z) 519,3 (M+1).
131		EM (m/z) 421,2 (M+1).

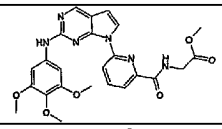
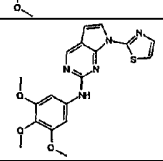
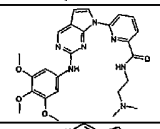
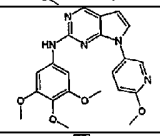
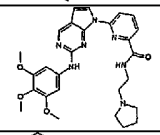
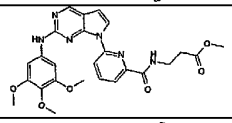
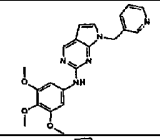
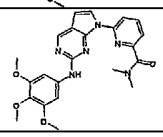
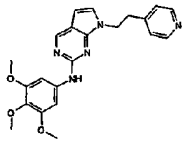
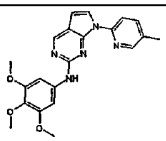
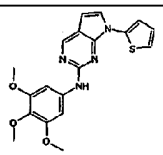
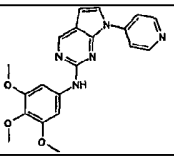
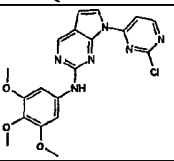
132		EM (m/z) 403,2 (M+1).
133		EM (m/z) 427,9 (M+1).
134		EM (m/z) 591,3 (M+1).
135		EM (m/z) 477,2 (M+1).
136		EM (m/z) 506,2 (M+1).
137		EM (m/z) 484,2 (M+1).
138		EM (m/z) 462,2 (M+1).
139		EM (m/z) 491,2 (M+1).
140		EM (m/z) 474,2 (M+1).
141		EM (m/z) 505,3(M+1).
142		EM (m/z) 519,2 (M+1).

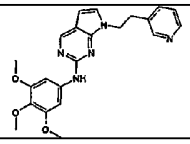
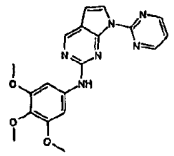
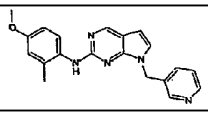
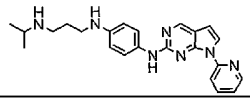
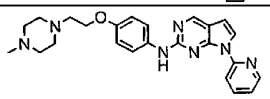
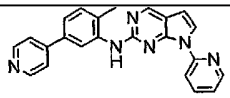
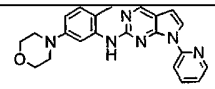
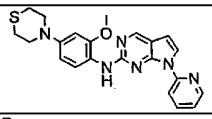
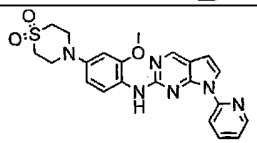
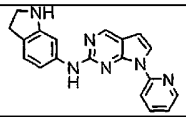
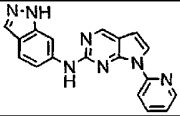
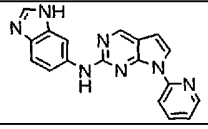
143		EM (m/z) 407,3 (M+1).
144		EM (m/z) 419,2 (M+1).
145		EM (m/z) 491,2 (M+1).
146		EM (m/z) 492,2 (M+1).
147		EM (m/z) 405,2 (M+1).
148		EM (m/z) 444,9 (M+1).
149		EM (m/z) 520,3 (M+1).
150		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,71 (s, 1H), 8,29 (t, 1H), 8,08 (m, 1H), 8,01 (m, 1H), 7,57 (t, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,18 (s, 1H), 6,93 (s, 2H), 6,60 (d, 1H), 3,93 (s, 3 H), 3,80 (d, 9H); EM (m/z) 435,3 (M+1).
151		EM (m/z) 445,1 (M+1).
152		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,64 (s, 1H), 7,56 (m, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,12 (m, 2H), 6,90 (s, 2H), 6,50 (d, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,65 (s, 6H), 3,60 (s, 3H), 2,97 (m, 2H),

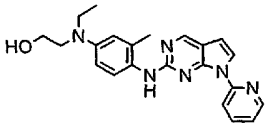
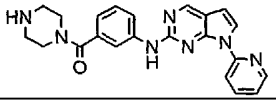
		2,60 (m, 2H); EM (m/z) 463,1 (M+1).
153		EM (m/z) 478,2 (M+1).
154		EM (m/z) 423,1 (M+1).
155		EM (m/z) 533,3 (M+1).
156		EM (m/z) 462,2 (M+1).
157		EM (m/z) 478,2 (M+1).
158		EM (m/z) 403,2 (M+1).
159		EM (m/z) 492,2 (M+1).
160		EM (m/z) 427,2 (M+1).
161		EM (m/z) 488,2 (M+1).
162		EM (m/z) 531,3 (M+1).
163		EM (m/z) 391,2 (M+1).
164		EM (m/z) 422,1 (M+1).

165		EM (m/z) 508,2 (M+1).
166		EM (m/z) 488,2 (M+1).
167		EM (m/z) 476,2 (M+1).
168		EM (m/z) 422,1 (M+1).
169		EM (m/z) 450,3 (M+1).
170		EM (m/z) 502,2 (M+1).
171		EM (m/z) 448,9 (M+1).
172		EM (m/z) 433,2M+1).
173		EM (m/z) 436,1 (M+1).
174		EM (m/z) 436,1 (M+1).
175		EM (m/z) 492,2 (M+1).
176		EM (m/z) 33,2 (M+1).

177		EM (m/z) 421,2 (M+1).
178		EM (m/z) 402,2 (M+1).
179		EM (m/z) 452,2 (M+1).
180		EM (m/z) 378,2 (M+1).
181		EM (m/z) 464,1 (M+1).
182		EM (m/z) 378,2 (M+1).
183		EM (m/z) 411,11 (M+1).
184		EM (m/z) 474,1 (M+1).
185		EM (m/z) 396,1 (M+1).
186		EM (m/z) 460,1 (M+1).
187		EM (m/z) 412,1 (M+1).
188		EM (m/z) 478,2 (M+1).
189		EM (m/z) 435,1 (M+1).

190		EM (m/z) 493,10 (M+1).
191		EM (m/z) 384,1 (M+1).
192		EM (m/z) 492,2 (M+1).
193		EM (m/z) 408,2 (M+1).
194		EM (m/z) 518,20 (M+1).
195		EM (m/z) 507,15 (M+1).
196		EM (m/z) 392,20 (M+1).
197		EM (m/z) 449,10 (M+1).
198		EM (m/z) 406,2 (M+1).
199		EM (m/z) 392,2 (M+1).
200		EM (m/z) 383,1 (M+1).
201		EM (m/z) 378,2 (M+1).
202		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,72 (d, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,16 (s,

		2H), 6,72 (d, 1H), 3,89 (s, 6H), 3,85 (s, 3H); EM (m/z) 413,1 (M+1).
203		EM (m/z) 406,3 (M+1).
204		^{1}H RMN 400 MHz ($CDCl_3$) δ 8,85 (d, 2H), 8,74 (s, 1H), 8,03 (d, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,25 (t, 1H), 7,13 (s, 2H), 6,63 (d, 1H), 3,93 (s, 6H), 3,86 (s, 3H); EM (m/z) 379,4 (M+1).
205		EM (m/z) 346,2 (M+1).
206		
208		
209		
210		
211		
212		
213		
214		
215		

216		
217		

Ensaios

Os compostos da presente invenção são ensaiados para medir sua capacidade para inibir seletivamente a proliferação celular de células 32D que expressam BCR-Abl (32D-p210) em comparação com as células 32D parentais. Os compostos inibem seletivamente a proliferação destas células transformadas BCR-AB1 são testados relativamente à atividade anti-proliferativa em células Ba/F3 expressando quer de tipo selvagem ou as formas mutantes de Bcr-abl. Além disso, os compostos são ensaiados para medir sua capacidade para inibir a FAK, Flt-3, ALK e b-Raf.

Inibição da proliferação celular dependente de BCR-Abl (método de Elevado Rendimento)

A linha celular murina utilizada é a linha celular progenitora hematopoiética 32D transformada com BCR-Abl ADNc (32D-p210). Estas células são mantidas em RPMI/10% soro de bovino fetal (RPMI / FCS) suplementado com penicilina 50 μg / mL, estreptomicina 50 μg / mL e L-glutamina 200 mM. As células 32D não transformadas são similarmente mantidas com a adição de 15% de meio condicionado de WEHI como uma fonte de IL3.

