

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0619272-6 A2**

(22) Data de Depósito: 28/11/2006
(43) Data da Publicação: 20/09/2011
(RPI 2124)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 487/04
A61K 31/519
A61P 35/00

(54) **Título:** 3-(AMINO SUBSTITUÍDO)-PIRAZOLO[3,4-D]PIRIMIDINAS COMO INIBIDORES DE QUINASE EPHB E VEGFR2

(30) **Prioridade Unionista:** 30/11/2005 GB 05 24436.3

(73) **Titular(es):** Novartis AG

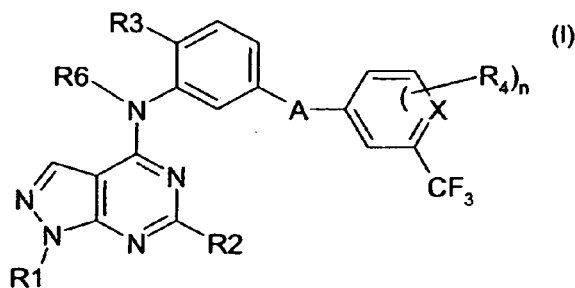
(72) **Inventor(es):** Niko Schmiedeberg, Pascal Furet, Patricia Imbach, Philipp Holzer

(74) **Procurador(es):** Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT EP2006011416 de 28/11/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/062805 de 07/06/2007

(57) **Resumo:** 3-(AMINO SUBSTITUÍDO)-PIRAZOLO[3,4-d]PIRIMIDINAS COMO INIBIDORES DE QUINASE EPHB E VEGFR2. A invenção refere-se a novas pirazolo[3,4-d]pirimidinas da fórmula na qual todas as variáveis são como definidas na especificação, na forma livre ou na forma de sal, às suas preparações, aos seus usos como medicamentos e a medicamentos compreendendo-as.





PI0619272-6

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "3-(AMINO SUBSTITUÍDO)-PIRAZOLO[3,4-d]PIRIMIDINAS COMO INIBIDORES DE QUINASE EPHB E VEGFR2".

Campo da Invenção

5 A invenção refere-se a compostos pirazolo[3,4-d]pirimidina, a seu uso para o tratamento de doenças responsivas à modulação pela proteína quinase ou na fabricação de preparações farmacêuticas úteis no tratamento das ditas doenças, preparações farmacêuticas, especialmente úteis contra as ditas doenças, compreendendo os ditos compostos e um carreador farmaceuticamente aceitável, os ditos compostos para uso no tratamento do corpo animal ou humano, especialmente contra as ditas doenças, métodos de tratamento do corpo animal ou humano compreendendo administrar os ditos compostos a um animal ou um humano, e processos para a fabricação dos ditos compostos, onde em cada caso onde os compostos são mencionados, eles podem estar presentes como tal e/ou na forma de sais (preferencialmente farmaceuticamente aceitáveis).

Antecedentes da Invenção

20 Pelo termo "proteína quinase", uma classe de proteínas enzimaticamente ativas é definida onde quinases do tipo receptoras e quinases do tipo não receptoras podem ser distinguidas, bem como tirosina quinase e serina/treonina quinase. Considerando sua localização, quinases nucleares, citoplasmáticas, e associadas com membranas podem ser distinguidas. Muitas tirosinas quinases associadas com membranas são ao mesmo tempo receptoras para fatores de crescimento.

25 Considerando sua atividade catalítica, as proteínas quinases (PKs) são enzimas que catalisam a fosforilação de resíduos específicos de serina, treonina ou tirosina em proteínas celulares. Essa modificação pós-transicional de proteínas em substrato usualmente funciona como troca molecular, representando uma etapa na regulação de proliferação, ativação e/ou diferenciação de células. Atividade de PK aberrante ou excessiva ou mais geralmente inapropriada foi observada em vários estados da doença incluindo desordens proliferativas benignas e malignas. Em muitos casos, foi

possível tratar doenças in vitro e em muitos casos in vivo, tal como desordens proliferativas, fazendo uso de inibidores de PK.

Passados os anos, as funções básicas para tirosinas quinases receptoras de Eph e seus ligantes, as efrinas, foram entendidas. Vários receptores de Eph diferentes são catalogados e agrupados em sub-classes EphA ou EphB, baseados em sua afinidade por ligantes. Pelo menos oito efrinas foram identificadas, as quais são proteínas de membrana, ou do tipo ligadas a glicofosfatidilinositol (GPI) (efrina A) ou do tipo transmembrana (efrina B). A sinalização entre receptores de Eph e seus ligantes parece ser restrita a sítios de contato direto célula a célula. O resultado do contato é a indução de eventos bidirecionais recíprocos entre células. A expressão de efrinas e seus receptores em certas localizações é considerada como tendo impacto em padronização de tecido e na organização de locais de células espacialmente muito restritos. Incluídas entre os efeitos específicos estão a modificação de migração de célula, aderência e formação de somito.

EphB4 (também chamada HTK) e seu ligante, efrina B2 (HTKL), executam funções importantes no estabelecimento e determinação de redes vasculares. No epitélio venoso, EphB4 é expressa especificamente, enquanto, durante estágios anteriores de desenvolvimento vascular, efrina B2 é específica e reciprocamente expressa em células endoteliais arteriais. Genes disfuncionais levam a letalidade embrionária em ratos, e os embriões mostram defeitos idênticos na formação de conexões capilares no caso ou de efrina B2 e EphB4 defeituosa. Ambas são expressas no primeiro sítio de desenvolvimento vascular e de hematopoese durante a embriogênese. Uma função essencial para desenvolvimento apropriado hematopoético, endotelial, de hemangioblasto e de mesoderma primitivo foi estabelecida. A deficiência de EphB4 resulta em uma alteração na diferenciação mesodérmica esperada de células-tronco embrionárias. A expressão ectópica de EphB4 em tecido de mamífero resulta em arquitetura desordenada, função anormal do tecido e uma pré-disposição à malignidade (ver, por exemplo, N. Munarini e outros, J. Cell. Sci. 115, 25-37 (2002)). A partir desses e de outros dados, concluiu-se que expressão de EphB4 inadequada pode ser envolvida na

formação de malignidades e assim que a inibição de EphB4 pode ser esperada como sendo a ferramenta para combater malignidades, por exemplo, câncer e seus similares.

5 A conversão do proto-oncogene *abl* em um oncogene foi observada em pacientes com leucemia mielogênica crônica (LMC). Uma translocação de cromossomo une o gene *bcr* no cromossomo 22 ao gene *abl* do cromossomo 9, desse modo gerando um cromossomo Filadélfia. A proteína de fusão resultante tem o término amino da proteína Bcr unida ao término carbóxi da proteína tirosina quinase Abl. Em consequência, o domínio da
10 quinase Abl se torna inapropriadamente ativo, acionando proliferação excessiva de um clone de células hematopoéticas na medula óssea. A inibição dessa tirosina quinase pelo princípio ativo de Gleevec™ ou Glivec® (marcas registradas de Novartis), um inibidor dessa proteína de fusão, foi mostrada como sendo um tratamento altamente ativo contra LMC. Assim, o conceito
15 geral de que expressão inadequada de tirosina quinase Abl pode curar malignidades, especialmente leucemias, poderia ser verificado.

A forma viral constitutivamente expressa c-Src (de Rous Sarcoma Vírus, um retrovírus) da tirosina quinase c-Src encontrou em células é um exemplo de como a expressão inadequada da proteína tirosina quinase
20 Src pode levar a malignidades baseado em células transformadas. A inibição de proteína tirosina quinase Src pode levar à inibição de crescimento desregulado das células de tumor transformadas, por exemplo, em tumores de tecido conjuntivo. Portanto, também aqui a inibição de c-Src ou formas modificadas ou mutadas dessa é esperada para mostrar um efeito benéfico no
25 tratamento de doenças proliferativas.

Sabe-se que VEGFRs (receptores de fator de crescimento endotelial vascular) estão envolvidos no controle do início da angiogênese. Como os tumores sólidos dependem do bom fornecimento de sangue, a inibição de VEGFRs e assim da angiogênese está sob investigação clínica no tratamento de tais tumores, mostrando resultados promissores. O VEGF é também
30 um participante principal em leucemias e linfomas e altamente expresso em uma variedade de tumores sólidos malignos, correlacionando bem com a

progressão de doença maligna. Exemplos de doenças de tumor com expressão de VEGFR-2 (KDR) são carcinomas de pulmão, carcinomas de seio, linfomas Não-Hodgkin, carcinoma de ovário, câncer pancreático, mesotelioma e melanoma pleural maligno. Em adição a sua atividade angiogênica, o ligante de VEGFR, VEGF, pode promover crescimento de tumor por efeitos pró-sobrevivência diretos em células de tumor. Várias outras doenças são associadas com angiogênese desregulada, por exemplo, como mencionado abaixo.

Isso leva ao problema da presente invenção: Em vista do grande número de inibidores de proteína quinase e à multidão de doenças proliferativas e de outras doenças relacionadas à proteína quinase, bem como em vista do desenvolvimento de resistência contra certas terapêuticas, há uma necessidade sempre existente para fornecer novas classes de compostos que são úteis como inibidores de proteína quinase e assim no tratamento dessa proteína tirosina quinase, tal como serina/treonina e/ou preferencialmente doenças relacionadas a PTK (proteína tirosina quinase). O que é exigido são novas classes de proteína quinase farmacologicamente vantajosa, especialmente compostos de inibição de PTK, especialmente com propriedades vantajosas, tal como alta afinidade e/ou seletividade para grupos limitados de proteínas quinases singulares, atividade também onde resistência contra diferentes classes de compostos foi desenvolvida, um perfil de afinidade útil contra certos grupos de quinases ou seus similares.

Certas arilamino-pirazolopirimidinas substituídas com acil- ou acilamino foram descritas como inibidores de p38, ver WO 03/099280. Entretanto, os compostos descritos aqui em detalhes diferem estruturalmente dos compostos da presente invenção.

Descrição Geral da Invenção

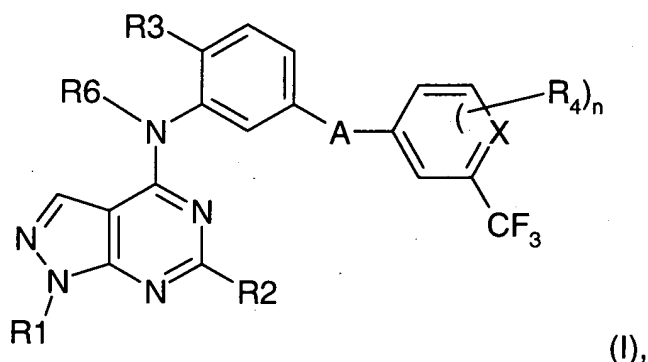
Crê-se agora surpreendentemente que um número de proteínas quinases que podem ser envolvidas em transmissão de sinal mediada por fatores tróficos e na manifestação de doenças que envolvem a atividade de proteínas quinases, por exemplo, no crescimento proliferativo (por exemplo, tumor), especialmente, como exemplos representativos para proteína tirosi-

na quinase abl, especialmente quinases v-abl ou c-abl, quinases da família das quinases src, especialmente quinase c-src, quinase receptora RET ou quinase receptora de Efrina, por exemplo, quinase EphB2, quinase EphB4 ou quinases relacionadas, e/ou b-raf (V599E), ademais, quinase receptora EGF ou outras quinases da família EGF, por exemplo, quinase HER-1 ou c-erbB2 (HER-2) e/ou quinase receptora de VEGF (por exemplo, KDR e Flt-1), ainda adicionalmente, Flt-3, lck, fyn, quinase c-erbB3, quinase c-erbB4; membros da família das proteínas tirosinas quinases receptoras de PDGF, por exemplo, quinase receptora de PDGF, quinase receptora CSF-1, quinase receptora de Kit (c-Kit), quinase receptora de FGF, por exemplo, FGF-R1, FGF-R2, FGF-R3, FGF-R4, c-Raf, caseína quinases (CK-1, CK-2, G-CK), Pak, ALK, ZAP70, Jak1, Jak2, Axl, Cdk1, cdk4, cdk5, Met, FAK, Pyk2, Syk, Tie-2, quinase receptora de insulina (Ins-R), a quinase receptora do fator de crescimento como insulina (quinase IGF-1), e/ou serina/treonina quinases adicionais, por exemplo, proteína quinase C (PK-C), PK-B, EK-B ou cdc quinases, tal como CDK1, podem ser inibidas por um composto pirazolo[3,4-d]pirimidina de acordo com a invenção, bem como formas mutadas (por exemplo, constitutivamente ativada) de um ou mais dessas (por exemplo, Bcr-Abl, RET/MEN2A, RET/MEN2B, RET/PTC1-9 ou b-raf(V599E)). Todas essas e outras proteínas quinases executam uma parte na regulação do crescimento e transformação de células em mamíferos, incluindo células humanas.

Em vista dessas atividades, os compostos da invenção podem ser usados para o tratamento de doenças responsivas à modulação de proteína quinase, tal como doenças relacionadas a atividade especialmente aberrante (por exemplo, desregulada ou constitutiva ou seu similar) ou excessiva de tais tipos de quinases, especialmente aquelas mencionadas.

Descrição Detalhada da Invenção

A invenção, em uma primeira modalidade, refere-se a um composto pirazolo[3,4-d]pirimidina da fórmula



onde

R1 é hidrogênio, alquila não substituída ou substituída ou arila não substituída ou substituída,

R2 é hidrogênio, halo, arila não substituída ou substituída, ciclo-
 5 alquila não substituída ou substituída, alquila não substituída ou substituída, carbonila substituída ou heterociclila não substituída ou substituída,

R3 é hidrogênio, halo, C₁-C₄ alquila, C₁-C₄ alcóxi ou ciano, cada R4, independentemente de quaisquer outros presentes, é halo, especialmente fluoro, metila, metóxi, ou C₁₋₄alquilpiperazinC₁₋₄alquila;

10 A é C(=O)-N(R5) ou N(R5)-C(=O), onde

R5 é hidrogênio ou alquila não substituída ou substituída;

R6 é hidrogênio ou alquila não substituída ou substituída;

X é CH ou N, e

n é 0 a 2;

15 ou um sal (preferencialmente farmacologicamente aceitável) desses.

A invenção, em uma modalidade adicional, refere-se a um composto pirazolo[3,4-d]pirimidina da fórmula I, onde

R1 é hidrogênio, alquila não substituída ou substituída ou arila não substituída ou substituída,

20 R2 é hidrogênio, halo, alquila não substituída ou substituída, carbonila substituída ou heterociclila não substituída ou substituída,

R3 é hidrogênio, halo, C₁-C₄ alquila, C₁-C₄ alcóxi ou ciano,

cada R4, independentemente de quaisquer outros presentes, é halo, especialmente fluoro, metila, metóxi, ou C₁₋₄alquilpiperazinC₁₋₄alquila;

25 A é C(=O)-N(R5) ou N(R5)-C(=O), onde

R5 é hidrogênio ou alquila não substituída ou substituída;

R6 é hidrogênio ou alquila não substituída ou substituída;

X é CH ou N, e

n é 0 a 2;

ou um sal (preferencialmente farmaceuticamente aceitável) desses.

5 A invenção, em uma modalidade adicional, refere-se a um composto pirazolo[3,4-d]pirimidina da fórmula I, onde

R1 é hidrogênio, alquila não substituída ou substituída ou arila não substituída ou substituída,

10 R2 é hidrogênio, halo, carbonila substituída ou heterociclila não substituída ou substituída,

R3 é hidrogênio, halo, ou C₁-C₄ alquila;

cada R4, independentemente de quaisquer outros presentes, é halo, especialmente fluoro, metila, ou C₁₋₄alquilpiperazinC₁₋₄alquila;

A é C(=O)-NH ou NH-C(=O), onde

15 R6 é hidrogênio;

X é CH ou N, e

n é 0 ou 1;

ou um sal (preferencialmente farmaceuticamente aceitável) desses.

20 A invenção, em uma modalidade adicional, refere-se a um composto pirazolo[3,4-d]pirimidina da fórmula I, onde

R1 é hidrogênio, C₁₋₄alquila não substituída ou substituída ou fenila não substituída ou substituída,

25 R2 é hidrogênio, halo, carbonila substituída ou heterociclila não substituída ou substituída tendo 5 a 7 átomos de anel, por exemplo, piridila, piperidila, pirazinila, cada um desses radicais sendo C₁₋₄alquila não substituída ou substituída;

R3 é hidrogênio, halo, ou C₁-C₄ alquila;

cada R4, independentemente de quaisquer outros presentes, é halo, especialmente fluoro, metila, ou C₁₋₄alquilpiperazinC₁₋₄alquila;

30 A é C(=O)-NH ou NH-C(=O), onde

R6 é hidrogênio;

X é CH ou N, e

n é 0 ou 1;

ou um sal (preferencialmente farmacologicamente aceitável) desses.

A invenção refere-se ao uso de um composto de fórmula I, ou um sal farmacologicamente aceitável desse, para o tratamento de doenças
5 responsivas à modulação por proteína quinase, especialmente em um animal ou preferencialmente em um humano, especialmente uma doença responsiva à inibição de uma ou mais proteínas tirosina quinases (PTKs) mencionadas sob "Descrição Geral da Invenção", mais especialmente uma ou mais PTKs selecionadas dentre quinase abl, especialmente quinase v-abl ou
10 c-abl, quinases da família das quinases src, especialmente quinase c-src, b-raf (V599E) e/ou especialmente quinase receptora RET ou quinase receptora Efrina, por exemplo, quinase EphB2, quinase EphB4 ou quinases relacionadas, ou formas mutadas dessas (por exemplo, constitutivamente ativas ou de outra forma parcial ou totalmente desreguladas) – freqüentemente aqui
15 bons valores de inibição são encontrados em comparação à quinase receptora EGF ou outras quinases da família EGF, por exemplo, HER-1 ou quinase c-erbB2 (HER-2) e/ou quinase receptora de VEGF (por exemplo, KDR e Fit-1), entretanto, também essa PTK pode ser utilmente inibida por um ou mais compostos de fórmula I.

20 A invenção também se refere ao uso de um composto de fórmula I, ou um sal desse (preferencialmente farmacologicamente aceitável), na fabricação de preparações farmacêuticas úteis no tratamento das ditas doenças, preparações farmacêuticas, especialmente úteis contra as ditas doenças, compreendendo um composto de fórmula I, ou um sal farmacologicamente aceitável desse e pelo menos um carreador farmacologicamente aceitável, um composto de fórmula I, ou um sal farmacologicamente aceitável
25 desse, para uso no tratamento do corpo animal ou humano, especialmente contra uma doença mencionada no parágrafo anterior, a um método de tratamento do corpo animal ou humano compreendendo administrar um composto de fórmula I, ou um sal farmacologicamente aceitável desse, a um animal ou humano, especialmente a um paciente em necessidade de tal tratamento
30 em uma quantidade efetiva para o tratamento da dita doença, e a um

processo para a fabricação de um composto de fórmula I, ou um sal desse (preferencialmente farmaceuticamente aceitável).