50 μL de uma suspensão de células 32D ou 32D-p210 são colocadas em microplacas Greiner de 384 poços (preto) a uma densidade de 5000 células por poço. 50 nL de composto de teste (1 mM em solução mãe de DMSO) são adicionados a cada poço (STI571 é incluída como um controlo positivo). As células são incubadas durante 72 horas a 37 °C, 5% de CO_2. 10 μL de uma solução a 60% de Alamar Blue (Tek diagnostics) é adicionado a cada poço e as células são incubadas durante um período adicional de 24 horas. A intensidade de fluorescência (Excitação a 530 nm, Emissão a 580 nm) é quantificada utilizando o sistema Acquest™ (Molecular Devices).

Inibição de proliferação celular dependente de BCR-Abl

As células 32D-p210 são colocadas em placas TC de 96 poços a uma densidade de 15 000 células por poço. 50 μL de diluições em série de duas vezes do composto de teste (C_{max} é de 40 μM) são adicionados a cada poço (STI571 é incluída como um controlo positivo). Após incubação das células durante 48 horas a 37 °C, 5% de CO_2, 15 μL de MTT (Promega) é adicionado a cada poço e as células são incubadas durante um período adicional de 5 horas. A densidade óptica a 570 nm é quantificada espectrofotometricamente e os valores de IC_{50}, a concentração de composto requerida para uma inibição de 50%, determinados a partir de uma curva de resposta à dose.

Efeito sobre a distribuição do ciclo celular

As células 32D e 32D-p210 são colocadas em placas TC de 6 poços a 2,5 x 10^6 células por poço em 5 ml de meio e composto de teste a 1 ou 10 μM são adicionados (STI571 é incluída como um controlo). As células são então incubadas durante 24 ou 48 horas a 37 °C, 5% de CO_2. 2 mL de suspensão celular são lavados com PBS, fixados em EtOH a 70% durante 1 hora e tratados com PBS / EDTA / RNase A durante 30 minutos. O iodeto de propídio (Cf = 10 μg / mL) é adicionado e a intensidade de fluorescência é quantificada por citometria de fluxo no sistema FACScalibur™ (BD Biosciences). Os compostos de teste da presente invenção demonstram um efeito apoptótico nas células 32D-p210 mas não induzem apoptose em células 32D parentais.

Efeito sobre Autofosforilação Celular de BCR-Abl

A autofosforilação de BCR-Abl é quantificada com Elisa de captura utilizando um anticorpo de captura específico c-abl e um anticorpo antifosfotirosina. As células 32D-p210 são colocadas em placas TC de 96 poços a 2 x 10^5 células por poço em 50 μL de meio. 50 μL de diluições em série de duas vezes dos compostos de teste (C_{max} é 10 μM) são adicionados a cada poço (a STI571 é incluída como um controlo positivo). As células são incubadas durante 90 minutos a 37 °C, 5% de CO_2. As células são em seguida tratadas durante 1 hora em gelo com 150 μL de tampão de lise (Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, EGTA 1 mM e 1% de NP-40) contendo inibidores de protéase e

fosfatase. 50 μL de lisado de células são adicionados a 96 poços de optiplacas previamente revestidos com um anticorpo específico anti-abl e bloqueados. As placas são incubadas durante 4 horas a 4 °C. Após lavagem com tampão de TBS-Tween 20, são adicionados 50 μL de anticorpo anti-fosfotirosina conjugado com fosfatase alcalina e a placa é incubada adicionalmente durante a noite a 4 °C. Após lavagem com tampão de TBS-Tween 20, são adicionados 90 μL de um substrato luminescente e a luminescência é quantificada utilizando o sistema Acquest™ (Molecular Devices). Os compostos de teste da invenção que inibem a proliferação das células que expressam BCR-Abl, inibem a autofosforilação celular de BCR-Abl de uma forma dependente da dose.

Efeito sobre Autofosforilação Celular de BCR-Abl

Efeito na proliferação de células que expressam formas mutantes de Bcr-abl

Os compostos da invenção são testados quanto ao seu efeito anti-proliferativo em células Ba/F3 que expressam quer tipo selvagem ou formas mutantes de BCR-Abl (G250E, E255V, T315I, F317L, M351T) que confere resistência ou sensibilidade diminuída para STI571. O efeito anti-proliferativo destes compostos nas células que expressam mutantes de BCR-Abl e sobre as células não transformadas foi testado a 10, 3,3, 1,1 e 0,37 μM, como descrito acima (em meios carentes de IL3). Os valores de IC_{50} dos compostos que falta toxicidade nas células não

transformadas foram determinados a partir das curvas de resposta à dose obtidas como acima descrito.

Inibição de Flt-3

A técnica geral envolve a comparação de efeitos de possíveis inibidores em linhas celulares que dependem do mutante Flt3 para proliferação *vs*. linhas celulares que não dependem do mutante Flt3 para a proliferação. Os compostos que possuem atividade diferencial (mais do que ou igual a uma diferença de 10 vezes na sensibilidade entre Flt3 + linhas celulares e linhas celulares Flt3 são selecionados para estudo posterior.

As linhas celulares usadas para a triagem inicial são sub-linhas de Ba/F3 células que são projetadas para sobre-expressar Flt3 mutante ou tipo selvagem (não mutado) após infecção com um retrovírus que expressa FLT3 cADNs apropriados. A linha celular mãe, Ba/F3 é dependente de interleucina-3 para a proliferação, e quando privado de IL-3, as células deixam rapidamente de proliferar e morrem. O retrovírus expressa Flt3 a partir da LTR retroviral e o gene neo a partir de um local de IRES. As células Ba/F3 são selecionadas em G418 e analisadas quanto à expressão de Flt3 por triagem de células ativadas por fluorescência (FACS). São usadas linhas celulares com duas mutações diferentes de FLT3. Um mutante expressa uma Flt-3 que possui uma duplicação de 14 aminoácidos no domínio da justamembrana codificado pelo exão 11, a duplicação específica sendo ....VDFREYEYDLKWEF .... (designada Ba/F3-

Flt3-ITD). A segunda mutação tem uma mutação de ponto que converte asparaginas na posição 835 em tirosina (denominada Ba/F3-Flt3-D835Y). Ambas as mutações conduzem a ativação de Flt-3 quinase e tornam-na independente de IL-3 e as células que expressam crescem na ausência de IL-3. As células Ba/F3 que expressam Flt3 de tipo selvagem são igualmente geradas e utilizadas como a linha celular de "controlo". A linha celular parental (não infectada), e a linha celular de "controlo" de tipo selvagem continuam dependentes de IL-3 para a proliferação.

As células Ba/F3 (-controlo, Flt3-ITD, ou-Flt3-D835Y) são cultivadas até 500,000 células / mL em culturas de 30 mL, com meio RPMI 1640 com soro de bovino fetal a 10% como o meio de cultura. O meio para as células de controlo, (mas não as células de Flt3 mutante) contém 10% de meio condicionado a partir da linha celular WEHI-3B como uma fonte de IL-3. Uma solução "mãe" 10 mM de cada composto é preparada em dimetilsulfóxido (DMSO). As diluições são em seguida preparadas em meio RPMI 1640 com 10% de soro fetal de bovino para criar concentrações de fármaco finais variando tipicamente desde 1 nM até 10 μM. São preparadas diluições semelhantes de DMSO para servir como controlos de veículo. 48 horas após a adição dos compostos, as células são testadas relativamente à taxa de proliferação e de citotoxicidade.

É adicionado iodeto de Yo-Pro-1 (Molecular Probes) às células a uma concentração final de 2,5 μM em

NaCl / tampão de citrato de Na. As células são incubadas com Yo-Pro durante 10 minutos à temperatura ambiente e em seguida lidas num fluorímetro para determinação da citotoxicidade. Em seguida, as células são sujeitas a lise com tampão de NP40/EDTA/EGTA, incubadas à temperatura ambiente durante 90 minutos e lidas para a determinação de proliferação.

Os compostos que são seletivamente mais tóxicos para as células Ba/F3-Flt3-ITD do que para as células Ba/F3 de controlo do tipo selvagem são testadas adicionalmente nas células que expressam Flt3-D835Y.

Além disso, os anticorpos de α-Flt3 são usados para imunoprecipitar proteínas Flt3 antes, e após, a exposição a várias concentrações de compostos ativos. As proteínas imuno-precipitadas são separadas por géis de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio e transferidas electroforeticamente para uma membrana de PVDF, e imunotransferidas com um anticorpo de α-fosfo-^{591}Y-Flt3. Este ensaio determina se os compostos reduzem os níveis de "autofosforilação" de Flt3 característicos das formas mutadas do receptor.

Os compostos da invenção exibem tipicamente atividade anti-proliferativa contra Flt3-ITD na gama nanomolar enquanto são não-tóxicos contra controlo-Flt3 até 10 μM. Os compostos da invenção também reduzem a atividade de autofosforilação celular Flt-3, no intervalo nanomolar.