Na fórmula I, as seguintes significâncias são preferencialmente independentemente, coletivamente ou em qualquer combinação ou sub-
5 combinação dessas.

Os termos gerais ou símbolos usados aqui preferencialmente têm, no contexto dessa descrição, os seguintes significados, a menos que de outra forma indicado:

O termo "inferior" ou "C₁-C₇-" define uma porção com até e inclu-
10 indo no máximo 7, especialmente até e incluindo no máximo 4, átomos de carbono, a dita porção sendo de cadeia ramificada (uma ou mais vezes) ou de cadeia linear. Inferior ou C₁-C₇ alquila, por exemplo, é n-pentila, n-hexila ou n-heptila ou preferencialmente C₁-C₄ alquila, especialmente como metila, etila, n-propila, séc-propila, n-butila, isobutila, séc-butila, tert-butila. No caso
15 de aquenila inferior ou alquinila inferior, inferior significa preferencialmente "C₂-C₇-", mais preferencialmente "C₂-C₄-".

Halo ou halogênio é preferencialmente fluoro, cloro, bromo ou iodo, mais preferencialmente, fluoro, cloro, ou bromo, mais preferencialmente, fluoro ou cloro.

20 A alquila substituída ou não substituída é preferencialmente C₁-a C₂₀-alquila, mais preferencialmente alquila inferior, por exemplo, metila, etila, propil, que pode ser linear ou ramificada uma ou mais vezes (fornecido o número de átomos de carbono que permite isso) e que é substituída ou não substituída por um ou mais, preferencialmente até três, substituintes
25 independentemente selecionados a partir do grupo que consiste de heterociclila substituída ou não substituída como descrita abaixo, especialmente, pirrolidino, piperidino, piperidino substituído por amino ou N-mono- ou N,N-di-[alquil inferior, fenil, e/ou fenil-alquil inferior)-amino, não substituído ou piperidinila substituída com N-alquila inferior não substituída ligada via um átomo de carbono de anel, tal como 1-isopropil-piperidin-4-il, piperazino, alquilpiperazino inferior, tal como 4-(metil, etil or isopropil)-piperazino, morfolino ou tiomorfolino; cicloalquila não substituída ou substituída como descrito
30

abaixo, arila não substituída ou substituída como descrito abaixo, especialmente fenila ou naftila; alquenila inferior, alquinila inferior, halo, hidróxi, alcóxi inferior, inferior-alcóxi-inferior alcóxi, (alcóxi inferior)-alcóxi inferior-alcóxi inferior, fenóxi, naftilóxi, fenil- ou naftil-alcóxi inferior, tal como benzilóxi; amino-alcóxi inferior, alcanoilóxi inferior, benzoilóxi, nafthoilóxi, nitro, ciano, carboxi, alcóxi carbonil inferior, por exemplo, metóxi carbonil, n-propóxi carbonil, iso-propóxi carbonil ou tert-butoxicarbonil; fenil- ou naftil-alcóxicarbonil inferior, tal como benziloxicarbonil; alcanoil inferior, tal como acetil, benzoil, naftoil, carbamoil, N-mono- ou N,N-carbamoil disubstituído, tal como N-mono- ou N,N-di-carbamoil substituído onde os substituintes são selecionados alquila inferior e hidroxialquila inferior; amidino, guanidino, ureido, mercapto, alquiltio inferior, fenil- ou naftiltio, fenil- ou naftil-alquiltio inferior, alquil-feniltio inferior, alquil-naftiltio inferior, halogênio-alquilmercapto inferior, alquilsulfinil inferior, fenil- ou naftil-sulfinil, fenil- ou naftil-alquilsulfinil inferior, alquil-fenilsulfinil inferior, alquil-naftilsulfinil inferior, sulfo, alcanosulfonil inferior, fenil- ou naftil-sulfonil, fenil- ou naftil-alquilsulfonil inferior, alquilfenilsulfonil, halogênio-alquilsulfonil inferior, tal como trifluorometanosulfonil; sulfonamido, benzosulfonamido, amino, N-mono- ou N,N-di-[alquil inferior, fenil e/ou fenil-alquil inferior)-amino, tal como N,N-dimetilamino, N,N-dietilamino, 3-[N-(N,N-dimetilamino)-propilamino, 2-[N-(N,N-dimetilamino)-etilamino ou N-(N,N-dimetilamino)-metilamino; onde cada fenil ou naftil (também em fenóxi ou naftóxi) mencionado acima como substituinte ou parte de um substituinte de alquila substituída é ele mesmo não substituído ou substituído por um ou mais, por exemplo, até três, preferencialmente 1 ou 2, substituintes independentemente selecionados dentre halo, especialmente fluoro, cloro, bromo ou iodo, halo-alquil inferior, tal como trifluorometil, hidróxi, alcóxi inferior, amino, N-mono- ou N,N-di-(alquil, fenil, naftil, inferior fenil-alquil inferior e/ou naftil-alquil inferior)-amino, nitro, carbóxi, alcóxicarbonil carbamoil inferior, ciano e/ou sulfamoil. Especialmente preferidos como R1 e/ou R2 na fórmula I são alquila inferior, hidroxil-C₁₋₄alquila, amino-alquila inferior, tal como 3-amino-propil, 2-aminoetil ou 2-aminometil, N-mono- ou N,N-di-(alquil, fenil inferior, e/ou fenil-alquil inferior)-amino-alquila inferior, tal como 3-(N,N-dimetilamino)-

propil, 3-(N,N-dietilamino)-propil, 2-(N,N-dimetilamino)-etil, 2-(N,N-dietilamino)-etil, N,N-dimetilaminometil ou N,N-dietilaminometil, pirrolidino-alquila inferior, piperidino-alquila inferior, 1- alquilpiperidin-4-il-alquila inferior, 4-[N-mono- ou N,N-di-(alquil inferior, fenil e/ou fenil-alquil inferior)-amino]-piperidino, piperazino-alquila inferior, tal como piperazino-metil, 4-alquilpiperazino inferior-alquila inferior, tal como 4-(metil, etil ou isopropil)-piperazino-metil, ou (morfolino ou tiomorfolino)-alquila inferior. Como alquila não substituída ou substituída R5 e/ou R6, alquila inferior ou fenil- ou naftil-alquila inferior são especialmente preferenciais, mais preferencial é metila.

- 10 A arila não substituída ou substituída é preferencialmente um sistema carbocíclico insaturado de não mais do que 20 átomos de carbono, especialmente não mais do que 16 átomos de carbono, é preferencialmente mono-, bi-, ou tri-cíclico, que é não substituído ou, como arila substituída, substituída preferencialmente por um ou mais, preferencialmente até três,
- 15 por exemplo, um ou dois substituintes independentemente selecionados dentre o grupo que consiste de alquila inferior, por exemplo, metil, fenil, naftil, fenil- ou naftil-alquila inferior, tal como benzila; hidroxialquila inferior, tal como hidróximetil; alcóxi inferior-alquila inferior, (alcóxi inferior)-alcóxi inferior-alquila inferior, alcanoil inferior-alquila inferior, halo-alquila inferior, tal como trifluorometil; fenoxi- ou naftiloxi-alquila inferior, fenil- ou naftil-alcóxi inferior-alquila inferior, tal como benziloxi-alquila inferior; alcóxi inferior-carboniloxi-alquila inferior, tal como tert-butoxicarboniloxi-alquila inferior; fenil- ou naftil-alcóxicarboniloxi inferior-alquila inferior, tal como benziloxi-carboniloxi-alquila inferior; ciano-alquila inferior, alquenila inferior, alquinila inferior, alcanoil inferior, tal como acetil; halo, hidróxi, alcóxi inferior, tal como metóxi, alcóxi inferior-alcóxi inferior, (alcóxi inferior)-alcóxi inferior-alcóxi inferior, fenóxi, naftilóxi, fenil- ou naftil-alcóxi inferior, tal como benzilóxi; amino-alcóxi inferior, alcanoilóxi inferior, benzoilóxi, naftoilóxi, nitro, amino, mono-, di- ou tri-amino (no último caso quaternário e positivamente carregado) substituído onde os substituintes de amino são independentemente selecionados
- 25 a partir de alquila inferior, alcanoil inferior, fenil, naftil, fenil- e naftil-alquila inferior; ciano, carboxi, alcóxi carbonil inferior, por exemplo, metóxi carbonil,
- 30

n-propóxi carbonil, iso-propóxi carbonil ou tert-butoxicarbonil; fenil- ou naftil-alcóxicarbonil inferior, tal como benziloxycarbonil; benzoil, naftoil, carbamoil, N-mono- ou N,N-dicarbamoil substituído, tal como as N-mono- ou N,N-dicarbamoil substituído onde os substituintes são selecionados a partir de al-
5 quila inferior e hidróxi-alquila inferior; amidino, guanidino, ureido, mercapto, alquiltio inferior, fenil- ou naftiltio, fenil- ou naftil-alquiltio inferior, alquil-feniltio inferior, alquil-naftiltio inferior, halogênio-alquilmercapto inferior, alquilsulfinil inferior, fenil- ou naftil-sulfinil, fenil- ou naftil- alquilsulfinil inferior, alquil-fenilsulfinil inferior, alquil-naftilsulfinil inferior, sulfo, alcanosulfonil inferior,
10 fenil- ou naftil-sulfonil, fenil- ou naftil-alquilsulfonil inferior, alquilfenilsulfonil, halogênio-alquilsulfonil inferior, tal como trifluorometanosulfonil; sulfonamido, benzosulfonamido, pirrolidino, piperidino, piperidino substituído por amino ou N-mono- ou N,N-di-[alquil inferior, fenil e/ou fenil-alquil inferior)-amino, não substituído ou piperidinil substituído com N-alquil inferior ligado via um átomo
15 de carbono em anel, tal como 1-isopropil-piperidin-4-il, piperazino, alquilpiperazino inferior, tal como 4-(metil, etil ou isopropil)-piperazino, morfolino ou tio-morfolino; onde cada fenil or naftil (também em fenóxi ou naftóxi) mencionad-
do acima como substituinte ou parte de um substituinte de arila substituída é ele mesmo não substituído ou substituído por um ou mais, por exemplo, até
20 três, preferencialmente 1 ou 2, substituintes independentemente selecionados a partir de halo, especialmente fluoro, cloro, bromo ou iodo, halo-alquila inferior, tal como trifluorometila, hidróxi, alcóxi inferior, amino, N-mono- ou N,N-di-(alquil inferior, fenil, naftil, fenil-alquil inferior e/ou naftil-alquil inferior)amino, nitro, carbóxi, alcóxicarbonil carbamoyl inferior, ciano e/ou sulfamoil. A arila substituída ou não substituída, especialmente como R1 e/ou R2
25 na fórmula I, é preferencialmente fenila que é não substituída ou substituída por halo, hidroxil, mais preferencialmente por alcóxi inferior, nitro, amino, N-mono-, N,N-di- ou N,N,N-tri-(alquil inferior, fenil e/ou fenil-alquil inferior)-amino (o último correspondendo a um amino quaternário = amônio quaternário),
30 pirrolidino, piperidino, piperidino substituído por amino ou N-mono- ou N,N-di-(alquil inferior, fenil e/ou fenil-alquil inferior)-amino, não substituído ou piperidinil substituído com N-alquila inferior ligado via um átomo de carbono

de anel, tal como 1-isopropil-piperidin-4-il, piperazino, alquilpiperazino inferior, tal como 4-(metil, etil ou isopropil)-piperazino, morfolino ou tiomorfolino.

A heterociclila não substituída ou substituída é preferencialmente um radical heterocíclico que é insaturado, saturado ou parcialmente saturado e é preferencialmente um anel monocíclico ou em um aspecto mais amplo da invenção anel bicíclico ou tricíclico; e tem 3 a 24, mais preferencialmente 4 a 16, mais preferencialmente 4 a 10 átomos de anel, onde um ou mais, preferencialmente um a quatro, especialmente um ou dois átomos em anel de carbono são substituídos por um heteroátomo selecionado a partir do grupo que consiste de nitrogênio, oxigênio e enxofre, o anel de ligação tendo 4 a 12, especialmente 5 a 7 átomos em anel; radical heterocíclico (heterociclila) que é não substituído ou substituído por um ou mais, especialmente 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste dos substituintes definidos acima sob "arila substituída"; e onde a heterociclila é especialmente um radical heterocíclico selecionado a partir do grupo que consiste de oxiranila, azirínila, aziridinila, 1,2-oxatíolanila, tienila, furila, tetrahidrofurila, piranila, tiopiranila, tiantrenila, isobenzofuranila, benzofuranila, cromenila, 2H-pirrolila, pirrolila, pirrolinila, pirrolidinila, imidazolila, imidazolidinila, benzimidazolila, pirazolila, pirazinila, pirazolidinila, tiazolila, isotiazolila, ditiazolila, oxazolila, isoxazolila, piridila, pirazinila, pirimidinila, piperidila, piperazinila, piridazinila, morfolinila, tiomorfolinila, (S-oxo ou S,S-dioxo)-tiomorfolinila, indolizinila, isoindolila, 3H-indolila, indolila, benzimidazolila, cumarila, indazolila, triazolila, tetrazolila, purinila, 4H-quinolizinila, isoquinolila, quinolila, tetrahydroquinolila, tetrahydroisoquinolila, decahydroquinolila, octahydroisoquinolila, benzofuranila, dibenzofuranila, benzotiofenila, dibenzotiofenila, ftalazinila, naftiridinila, quinoxalila, quinazolinila, quinazolinila, cinolinila, pteridinila, carbazolila, beta-carbolinila, fenantridinila, acridinila, perimidinila, fenantrolinila, furazanila, fenazinila, fenotiazinila, fenoxazinila, cromenila, isocromanila e cromanila, cada um desses radicais sendo não substituído ou substituído por um a dois radicais selecionados a partir do grupo que consiste de alquila inferior, especialmente metila ou tert-butila, alcóxi inferior, especialmente metóxi, e halo, especialmente bromo ou cloro.

No caso de R2 na fórmula I, a heterociclila não substituída ou substituída é preferencialmente piridila, especialmente 3-piridila, por exemplo, C₁₋₄alcóxi-3-piridila, ou N-alquila inferior-piperidinila, especialmente N-alquila inferior-piperidin-4-ila ou pirazila.

- 5 Na cicloalquila não substituída ou substituída, a cicloalquila é preferencialmente um grupo hidrocarboneto mono- ou bicíclico com 3 a 16, mais preferencialmente 3 a 9 átomos de carbono em anel, por exemplo, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclohexila, cicloheptila ou ciclooctila, e é substituída por um ou mais, preferencialmente um a três substituintes independentemente selecionados a partir daqueles descritos para a arila substituída ou é (preferencialmente) não substituída.
- 10

- Carbonila substituída significa que a carbonila é ligada ao anel de pirimidina e é substituída preferencialmente por, amino, C₁₋₄alcóxicarbonila, C₁₋₄alquilaminocarbonila, N,N-di-C₁₋₄alquilaminoC₁₋₄alquilaminocarbonila, pirrolidino-C₁₋₄alquilaminocarbonila, heterociclila não substituída ou substituída, por exemplo, uma heterociclila tendo 5 a 7 átomos em anel, por exemplo, uma heterociclila saturada tendo 5 a 7 átomos em anel, por exemplo, 4-metilpiperazinocarbonila, ou morfolinocarbonila.
- 15

- Onde A é C(=O)-N(R5), isso significa que o grupo carbonila é ligado ao anel carregando R3 na fórmula I, enquanto o N(R5) é ligado ao anel carregando CF₃ e (se presente) R₄; por outro lado, onde A é N(R5)-C(=O), a orientação da carbonila e do N(R5) é revertida com relação à orientação definida para C(=O)-N(R5). Preferencialmente, R5 é hidrogênio.
- 20

- Os sais são especialmente os sais farmaceuticamente aceitáveis de compostos de fórmula I. Eles podem ser formados onde grupos de formação de sal, tal como grupos básicos ou ácidos, estão presentes que podem existir na forma dissociada pelo menos parcialmente, por exemplo, em uma faixa de pH de 4 a 10 em ambiente aquoso, ou pode ser isolado especialmente na forma sólida, ou onde os grupos carregados (por exemplo, amônio quaternário) estão presentes – no último caso, sais de acila são formados com ânions de ácidos orgânicos ou inorgânicos (por exemplo, como definido no próximo parágrafo).
- 25
- 30

Tais sais são formados, por exemplo, como sais com adição de ácido, preferencialmente com ácidos orgânicos ou inorgânicos, a partir de compostos de fórmula I com um átomo de hidrogênio básico, especialmente os sais farmaceuticamente aceitáveis. Os ácidos inorgânicos adequados são, por exemplo, ácidos halogênicos, tal como ácido hidrocloreto, ácido sulfúrico, ou ácido fosfórico. Os ácidos orgânicos adequados são, por exemplo, ácidos carboxílicos, fosfônicos, sulfônicos ou sulfâmicos, por exemplo, ácido acético, ácido propiônico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido cítrico, aminoácidos, tal como ácido glutâmico ou ácido aspártico, ácido maléico, ácido hidroximaléico, ácido metilmaleico,

Ácido benzóico, ácido metano- ou etano-sulfônico, ácido etano-1,2-dissulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido 2-naftalenossulfônico, ácido 1,5-naftaleno-dissulfônico, ácido N-ciclohexilsulfâmico, ácido N-metil-, N-etil-, ou N-propil sulfâmico, ou outros ácidos protônicos orgânicos, tal como ácido ascórbico.

Na presença de radicais negativamente carregados, tal como carboxi ou sulfo, os sais podem também ser formados com bases, por exemplo, sais de metal ou de amônio, tal como sais de metal alcalino ou de metal alcalino terroso, por exemplo, sais de sódio, de potássio, de magnésio ou de cálcio, ou sais de amônio, com amônia ou aminas orgânicas adequadas, tal como monoaminas terciárias, por exemplo, trietilamina ou tri(2-hidroxietil)amina, ou bases heterocíclicas, por exemplo, N-etil-piperidina ou N,N'-dimetilpiperazina.

Quando um grupo básico e um grupo ácido estão presentes na mesma molécula, um composto de fórmula I pode também formar sais internos.

Para propósitos de isolamento ou purificação, é também possível usar sais farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, picratos ou percloratos. Para uso terapêutico, somente sais farmaceuticamente aceitáveis ou compostos livres são empregados (onde aplicável compreendido em preparações farmacêuticas), e esses são, portanto, preferenciais.