Inibição de Adesão Focal Quinase (FAK)

Os compostos da invenção são testados relativamente à sua capacidade para inibir a atividade de FAK. As atividades de quinase FAK são medidas em placas de 384 poços utilizando um método de ensaio baseado em transferência de energia de ressonância de fluorescência resolvida no tempo (TR-FRET). A FAK humana de comprimento total é expressa em *E. Coli* como uma proteína alvo para GST e purificada através de uma coluna de glutationa imobilizada. Um péptido biotinilado, SETDDYAEIID-biotina (Sintetizada por SynPep Corp.), que corresponde à sequência do sítio de auto-fosforilação de FAK humana, é utilizado como substrato no ensaio. A quinase de FAK expressa em *E. coli* (2,4 μg / mL) é misturada juntamente com o péptido de FAK (133 nM) em 15 μL de tampão de ensaio (Hepes 20 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 5 mM, $MnCl_2$ 2 mM, Na_3VO_4 0,5 mM, 0,1 % de BSA, 0,1% de Triton X-100). Um composto da invenção (0,5 μL - dissolvido em DMSO) é em seguida adicionado à solução de enzima / péptido. Após incubação à temperatura ambiente durante 10 minutos, 5 μL de ATP 40 μM em tampão de ensaio são adicionados para iniciar a reação. A mistura reacional é incubada à temperatura ambiente durante 2 horas. Adicionam-se então 50 μL de reagentes de detecção contendo 0,15 nM de anticorpos antifosfotirosina marcados com Eu (PT66-Eu, PerkinElmer) e 1,5 μg / mL de SA-APC (PerkinElmer) em tampão de detecção (Tris-HCl 10 mM, pH 7,4, EDTA 6 mM, 0,1% de BSA, 0,1% de TritonX-100). A mistura é incubada à temperatura ambiente durante 30

minutos e os sinais de TR-FRET são medidos utilizando um leitor de placas Acquest (Molecular Device).

Inibição de ALK

A inibição da atividade de tirosina quinase ALK pode ser demonstrada utilizando métodos conhecidos, por exemplo utilizando o domínio quinase recombinante da ALK em analogia com o ensaio da quinase VEGF-R descrito em J. Wood *et al*. Cancer Res. 60, 2178-2189 (2000). Os ensaios enzimáticos *in vitro* utilizando proteína tirosina quinase GST-ALK são realizados em placas de 96 poços como um ensaio de ligação ao filtro em Tris-HCl 20 mM, pH = 7,5, de $MgCl_2$ 3 mM, $MnCl_2$ 10 mM, DTT 1 mM, 0,1 μCi / ensaio (= 30 μL) [γ-^{33}P]-ATP, ATP 2 μM, 3 μg / mL de poli(Glu, Tyr 4: 1) Poli-EY (Sigma P-0275), 1% de DMSO, 25 ng de enzima ALK. Os ensaios são incubados durante 10 min à temperatura ambiente. As reações são terminadas por adição de 50 μL de EDTA 125 mM, e a mistura reacional é transferida para uma placa Multiscreen MAIP (Millipore, Bedford, MA, EUA), previamente molhada com metanol, e re-hidratada durante 5 minutos com H_2O. Após lavagem (0,5% de H_3PO_4), as placas são contadas num contador de cintilação líquida. Os valores de IC_{50} são calculados por análise de regressão linear da percentagem de inibição. Comparado com o controlo sem inibidor, os compostos de fórmula I inibem a atividade da enzima em 50% (IC_{50}), por exemplo, numa concentração de desde 0,001 a 0,5 μM, especialmente desde 0,01 até 0,1 μM.

Os compostos de fórmula I inibem potencialmente o crescimento de NPM-ALK humana sobre-expressando células BaF3 de murino (DSMZ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Alemanha). A expressão de NPM-ALK é alcançada através de transfeção da linha celular BaF3 com um vector de expressão pCIneo™ (Promega Corp, Madison, WI, EUA) que codifica para NPM-ALK e seleção subsequente de células resistentes a G418. As células BaF3 não transfectadas dependem de IL-3 para a sobrevivência da célula. Em contraste com a NPM-ALK expressando células BaF3 (denominado de BaF3-NPM-ALK daqui em diante) podem proliferar na ausência de IL-3 porque obtêm um sinal proliferativo através da NPM-ALK quinase. Os inibidores putativos da quinase NPM-ALK por conseguinte, suprimem o sinal de crescimento e resultam em atividade anti-proliferativa. A atividade anti-proliferativa de inibidores putativos da quinase NPM-ALK pode, no entanto, ser ultrapassada por adição de IL-3 que providencia sinais de crescimento através de um mecanismo independente de NPM-ALK. [Para um sistema de célula análogo usando FLT3 quinase ver E Weisberg *et al*. Cancer Cell, 1, 433-443 (2002)]. A atividade inibidora dos compostos de fórmula I é determinada, resumidamente, como se segue: células de BaF3-NPM-ALK (15, 000/ poço de placa de microtitulação) são transferidas para placas de microtitulação de 96 poços. Os compostos de teste [dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO)] são adicionados numa série de concentrações (séries de diluição) de uma tal maneira que a concentração final de DMSO não seja superior a 1% (v / v). Após a adição, as

placas são incubadas durante dois dias durante os quais as culturas de controlo sem composto de teste são capazes de sofrer dois ciclos de divisão celular. O crescimento das células de BaF3-NPM-ALK é medido por meio de coloração Yopro™ [T. Idziorek *et al*. J. Immunol. Methods; 185: 249-258 (1995)]: 25 μL de tampão de lise consistindo em citrato de sódio 20 mM, pH 4,0, cloreto de sódio 26,8 mM, NP40 a 0,4%, EDTA 20 mM e 20 mM são adicionados a cada poço. A lise celular é concluída em 60 min à temperatura ambiente e a quantidade total de Yopro ligado ao ADN é determinada por medição utilizando o leitor de 96 poços Cytofluor II (PerSeptive Biosystems) com as seguintes definições: Excitação (nm) 485/20 e Emissão (nm) 530 / 25.

Os valores de IC_{50} são determinados por um sistema assistido por computador utilizando a fórmula:

$IC_{50} = [(ABS_{test}-ABS_{start}) / (ABS_{control}-ABS_{start})] \times 100$. (ABS = absorção)

O valor IC_{50} nestas experiências é dado como aquela concentração do composto de teste em questão que resulta numa contagem de células que é 50% inferior à obtida utilizando o controlo sem inibidor. Os compostos de fórmula I exibem atividade inibidora com um IC_{50} na gama desde aproximadamente 0,01 até 1 μM.

A ação anti-proliferativa dos compostos de fórmula I também pode ser determinada na linha celular de

linfoma KARPAS-299 humano (DSMZ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Alemanha) [descrita em WG Dirks *et al*. Int. J. Cancer 100, 49-56 (2002)] usando a mesma metodologia descrita anteriormente para a linha celular de BaF3-NPM-ALK. Os compostos de Fórmula I exibem atividade inibidora com um IC_{50} na gama desde aproximadamente 0,01 até 1 μM.

A ação dos compostos de Fórmula I sobre a autofosforilação da ALK pode ser determinada na linha celular de linfoma KARPAS-299 humano, por meio de uma imunotransferência como descrito em WG Dirks *et al*. Int. J. Cancer 100, 49-56 (2002). Nesse teste, os compostos de Fórmula I exibem um IC_{50} de aproximadamente desde 0,001 até 1 μM.

Upstate KinaseProfiler™: Ensaio de ligação ao filtro rádio-enzimático

Os compostos da invenção são avaliados quanto à sua capacidade para inibir os membros individuais de um painel de quinases (uma lista não limitativa, parcial de quinases inclui: FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e c-Met. Os compostos são testados em duplicados numa concentração final de 10 μM seguindo este protocolo genérico. Note-se que a composição do tampão de quinase e os substratos variam para as diferentes quinases incluídas no painel "Upstate KinaseProfiler™". Os compostos são testados em duplicados numa concentração final de 10 μM seguindo este protocolo genérico. Note-se

que a composição do tampão de quinase e dos substratos varia para as diferentes quinases incluídas no painel "Upstate KinaseProfiler™" O tampão quinase (2,5 μL, 10x - contendo $MnCl_2$ quando requerido), quinase ativa (0,001 - 0,01 Unidades, 2,5 μL), específica ou Poli(Glu4-Tyr) péptido (5 - 500 μM ou 0,1 mg / mL) em tampão de quinase e tampão de quinase (50 μM; 5 μM) são misturados num eppendorf em gelo. Uma mistura Mg / ATP (10 μL, $MgCl_2$ 67,5 (ou 33,75) mM, ATP 450 (ou 225) μM e 1 μCi / μL de [γ-^{32}P] ATP (3000Ci/mmol)) é adicionada e a reação é incubada a cerca de 30 °C durante cerca de 10 minutos. A mistura reacional é manchada (20 μL) num quadrado de papel de 2 cm x 2 cm de P81 (fosfocelulose, para substratos peptídicos carregados positivamente) ou Whatman N° 1 (para substrato Poli(Glu4-Tyr)péptido). Os quadrados de ensaio são lavados 4 vezes, durante 5 minutos de cada vez, com 0,75% de ácido fosfórico e lavados uma vez com acetona durante 5 minutos. Os quadrados de ensaio são transferidos para um frasco de cintilação, são adicionados 5 ml de cocktail de cintilação e a incorporação de ^{32}P (cpm) ao substrato péptido é quantificada através de um contador de cintilação de Beckman. A percentagem de inibição é calculada para cada reação. Os compostos de Fórmula I, a uma concentração de 10 μM, exibem preferencialmente uma percentagem de inibição superior a 50%, de preferência superior a 60%, mais preferencialmente superior a 70%, contra as quinase FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e / ou c-Met.