Em vista da relação íntima entre os compostos na forma livre e

na forma de seus sais, incluindo aqueles sais que podem ser usados como intermediários, por exemplo, na purificação ou identificação dos compostos ou sais desses, qualquer referência a "compostos" (incluindo também materiais de partida e "intermediários") aqui, especialmente aos composto(s) de fórmula I, entende-se como se referindo a um ou mais sais desses ou uma
5 mistura de um composto livre e um ou mais sais desses, cada um dos quais pretende incluir também qualquer solvato, precursor metabólico tal como éster ou amida do composto de fórmula I, ou sal de qualquer um ou mais desses, como apropriado e conveniente e se não explicitamente mencionado
10 de outra forma. Diferentes formas de cristal e solvatos podem ser obtidas e então são também incluídas.

Onde a forma plural é usada para compostos, sais, preparações farmacêuticas, doenças, desordens e seus similares, significa que inclui também um único composto, sal, preparação farmacêutica, doença ou seu
15 similar, onde "um" ou "uma" é usado, isso significa se referir ao artigo indefinido ou preferencialmente a "um".

Em alguns casos, um composto da presente invenção pode compreender um ou mais centros quirais em substituintes ou mostra outra assimetria (levando a enantiômeros) ou pode, de outra forma, ser capaz de
20 existir na forma de mais do que um estereoisômero, por exemplo, devido a mais do que um centro quiral ou mais do que um outro tipo de assimetria ou devido a anéis ou ligações duplas que permitem o isomerismo (diastereômeros) Z/E (ou cis-trans). A presente invenção inclui ambas as misturas de dois ou mais tais isômeros, tal como misturas de enantiômeros, especialmente
25 racematos, bem como preferencialmente isômeros purificados, especialmente enantiômeros purificados ou misturas enriquecidas de forma enantiomérica.

Os compostos de fórmula I têm propriedades farmacológicas valiosas e são úteis no tratamento de proteína quinase, especialmente proteína tirosina quinase (especialmente uma ou mais das proteínas quinases mencionadas anteriormente sob "Descrição Geral da Invenção", mais especialmente quinase abl, especialmente quinase v-abl ou c-abl, quinases da
30

família das quinases src, especialmente quinase c-src, quinase receptora RET ou quinase receptora Efrina, por exemplo, quinase EphB2, quinase EphB4 ou quinases relacionadas, e/ou b-raf (V599E)), bem como formas moduladas (por exemplo, constitutivamente ativadas) de qualquer uma ou mais dessas doenças responsivas à modulação, onde a modulação preferencialmente significa inibição e responsivos que significa que o progresso de uma doença e/ou de seus sintomas está lento, parado ou até invertido e incluindo uma cura completa ou pelo menos temporária. O termo "tratamento" inclui especialmente tratamento profilático incluindo tratamento preventivo, por exemplo, em pacientes onde mutações ou mudanças foram encontradas, as quais indicam que eles são ou podem ser propensos ao desenvolvimento de uma doença, ou preferencialmente tratamento terapêutico das ditas doenças (incluindo, mas não limitado a tratamento paliativo, curativo, de alívio de sintomas, de redução de sintomas, supressão de doenças ou de sintomas, retardo de progressão, regulação de quinase e/ou inibição de quinase), especialmente de qualquer uma ou mais das doenças mencionadas abaixo.

O termo "curativo" como usado aqui preferencialmente significa eficácia no tratamento permanente de episódios envolvendo atividade de receptor tirosina quinase (especialmente desregulada). O termo "profilático" preferencialmente significa a prevenção do início ou recorrência de doenças envolvendo atividade desregulada do receptor tirosina quinase.

O termo "retardo de progressão" como usado aqui especialmente significa a administração do composto ativo a pacientes estando em um pré-estágio ou em uma fase anterior da doença a ser tratada, pacientes nos quais, por exemplo, uma pré-forma da doença correspondente é diagnosticada ou pacientes que estão em uma condição, por exemplo, durante um tratamento médico ou uma condição resultante de um acidente, sob a qual é provável que uma doença correspondente se desenvolverá, ou onde, por exemplo, metástase pode ser esperada sem tratamento.

Um animal é preferencialmente um animal de sangue quente, mais preferencialmente um mamífero. Um humano (que geralmente também cai sob o termo geral "animal") é preferencialmente um paciente ou uma

pessoa que (por exemplo, devido a alguma mutação ou outras características) é propenso a um risco para uma doença como definido acima ou abaixo.

Onde subsequente ou acima, o termo "uso" é mencionado

5 (como verbo ou nome) (em relação ao uso de um composto de fórmula I ou um sal farmaceuticamente aceitável desse), isso (se não indicado de forma diferente ou sugerido de forma diferente pelo contexto) inclui qualquer uma ou mais das seguintes modalidades da invenção, respectivamente (se não determinado de outra forma): o uso no tratamento de uma doença responsi-

10 va à modulação (especialmente inibição) por proteína (especialmente tirosina) quinase, o uso para a fabricação de composições farmacêuticas para uso no tratamento de uma doença responsiva à modulação (especialmente inibição) por proteína tirosina quinase, métodos de uso de um ou mais compostos de fórmula I no tratamento de uma doença responsiva e/ou proliferativa à modulação (especialmente inibição) por proteína quinase, preparações

15 farmacêuticas compreendendo um ou mais compostos de fórmula I para o tratamento da dita doença responsiva à modulação (especialmente inibição) por proteína quinase, e um ou mais compostos de fórmula I no tratamento da dita doença responsiva à modulação (especialmente inibição) por proteína

20 quinase, como apropriado e conveniente, se não determinado de outra forma. Em particular, as doenças a serem tratadas e assim preferenciais para "uso" de um composto de fórmula I são selecionadas a partir de doenças mencionadas abaixo responsivas (significando também "suportadas", não somente "dependentes", incluindo também situações onde uma doença está

25 respondendo à modulação, especialmente inibição, de uma proteína quinase, ou seja, a atividade da proteína quinase suporta ou até causa manifestação da doença) à modulação (especialmente inibição) por proteína (especialmente tirosina) quinase, especialmente doenças proliferativas mencionadas abaixo.

30 Onde a proteína quinase é mencionada, isso se refere a qualquer tipo de proteína quinase, especialmente uma daquelas definidas acima sob "Descrição Geral da Invenção", mais especialmente, serina/treonina

e/ou preferencialmente proteínas tirosinas quinases, mais preferencialmente uma ou mais proteínas tirosinas quinases, especialmente selecionadas do grupo que consiste de quinase v-abl ou c-abl, quinases da família das quinases src, especialmente quinase c-src, quinase receptora b-raf (V599E) e/ou

5 preferencialmente quinase receptora RET ou Efrina, por exemplo, quinase EphB2, quinase EphB4 ou quinases relacionadas, incluindo uma ou mais formas mutadas ou alélicas de qualquer uma ou mais dessas (por exemplo, aquelas que resultam em conversão do respectivo proto-oncogene em um oncogene, tal como mutantes constitutivamente ativados, por exemplo, Bcr-

10 Abl). Especialmente uma anormalidade altamente expressa, constitutivamente ativada ou normal, mas no dado contexto de outro mecanismo regulatório em um paciente relativamente superativo, e/ou na forma mutada, é abrangida.

A utilidade dos compostos da presente invenção na modulação,

15 especialmente como inibidores, de proteínas quinases pode especialmente e de forma paradigmática ser demonstrada pelos seguintes sistemas de teste para as proteínas quinases mencionadas como preferenciais acima.

Na seguinte descrição de sistemas de teste exemplificados típicos, as seguintes abreviações têm os seguintes significados: DMSO = dimetil sulfoxido; DTT = ditioneitol; EDTA = etilenodiamina tetra-acetato; GST = glutathione-S-transferase; MOI = multiplicidade de infecção; PBS = Tampão Salina Fosfato; PMSF = p-tolueno sulfonil fluoreto; Tri = tri(hidroximetil)aminometano. Um "inibidor" é um composto de teste de fórmula I se não mencionado de outra forma.

20

25 A eficácia dos compostos de fórmula I como inibidores ou quinases receptoras Efrina B4 (EphB4) pode ser demonstrada como segue:

Geração de vetores de expressão de fusão com GST Bac-to-Bac™ (Invitrogen Life Technologies, Basel, Suíça): regiões inteiras de codificação citoplasmática da classe EphB são amplificadas por PCR de bibliotecas cDNA derivadas da placenta ou cérebro humano, respectivamente.

30 Bacteriófagos recombinantes são gerados, os quais expressam a região aminoácido 566-987 do receptor EphB4 humano (SwissProt Database, No. de A-

cesso P54760). A sequência GST é clonada no vetor pFastBac1® (Invitrogen Life Technologies, Basel, Suíça) amplificada por PCR. Os domínios do receptor EphB4 de codificação de cDNAs, respectivamente são clonados na estrutura 3'prime para a sequência GST nesse vetor FastBac1 modificado para gerar vetores doadores pBac-to-Bac™. As únicas colônias chegando da transformação são inoculadas para obter culturas noturnas para preparação de plasmídeos em pequena escala. A análise de enzima de restrição de DNA plasmídeo revela vários clones para conter elementos de inserção do tamanho esperado. Por seqüenciamento automatizado dos elementos de inserção e aproximadamente 50 bp das seqüências de vetor de flaqueamento são confirmadas em ambos os filamentos.

Produção de vírus: os vírus para cada uma das quinases são feitos de acordo com o protocolo fornecido por GIBCO, se não estabelecido de outra forma. Brevemente, os vetores de transferência contendo os domínios da quinase são transferidos na linhagem de célula DH10Bac (GIBCO) e folheados em placas de ágar seletivas. As colônias sem inserção da sequência de fusão no genoma viral (carregado pela bactéria) são azuis. As únicas colônias brancas são coletadas e DNA viral (bacmídeo) isolado da bactéria por procedimentos de purificação de plasmídeo padrão. Células Sf9 ou células Sf21 são então transfectadas em frascos de 25 cm² com o DNA viral usando reagente Cellfectin de acordo com o protocolo.

Purificação de quinases rotuladas com GST: O lisato celular centrifugado é carregado em uma coluna de 2mL de glutathiona-sefarose (Farmácia) e lavado três vezes com 10 mL de 25 mM de tri-HCl, pH 7,5, 2 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 mM NaCl. As proteínas rotuladas com GST são então eluídas por 10 aplicações (1 mL cada) de 25 mM de Tri-HCl, pH 7,5, 10 mM de glutathiona reduzida, 100 mM de NaCl, 1 mM DTT, 10% de Glicerol e armazenadas em -70° C.

Ensaio com proteína quinase: As atividades das proteínas quinases são ensaiadas na presença ou ausência de inibidores, medindo a incorporação de ³³P a partir de [γ ³³P]ATP em um polímero de ácido glutâmico e tirosina (poli(Glu,Tir)) como um substrato. Os ensaios com quinase com

GST-EphB purificado (30ng) são executados por 15-30 min em temperatura ambiente em um volume final de 30 μ L contendo 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, 10 mM de $MgCl_2$, 3-50 mM de $MnCl_2$, 0,01 mM de Na_3VO_4 , 1% DMSO, 1 mM de DTT, 3 μ g/mL de poli(Glu,Tir) 4:1 (Sigma; St. Louis, Mo., USA) e 2,0-3,0 μ M de ATP (γ - ^{33}P]-ATP 0,1 μ Ci). O ensaio é terminado pela adição de 20 μ L de 125 mM de EDTA. Subseqüentemente, 40 μ L da mistura de reação são transferidos em membrana Immobilon-PVDF (Millipore, Bedford, MA, USA) previamente remolhada por 5 min com metanol, enxaguada por 5 min com 0,5% de H_3PO_4 e montada em tubulação a vácuo com fonte de vácuo desconectada. Depois de marcar todas as amostras, vácuo é conectado e cada cavidade enxaguada com 200 μ L 0,5% de H_3PO_4 . As membranas são removidas e lavadas 4 x em um agitador com 1,0% de H_3PO_4 , uma vez com etanol. As membranas são contadas depois de secar em temperatura ambiente, montadas em estrutura de 96 cavidades Packard TopCount, e adição de 10 μ L/cavidade do MicroscintTM (Packard). Os valores IC_{50} são calculados por análise de regressão linear da inibição de porcentagem de cada composto em duplicata, em quatro concentrações (usualmente 0,01, 0,1, 1 e 10 μ M). Uma unidade de atividade de proteína quinase é definida como 1nmol de ^{33}P ATP transferido de [γ - ^{33}P] ATP à proteína de substrato por minuto por mg de proteína em 37° C. Os compostos de fórmula I mostram inibição de EphB4 inferior a 1 nM, preferencialmente valores IC_{50} entre 0,001 – 20,0 μ M, mais preferencialmente entre 0,001 e 10 μ M.

Alternativamente, a autofosforilação de receptor EphB4 pode ser medida como segue: A inibição de autofosforilação de receptor EphB4 pode ser confirmada com um experimento in vitro em células tal como células de melanoma humano A375 transfectadas (Número ATCC: CRL-1619), que permanentemente expressam EphB4 humano (SwissProt AccNo P54760), são semeadas em meio completo de cultura (com 10% de soro fetal de bezerro = FCS) em placas de cultura células de 6 cavidades e incubadas em 37° C sob 5% de CO_2 até que elas mostrem aproximadamente 90% de confluência. Os compostos a serem testados são então diluídos em meio de cultura (sem FCS, com 0,1% de albumina de soro bovino) e adicionados às

células. (Os controles compreendem meio sem compostos de teste). A autofosforilação induzida por ligante é induzida pela adição de 1 microg/ml de Efrina B2-Fc solúvel (s-efrinaB2-Fc : R&D Biosystems, CatNr 496-EB) e 0,1 microM ortovanadato. Depois de uma incubação de 20 minutos adicionais em 37° C, as células são lavadas duas vezes com PBS a frio (tampão salina fosfato) e imediatamente lisadas em 200 µl de tampão de lise por cavidade. Os lisatos são então centrifugados para remover os núcleos celulares, e as concentrações de proteína dos sobrenadantes são determinadas usando um ensaio de proteína comercial (PIERCE). Os lisatos podem então ou ser imediatamente usados ou, se necessário, armazenados em -20° C.

Um ELISA sanduíche é executado para medir a fosforilação EphB4: Para capturar 100 ng de proteína EphB4/cavidade de efrina B2-Fc fosforilados (s-ephrinB2-Fc : R&D Biosystems, CatNr 496-EB) é placas ELISA MaxiSorb imobilizadas (Nunc). As placas são então lavadas e os sítios de ligação de proteína livre restantes são saturados com 3% de TopBlock® (Juro, Cat. # TB232010) em tampão fosfato salina com Tween 20® (polioxietilen(20)sorbitane monolaurato, ICI/Uniquema) (PBST). Os lisatos celulares (100 µg de proteína por cavidade) são então incubados nessas placas por 1h em temperatura ambiente. Depois de lavar as cavidades três vezes com PBS, um anticorpo antifosfotirosina acoplado com fosfatase alcalina (PY 20 fosfato alcalino conjugado: ZYMED, Cat Nr03-7722) é adicionado e incubado por outra uma hora. As placas são lavadas novamente e a ligação do anticorpo antifosfotirosina ao receptor fosforilado capturado é então demonstrada e quantificada usando 10 mM de D-nitrofenilfosfato como substrato e medindo o OD em 405 nm depois de 0,5h – 1h.

A diferença entre o sinal do controle positivo (estimulado com vanadato e s-efrinaB2-Fc) e aquele do controle negativo (não estimulado) corresponde à fosforilação de EphB4 máxima (= 100%). A atividade das substâncias testadas é calculada como a inibição percentual de fosforilação de EphB4 máxima, onde a concentração de substância induz à metade, a inibição máxima é definida como o IC₅₀ (dose inibitória para 50% de inibição). Com compostos da fórmula I, os valores IC₅₀ entre 0,0005 e 50 µM,

preferencialmente 0,0005 e 20 μ M.

A eficácia dos compostos da invenção como inibidores de atividade de proteína tirosina quinase c-Abl pode ser demonstrada como segue.

Um ensaio de enzima in vitro é executado em placas de 96 cavidades como um ensaio de ligação de filtro como descrito por Geissler e outros, em Cancer Res. 1992; 52: 4492-4498, com as seguintes modificações. O domínio de quinase rotulado por His de c-Abl é clonado e expresso no sistema baculovirus/Sf9 como descrito por Bhat e outros em J. Biol. Chem. 1997; 272:16170-16175. Uma proteína de 37 kD (quinase c-Abl) é purificada por um procedimento de duas etapas sobre uma coluna de quelato de metal Cobalto seguida por uma coluna de troca de ânions com um resultado de 1-2 mg/L de células Sf9 (Bhat e outros, referência citada). A pureza da quinase c-Abl é > 90% se julgado por SDS-PAGE depois de coloração azul Coomassie. O ensaio contém (volume total de 30 μ L): quinase c-Abl (50 ng), 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, 10 mM de $MgCl_2$, 10 μ M de Na_3VO_4 , 1 mM de DTT e 0,06 μ Ci/ensaio [$\gamma^{33}P$]-ATP (5 μ M ATP) usando 30 μ g/mL de poli-Ala,Glu,Lis,Tir-6:2:5:1 (Poli-AEKY, Sigma P1152) na presença de 1% de DMSO. As reações são terminadas adicionando-se 10 μ L de 250 mM EDTA e 30 μ L da mistura de reação são transferidos na membrana Immobilon-PVDF (Millipore, Bedford, MA, USA) previamente remolhada por 5 min com metanol, enxaguada com água, então remolhada por 5 min com 0,5% de H_3PO_4 e montada em tubulação a vácuo com fonte de vácuo desconectada. Depois de marcar todas as amostras, vácuo é conectado e cada cavidade enxaguada com 200 μ l 0,5% de H_3PO_4 . As membranas são removidas e lavadas em um agitador com 0,5% de H_3PO_4 (4 vezes) e uma vez com etanol. As membranas são contadas depois de secar em temperatura ambiente, montadas em estrutura de 96 cavidades Packard TopCount, e adição de 10 μ l/cavidade de MicroscintTM (Packard). Usando esse sistema de teste, os compostos de fórmula I podem mostrar valores IC_{50} de inibição para inibição de c-Abl na faixa de, por exemplo, 0,002 a 100 μ M, usualmente entre 0,002 e 5 μ M.

Os compostos de fórmula I podem também inibir outras proteí-

nas tirosinas quinases, tal como especialmente a quinase c-Src que executa uma parte na regulação de crescimento e transformação em animais, especialmente células de mamíferos, incluindo células humanas. Um ensaio apropriado é descrito em Andrejauskas-Buchdunger e outros, Cancer Res. 52, 5353-8 (1992). Usando esse sistema de teste, os compostos de fórmula I
5 podem mostrar valores IC_{50} para inibição de c-Src na faixa de, por exemplo, 0,01 a 100 μ M, usualmente entre 0,05 e 10 μ M.