Os compostos de Fórmula I, na forma livre ou na forma de um sal farmaceuticamente aceitável, exibem propriedades farmacológicas valiosas, por exemplo, como indicado pelos testes *in vitro* descritos neste pedido. Por exemplo, os compostos de Fórmula I exibem preferencialmente um IC_{50} na gama de 1 x 10^{-10} até 1 x 10^{-5} M, mais preferencialmente inferior a 500 nM para pelo menos uma dos seguintes quinases: quinases FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 e c-Met. Por exemplo:

(i) A N-(2-dimetilamino-etil)-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida (exemplo 73) tem um IC_{50} de 38 nM para a FAK.

(ii) O {3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo [2,3-d]pirimidin-7-il]-fenil}-acetonitrilo (exemplo 104) tem um IC_{50} de 29 nM, 282 nM, 342 nM, 33 nM e 479 nM para FLT3-ITD, FGFR3, JAK2, PDGFR-beta, e Tel-TRkC respectivamente.

(iii) A {7-[3-(1-metil-1H-tetrazol-5-ilmetil)-fenil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il}-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina (exemplo 120) tem um IC_{50} de 29 nM para BaF3/PDGFR-beta.

(iv) O 3-{3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-fenil}-propionitrilo (exemplo 85) tem uma IC_{50} de 16 nM para FLT3-ITD.

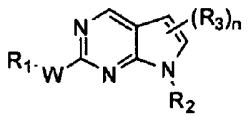
(V) A (7-piridin-2-il-6,7-di-hidro-5H-pirrolo [2,3-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina (exemplo 61) tem um IC_{50} de 284 nM para FGFR3.

(VI) A [7-(2-cloro-piridin-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-2-il]-(4-metoxi-2-metil-fenil)-amina (exemplo 47) tem uma IC_{50} de 408 nM para BCR-Abl.

Lisboa, 8 de Agosto de 2013

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto de Fórmula Ia:



Ia

em que:

n é 0 ou 1;

W é selecionado a partir de $-NR_4-$, e $-O-$, em que R_4 é selecionado a partir de hidrogénio e C_{1-6}alquilo;

R_1 é selecionado a partir de C_{6-10}aril-C_{0-4}alquilo, C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo, C_{3-12}cicloalquilC_{0-4}alquilo e C_{3-8} heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo; em que qualquer arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo ou heterociclo-alquilalquilo de R_1 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de halogeno, nitro, ciano, C_{6-10}arilo, C_{5-10}heteroarilo, C_{3-12}cicloalquilo, C_{3-8}heterocicloalquilo, C_{1-6}alquilo, C_{1-6}alcoxi, C_{1-6}alquilo substituído com halogéneo, C_{1-6}alcoxi substituído com halogéneo, $-XNR_5R_5$,$-XNR_5XNR_5R_5$, $-NR_5XOR_5$, $-XOR_5$, $-XSR_5$, $-XS(O)R_5$, $-XS(O)_2R_5$, $-XC(O)NR_5R_5$, $-XOXR_6$ e $-XC(O)R_6$, em que X é uma ligação ou C_{1-6}alcileno; R_5 é selecionado a partir de hidrogénio, C_{1-6}alquilo e C_{3-12}cicloalquil-C_{0-4}alquilo, e R_6 é selecionado a partir de C_{3-8} heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e $-C(O)OH$, em que qualquer arilo, heteroarilo, cicloalquilo ou substituinte

heterocicloalquilo de R_1 é ainda opcionalmente substituído por 1 a 5 radicais, independentemente selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e C_{1-6}alcoxi;

R_2 é selecionado a partir de C_{6-10}aril-C_{0-4}alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo, em que qualquer arilalquilo ou heteroarilalquilo de R_2 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais independentemente selecionados a partir de halogeno, nitro, ciano, C_{1-6}alquilo, C_{1-6}alcenilo, C_{1-6}alcoxi, C_{1-6}alquilo substituído com halogéneo, C_{3-8}heteroarilC_{0-4}alquilo, $-XNR_5R_5$, $-XOR_5$, $-XSR_5$, $-XS(O)_2NR_5R_5$, $-XC(O)OR_5$, $-XOC(O)R_5$, $-XC(O)NR_5XNR_5R_5$, $-XC(O)NR_5XC(O)OR_5$, $-XC(O)NR_5XNR_5C(O)R_5$, $-XC(O)NR_5XNR_5C(O)OR_5$, $-XC(O)NR_5XOR_5$, $-XC(O)N(XOR_5)_2$, $-XNR_5C(O)R_5$, $-XC(O)NR_5R_6$, $-XC(O)R_6$, $-XR_7$, $-XR_6$ e $-XC(O)NR_5XR_7$, em que X é uma ligação ou C_{1-6}alcileno, e R_5 é selecionado a partir de hidrogénio, C_{1-6}alquilo e C_{3-12}cicloalquil-C_{0-4}alquilo, R_6 é selecionado a partir de C_{3-8}heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e $-C(O)OH$, e R_7 é ciano;

R_3 é selecionado a partir de halogeno, hidroxi, $-C(O)OH$ e $-C(O)OCH_3$; e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

2. O composto da reivindicação 1, em que:

R_1 é selecionado a partir de C_{1-6}aril-C_{0-4}alquilo, C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo, em que qualquer arilalquilo e heteroarilalquilo de R_1 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de

halogeno, nitro, C_{5-10}heteroarilo, C_{1-6}alquilo, C_{1-6}alcoxi, C_{1-6}alquilo substituído com halogéneo, $-XNR_5R_5$, $-XOR_5$, $-XSR_5$, $-XNR_5XNR_5R_5$, $-NR_5XOR_5$, $-XC(O)NR_5R_5$, $-XOXR_6$ e $-XC(O)R_6$, em que X é uma ligação ou C_{1-6}alcileno; R_5 é selecionado a partir de hidrogénio, C_{1-6}alquilo e C_{3-12}cicloalquil-C_{0-4}alquilo, e R_6 é selecionado a partir de C_{3-8} heterocicloalquil-C_{0-4}alquilo e C_{5-10}heteroaril-C_{0-4}alquilo opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados a partir de C_{1-6}alquilo e -C(O)OH, em que qualquer heteroarilo substituinte de R_1 é ainda opcionalmente substituído por 1 a 5 radicais C_{1-6}alquilo;

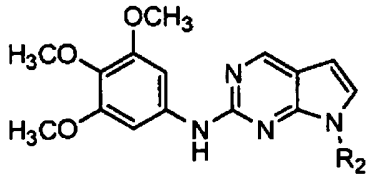
3. O composto da reivindicação 1 em que W é selecionado a partir de -NH- e -O-, e R_1 é selecionado a partir de fenilo, benzilo, 5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, benzo[1,3]dioxolilo, 1H-indazol-7-ilo, indan-4-ilo e 1H-indolilo, em que qualquer arilalquilo e heteroarilalquilo de R_1 é substituído opcionalmente por 1 a 3 radicais selecionados independentemente a partir de metoxi, metilo, amino, halogeno, hidroximetilo, hidroxi, quinoxalinilo, etilo, piridinilo, metoxi-fenilo, piperazinil-carbonilo, etil-(2-hidroxi-etil)-amino-2-(4-metil-piperazin-1-il)-etoxi, formamilo, isopropilo, metil-sulfanilo, tri-fluoro-metilo, etoxi, 3-isopropilamino-propilamino, dimetil-amino, morfolino, ciclopropil-metoxi, butoxi, cicloheptil-oxi e 1,4,5,7-tetrametil-pirrolo[3,4-d]piridazinilo.

4. O composto da reivindicação 1 em que R_2 é selecionado a partir de piridinilo, fenilo, tiazolilo,

piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, benzilo, quinolinilo, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, naftilo e pirimidinilo; em que qualquer arilalquilo ou heteroarilalquilo de R_2 é opcionalmente substituído por 1 a 3 radicais selecionados independentemente entre halogeno, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoilo, metil-sulfamoilo, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, ciano-etilo, ciano-metilo, etenilo, trifluoro-metilo, hidroxi-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidil)-etilo, 2-(amino-etil-formamidil)-etilo, 2-(amino-propil-formamidil)-etilo, 2-(propil-formamidil)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidil-metilo, hidroxi-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentil-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidil)-etilo, 1H-tetrazolilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-

il)-metilo, 2-(1-metil-lH-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidilo, hidroxi-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-metil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il-carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butil)-formamidilo, 2-(metoxi-carbonil-metil-formamidil)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-terc-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo e 1-carboxi-etil-formamidilo.

5. O composto da reivindicação 1 de fórmula geral Ig:



Ig

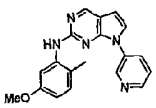
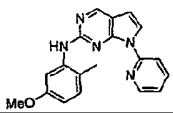
em que R_2 é selecionado a partir de piridinilo, fenilo, tiazolilo, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, benzilo, quinolinilo, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, naftilo e pirimidinilo; em que qualquer arilalquilo ou heteroarilalquilo de R_2 é substituído

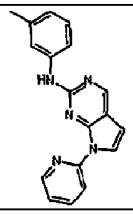
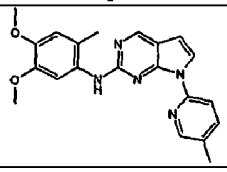
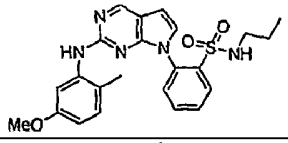
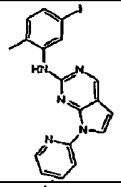
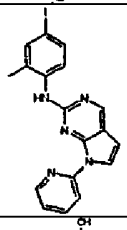
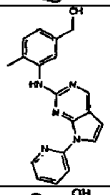
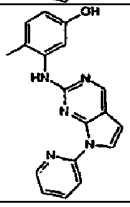
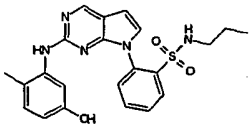
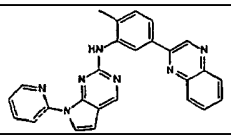
opcionalmente por 1 a 3 radicais selecionados independentemente entre halogeno, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoilo, metil-sulfamoilo, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, ciano-etilo, ciano-metilo, etenilo, tri-fluoro-metilo, hidroxi-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidil)-etilo, 2-(amino-etil-formamidil)-etilo, 2-(amino-propil-formamidil)-etilo, 2-(propil-formamidil)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidil-metilo, hidroxi-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentil-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidil)-etilo, 1H-tetrazolilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-metilo, 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxi-etil-formamidilo, hidroxi-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-

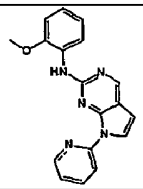
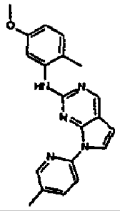
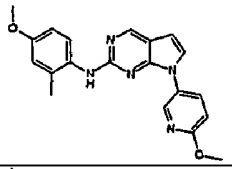
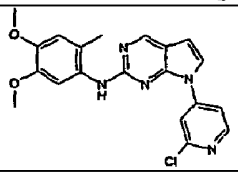
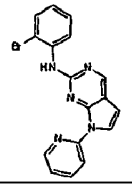
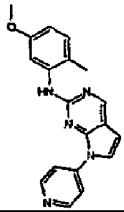
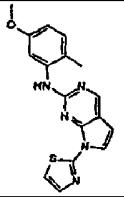
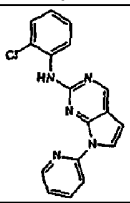
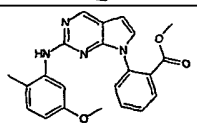
formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-metil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il-carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butil)-formamidilo, 2-(metoxi-carbonil-metil-formamidil)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-terc-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo e 1-carboxi-etil-formamidilo.

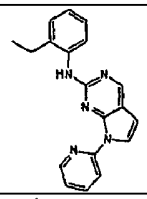
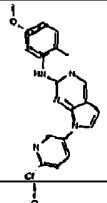
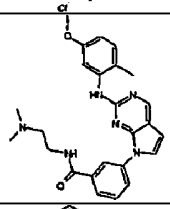
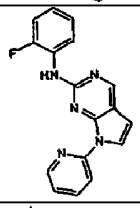
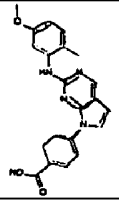
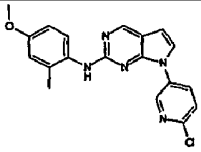
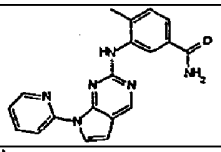
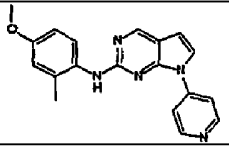
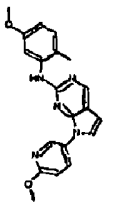
6. Um composto de acordo com a reivindicação 1, selecionado a partir de:

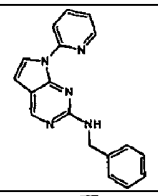
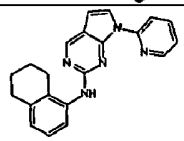
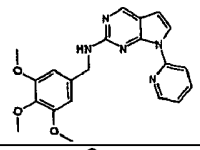
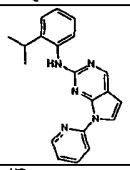
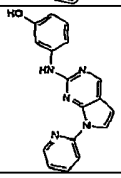
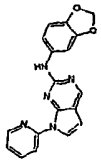
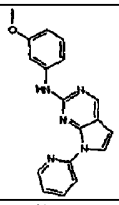
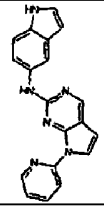
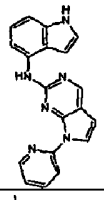
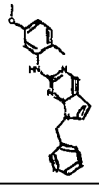
7-piridin-2-il-7H-pirrolo[1,2-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina; ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzóico; cloreto de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d] pirimidin-7-il]-benzoilo; *N*-metil-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida; e a partir dos compostos apresentados na tabela seguinte:

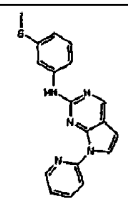
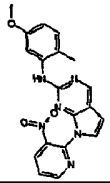
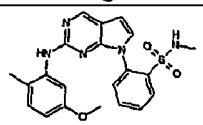
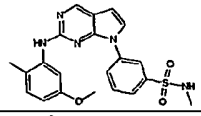
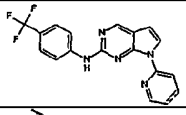
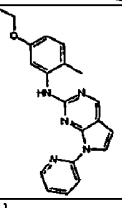
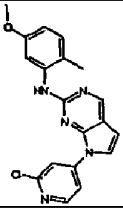
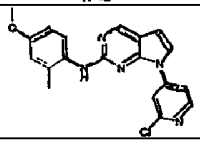
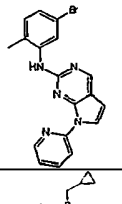
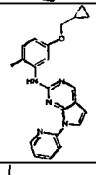
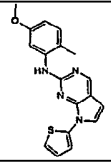



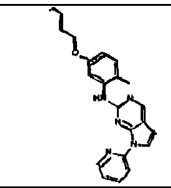
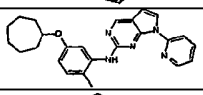
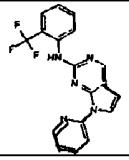
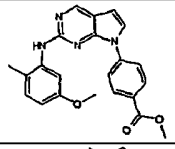
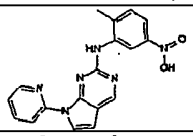
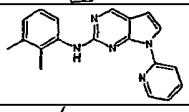
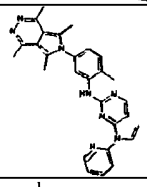
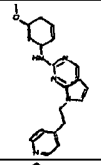
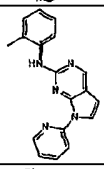
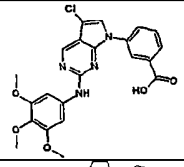
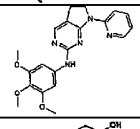
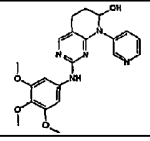