Ademais, os compostos de fórmula I podem também ser usados para inibir b-raf (V599E). A atividade de B-Raf-V599E é ensaiada na presença ou ausência de inibidores medindo a incorporação de ^{33}P de $[\gamma^{33}P]ATP$
10 em (His)-I κ B. O composto teste é dissolvido em DMSO (10 mM) e armazenado em -20° C. As diluições seriais são feitas em DMSO recentemente e adicionalmente diluído com água pura para obter soluções de teste concentradas 3 vezes em 3% de DMSO. O volume final (30 μ l) do ensaio contém 10
15 μ l de solução de teste (1% de DMSO), 10 μ l de mistura de ensaio (20 mM Tri-HCl, pH 7,5, 3 mM de $MnCl_2$, 3 mM de $MgCl_2$, 1 nM de DTT, 3 μ g/ml de (His)-I κ B. 1 % de DMSO e 3,5 μ M ATP $[\gamma^{33}P]$ -ATP 0,1 μ Ci) e 10 μ l de diluição de enzima (600 ng de GST-B-Raf-V599E). As etapas de pipetagem são programadas para serem executadas ou no MultiPROBE lix, MultiPROBE
20 IILx ou robôs HamiltonSTAR no formato de 96 cavidades. O ensaio é executado como descrito na literatura (ver C. Garcia-Echeverria e outros, Cancer Cel. 5, 231-9 (2004)) terminado pela adição de 20 μ l 125 mM EDTA. A captura dos peptídeos fosforilados pelo método de ligação de filtro é executada como segue: 40 μ l da mistura de reação são transferidos nas membranas
25 Immobilon-PVDF previamente remolhadas por 5 min com metanol, enxaguadas com água, então remolhadas por 5 min com 0,5% de H_3PO_4 e montadas em tubulação a vácuo com fonte de vácuo desconectada. Depois de marcar todas as amostras, vácuo é conectado e cada cavidade enxaguada com 200 μ l 0,5% de H_3PO_4 . As membranas livres são removidas e lavadas 4
30 x em um agitador com 1,0% de H_3PO_4 , uma vez com etanol. As membranas são contadas depois de secar em temperatura ambiente, montando em estrutura de 96 cavidades Packard TopCount e adição de 10 μ l/cavidade de

Microscint™. As placas são eventualmente vedadas e contadas em um contador de cintilação de microplacas (TopCount NXT, TopCount NXT HTS). No caso do método de placa rápida, a reação de quinase é primeiramente executada em placas de plástico com base em polistireno e então parada depois de 60 min pela adição de 20 µl de 125 mM EDTA. Para capturar (60 min, RT), o substrato biotinilado é transferido a placas rápidas revestidas com Níquel. As placas de ensaio são lavadas três vezes com PBS e secas em temperatura ambiente. Subseqüentemente, as placas são vedadas e contadas em um contador de cintilação de micro-placas (TopCount NXT, TopCount NXT HTS). Os valores IC₅₀ são calculados por análise de regressão linear de inibição de porcentagem pelo composto ou em duplicata, em quatro concentrações (usualmente 0,01, 0,1, 1 e 10 µM) ou como único ponto 8 IC₅₀ iniciando em 10 µM seguido por diluições 1:3. Para inibição de b-raf, os compostos de fórmula I podem mostrar valores IC₅₀ na faixa de 0,05 a 50 µM.

Por outro lado, os compostos de fórmula I mostram inibição de várias outras proteínas tirosinas ou serina/treonina quinases, em alguns casos com valores IC₅₀ mais altos do que aqueles para os sistemas de teste descritos acima, então exibindo uma seletividade útil com um risco diminuído de reações adversas indesejadas ao fármaco, em outros casos com valores IC₅₀ comparáveis.

Por exemplo, a atividade dos compostos da invenção como inibidores de atividade de proteína tirosina quinase KDR pode ser demonstrada como segue: A inibição de autofosforilação induzida por VEGF pode ser confirmada em células tais como células CHO transfectadas, que permanentemente expressam receptor humano VEGF-R2 (KDR), e são semeadas em meio completo de cultura (com 10% de soro fetal de bezerro = FCS) em placas de cultura celular de 6 cavidades e incubadas em 37° C sob 5% CO₂ até que elas mostrem aproximadamente 80% de confluência. Os compostos a serem testados são então diluídos em meio de cultura (sem FCS, com 0,1% de albumina de soro bovino) e adicionados às células. Os controles compreendem meio sem compostos de teste. Depois de 2h de incubação a 37° C,

VEGF recombinante é adicionado; a concentração final de VEGF é 20 ng/ml. Depois de um período de incubação adicional de cinco minutos a 37° C, as células são lavadas duas vezes com PBS a frio (tampão fosfato salina) e imediatamente lisadas em 100 µl de tampão de lise por cavidade. Os lisatos
5 são então centrifugados para remover os núcleos celulares, e as concentrações de proteína dos sobrenadantes são determinadas usando um ensaio de proteína comercial (BIORAD). Os lisatos podem então ou ser imediatamente usados ou, se necessário, armazenados em -20° C. Usando esse protocolo, compostos seletivos de fórmula I podem ser encontrados para
10 mostrar valores IC₅₀ para inibição de KDR que são mais preferencialmente pelo menos 1,5 vez maiores do que para tirosina quinase c-Abl, mais preferencialmente mais do que 2 vezes maiores do que para tirosina quinase EphB4. Geralmente, nesse sistema de teste com compostos de fórmula I, os valores IC₅₀ são encontrados na faixa de 0,05 a 20 µM, mais preferencialmente de 0,1 a 20 µM.
15

Os resultados indicam um perfil de seletividade vantajoso de alguns compostos preferenciais de fórmula I, onde a seletividade não necessariamente significa que somente uma quinase é inibida a uma extensão vantajosa, mas também que seletivamente duas ou mais quinases podem
20 ser inibidas mais fortemente em comparação com outras quinases.

Há também experimentos para demonstrar a atividade antitumor de compostos de fórmula I in vivo. Por exemplo, de modo a testar se um composto de fórmula I, por exemplo, aquele do Exemplo 1 dado abaixo, inibe angiogênese in vivo, seu efeito na resposta angiogênica induzida por um
25 fator angiogênico tal como VEGF, bFGF, S-1P, PDGF ou IGF-1 em um modelo de implante de fator de crescimento em ratos é testado: Uma câmara de Teflon porosa (volume 0,5 mL) é preenchida com 0,8% w/v de ágar contendo heparina (20 unidades/ml) com ou sem fator de crescimento (2 µg/ml de VEGF humano) é implantada de forma sub-cutânea no flanco dorsal de
30 ratos C57/C6. Os ratos são tratados com o composto de teste (por exemplo, 5, 10, 25, 50 ou 100 mg/kg p.o. uma vez por dia) ou veículo iniciando no dia de implantação da câmara e continuando por 4 dias depois. No fim do trata-

mento, os ratos são mortos, e as câmaras são removidas. O crescimento de tecido vascularizado em torno da câmara é cuidadosamente removido e pesado, e o conteúdo de sangue é avaliado medindo-se o conteúdo de hemoglobina do tecido (método de Drabkins; Sigma, Deisenhofen, Alemanha). Os

5 níveis de proteína de 2-ligações, como uma medida de um marcador endotelial, são determinados por um ELISA específico para quantificar a resposta angiogênica. Foi mostrado previamente que esses fatores de crescimento induzem aumentos em peso dependentes da dose, conteúdo de sangue e

10 níveis de proteína de 2-Ligações do tecido crescendo (caracterizado histologicamente para conter fibroblastos e pequenos vasos de sangue) em torno das câmaras e que essa resposta é bloqueada neutralizando anticorpos, por exemplo, que especificamente neutralizam VEGF (ver Wood JM e outros, Cancer Res. 60(8), 2178-2189, (2000); e Schlaeppli e outros, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 125, 336-342, (1999)). Com esse modelo, a inibição pode ser

15 mostrada no caso de compostos de fórmula I nas concentrações dadas acima.

Em um sentido preferencial da invenção, uma doença responsiva à modulação por proteína quinase é uma desordem que responde de uma forma benéfica individual tratada à modulação, especialmente inibição,

20 da atividade de uma proteína (preferencialmente tirosina) quinase, especialmente uma caracterizada como sendo preferencial acima, onde um composto de fórmula I pode ser usado, é uma ou mais de uma doença proliferativa (significando uma dependente da atividade (especialmente inadequada) de uma proteína quinase) incluindo uma condição hiper-proliferativa, tal com

25 uma ou mais dentre leucemia, hiperplasia, fibrose (especialmente pulmonar, mas também outros tipos de fibrose, tal como fibrose renal), angiogênese, psoríase, aterosclerose e proliferação de músculo liso nos vasos sanguíneos, tal como estenose ou restenose seguindo angioplastia. Ademais, um composto de fórmula I pode ser usado para o tratamento de trombose e/ou

30 escleroderma.

É preferencial o uso de um composto de fórmula I na terapia (incluindo profilaxia) de uma desordem proliferativa (especialmente que é res-

ponsiva à modulação, especialmente inibição, da atividade de uma proteína (especialmente tirosina) quinase, especialmente como mencionado como preferencial aqui) selecionada dentre doenças de tumor ou câncer, especialmente contra preferencialmente uma doença de tumor ou câncer benigno ou especialmente maligno, mais preferencialmente tumores sólidos, por exemplo, carcinoma no cérebro, rins, fígado, glândula adrenal, bexiga, seios, estômago (especialmente tumores gástricos), ovários, colo, reto, próstata, pâncreas, pulmão (por exemplo, carcinomas de pequenas ou grandes células do pulmão), vagina, tireóide, sarcoma, glioblastomas, múltiplos mielomas ou gastrointestinal, especialmente carcinoma de colo ou adenoma colorretal, ou um tumor no pescoço e cabeça, por exemplo, carcinoma escamoso do pescoço e cabeça, incluindo neoplasias, especialmente de caráter epitelial, por exemplo, no caso de carcinoma mamário; uma hiper-proliferação epidérmica (além de câncer), especialmente psoríase; hiperplasia na próstata; ou leucemia.

Um composto de fórmula I ou seu uso torna possível produzir a regressão de tumores e/ou prevenir a formação de metástases de tumor e o crescimento de metástases (também micro-metástases).

É também possível usar os compostos de fórmula I no tratamento de doenças do sistema imunológico na medida em que várias ou, especialmente, proteínas (preferencialmente tirosina) quinases individuais, especialmente aquelas mencionadas como preferenciais, são envolvidas. Ademias, os compostos de fórmula I podem ser usados também no tratamento de doenças do sistema nervoso central ou periférico, nas quais a transmissão de sinal por pelo menos uma proteína (especialmente tirosina) quinase, especialmente selecionada dentre aquelas proteínas tirosina quinases mencionadas como preferenciais, é envolvida.

Em leucemia mielogênica crônica (LMC), uma translocação cromossômica reciprocamente equilibrada em células-tronco hematopoéticas (HSCs) produz o gene híbrido BCR-ABL. O último codifica a proteína de fusão oncogênica Bcr-Abl. Com ABL codifica uma proteína tirosina quinase firmemente regulada, que executa uma função fundamental na regulação da

proliferação, aderência e apoptose celular, o gene de fusão BCL-ABL codifica como quinase constitutivamente ativada que transforma HSCs para produzir um fenótipo exibindo proliferação clonal desregulada, a capacidade reduzida de aderir ao estroma de medula óssea e uma resposta apoptótica

5 reduzida a estímulos mutagênicos, que a habilitam a acumular transformações progressivamente mais malignas. Os granulócitos resultantes falham em se desenvolver em linfócitos maduros e são liberados na circulação, levando a uma deficiência nas células maduras e aumentada suscetibilidade à infecção. Os inibidores competitivos de ATP de Bcr-Abl (ou formas mutadas

10 comparáveis) foram descritos, os quais previnem a quinase de ativação mitogênica e caminhos anti-apoptóticos (por exemplo, quinase P-3 e STAT5), levando à morte das células de fenótipo BCR-ABL e assim fornecendo uma terapia efetiva contra LMC. Os compostos de fórmula I úteis de acordo com a presente invenção como inibidores de Bcr-Abl são assim especialmente

15 apropriados para a terapia de doenças relacionadas à sua sobreexpressão, especialmente leucemias, tal como, por exemplo, LMC ou ALL.

A angiogênese é considerada como um pré-requisito absoluto para esses tumores que crescem além de um diâmetro máximo de aproximadamente 1-2 mm; até esse limite, oxigênio e nutrientes podem ser fornecidos às células de tumor por difusão. Cada tumor, sem considerar sua origem e sua causa, é assim dependente de angiogênese para seu crescimento depois que ele alcança um certo tamanho. Três principais mecanismos executam uma função importante na atividade de inibidores de angiogênese contra tumores: 1) Inibição do crescimento de vasos, especialmente capilares, em tumores inertes avasculares, com o resultado de que não há crescimento de tumor líquido pertencendo ao equilíbrio que é alcançado entre apoptose e proliferação; 2) Prevenção da migração de células de tumor pertencendo à ausência de fluxo sanguíneo para e a partir dos tumores; e 3) Inibição de proliferação de célula endotelial, assim evitando o efeito de estímulo de crescimento parácrino exercido no tecido circundante pelas células

20

25

30

endoteliais normalmente revestindo os vasos.

Os compostos de fórmula I, considerando sua habilidade de ini-

bir quinase KDR e receptora Efrina, por exemplo, quinase EphB4, e possivelmente outras proteínas quinases, e assim modular angiogênese, são especialmente apropriados para o uso contra doenças ou desordens relacionadas à atividade inadequada da quinase receptora correspondente (preferencialmente tirosina), especialmente uma sobreexpressão dessa. Entre essas doenças, especialmente (por exemplo, isquêmicas) retinopatias, degeneração macular (por exemplo, relacionada à idade), psoríase, obesidade, hemangioblastoma, hemangioma, doenças inflamatórias, tal como doenças inflamatórias reumatóides ou reumáticas, especialmente artrite, tal como artrite reumatóide, ou outras desordens inflamatórias crônicas, tal como asma crônica, aterosclerose arterial ou pós-transplantacional, endometriose, e especialmente doenças neoplásicas, por exemplo, assim chamados tumores sólidos (especialmente cânceres de trato gastrointestinal, do pâncreas, de seios, de estômago, de cérvix, de bexiga, de rins, de próstata, de ovários, de endométrio, de pulmão, de cérebro, melanoma, sarcoma de Kaposi, carcinoma de célula escamosa de cabeça e pescoço, mesotelioma pleural maligno, linfoma ou múltiplos mielomas) e tumores líquidos (por exemplo, leucemias) são especialmente importantes.

Os compostos de fórmula I são especialmente de uso para prevenir ou tratar doenças que são disparadas por angiogênese persistente, tal como restenose, por exemplo, restenose induzida por stent; doença de Crohn; doença de Hodgkin; doenças nos olhos, tal como retinopatia diabética e glaucoma neovascular; doenças renais, tal como glomerulonefrite; nefropatia diabética; doença inflamatória de intestino; nefroesclerose maligna; síndromes micro-angiopáticas trombóticas; rejeições de transplante (por exemplo, crônicas) e glomerulopatia; doenças fibróticas, tal como cirrose do fígado; doenças proliferativas de célula mesangial; danos no tecido nervoso; e para inibir a re-oclusão de vasos depois de tratamento de cateter balão, para uso em próstética vascular ou depois de inserir dispositivos mecânicos para manter os vasos abertos, tal como, por exemplo, stents, como imunossuppressores, como uma cicatrização de ferida livre de cicatrizes, e para o tratamento de dermatite de contato e manchas da idade.

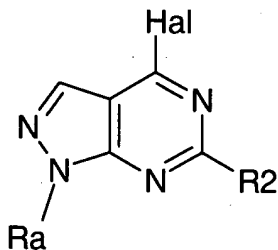
Preferencialmente, a invenção refere-se ao uso de compostos de fórmula I, ou sais farmaceuticamente aceitáveis desses, no tratamento de tumores sólidos como mencionado aqui e/ou de tumores líquidos, por exemplo, leucemias, como mencionado aqui.

- 5 Devido a suas propriedades de modulação por proteína quinase, tal como quinase receptora Eph, os compostos de fórmula I podem também ser usados para estimular ou promover regeneração neural (regeneração neuronal; neuroregeneração), tal como regeneração de axônio, ou inibição ou reversão de degeneração neural (degeneração neuronal; neurodegeneração). Esses usos representam aspectos adicionais da invenção.

- 10 Os compostos de fórmula I são, portanto, também úteis no tratamento de proteína quinase, tal como quinase receptora Eph, condições responsivas à modulação, doenças ou desordens, onde o estímulo ou a promoção de regeneração neural (regeneração neuronal; neuroregeneração), tal como a regeneração do axônio, ou a inibição ou a reversão de degeneração neural (degeneração neuronal; neurodegeneração) é desejada, por exemplo, no tratamento de lesões na medula espinhal, condições hipóxicas, lesões traumáticas no cérebro, infarto, derrame, esclero múltipla ou outras condições, doenças ou desordens neurodegenerativas. Esses usos e métodos de tratamento representam aspectos adicionais da invenção.

Processo de Fabricação

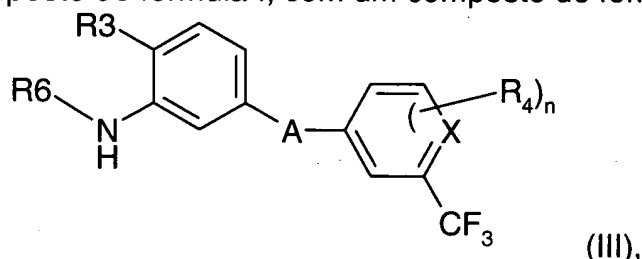
- 25 Um composto de fórmula I é preparado analogamente aos métodos que, para outros compostos, são em princípio conhecidos na técnica, tal que para os novos compostos de fórmula I o processo seja novo como processo de analogia, preferencialmente por reagir um composto de fórmula



(II),

onde Ra é R1 como definido para um composto de fórmula I, ou é um grupo

de proteção, Hal é halo, especialmente bromo ou cloro, e R2 é como definido para um composto de fórmula I, com um composto de fórmula



onde A, R3, R4, R6 e n são como definido para um composto de fórmula I, removendo quaisquer grupos de proteção presentes, e, se desejado, transformando um composto de fórmula I em um composto diferente da fórmula I, transformando um sal de um composto de fórmula I no composto livre ou um sal diferente, transformando um composto livre de fórmula I em um sal desse, e/ou separando uma mistura de isômeros de um composto de fórmula I nos isômeros individuais.