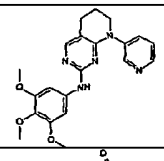
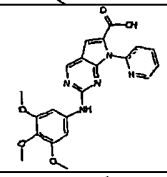
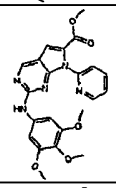
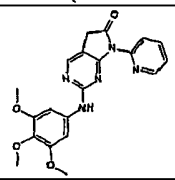
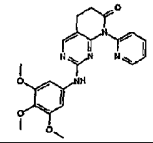
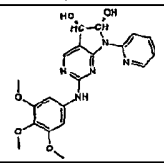
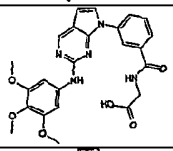
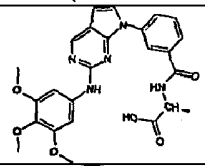
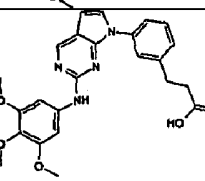
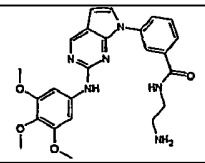










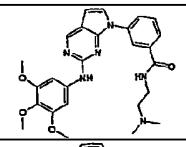
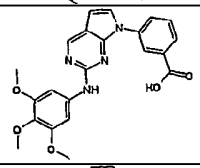
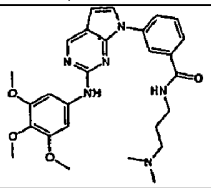
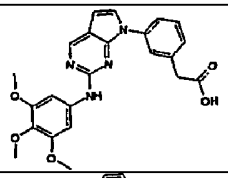
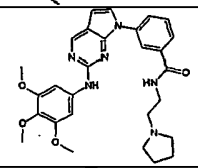
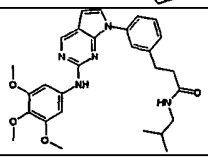
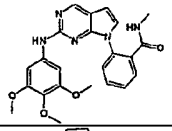
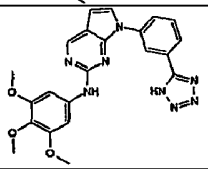
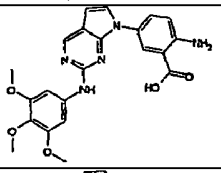
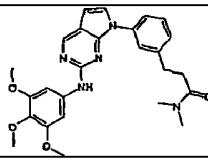
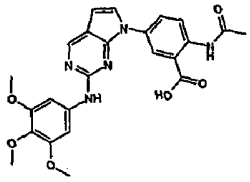










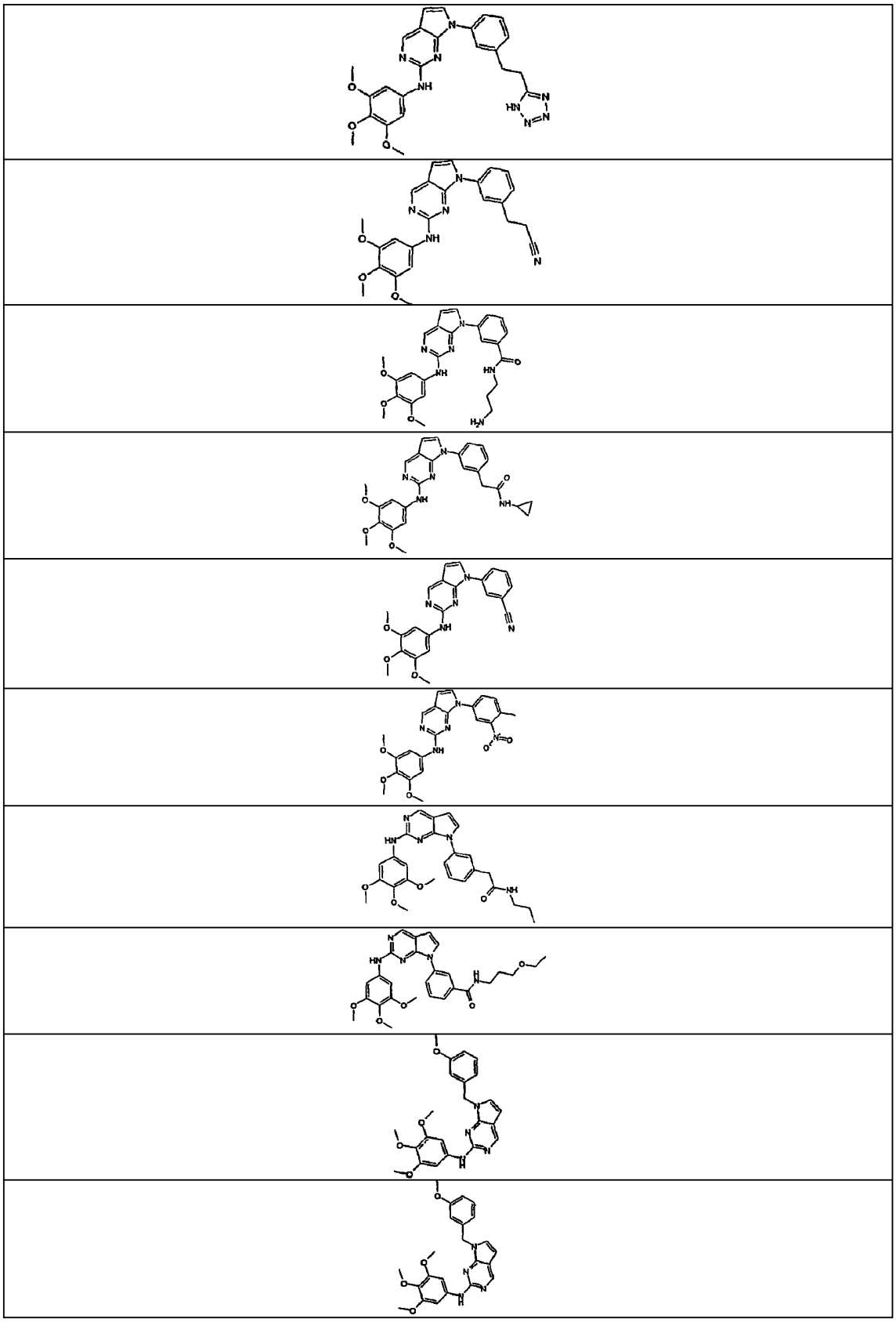











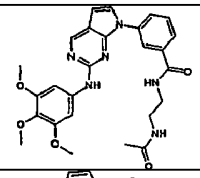
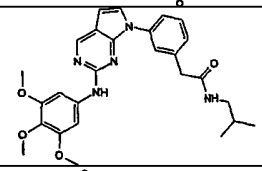
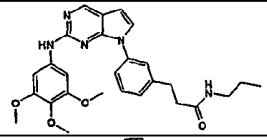
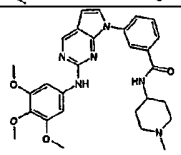
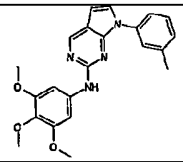
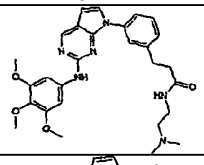
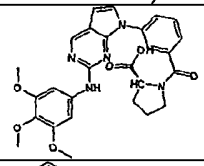
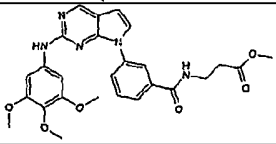
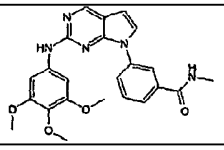
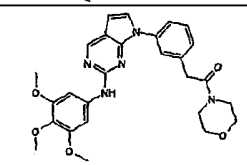
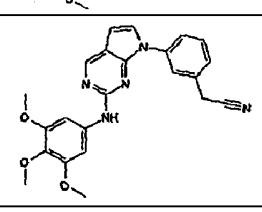












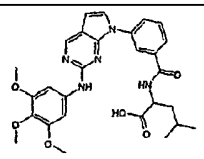
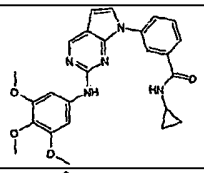
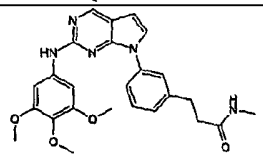
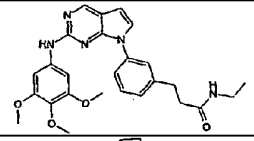
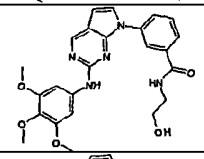
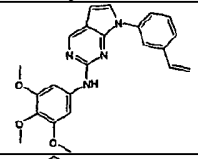
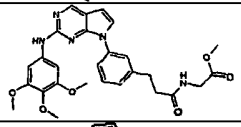
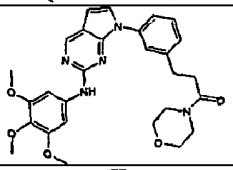
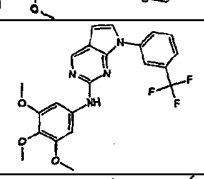
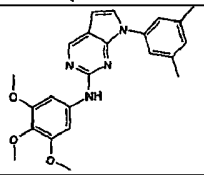
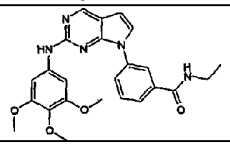