10 A reação pode preferencialmente acontecer em um solvente ou mistura de solventes, por exemplo, em um álcool, tal como tert-butanol, em temperaturas elevadas, por exemplo, na faixa de 30° C à temperatura de refluxo ou de 50° C a 150° C, por exemplo, em um forno de microondas.

15 As propriedades, introdução, tipos e remoção de grupos de proteção (se presentes) são como descritos abaixo nos trabalhos de referência padrão mencionados sob "Condições de Processo Geral".

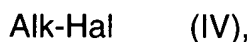
Reações e Conversões Opcionais

Um composto de fórmula I pode ser convertido em diferentes compostos de fórmula I.

20 Por exemplo, em um composto de fórmula I, onde R1 é halo-
arila, tal como bromo-arila, por exemplo, bromofenila, o halogênio pode ser substituído com uma ligação substituinte via um átomo de nitrogênio, por exemplo, com morfolino, por reação com uma amina primária ou secundária correspondente, tal como morfolina, na presença de uma base forte, tal como um alcóxido de metal alcalino, por exemplo, tert-butóxido de potássio, e um catalisador de acoplamento apropriado, por exemplo, cloreto de 2-(dimetil-amino)-2-bifenilil-paládio(II) dinorbornilfosfina complexo, em um solvente ou mistura de solventes apropriada, por exemplo, um éter, tal como

tetraidrofurano.

Como um outro exemplo, um composto de fórmula I onde R1 é hidrogênio pode ser convertido em um composto de fórmula I onde R1 é alquila não substituída ou substituída por reação com um composto de fórmula



- 5 Onde Alk é alquila não substituída ou substituída e Hal é halo, especialmente bromo, na presença de uma base apropriada, por exemplo, um carbonato de metal alcalino, tal como carbonato de cézio, e um solvente apropriado ou mistura de solventes, por exemplo, um N,N-di-(alquil inferior)-alcanoilamida inferior, tal como N,N-dimetilformamida, preferencialmente em temperaturas
- 10 elevadas, por exemplo, em temperaturas de 50 a 160° C, por exemplo, em um forno de microondas.

- Ainda um outro exemplo de uma conversão de um composto de fórmula I pode ser dado onde um nitro substituinte está presente em arila substituída R1 – tal nitro substituinte pode ser reduzido a um substituinte
- 15 amino correspondente, por exemplo, por hidrogenação catalítica, por exemplo, na presença de Raney-Ni, em um solvente apropriado ou mistura de solventes, por exemplo, um álcool, tal como metanol ou etanol, por exemplo, em temperaturas de 0 a 50° C.

- Um amino substituinte em um composto de fórmula I (especialmente amino como substituinte de arila R1 na fórmula I) pode ser convertido
- 20 em um di- ou tri-amino alquilado (no último caso quaternário) substituinte por reação com um halogeneto de alquila correspondente, por exemplo, metil iodeto, preferencialmente na presença de uma base de nitrogênio terciária, tal como trietilamina, em um solvente apropriado ou mistura de solventes,
- 25 por exemplo, uma N,N-di-(alquil inferior)-alcanoilamida inferior, tal como N,N-dimetilformamida, preferencialmente em temperaturas de 20 a 80° C.

- Sais de compostos de fórmula I tendo pelo menos um grupo de formação de sal podem ser preparados de uma maneira conhecida por si mesma. Por exemplo, um sal de um composto de fórmula I tendo grupos
- 30 ácidos pode ser formado tratando o composto com um composto de metal, tal como um sal de metal alcalino de um ácido carboxílico orgânico adequa-

do, por exemplo, o sal de sódio de ácido 2-etilexanóico, com um composto de metal alcalino orgânico ou metal alcalino terroso, tal como o hidróxido, carbonato ou carbonato de hidrogênio correspondente, tal como hidróxido, carbonato de sódio ou de potássio ou carbonato de hidrogênio e sódio ou e potássio, com um composto de cálcio correspondente ou com amônia ou uma amina orgânica adequada, quantidades estequiométricas ou somente um pequeno excesso do agente de formação de sal preferencialmente sendo usadas. Um sal com adição de ácido de compostos de fórmula I pode ser obtido da maneira usual, por exemplo, tratando um composto de fórmula I com um ácido ou um reagente de troca de ânions adequado. Sais internos de compostos de fórmula I contendo grupos de formação de sal ácido e básico, por exemplo, um grupo carbóxi livre e um grupo amino livre, podem ser formados, por exemplo, pela neutralização de sais, tal como sais com adição de ácido, ao ponto isoelétrico, por exemplo, com bases fracas, ou por tratamento com trocadores de íons.

Um sal de um composto de fórmula I pode ser convertido da maneira usual no composto livre; um sal de metal ou de amônio pode ser convertido, por exemplo, por tratamento com um ácido adequado, e um sal com adição de ácido, por exemplo, por tratamento com um agente básico adequado. Em ambos os casos, trocadores de íons adequados podem ser usados.

Misturas estereoisoméricas, por exemplo, misturas de diastereômeros, podem ser separadas em seus isômeros correspondentes de uma maneira conhecida por si mesma por meio de métodos de separação apropriados. As misturas diastereoméricas, por exemplo, podem ser separadas nos seus diastereômeros individuais por meio de cristalização fracionada, cromatografia, distribuição de solvente, e procedimentos similares. Essa separação pode acontecer ou no nível de um dos compostos de partida ou em um próprio composto de fórmula I. Os enantiômeros podem ser separados através da formação de sais diastereoméricos, por exemplo, por formação de sal com um ácido quiral de puro enantiômero, ou por meio de cromatografia, por exemplo, por HPLC, usando substratos cromatográficos com li-

gantes quirais.

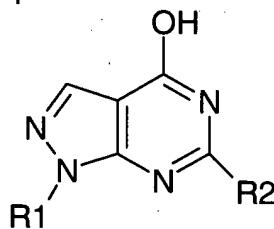
Intermediários e produtos finais podem ser trabalhados e/ou purificados de acordo com métodos padrão, por exemplo, usando métodos cromatográficos, métodos de distribuição, (re-)cristalização, e seus similares.

5 Materiais de Partida

Os materiais de partida podem, por exemplo, preferencialmente ser preparados como segue:

Onde nos materiais de partida, R1, R2, R3, R4, A, R5, R6 e n são usados, esses símbolos preferencialmente têm os significados dados para um composto de fórmula I, se não indicado de outra forma.

Um composto halo-pirazolopirimidina de fórmula II é preferencialmente preparado a partir de um 4-hidroxi-pirazolopirimidina de fórmula

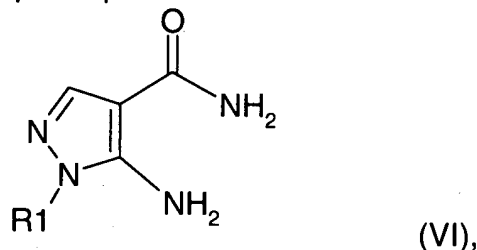


(V),

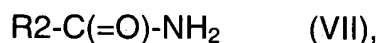
onde R1 e R2 são como definidos para um composto de fórmula I, onde a porção $-C(-OH)=N-$ formando parte do anel de pirimidina pode estar em equilíbrio com a forma tautomérica $-C(=O)-NH-$ ou uma dessas duas formas tautoméricas podem fortemente prevalecer, com um anidrido de um ácido metilfenilsulfônico ou um ácido perfluoroalcanosulfônico, por exemplo, o cloreto ou brometo de sulfonila, ou preferencialmente, um haleto ácido, tal como fosgene, oxaloilcloreto, mais preferencialmente um haleto ácido inorgânico, tal como cloreto de tionila, brometo de tionila, cloreto de sulfurila, tricloreto de fósforo, tribrometo de fósforo, pentacloreto de fósforo, pentabrometo de fósforo, brometo de fosforila ou especialmente cloreto de fosforila ($POCl_3$ = oxicloreto de fósforo) na ausência ou presença de pentacloreto de fósforo (assim obtendo o composto de fórmula V onde Hal é Cl), preferencialmente sob exclusão de umidade, se desejado na presença de (preferencialmente inferior a quantidades estequiométricas de) uma base de nitrogênio terciário, tal como trietilamina ou piridina. A reação acontece em um solvente inerte ou preferencialmente (especialmente onde o anidrido ou haleto ácido é líquido

pelo menos na temperatura de reação ou já em temperatura ambiente) na ausência de um solvente. As temperaturas de reação preferenciais são temperaturas elevadas, por exemplo, de 50° C a aproximadamente 100° C ou até a temperatura de refluxo.

- 5 Um composto de fórmula V pode preferencialmente ser obtido por reação de um composto pirazolamida de fórmula



onde R1 é como definido para um composto de fórmula I, com uma amida de fórmula



- onde R2 é como definido para um composto de fórmula I. A reação preferencialmente acontece sob condições desidratantes, especialmente na ausência (possível se R2 na fórmula VII é hidrogênio) ou na presença (preferencial se R2 na fórmula VII é arila não substituída ou substituída, cicloalquila não substituída ou substituída, alquila não substituída ou substituída ou heterociclila não substituída ou substituída) de ácido polifosfórico, em temperaturas preferenciais entre 90° C e a temperatura de refluxo, por exemplo, em 100 a 195° C.

- Alternativamente, um composto de fórmula V onde R1 é como definido na fórmula I e R2 é hidrogênio pode ser preparado por reação de um composto de fórmula VI onde R1 é como definido na fórmula I com tri-
20 alquila ortoformato inferior, tal como trietilortoformato, na presença de ácido acético glacial em temperaturas elevadas, por exemplo, entre 30 a 80° C.

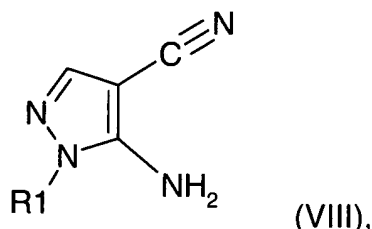
Ainda alternativamente, um composto de fórmula V pode diretamente ser obtido a partir de um composto de fórmula VII dado abaixo por reação com um ácido de fórmula



- 25 Onde R2 é como definido para um composto de fórmula I, na presença de ácido polifosfórico em temperaturas elevadas, por exemplo, na faixa de 0° C

à temperatura de refluxo da mistura de reação, por exemplo, de 80 a 120° C.

Um composto de fórmula VI onde R1 é como definido para um composto de fórmula I é preferencialmente obtido a partir de um composto carbonitrila de fórmula



- 5 onde R1 é como definido para um composto de fórmula I, por hidrólise com um ácido forte, preferencialmente com ácido sulfúrico concentrado (por exemplo, aproximadamente 96%) em temperaturas preferenciais de -10° C a aproximadamente 25° C, por exemplo, de 0° C à temperatura ambiente.

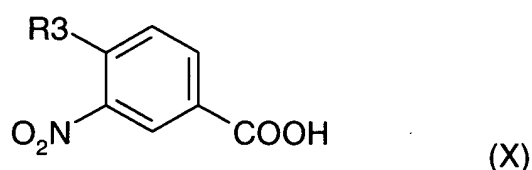
- 10 A partir de um composto de fórmula VIII, é também possível diretamente obter um composto de fórmula V onde R1 é como definido para um composto de fórmula I e R2 é hidrogênio por reação da carbonitrila de fórmula VIII com ácido fórmico em temperaturas elevadas, preferencialmente sob condições de refluxo.

- Um composto de fórmula VIII é preferencialmente obtido por reação de um composto hidrazina de fórmula

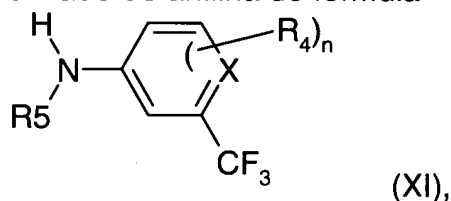


- onde R1 é como definido para um composto de fórmula I, com uma alcóximetilenomalonitrila, preferencialmente etoximetilenemalonitrila. A reação preferencialmente acontece em um álcool, tal como etanol ou isopropanol, na ausência ou (especialmente onde uma forma de sal de um composto de fórmula IX é usada, por exemplo, o sal de hidrocloreto) presença de uma
- 20 base de nitrogênio terciário, por exemplo, uma tri-alkilamina inferior, tal como trietilamina, em temperaturas preferenciais de 0° C à temperatura de refluxo, por exemplo, temperatura ambiente à temperatura de refluxo.

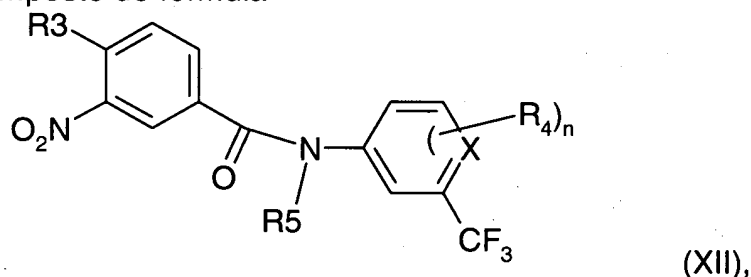
- Um derivado de anilina de fórmula III onde A é C(=O)-N(R5) pode preferencialmente ser obtido reagindo um ácido carbônico de fórmula
- 25



ou um derivado reativo desse, onde R3 é como definido para um composto de fórmula I, com um derivado de anilina de fórmula



onde R5, R4 e n são como definido para um composto de fórmula I, para obter um composto de fórmula



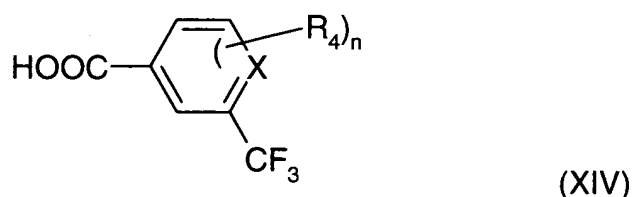
- 5 onde R3, R4, R5 e n são como definidos para um composto de fórmula I.

Um composto de fórmula III pode então ser obtido já que um composto de fórmula XII, obtido como antes ou por qualquer outro método, é reduzido, por exemplo, por hidrogenação catalítica, por exemplo, na presença de Raney-Ni em um solvente apropriado ou mistura de solventes, por exemplo, um álcool, tal como metanol ou etanol, em temperaturas, por exemplo, de 0 a 50° C, para o composto correspondente de fórmula III onde A é C(=O)-N(R5) e R6 é hidrogênio – o ultimo pode então, se desejado, ser convertido a alquila não substituída ou substituída R6 por alquilação com um halogeneto apropriado de fórmula

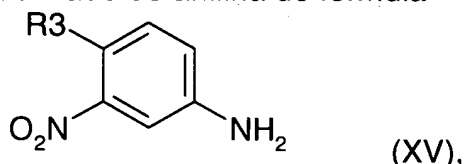


- 15 onde R6 é alquila não substituída ou substituída e Hal é halo, especialmente bromo ou iodo, sob condições de alquilação usuais.

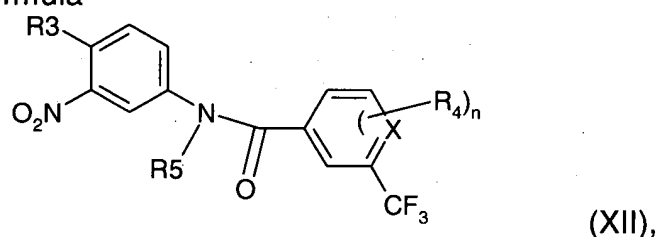
Um derivado de anilina de fórmula III onde A é N(R5)-C(=O) pode preferencialmente ser obtido reagindo um ácido carbônico de fórmula



ou um derivado reativo desse, onde R4 e n são definidos para um composto de fórmula I, com um derivado de anilina de fórmula



onde R3 é como definido para um composto de fórmula I, para obter um composto de fórmula



- 5 onde R3, R4, R5 e n são como definidos para um composto de fórmula I, que é reduzido, por exemplo, por hidrogenação catalítica, por exemplo, na presença de Raney-Ni em um solvente apropriado ou mistura de solventes, por exemplo, um álcool, tal como metanol ou etanol, em temperaturas, por exemplo, de 0 a 50° C, para o composto correspondente de fórmula III onde
- 10 A é N(R5)-C(=O) e R6 é hidrogênio – o ultimo pode então, se desejado, ser convertido a alquila não substituída ou substituída R6 por alquilação com um halogeneto apropriado de fórmula



onde R6 é alquila não substituída ou substituída e Hal é halo, especialmente bromo ou iodo, sob condições de alquilação usuais.

- 15 A reação de um ácido carbônico de fórmula X ou XIV, respectivamente, ou um derivado reativo desse, preferencialmente acontece com um ácido carbônico reativo que pode ser usado como tal, por exemplo, com um derivado de ácido carbônico reativo na forma de um anidrido simétrico ou misturado, um éster ativo ou um haleto de ácido carbônico, por exemplo, o
- 20 cloreto ácido, por exemplo, na presença de uma base de nitrogênio terciário, tal como um tri-alquilamina inferior ou piridina, ou formado localmente, por

exemplo, por condensação na presença de reagentes que formam ésteres reativos localmente. A reação é, por exemplo, executada dissolvendo os ácidos carbônicos e a amina correspondente em um solvente adequado, por exemplo, um hidrocarboneto halogenado, tal como cloreto de metileno, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona, cloreto de metileno, ou uma mistura de dois ou mais tais solventes, e pela adição de uma base adequada, por exemplo, trietilamina, diisopropiletilamina (DIEA) ou *N*-metilmorfolina e, se o derivado reativo do ácido de fórmula II é formado localmente, um agente de acoplamento adequado que forma um derivado reativo preferencial do ácido carbônico de fórmula III localmente, por exemplo, diciclohexilcarbodiimida/1-hidroxibenzotriazol (DCC/HOBT); bi(2-oxo-3-oxazolidinil)cloreto fosfínico (BOPCl); *O*-(1,2-dihidro-2-oxo-1-piridil)-*N,N,N',N'*-tetrametilurônio tetrafluoroborato (TPTU); *O*-benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurônio tetrafluoroborato (TBTU); (benzotriazol-1-iloxi)-tripirrolidinofosfônio-hexafluorofosfato (PyBOP), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida hidrocloreto/hidroxibenzotriazol ou/1-hidrox-7-azabenzotriazol (EDC/HOBT ou EDC/HOAt) ou HOAt sozinho, ou com (1-cloro-2-metil-propenil)-dimetilamina. Para revisão de alguns outros agentes de acoplamento possíveis, ver, por exemplo, Klauser; Bodansky, *Synthesis* 1972, 453-463. A mistura de reação é preferencialmente agitada em uma temperatura entre aproximadamente -20° e 50° C, especialmente entre 0° C e 30° C, por exemplo, em temperatura ambiente. A reação é preferencialmente executada sob um gás inerte, por exemplo, nitrogênio ou argônio.

Alternativamente, ao invés dos nitrocompostos de fórmulas X ou XV, os amino compostos correspondentes (com amino ao invés do nitro) podem ser usados nos quais o grupo amino é protegido, o qual pode ser então desprotegido para obter um composto de fórmula III.

Os compostos de fórmula IV, os compostos de fórmula VII, os compostos de fórmula IX, os compostos de fórmula X, os compostos de fórmula XI, os compostos de fórmula XIII, os compostos de fórmula XIV e os compostos de fórmula XV bem como outros materiais de partida são conhecidos na técnica, comercialmente disponíveis e/ou podem ser preparados de

acordo com procedimentos padrão, por exemplo, em analogia a ou por métodos descritos nos Exemplos.

Condições de Processo Geral

- 5 O seguinte se aplica em geral a todos os processos mencionados aqui, enquanto as condições de reação especificamente mencionadas acima ou abaixo são preferenciais:

Em quaisquer das reações mencionadas aqui, os grupos de proteção podem ser usados onde apropriado ou desejado, mesmo se isso não é especificamente mencionado, para proteger grupos funcionais que não pretendem tomar parte em uma dada reação, e eles podem ser introduzidos e/ou removidos em estágios apropriados ou desejados. As reações compreendendo o uso de grupos de proteção são, portanto, incluídas à medida que possível sempre que as reações sem menção específica de proteção e/ou desproteção são descritas nesta especificação.

- 15 No escopo desta descrição somente um grupo prontamente removível que não é um constituinte do produto final desejado particular de fórmula I é designado um "grupo de proteção", a menos que o contexto indique de outra forma. A proteção de grupos funcionais por tais grupos de proteção, os próprios grupos de proteção, e as reações apropriadas para sua remoção são descritos, por exemplo, em trabalhos de referência padrão, tal como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London e New York 1973, em T. W. Greene e P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Terceira edição, Wiley, New York 1999, em "The Peptides"; Volume 3 (editores: E. Gross e J. Meienhofer), Academic Press, London e New York 1981, em "Methoden der organischen Chemie" (25 *Methods of Organic Chemistry*), Houben Weyl, 4ª edição, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, em H.-D. Jakubke e H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (*Amino acids, Peptides, Proteins*), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, e Basel 1982, e em Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (*Chemistry of Carbo-* 30 *hydrates: Monosaccharides and Derivatives*), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Uma característica de grupos de proteção é que eles podem ser re-

movidos prontamente (isto é, sem a ocorrência de reações secundárias indesejadas), por exemplo, por solvólise, redução, fotólise ou alternativamente sob condições fisiológicas (por exemplo, clivagem enzimática).

Todas as etapas de processo mencionadas acima podem ser executadas sob condições de reação que são conhecidas por elas mesmas, preferencialmente aquelas mencionadas especificamente, na ausência ou, usualmente, na presença de solventes ou diluentes, preferencialmente solventes ou diluentes que são inertes em direção aos reagentes usados e os dissolve, na ausência ou presença de catalisadores, agentes de condensação ou de neutralização, por exemplo, trocadores de íons, tal como trocadores de cátions, por exemplo, na forma H^+ , dependendo da natureza da reação e/ou dos reagentes em temperatura reduzida, normal ou elevada, por exemplo, em uma faixa de temperatura de aproximadamente $-100^\circ C$ a aproximadamente $190^\circ C$, preferencialmente de aproximadamente $-80^\circ C$ a aproximadamente $150^\circ C$, por exemplo, de $-80^\circ C$ a $-60^\circ C$, em temperatura ambiente, de -20 a $40^\circ C$ ou em temperatura de refluxo, sob pressão atmosférica ou em um vaso fechado, onde sob pressão apropriada, e/ou em uma atmosfera inerte, por exemplo, sob uma atmosfera de argônio ou nitrogênio.

Os solventes a partir dos quais aqueles solventes que são adequados para qualquer reação particular que pode ser selecionada incluem aqueles mencionados especificamente ou, por exemplo, água, ésteres, tal como alquila inferior-alcanoatos inferiores, por exemplo, etil acetato, éteres, tal como éteres alifáticos, por exemplo, dietil éter, ou éteres cíclicos, por exemplo, tetraidrofurano ou dioxano, hidrocarbonetos aromáticos líquidos, tal como benzeno ou tolueno, álcoois, tal como metanol, etanol ou 1- ou 2-propanol, nitrilas, tal como acetonitrila, hidrocarbonetos halogenados, por exemplo, cloreto de metileno ou clorofórmio, amidas ácidas, tal como dimetilformamida ou dimetil acetamida, bases, tais como bases de nitrogênio heterocíclico, por exemplo, piridina ou N-metilpirrolidin-2-ona, anidridos de ácido carboxílico, tal como anidridos de ácido alcanóico inferior, por exemplo, anidrido acético, hidrocarbonetos cíclicos, lineares ou ramificados, tal como ciclohexano, hexano ou isopentano, ou misturas desses, por exemplo, solu-

ções aquosas, a menos que de outra forma indicado na descrição dos processos. Tais misturas de solventes podem também ser usadas trabalhando, por exemplo, por cromatografia ou partição.

- 5 A invenção refere-se também àquelas formas do processo no qual um composto obtido como intermediário em qualquer estágio do processo é usado como um material de partida e as etapas de processo restantes são executadas, ou no qual um material de partida é formado sob as condições de reação ou é usado na forma de um derivado, por exemplo, na forma protegida ou na forma de um sal, ou um composto obtido pelo processo de acordo com a invenção é produzido sob as condições de processo e processado adicionalmente localmente. No processo da presente invenção, aqueles materiais de partida são preferencialmente usados, os quais resultam em compostos de fórmula I descritos como sendo preferenciais. A invenção também se refere a novos intermediários e/ou materiais de partida.
- 10
- 15 Preferência especial é dada a condições de reação que são idênticas ou análogas àquelas descritas nos Exemplos.

Modalidades Preferenciais de acordo com a invenção:

- Nas modalidades preferenciais bem como nas modalidades anteriores e seguintes de escopo mais geral, também nas reivindicações, qualquer uma ou mais expressões gerais ou todas essas podem ser substituídas pelas definições mais específicas correspondentes fornecidas acima e abaixo, assim resultando em modalidades preferenciais mais fortes da invenção.
- 20

- A invenção refere-se especialmente a um composto de fórmula I, ou um sal desse, como definido nas reivindicações, mais preferencialmente as reivindicações de composto/sal dependente.
- 25

- A invenção também especialmente se refere a uma preparação farmacêutica compreendendo um composto de fórmula I, ou um sal farmacêuticamente aceitável desse, de acordo com a reivindicação de composto/sal principal ou uma reivindicação de composto/sal dependente e pelo menos um carreador farmacêuticamente aceitável.
- 30

A invenção também preferencialmente se refere a um composto de fórmula I, ou um sal desse, de acordo com a reivindicação de compos-

to/sal principal ou uma reivindicação de composto/sal dependente para uso no tratamento diagnóstico ou terapêutico do corpo animal ou humano, especialmente no tratamento como definido aqui ou nas reivindicações.

5 A invenção também se refere a outras modalidades considerando os usos e métodos mencionados nas reivindicações, onde as reivindicações dependentes descrevem modalidades preferenciais.

Todas as reivindicações são, portanto, incluídas por referência aqui.

10 A invenção refere-se especialmente a um composto de fórmula I dada nos Exemplos, ou um sal farmaceuticamente aceitável desse, ou seu uso de acordo com a invenção, bem como os processos e novos materiais de partida e intermediários mencionados nos Exemplos.

Composições Farmacêuticas

15 A invenção refere-se também a composições farmacêuticas compreendendo um composto (preferencialmente novo) de fórmula I, a seu uso no tratamento terapêutico (em um aspecto mais amplo da invenção, também profilático) ou um método de tratamento de uma doença ou desordem que depende da atividade inadequada de proteína (especialmente tirosina) quinase, especialmente as desordens ou doenças preferenciais mencionadas acima, aos compostos para o dito uso e a preparações farmacêuticas e sua fabricação, especialmente para os ditos usos. Mais geralmente, as preparações farmacêuticas são úteis no caso de compostos de fórmula I.

20

Os compostos farmacologicamente aceitáveis da presente invenção podem estar presentes ou empregados, por exemplo, para a preparação de composições farmacêuticas que compreendem uma quantidade efetiva de um composto de fórmula I, ou um sal farmaceuticamente aceitável desse, como ingrediente ativo junto ou em mistura com um ou mais carreadores farmaceuticamente aceitáveis (materiais carreadores) sólidos ou líquidos, inorgânicos ou orgânicos.

25

30 A invenção refere-se também a uma composição farmacêutica que é adequada para administração a um animal de sangue quente, especialmente um humano (ou a células ou linhagens de células derivadas de um

animal de sangue quente, especialmente um humano, por exemplo, linfócitos), para o tratamento (em um aspecto mais amplo da invenção, também incluindo a prevenção de (= profilaxia contra)) uma doença que responde à inibição da atividade de proteína (especialmente tirosina) quinase, compreendendo uma quantidade de um composto de fórmula I ou um sal farmacologicamente aceitável desse, preferencialmente que é efetiva para a dita inibição, junto com pelo menos um carreador farmacologicamente aceitável.

As composições farmacêuticas de acordo com a invenção são aquelas para administração enteral, tal como nasal, retal, ou oral, ou parenteral, tal como intramuscular ou intravenosa, a animais de sangue quente (especialmente um humano), que compreende uma dose efetiva do ingrediente farmacologicamente ativo, sozinho ou junto com uma quantidade significativa de um carreador farmacologicamente aceitável. A dose do ingrediente ativo depende das espécies de animal de sangue quente, o peso corporal, a idade e a condição do indivíduo, dados fármaco-cinéticos, a doença a ser tratada e o modo de administração.

A invenção refere-se também ao método de tratamento para uma doença que responde à inibição de uma doença que depende da atividade inadequada de uma proteína (principalmente tirosina) quinase; que compreende administrar uma quantidade profilaticamente efetiva ou especialmente terapeuticamente efetiva de um composto de fórmula I, ou um sal farmacologicamente aceitável desse, especialmente a um animal de sangue quente, por exemplo, um humano, que, em conta de uma das doenças mencionadas, exige tal tratamento.

A dose de um composto de fórmula I ou um sal farmacologicamente aceitável desse a ser administrada a animais de sangue quente, por exemplo, humanos de aproximadamente 70 kg de peso corporal, preferencialmente de aproximadamente 3 mg a aproximadamente 10 g, mais preferencialmente de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1,5 g, mais preferencialmente de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1000 mg/pessoa/dia, dividido preferencialmente em 1-3 doses únicas que podem, por exemplo, ser do mesmo tamanho. Usualmente as crianças recebem me-

tade da dose adulta.

As composições farmacêuticas compreendem de aproximadamente 1% a aproximadamente 95%, preferencialmente de aproximadamente 20% a aproximadamente 90% de ingrediente ativo. As composições farmacêuticas de acordo com a invenção podem ser, por exemplo, na forma de dose única, tal como na forma de ampolas, frascos, supositórios, drágeas, tabletes ou cápsulas.

As composições farmacêuticas da presente invenção são preparadas de uma maneira conhecida por si mesma, por exemplo, por meio de processos convencionais de dissolução, liofilização, mistura, granulação, ou confecção.

As soluções do ingrediente ativo, e também suspensões, e especialmente soluções ou suspensões aquosas isotônicas, são preferencialmente usadas, quando possível, por exemplo, no caso de composições liofilizadas que compreendem o ingrediente ativo sozinho ou junto com um carreador, por exemplo, manitol, para tais soluções ou suspensões a serem produzidas antes do uso. As composições farmacêuticas podem ser esterilizadas e/ou podem compreender excipientes, por exemplo, agentes preservantes, estabilizantes, de molhagem e/ou emulsificantes, solubilizantes, sais para regular a pressão osmótica e/ou tampões, e são preparadas de uma maneira conhecida por ela mesma, por exemplo, por meio de processos convencionais de dissolução ou liofilização. As ditas soluções ou suspensões podem compreender substâncias de aumento de viscosidade, tal como carboximetilcelulose de sódio, carboximetilcelulose, dextrano, polivinilpirrolidina ou gelatina.

As suspensões em óleo compreendem como o componente de óleo os

Óleos vegetais, sintéticos ou semi-sintéticos comuns para propósitos de injeção. Podem ser mencionados como tais óleos, especialmente ésteres de ácido graxo líquido que contêm como o componente ácido um ácido graxo de cadeia longa tendo 8-22, especialmente 12-22 átomos de carbono, por exemplo, ácido láurico, ácido tridecílico, ácido mirístico, ácido

pentadecílico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behênico ou ácidos insaturados correspondentes, por exemplo, ácido oléico, ácido elaídico, ácido erúcico, ácido brassídico ou ácido linoléico, se desejado com a adição de antioxidantes, por exemplo, vitamina E, β -caroteno ou 3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxitolueno. O componente de álcool daqueles ésteres de ácido graxo tem um máximo de 6 átomos de carbono e é um mono-, poli-hidroxi, por exemplo, um mono-, di-, ou tri-hidroxi, álcool, por exemplo, metanol, etanol, propanol, butanol ou pentanol ou os isômeros desses, mas especialmente glicol e glicerol. Os seguintes exemplos de ésteres de ácido graxo são, portanto, mencionados: etil oleato, isopropil miristato, isopropil palmitato, "Labrafil M 2375" (polioxietileno glicerol trioleati, Gattefossé, Paris), "Miglyol 812" (triglicerídeo de ácidos graxos saturados com um comprimento de cadeia de C8 a C12, Hüls AG, Germany), mas especialmente óleos vegetais, tal como óleo de caroço de algodão, óleo de amêndoa, óleo de oliva, óleo de rícino, óleo de gergelim, óleo de soja e óleo de amendoim.

As composições de injeção ou de infusão são preparadas da maneira usual sob condições estéreis; o mesmo se aplica também à introdução das composições em ampolas ou frascos e vedação dos recipientes.

As composições farmacêuticas para administração oral podem ser obtidas combinando-se o ingrediente ativo com carreadores sólidos, se desejado granulando uma mistura resultante, e processando a mistura, se desejado ou necessário, depois da adição de excipientes apropriados, em tabletes, núcleos de drágeas ou cápsulas. É também possível que elas sejam incorporadas em carreadores plásticos que permitam que os ingredientes ativos difundam ou sejam liberados em quantidades medidas.

Os carreadores adequados são especialmente materiais de carga, tal como açúcares, por exemplo, lactose, sacarose, manitol ou sorbitol, preparações de celulose e/ou fosfatos de cálcio, por exemplo, tri-fosfato de cálcio ou fosfato de hidrogênio e cálcio, e ligantes, tal como pastas de amido, usando, por exemplo, amido de milho, de trigo, de arroz ou de batata, gelatina, tragacanto, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilce-

lulose de sódio e/ou polivinilpirrolidona, e/ou, se desejado, desintegradores, tal como os amidos mencionados acima, e/ou carboximetil amido, polivinilpirrolidona reticulada, ágar, ácido algínico ou um sal desse, tal como alginato de sódio. Os excipientes são especialmente condicionadores de fluxo e lubrificantes, por exemplo, ácido silícico, talco, ácido esteárico ou sais desse, tal como estearato de magnésio ou de cálcio, e/ou polietileno glicol. Os núcleos de drágeas são fornecidos com revestimentos adequados, opcionalmente entéricos, sendo usadas, entre outras, soluções de açúcar concentradas que podem compreender goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, polietileno glicol e/ou dióxido de titânio, ou soluções de revestimento em solventes orgânicos adequados, ou, para a preparação de revestimentos entéricos, soluções de preparações de celulose adequadas, tal como ftalato de etilcelulose ou ftalato de hidroxipropilmetilcelulose. As cápsulas são cápsulas preenchidas a seco feitas de gelatina e cápsulas moles seladas feitas de gelatina e um plastificante, tal como glicerol ou sorbitol. As cápsulas preenchidas a seco podem compreender o ingrediente ativo na forma de grânulos, por exemplo, com cargas, tal como lactose, ligantes, tal como amidos, e/ou glidantes, tal como talco ou estearato de magnésio, e se desejado com estabilizantes. Em cápsulas moles, o ingrediente ativo é preferencialmente dissolvido ou suspenso em excipiente oleoso adequado, tal como óleos graxos, óleo de parafina ou polietileno glicóis líquidos, sendo possível também que estabilizantes e/ou agentes antibacterianos sejam adicionados. Corantes ou pigmentos podem ser adicionados aos revestimentos de tabletes ou drágeas ou aos invólucros de cápsulas, por exemplo, para propósitos de identificação ou para indicar diferentes doses de ingrediente ativo.

Um composto de fórmula I pode também ser usado em vantagem em combinação com outros agentes biologicamente ativos, preferencialmente com outros agentes antiproliferativos. Tais agentes antiproliferativos incluem, mas não estão limitados a inibidores de aromatase; antiestrogênios; inibidores de topoisomerase I; inibidores de topoisomerase II; agentes ativos de microtúbulos; agentes alquilantes; inibidores de histona deacetilase; compostos que induzem processos de diferenciação celular; inibidores de

ciclooxigenase; inibidores MMP; inibidores mTOR; antimetabólitos antineoplásicos; compostos de platina; compostos programando/diminuindo a atividade de proteína ou lipídeo quinase e compostos anti-angiogênicos adicionais; compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de uma
 5 proteína ou lipídeo fosfatase; agonistas de gonadorelina; antiandrógenos; inibidores de metionina aminopeptidase; bifosfonatos; modificadores de resposta biológica; anticorpos antiproliferativos; inibidores de heparanase; inibidores de isoformas oncogênicas Ras; inibidores de telomerase; inibidores de proteassoma; agentes usados no tratamento de malignidades hematológicas;
 10 cas; compostos que programam, diminuem, ou inibem a atividade de Flt-3; inibidores de Hsp90; e temozolomida (TEMODAL®).

O termo "inibidor de aromatase" como usado aqui se refere a um composto que inibe a produção de estrogênio, isto é, a conversão dos substratos androstenediona e testosterona em estrona e estradiol, respectiva-
 15 mente. O termo inclui, mas não está limitado a esteróides, especialmente atamestano, exemestano e formestano e, em particular, não esteróides, especialmente aminoglutetimida, rogletimida, piridoglutetimida, trilostana, testolactona, quetoconazol, vorozol, fadrozol, anastrozol e letrozol. O exemestano pode ser administrado, por exemplo, na forma em que ele é comercializado,
 20 por exemplo, sob a marca AROMASIN. O formestano pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca LENTARON. O fadrozol pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca AFEMA. O anastrozol pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por e-
 25 xemplo, sob a marca ARIMIDEX. O letrozol pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca FEMARA ou FEMAR. A aminoglutetimida pode ser administrada, por exemplo, na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca ORIMETEN. Uma combinação da invenção compreendendo um agente quimioterápico
 30 que é um inibidor de aromatase é particularmente útil para o tratamento de tumores positivos receptores de hormônio, por exemplo, tumores de seio.