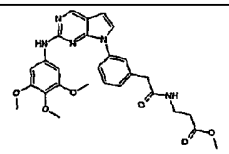
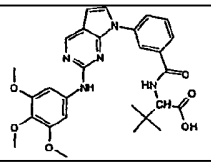
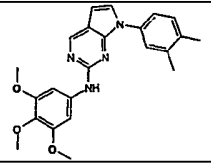
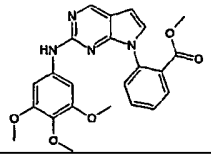
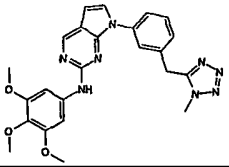
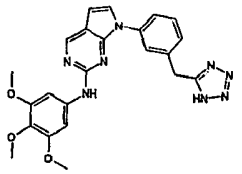
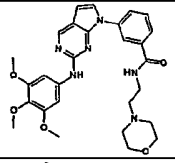
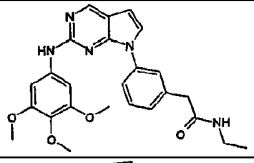
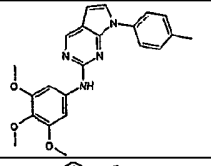
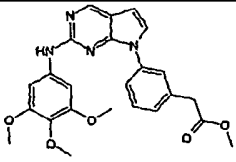











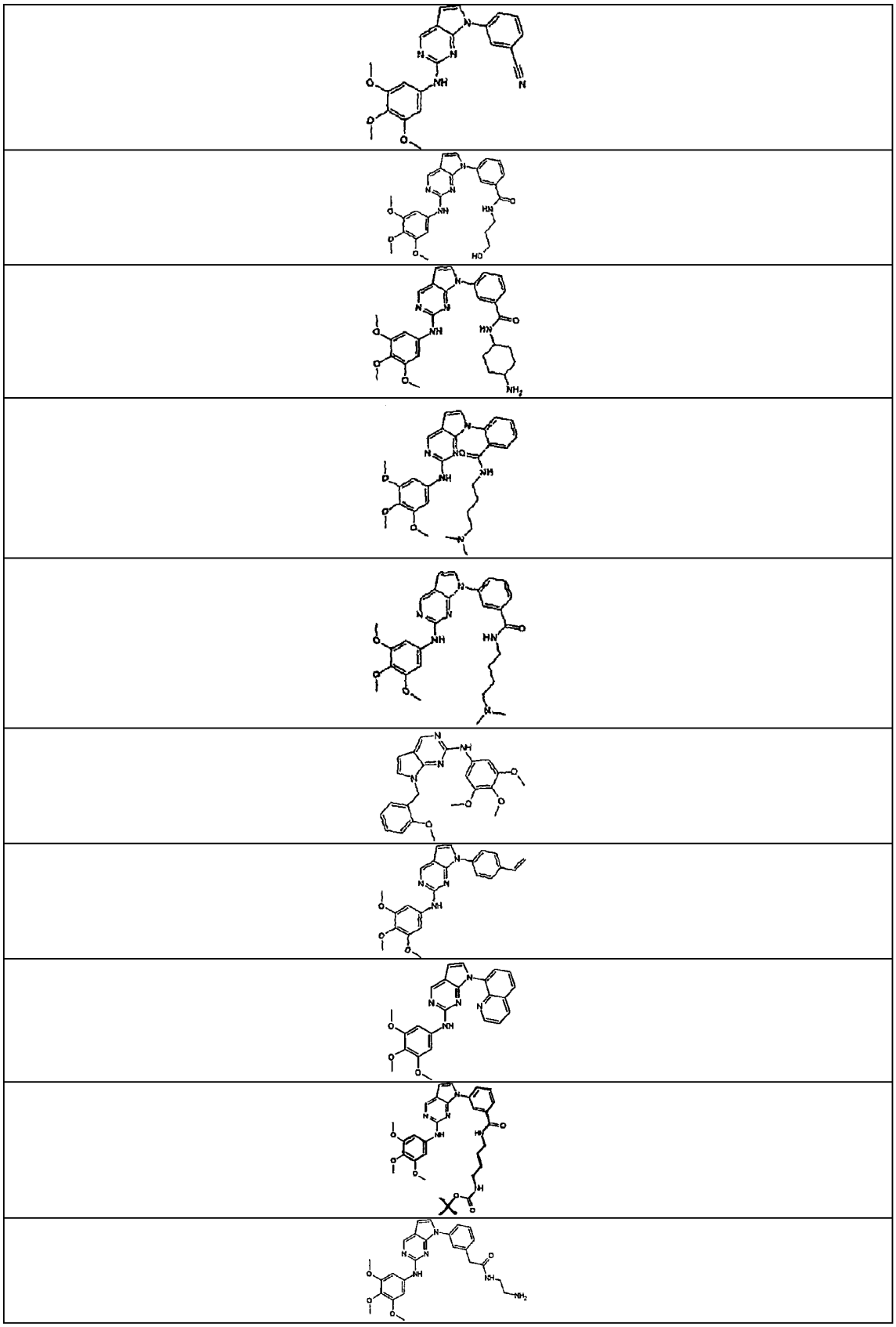












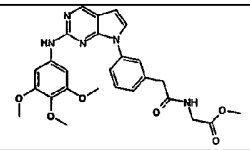
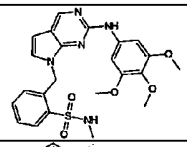
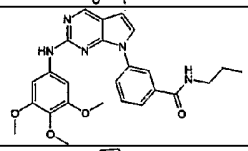
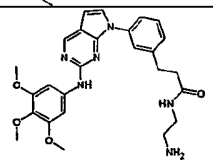
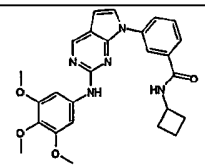
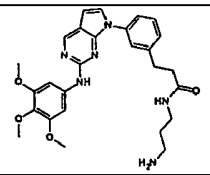
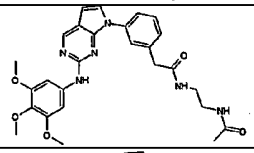
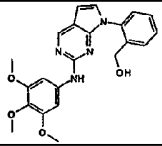
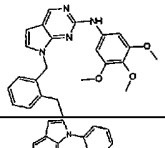
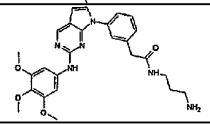
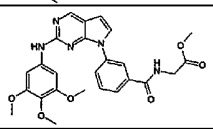
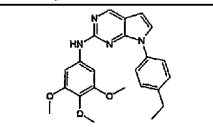


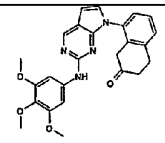
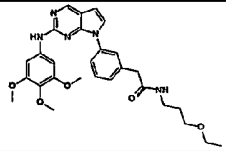
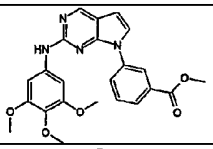
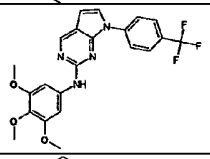
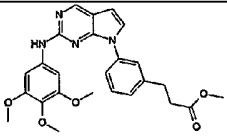
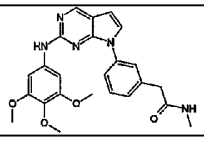
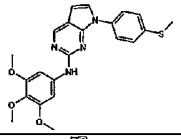
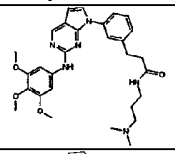
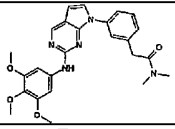
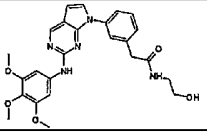
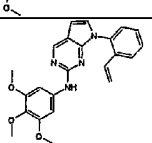
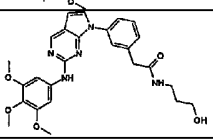