O termo "antiestrogênio" como usado aqui se refere a um com-

posto que antagoniza o efeito de estrogênios no nível de receptor de estrogênio. O termo inclui, mas não está limitado a tamoxifeno, fulvestrante, raloxifeno e hidrocloreto de raloxifeno. O tamoxifeno pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca NOLVADEX. O hidrocloreto de raloxifeno pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca EVISTA. O fulvestrante pode ser formulado como descrito em US 4,659,516 ou pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca FASLODEX. Uma combinação da invenção compreendendo um agente quimioterapêutico que é um antiestrogênio é particularmente útil para o tratamento de tumores positivos receptores de estrogênio, por exemplo, tumores no seio.

O termo "antiandrogênio" como usado aqui se refere a qualquer substância que é capaz de inibir os efeitos biológicos de hormônios androgênicos e inclui, mas não está limitado a, bicalutamida (CASODEX), que pode ser formulada, por exemplo, como descrito em US 4,636,505.

O termo "antagonista de gonadorelina" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, abarelix, goserelina e acetato de goserelina. A goserelina é descrita em US 4,100,274 e pode ser administrada, por exemplo, na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca ZOLADEX. Abarelix pode ser formulado, por exemplo, como descrito em US 5,843,901.

O termo "inibidor de topoisomerase I" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, topotecano, gimatecano, irinotecano, camptotecina e seus análogos, 9-nitrocampotecina e conjugado de camptotecina macromolecular PNU-166148 (composto A1 em WO99/17804). O irinotecano pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca CAMPTOSAR. O topotecano pode ser administrado, por exemplo, na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca HYCAMTIN.

O termo "inibidor de topoisomerase II" como usado aqui inclui, mas não está limitado às antraciclina tal como doxorubicina (incluindo formulação lipossômica, por exemplo, CAELYX), daunorrubicina, epirubicina,

idarrubicina e nemorrubicina, as antraquinonas mitoxantrona e losoxantrona, e as podofilotoxinas etoposido e teniposido. O etoposido pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca ETO-POPPOS. O teniposido pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca VM 26-BRISTOL. A doxorubicina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca ADRIBLASTIN ou ADRIAMYCIN. A epirubicina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca FARMORUBICIN. A idarrubicina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca ZAVEDOS. A mitoxantrona pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca NOVANTRON.

O termo "agente ativo de microtúbulo" refere-se a agentes estabilizantes de microtúbulo, desestabilizantes de microtúbulo e inibidores de polimerização de microtubulina incluindo, mas não limitados a taxanas, por exemplo, paclitaxel e docetaxel, alcalóides da vinca, por exemplo, vimblastina, especialmente sulfato de vimblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, e vinorelbina, discodermolidas, colquicina e epotilonas e derivados dessas, por exemplo, epotilona B ou um derivado dessa. O paclitaxel pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, TAXOL. O docetaxel pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca TAXOTERE. O sulfato de vimblastina pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca VINBLASTIN R.P. O sulfato de vincristina pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca FARMISTIN. A discodermolida pode ser obtida, por exemplo, descrito em US 5,010,099. Também incluídos estão derivados de Epotilona que são descritos em WO 98/10121, US 6,194,181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 e WO 00/31247. Especialmente preferenciais são Epotilona A e/ou B.

O termo "agente de alquilação" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalano ou nitrosouréia (BCNU ou Gliadel). A ciclofosfamida pode ser administrada na forma em que é co-

mercializada, por exemplo, sob a marca CYCLOSTIN. A ifosfamida pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca HOLOXAN.

O termo "inibidores de histona deacetilase" ou "inibidores HDAC" refere-se a compostos que inibem a histona deacetilase e que possuem atividade antiproliferativo. Isso inclui compostos descritos em WO 02/22577, especialmente N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-hidroxietil)[2-(1H-indol-3-il)etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, N-hidroxi-3-[4-[[[2-(2-metil-1H-indol-3-il)-etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida e sais farmaceuticamente aceitáveis desses. Ele especialmente inclui ácido suberoilanolida hidroxâmico (SAHA).

O termo "antimetabólito antineoplásico" inclui, mas não está limitado a, 5-fluorouracil (5-FU); capecitabina; gencitabina; agentes de demetilação do DNA, tal como 5-azacitidina e decitabina; metotrexato; edatrexato; e antagonistas de ácido fólico tal como pemetrexede. A capecitabina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca XELODA. A gencitabina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca GEMZAR. Também incluído está o anticorpo monoclonal trastuzumabe que pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca HERCEPTIN.

O termo "composto de platina" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, carboplatina, cisplatina, cisplatino e oxaliplatina. A carboplatina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca CARBOPLAT. A oxaliplatina pode ser administrada na forma em que é comercializada, por exemplo, sob a marca ELOXATIN.

O termo "compostos programando/diminuindo a atividade de uma proteína ou lipídeo quinase e compostos anti-angiogênicos adicionais" como usado aqui inclui, mas não está limitado a: inibidores de proteína tirosina quinase e/ou serina e/ou treonina quinase ou inibidores de lipídeo quinase, por exemplo:

a) compostos programando, diminuindo ou inibindo a atividade dos receptores de fator de crescimento derivados de plaquetas (PDGFR), tal

como compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de PDGFR, especialmente compostos que inibem o receptor PDGF, por exemplo, derivados de N-fenil-2-pirimidina-amina, por exemplo, imatinibe, SU101, SU6668, e GFB-111;

5 b) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade dos receptores de fator de crescimento de fibroblasto (FGFR);

 c) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade do receptor de fator de crescimento I como insulina (IGF-IR), especialmente compostos que inibem o IGF-IR, tal como aqueles compostos descritos em
10 WO 02/092599;

 d) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade da família receptor tirosina quinase Trk;

 e) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade da família receptor tirosina quinase Axl;

15 f) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade do receptor c-Met;

 g) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade do receptor tirosina quinase c-Kit – (parte da família PDGFR), tal como compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade da família receptor
20 tirosina quinase c-Kit, especialmente compostos que inibem o receptor c-Kit, por exemplo, imatinibe;

 h) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de membros da família c-Abl e seus produtos de fusão de gene (por exemplo, quinase BCR-Abl), tal como compostos que programam, diminuem ou
25 inibem a atividade de membros da família c-Abl e seus produtos de fusão de gene, por exemplo, um derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, por exemplo, imatinibe; PD180970; AG957; NSC 680410; ou PD173955 de ParkeDavis;

 i) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de membros da proteína quinase C (PKC) e família Raf de serina/treonina
30 quinase, membros da família MEK, SRC, JAK, FAK, PDK e Ras/MAPK, ou família PI(3) quinase, ou da família de quinase relacionada a quinase PI(3), e/ou membros da família de quinase dependente de ciclina (CDK) e são es-

pecialmente aqueles derivados de estaurosporina descritos em US 5.093.330, por exemplo, midostaurina; exemplos de compostos adicionais incluem, por exemplo, UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Briostatina 1, Perifosina; Ilmofosina; RO 318220 e RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196; compostos de isoquinolina tais como aqueles descritos em WO 00/09495; FTIs; PD184352 ou QAN697 (um inibidor de P13K);

j) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de uma proteína tirosina quinase, tal como mesilato de imatinibe (GLIVEC/GLEEVEC) ou tirfostina. A tirfostina é preferencialmente um composto de baixo peso molecular ($M_r < 1500$), ou um sal farmaceuticamente aceitável desse, especialmente um composto selecionado dentre a classe benzilidenomalonitrilo ou a classe de compostos S-arilbenzenomalonitrilo ou bi-substrato quinolina, mais especialmente qualquer composto selecionado a partir do grupo que consiste de Tirfostina A23/RG-50810; AG 99; Tirfostina AG 213; Tirfostina AG 1748; Tirfostina AG 490; Tirfostina B44; enantiômero Tirfostina B44 (+); Tirfostina AG 555; AG 494; Tirfostina AG 556, AG957 e adafostina (4-[(2,5-dihidroxifenil)metil]amino)-éster adamantil de ácido benzóico; NSC 680410, adafostina); e

k) compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de família de receptor tirosina quinase de fator de crescimento epidérmico (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homo- ou heterodímeros), tal como compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade da família de receptor de fator de crescimento epidérmico são especialmente compostos, proteínas ou anticorpos que inibem membros da família de receptor tirosina quinase EGF, por exemplo, receptor EGF, ErbB2, ErbB3 e ErbB4 ou ligação a EGF ou ligantes relacionados a EGF, e são em particular aqueles compostos, proteínas ou anticorpos monoclonais genericamente e especificamente descritos em WO 97/02266, por exemplo, o composto do ex. 39, ou em EP 0 564 409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0 566 226, EP 0 787 722, EP 0 837 063, US 5,747,498, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 e, especialmente, WO 96/30347 (por exemplo, composto conhecido como CP 358774), WO 96/33980 (por exemplo, composto ZD 1839) e

WO 95/03283 (por exemplo, composto ZM105180); por exemplo, trastuzumabe (HerpetinR), cetuximabe, Iressa, erlotinibe (Tarceva™), CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 ou E7.6.3, e derivados de 7H-pirrólo-[2,3-d]pirimidina que são descritos em in WO 03/013541.

Os compostos anti-angiogênicos adicionais incluem compostos tendo um outro mecanismo para sua atividade, por exemplo, não relacionado à inibição de proteína quinase ou lipídeo quinase, por exemplo, talidomida (THALOMID) e TNP-470.

Os compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de uma proteína ou lipídeo fosfatase são, por exemplo, inibidores de fosfatase 1, fosfatase 2A, PTEN ou CDC25, por exemplo, ácido ocadaico ou um derivado desse.

Os compostos que induzem processos de diferenciação celular são, por exemplo, ácido retinóico, α - γ - ou δ -tocoferol ou α - γ - ou δ -tocotrienol.

O termo "inibidor de ciclooxigenase" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, por exemplo, inibidores de Cox-2, 5-alkil ácido 2-arilaminofenilacético substituído e derivados, tal como celecoxibe (CELEBREX), rofecoxibe (VIOXX), etoricoxibe, valdecoxibe ou um ácido 5-alkil-2-arilaminofenilacético, por exemplo, 5-metil-2-(2'-cloro-6'-fluoroanilino)fenil ácido acético, lumiracoxibe.

O termo "inibidores de mTOR" refere-se a compostos que inibem o alvo mamífero de rapamicina (mTOR) e que possuem atividade antiproliferativa tal como sirolimo (Rapamune®), everolimo (Certican™), CCI-779 e ABT578.

O termo "bifosfonatos" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, ácido etidrônico, clodrônico, tiludrônico, pamidrônico, alendrônico, ibandrônico, risedrônico e zoledrônico. O "Ácido Etidrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca D-DRONEL. O "ácido clodrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca BONEFOS. O "ácido tiludrônico"

pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca SKELID. O "ácido pamidrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca AREDIATM. O "ácido alendrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca FOSAMAX. O "ácido ibandrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca BONDRA-NAT. O "ácido risendrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca ACTONEL. O "ácido zolendrônico" pode ser administrado na forma em que é comercializado, por exemplo, sob a marca ZOMETA.

O termo "inibidor de heparanase" como usado aqui se refere a compostos que programam, diminuem ou inibem a degradação de sulfato de heparina. O termo inclui, mas não está limitado a, PI-88.

O termo "modificador de resposta biológica" como usado aqui se refere a uma linfoquina ou interferonas, por exemplo, interferona γ .

O termo "inibidor de isoformas oncogênicas Ras", por exemplo, H-Ras, K-Ras ou N-Ras, como usado aqui se refere a compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade oncogênica de Ras, por exemplo, um "inibidor de farnesil transferase", por exemplo, L-744832, DK8G557 ou R115777 (Zarnestra).

O termo "inibidor de telomerase" como usado aqui se refere a compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de telomerase. Os compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de telomerase são especialmente compostos que inibem o receptor telomerase, por exemplo, telomestatina.

O termo "inibidor de metionina aminopeptidase" como usado aqui se refere a compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de metionina aminopeptidase. Os compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de metionina aminopeptidase são, por exemplo, bengamida ou um derivado dessa.

O termo "inibidor de proteassoma" como usado aqui se refere a compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de proteasso-

ma. Os compostos que programam, diminuem ou inibem a atividade de proteassoma incluem, por exemplo, PS-341 e MLN 341.

5 O termo "inibidor de matriz metaloproteinase" ou "inibidor de MMP" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, inibidores peptidomiméticos e não peptidomiméticos de colágeno, derivados de tetraciclina, por exemplo, inibidor peptidomimético de hidroxamato batimastate e seu análogo oralmente biodisponível marimastate (BB-2516), prinomastate (AG3340), metastate (NSC 683551), BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211, MMI270B ou AAJ996.

10 O termo "agentes usados no tratamento de malignidades hematológicas" como usado aqui inclui, mas não está limitado a inibidores de tirosina quinase tipo FMS, por exemplo, compostos que programam, diminuem, ou inibem a atividade de Flt-3; interferona, 1-b-D-arabinofuransilcitosina (arac) e bisulfano; e inibidores de ALK, por exemplo, compostos que programam, diminuem, ou inibem a quinase do linfoma anaplásico.

O termo "compostos que programam, diminuem, ou inibem a atividade de Flt-3" é especialmente compostos, proteínas ou anticorpos que inibem Flt-3, por exemplo, PKC412, midostaurina, um derivado de estaurosporina, SU11248 e MLN518.

20 O termo "inibidores de HSP90" como usado aqui inclui, mas não está limitado a, compostos que programam, diminuem, ou inibem a atividade ATPase intrínseca de HSP90; degradam, programam, diminuem, ou inibem as proteínas clientes HSP90 via a ubiquitina-proteassoma. Os compostos que programam, diminuem, ou inibem a atividade ATPase intrínseca de HSP90 são especialmente compostos, proteínas ou anticorpos que inibem a atividade ATPase intrínseca de HSP90, por exemplo, 17-alilamino,17-demetoxigeldanamicina (17AAG), um derivado de geldanamicina; outros compostos relacionados à geldanamicina; inibidores de radicicol e HDAC.

30 O termo "anticorpos antiproliferativos" como usado aqui inclui, mas não está limitado a trastuzumabe (Herceptin™), Trastuzumabe-DM1, bevacizumabe (Avastin™), rituximabe (Rituxan®), PRO64553 (anti-CD40) e Anticorpo 2C4. Por anticorpos entende-se, por exemplo, anticorpos mono-

clonais intactos, anticorpos policlonais, anticorpos multiespecíficos formados de pelo menos 2 anticorpos intactos, e fragmentos de anticorpos contanto que eles exibam a atividade biológica desejada.

Para o tratamento de leucemia mielóide aguda (AML), os compostos de fórmula I podem ser usados em combinação com terapias de leucemia padrão, especialmente em combinação com terapias usadas para o tratamento de AML. Em particular, os compostos de fórmula I podem ser administrados em combinação com, por exemplo, inibidores de farnesil transferase e/ou outros fármacos úteis para o tratamento de AML, tal como Daunorrubicina, Adriamicina, Ara-C, VP-16, Teniposido, Mitoxantrona, Idarubicina, Carboplatino e PKC412.

A estrutura dos agentes ativos identificada por n^{os}. de código, nomes genéricos ou marcas pode ser obtida pela edição real do compêndio padrão "The Merck Index" ou a partir de bancos de dados, por exemplo, Patents International (por exemplo, IMS World Publications).

Os compostos mencionados acima, que podem ser usados em combinação com um composto de fórmula I, podem ser preparados e administrados como descrito na técnica tal como nos documentos citados acima.

Um composto de fórmula I pode também ser usado para tirar vantagem na combinação com processos terapêuticos conhecidos, por exemplo, a administração de hormônios ou especialmente radiação.

Um composto de fórmula I pode, em particular, ser usado como um radiosensibilizador, especialmente para o tratamento de tumores que exibem sensibilidade pobre à radioterapia.

Por "combinação", significa ou uma combinação fixa na forma de uma dosagem única, ou um kit de partes para a administração combinada onde um composto de fórmula I e um parceiro de combinação podem ser administrados independentemente ao mesmo tempo ou separadamente em intervalos de tempo que especialmente permitem que os parceiros de combinação mostrem um efeito cooperativo, por exemplo, sinérgico ou qualquer combinação desses.

Os seguintes exemplos ilustram a invenção sem limitação a seu

escopo.

As temperaturas são medidas em graus Celsius. A menos que de outra forma indicado, as reações acontecem em temperatura ambiente.

Os valores R_f em TLC indicam a relação da distância movida por cada substância com a distância movida pelo eluente anterior. Os valores R_f para TLC são medidos em placas TLC de 5 x 10 cm, gel de sílica F₂₅₄, Merck, Darmstadt, Alemanha; os sistemas de solventes são marcados nos exemplos como segue:

- * 10% metanol / 90% cloreto de metileno (CH_2Cl_2)
- ** 5% metanol / 95% cloreto de metileno
- *** 2% metanol / 98% cloreto de metileno
- † 100% metanol
- † 66% hexano / 33% etil acetato

Se não indicado de outra forma, as condições HPLC analíticas são como segue:

Coluna: Column Engineering, Inc., Matrix, 3 μm C18 150 x 4,6 mm (Lote # 205)

Deteção por absorção UV em 215 e 254 nm. A temperatura da coluna é 35° C e os tempos de retenção (t_R) são dados em minutos. Taxa de fluxo: 1 mL/min.

Gradiente: água (0,1% TFA)/acetonitrilo (0,1% TFA) = 98/2 para 1 min. Para 100% de acetonitrilo (0,1% TFA) em 10 min. Ficar em 100% por 2 min (tempo de execução total: 13 min.).