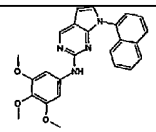
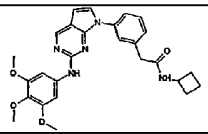
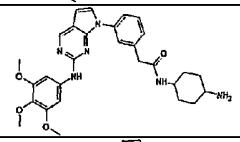
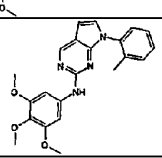
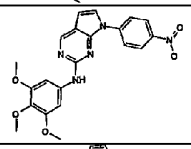
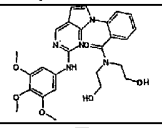
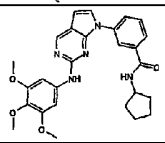
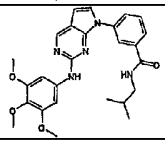
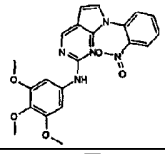
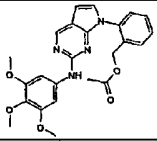
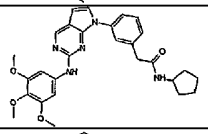
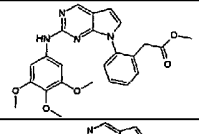
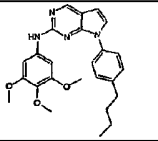












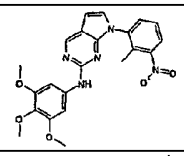
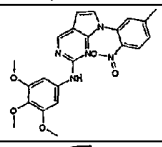
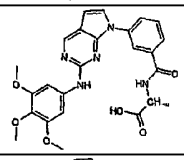
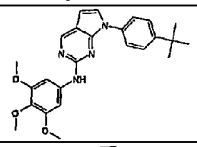
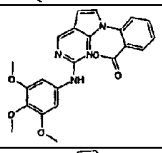
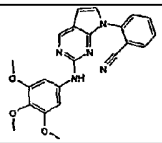
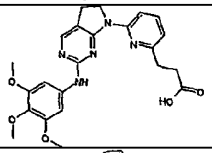
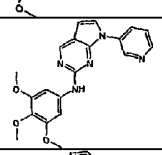
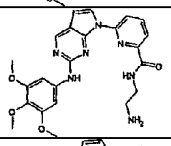
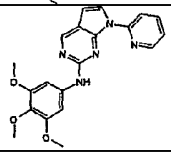
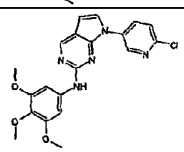
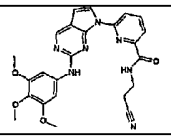











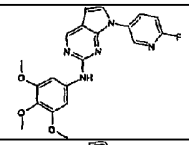
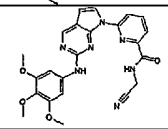
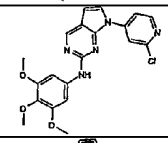
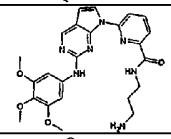
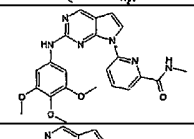
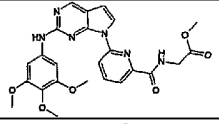
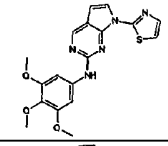
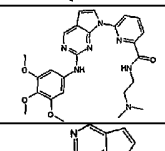
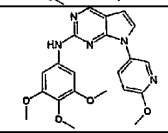
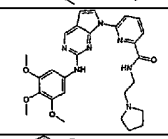
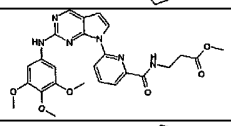
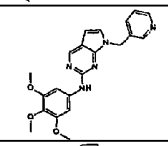
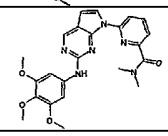


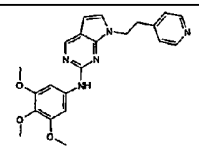
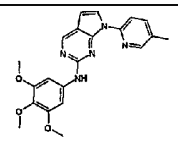
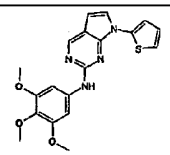
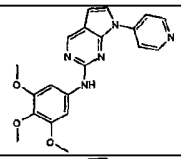
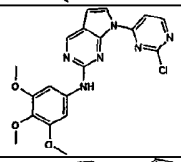
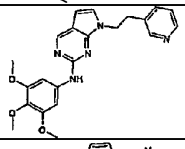
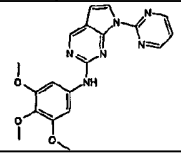
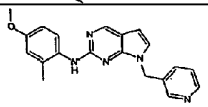
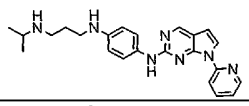
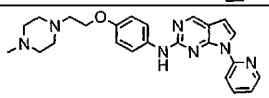
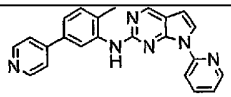
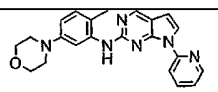
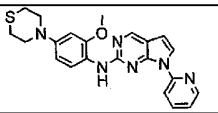













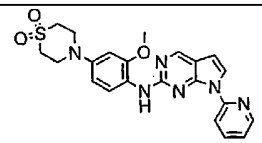
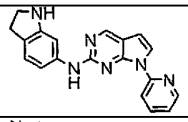
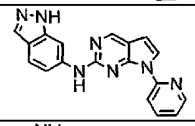
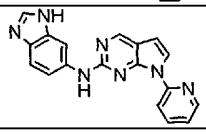
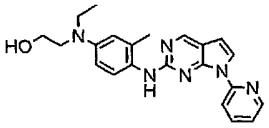
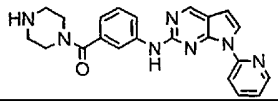













7. Uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 6 em combinação com um excipiente farmaceuticamente aceitável.

8. Um composto de qualquer uma das reivindicações 1 a 6 para utilizar no tratamento de cancro.

9. Um composto para utilizar de acordo com a reivindicação 8, em que o cancro é um cancro selecionado a partir de uma doença tumoral, glioma, sarcoma, tumor da próstata, tumor do cólon, mama, ovário; cancro oral; patologia angiogénica; leucemia (incluindo leucemia melióide crónica (CML), leucmia melióide aguda (AML), AML com mielodisplasia de linhagem tripla (AML/TMDS), leucemia linfoblástica aguda (ALL), e síndrome mielodisplásica

(MD)), carcinogenese, melanoma, doenças hematológicas e neoplásicas.

10. Utilização de um composto de qualquer uma das reivindicações 1 até 6 para a preparação de um medicamento para o tratamento de cancro.

11. Utilização de acordo com a reivindicação 10, em que o cancro é um cancro selecionado a partir de uma doença tumoral, glioma, sarcoma, tumor da próstata, tumor do cólon, da mama, do ovário; cancro oral; patologia angiogénica; leucemia (incluindo leucemia melióide crónica (CML), leucmia melióide aguda (AML), AML mielodisplasia de linhagem tripla (AML/TMDS), leucemia linfoblástica aguda (ALL), e síndrome mielodisplásica (MD)), carcinogénese, melanoma, doenças hematológicas e neoplásicas.

12. Uma quantidade terapêutica eficaz de um composto de qualquer uma das reivindicações 1 até 6 em combinação com um ou mais agentes terapêuticos.

Lisboa, 8 de Agosto de 2013

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na descrição

- WO 03074530 A1

Literatura que não é de patentes citada na descrição

- **SCHLAEPFER et al.** *Prog. Diophys., Mol.,* 1999, vol. 71, 435-478
- **SCHLAEPFER et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 1992, vol. 89, 5192-5196
- **WEINER, T.M. et al.** *Lancet,* 1993, vol. 342, 1024-1025
- **OWENS, L.V. et al.** *Cancer Res.,* 1995, vol. 55, 2752-2755
- **KORNBERG, L. J.** *Head Neck,* 1998, vol. 20, 634-639
- *Nature,* 01 July 2002, vol. 417, 949-954]
- **DUYSTER, J. et al.** *Oncogene,* 2001, vol. 20, 5623-5637
- **J. WOOD et al.** *Cancer Res.,* 2000, vol. 60, 2178-2189
- **T.W. GREENE ; P. G. M. WUTS.** Protective Groups in Organic Chemistry. John Wiley and Sons, 1991
- **SAULNIER et al.** *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters,* 1994, vol. 4, 1985
- **T. W. GREENE.** Protecting Groups in Organic Chemistry. John Wiley and Sons, Inc, 1999
- **JEAN JACQUES ; ANDRE COLLET ; SAMUEL H. WILEN.** Enantiomers, Racemates and Resolutions. John Wiley And Sons, Inc, 1981
- **E WEISBERG et al.** *Cancer Cell,* 2002, vol. 1, 433-443
- **T IDZIOREK et al.** *J. Immunol. Methods,* 1995, vol. 185, 249-258
- **WG DIRKS et al.** *Int. J. Cancer,* 2002, vol. 100, 49-56