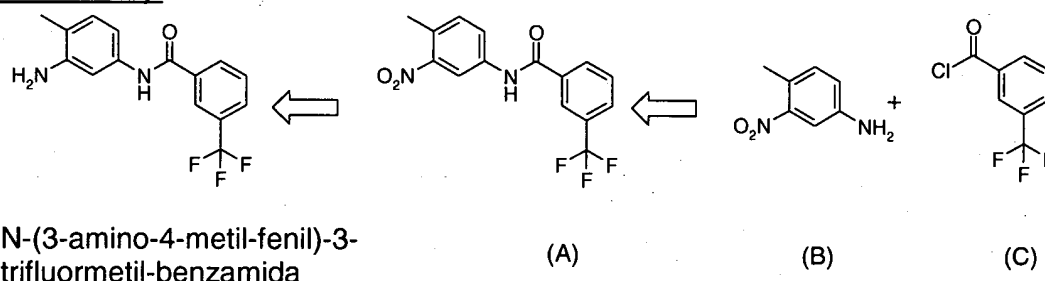
Abreviações:

- 25 HPLC Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
- Isolute Isolute[®] HM-N por International Solvent Technology Ltd., Reino Unido.
- mL mililitro(s)
- min minuto(s)
- 30 MS-ES espectrometria de massa por eletrospray
- R_f raio de frentes em TLC
- RT temperatura ambiente

- TFA ácido trifluoro acético
 THF tetraidrofurano
 TLC cromatografia de fina camada
 t_R tempo de retenção
 5 UV ultravioleta

Materiais de Partida

Procedimento Geral para a síntese de blocos de construção de anilina (na seguinte fórmula exemplificados por N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida):



- 10 O composto mostrado na esquerda acima, N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida, é obtido por hidrogenação do nitro composto correspondente (N-(4-metil-3-nitro-fenil)-3-trifluorometil-benzamida) com Raney-Níquel em metanol em temperatura ambiente. O produto é obtido em alto resultado. O nitro composto intermediário (A), N-(3-nitro-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida, é obtido por reação de 4-metil-3-nitro-fenilamina (B)
- 15 e cloreto de 3-trifluorometil-benzoyl (C) em metilencloreto em temperatura ambiente e usando trietilamina. O intermediário (A) é obtido em bom resultado.

- 20 As seguintes N-amino-fenil-benzamidas usadas nos exemplos abaixo são sintetizadas analogamente, usando os materiais de partida correspondentes apropriados:

- N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-metóxi-3-trifluorometil benzamida,
 N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-flúor-3-trifluorometil benzamida,
 N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-flúor-3-trifluorometil benzamida,
 25 N-(3-aminofenil)-3-trifluorometil benzamida,
 N-(3-amino-4-cloro-fenil)-3-trifluorometil benzamida,
 N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-

benzamida.

Os derivados de 3-amino-benzamida reversos correspondentes são sintetizados de acordo com o mesmo procedimento, mas usando os compostos comercialmente disponíveis apropriados correspondentes. Como

5 isso, os materiais de partida são sintetizados:

3-amino-4-metil-N-(3-trifluorometilfenil)-benzamida

3-amino-N-(4-metóxi-3-trifluorometilfenil)-4-metil-benzamida

3-amino-N-(3-trifluorometilfenil)-benzamida

3-amino-4-cloro-N-(3-trifluorometilfenil)-benzamida.

10 Exemplo 1: N-{4-Metil-3-[1-(4-morfolin-4-il-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

N-{3-[1-(4-Bromo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida (100 mg, 0,14 mmol), morfolina (38 µl, 0,44 mmol), e tert-butóxido de potássio (92 mg, 0,79 mmol) são adicionados a 5 mL de

15 THF anidro sob uma atmosfera de argônio. O catalisador paládio, complexo de cloreto de 2-(dimetilamino)-2-bifenilil-paládio(II) dinorbornil-fosfina (15 mg; 0,026 mmol; Fluka No. 36037), é adicionado e a mistura de reação é aquecida no forno de microondas a 120° C por 20 minutos. O solvente é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo, resultando no composto título como um sólido branco sujo. HPLC: t_R = 9,66 min. ; MS-ES: (M+H)⁺ = 574; TLC*: R_f = 0,70.

O material de partida é preparado como segue:

Etapa 1.1: N-{3-[1-(4-Bromo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

25 N-(3-Amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida (0,665 g, 2,26 mmol) e 1-(4-Bromo-fenil)-4-cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (1,0 g, 2,26 mmol) são aquecidos no forno de microondas a 150° C por 20 minutos em 10 ml de tert-butanol. O solvente é removido sob pressão reduzida e absorvido em Isolute. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo, resultando no composto título como um sólido branco. HPLC: t_R = 11,61 min; MS-ES+: (M+H)⁺ = 568; TLC*: R_f = 0,75.

Etapa 1.2: 1-(4-Bromo-fenil)-4-cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

1-(4-Bromo-fenil)-1,5-diidro-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (3,3 g, 11,5 mmol) é suspenso em oxicloreto de fósforo (21,7 ml, 230 mmol). A mistura de reação passa por refluxo por três horas. O excesso de fosforoxicloreto é evaporado sob pressão reduzida e o produto obtido é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido marrom. HPLC: t_R = 12,86 min; MS-ES+: (M+H)+ = 310.

Etapa 1.3: 1-(4-Bromo-fenil)-1,5-diidro-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona

ácido 5-Amino-1-(4-bromo-fenil)-1H-pirazol-4-carboxílico amida (4 g, 14 mmol) é aquecido com formamida (19,3 ml, 484 mmol) em 170° C por duas horas. A mistura de reação é resfriada em temperatura ambiente e o produto precipita. O produto é filtrado, lavado com água e seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido marrom. HPLC: t_R = 9,27 min; MS-ES+: (M+H)+ = 292.

Etapa 1.4: Ácido 5-Amino-1-(4-bromo-fenil)-1H-pirazol-4-carboxílico amida

5-Amino-1-(4-bromo-fenil)-1H-pirazol-4-carbonitrilo (18,3 g, 69,8 mmol) é lentamente adicionado a 93 ml de ácido sulfúrico concentrado (1680 mmol) para manter a temperatura entre 10 – 15° C. Depois de adição completa do material de partida, a mistura de reação é agitada por uma hora. Depois disso, a mistura é derramada em gelo/água e o pH é ajustado para pH 8. O precipitado formado é isolado por filtração e é seco em bomba de alto vácuo, resultando no composto título. HPLC: t_R = 7,91 min; MS-ES+: (M+H)+ = 282.

Exemplo 1.5: 5-Amino-1-(4-bromo-fenil)-1H-pirazol-4-carbonitrilo

A uma suspensão de hidrocloreto de 4-bromofenilidrazina (20 g, 89,5 mmol) (Aldrich) em etanol é adicionado trietilamina em gotas (13,1 ml, 94 mmol). A essa solução, etóxi metileno malononitrila (11 g, 89,5 mmol) (Aldrich) é adicionado em pequenas partes à medida que a reação é exotérmica. O produto precipita, é isolado por filtração, lavado com éter e é seco em bomba de alto vácuo, resultando no composto título. HPLC: t_R = 9,32 min; MS-ES+: (M+H)+ = 264.

Exemplo 2: N-(4-Metil-3-{1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-1H-pirazolo[3,4-

d]pirimidin-4-ilamino}-fenil)-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 é usado, exceto que N-metil-piperazina (Aldrich) é usado ao invés de morfolina. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 7,99$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 587$; TLC*: $R_f = 0,38$.

Exemplo 3: N-(3-{1-[4-(4-Dietilamino-piperidin-1-il)-fenil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 é usado, exceto que dietil-piperidin-4-il-amina (Fluorochem) é usado ao invés de morfolina. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,43$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 643$; TLC*: $R_f = 0,16$.

Exemplo 4: N-{3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento como descrito no exemplo 1, etapas 1.5 a 1.1 é usado, exceto que na etapa 1.5, hidrocloreto de 4-metóxfenilidrazina (Aldrich) é usado. Depois que da reação, o solvente é removido e o resíduo é purificado por cromatografia de coluna automatizada. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,35$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 519$; TLC*: $R_f = 0,21$.

Exemplo 5: 4-Metóxi-N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (preparado analogamente como descrito nos exemplos 1.5 a 1.1, mas usando hidrocloreto de 4-metóxfenilidrazina (Aldrich) ao invés de hidrocloreto de 4-bromofenilidrazina) e N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-metóxi-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,25$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 549$; TLC*: $R_f = 0,33$.

Exemplo 6: 4-flúor-N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-flúor-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,49$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 537$; TLC*: $R_f = 0,50$.

10 Exemplo 7: 3-flúor-N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-5-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-flúor-5-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,60$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 537$; TLC*: $R_f = 0,52$.

Exemplo 8: N-{3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-fenil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,71$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 505$; TLC*: $R_f = 0,50$.

25 Exemplo 9: N-{4-Cloro-3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-cloro-fenil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 11,13$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 539$; TLC*: $R_f = 0,55$.

Exemplo 10: N-{4-Metil-3-[1-(4-nitro-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapas 1.5 a 1.1 é usado, que na etapa 1.5, 4-nitrofenilidrazina (Fluka) é usada. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 11,39 min.; MS-ES: $(M+H)^+$ = 534; TLC^{**}: R_f = 0,64.

Exemplo 11: N-{3-[1-(4-Amino-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

N-{4-Metil-3-[1-(4-nitro-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida (Exemplo 10) é hidrogenado em metanol em temperatura ambiente usando Raney-Níquel como o catalisador. A mistura de reação é filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto é seco em bomba de alto vácuo e o composto título é obtido como um sólido branco-sujo. HPLC: t_R = 8,52 min.; MS-ES: $(M+H)^+$ = 504; TLC^{**}: R_f = 0,26.

Exemplo 12: Trimetil-(4-{4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-benzoilamino)-fenilamino]-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-fenil)-amônio • 2 TFA

N-{3-[1-(4-Amino-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida (Exemplo 11) é metilado usando metiliodeto em N,N-dimetilformamida e trietilamina. A reação é agitada por duas horas em 40° C e resfriada para temperatura ambiente. O produto é purificado por cromatografia de fase reversa automatizada e é isolado como o sal bi-trifluoroacetato correspondente. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,63 min.; MS-ES: $(M-2TFA)^+$ = 546.

Exemplo 13: 3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido

branco. HPLC: $t_R = 10,63$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 519$; TLC^{**}: $R_f = 0,42$.

Exemplo 14: 3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,36$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 549$; TLC^{**}: $R_f = 0,33$.

10 Exemplo 15: 3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 11,23$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 505$; TLC^{*}: $R_f = 0,67$.

Exemplo 16: 4-Cloro-3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

20 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-4-cloro-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 11,47$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 539$; TLC^{*}: $R_f = 0,78$.

Exemplo 17: N-[4-Metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapas 1.5 a 1.1 é usado, exceto que na etapa 1.5, hidrocloreto de metilidrazina (Aldrich) é usado ao invés de hidrocloreto de 4-bromofenilidrazina. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,87$ min; MS-ES⁺: $(M+H)^+ = 427$; TLC^{**}: $R_f = 0,26$.

Exemplo 18: 4-Metóxi-N-[4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-
5 fenil)-4-metóxi-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,88 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 457$; TLC^{**}: R_f = 0,24.

10 Exemplo 19: 4-Metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bom-
15 ba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 9,09 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 427$; TLC^{**}: R_f = 0,26.

Exemplo 20: N-(4-Metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-benzamida são usados em *tert.*-
20 butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,93 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 457$; TLC^{**}: R_f = 0,23.

25 Exemplo 21: N-[4-Metil-3-(1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapas 1.5 a 1.1 é usado, exceto que na etapa 1.5, hidrocloreto de metilidrazina é usado ao invés de hidrocloreto de 4-bromofenilidrazina e na etapa 1.3 ao invés de
30 ácido nicotínico formamida (ácido piridina-3-carboxílico; Aldrich) é aquecido em ácido polifosfórico (PPA) a 180° C por 2 horas e a reação é então arrefecida com água e o precipitado formado lavado e isolado por filtração.

De acordo com o exemplo 1 etapa 1.1, 4-cloro-1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina assim obtido e N-(3-Amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,17$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 504$; TLC**: $R_f = 0,22$.

Exemplo 22: 4-Metóxi-N-[4-metil-3-(1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4-cloro-1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-metóxi-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,18$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 534$; TLC**: $R_f = 0,39$.

Exemplo 23: 4-Metil-3-(1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4-cloro-1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,29$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 504$; TLC**: $R_f = 0,22$.

Exemplo 24: N-{4-Metil-3-[1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 etapas 1.5 a 1.1 é usado, exceto em que na etapa 1.5, hidrocloreto de metilidrazina e na etapa 1.3 ao invés de hidrocloreto de ácido formamida N-metilpiperidina-4-carboxílico (ABCR) é aquecido em ácido polifosfórico (PPA) a 180°C por 2 horas. A reação é arrefecida com água e o precipitado formado lavado e isolado por filtração. De acordo com o exemplo 1 etapa 1.1, 4-cloro-1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por

cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,38$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 524$; TLC*: $R_f = 0,06$.

5 Exemplo 25: 4-Metóxi-N-{4-metil-3-[1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4-cloro-1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-metóxi-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,37$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 554$; TLC*: $R_f = 0,07$.

10 Exemplo 26: N-(4-Metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-3-[1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-benzamida

O mesmo procedimento do exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4-cloro-1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,44$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 554$; TLC*: $R_f = 0,06$.

20 Exemplo 27: N-[4-Metil-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

4-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (0,60 g, 3,9 mmol) e N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida (0,92 g, 3,9 mmol) são aquecidos em *tert*-butanol no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e o solvente é removido sob pressão reduzida. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,38$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 413$; TLC*: $R_f = 0,22$.

O material de partida é preparado como segue:

30 Etapa 27.1: 4-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

O produto é sintetizado de acordo com procedimentos de literatura conhecidos (Jyh-Haur Chern, Kak-Shan Shia, Tsu-An Hsu, Chia-Liang

Tai, Chung-Chi Lee, Yen-Chun Lee, Chih-Shiang Chang, Sung-Nien Tseng e Shin-Ru Shih; *Bioorg. and Med. Chem. Lett.* **14** (2004) 2519 e R. K. Robins; *J. Am Chem. Soc.* **1956**, 78, 784) a partir de alopurinol comercialmente disponível.

5 Exemplo 28: N-{3-[1-(2-Dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

N-[4-metil-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida (100 mg, 0,242 mmol), hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina (Aldrich) (71 mg, 0,388 mol) e carbonato de céso (279 mg, 0,848 mmol) são aquecidos em N,N-dimetilformamida no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e arrefecida com água. O produto é extraído com etil acetato e é purificada por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,24 min; MS-ES+: (M+H)⁺ = 512; 15 TLC*: R_f = 0,38.

Exemplo 29: N-(4-Metil-3-{1-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-fenil)-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 28 é usado, mas hidrocloreto de 1-(3-cloro-propil)-4-metil-piperazina (Alfa) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 7,53 min; MS-ES+: (M+H)⁺ = 553; TLC*: R_f = 0,25.

25 Exemplo 30: N-(4-Metil-3-{1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-fenil)-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 28 é usado, mas hidrocloreto de 1-(2-cloro-etil)-4-metil-piperazina (síntese de acordo com procedimento de literatura, ver G. Caliendo e outros, *Eur. J. Med. Chem.* **30**, 77-84 (1995)) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 7,74 min ; MS-ES+: (M+H)⁺ = 539; TLC*: R_f =

0,28.

Exemplo 31: N-{4-Metil-3-[1-(2-piperidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 28 é usado, mas hidrocloreto de 1-(2-cloro-etil)-piperidina (Aldrich) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,32$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 524$; TLC*: $R_f = 0,43$.

10 Exemplo 32: N-{4-Metil-3-[1-(2-pirrolidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 28 é usado, mas hidrocloreto de 1-(2-cloro-etil)-pirrolidina (Aldrich) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,10$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 510$; TLC*: $R_f = 0,20$.

Exemplo 33: N-{3-[1-(2-Dimetilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

20 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 28 é usado, mas hidrocloreto de 1-(2-cloro-etil)-dimetil-amina (Fluka) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 7,94$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 484$; TLC*: $R_f = 0,26$.

25 Exemplo 34: 4-Metil-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 27 é usado, mas 3-amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida é usado ao invés de N-(3-amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,54$ min;

MS-ES+: (M+H)+ = 413; TLC**: R_f = 0,30.

Exemplo 35: 3-[1-(2-Dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

4-Metil-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-

- 5 trifluorometil-fenil)-benzamida (100 mg, 0,242 mmol), hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina (Aldrich) (71 mg, 0,388 mol) e carbonato de césio (279 mg, 0,848 mmol) são aquecidos em N,N-dimetilformamida no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e arrefecida com água. O produto é extraído com etil acetato e é purificado por cromatografia de coluna automatizada. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,57 min; MS-ES+: (M+H)+ = 512; TLC*: R_f = 0,27.

Exemplo 36: 4-Metil-3-{1-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

- 15 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 35 é usado, mas hidrocloreto de 1-(3-cloro-propil)-4-metil-piperazina (Alfa) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 7,83 min; MS-ES+: (M+H)+ = 553; TLC*: R_f = 0,06.

- 20 Exemplo 37: 4-Metil-3-{1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

- O mesmo procedimento do descrito no exemplo 35 é usado, mas hidrocloreto de 1-(2-cloro-etil)-4-metil-piperazina (síntese de acordo com o procedimento de literatura, G. Caliendo e outros, Eur. J. Med. Chem. 30, 77-84 (1995)) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,00 min; MS-ES+: (M+H)+ = 539; TLC*: R_f = 0,14.

- 25 Exemplo 38: 4-Metil-3-[1-(2-pirrolidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 35 é usado, mas hidrocloreto de 1-(2-cloro-etil)-pirrolidina (Aldrich) é usado ao invés de

hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,44$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 510$; TLC*: $R_f = 0,24$.

5 Exemplo 39: 3-[1-(2-Dimetilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 35 é usado, mas hidrocloreto de (2-cloro-etil)-dimetil-amina (Fluka) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,29$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 484$; TLC*: $R_f = 0,17$.

Exemplo 40: N-{3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-2-trifluorometil-isonicotinamida

15 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-2-trifluorometil-isonicotinamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,77$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 520$; TLC*: $R_f = 0,50$.

20 Exemplo 41: N-[4-Metil-3-(1-metil-6-piridin-4-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapas 1.5 a 1.1 é usado, exceto que na etapa 1.5 hidrocloreto de metilidrazina é usado ao invés de hidrocloreto de 4-bromofenilidrazina e na etapa 1.3 ao invés de ácido formamida isonicotínico (ácido piridino-4-carboxílico; Aldrich) é aquecido em ácido polifosfórico (PPA) a 180° C por 2 horas e a reação é então arrefecida com água e o precipitado formado lavado e isolado por filtração.

De acordo com o exemplo 1 etapa 1.1, 4-cloro-1-metil-6-piridin-4-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina assim obtido e N-(3-Amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vá-

cuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,27$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 504$; TLC*: $R_f = 0,46$.

Exemplo 42: 4-Metil-3-(1-metil-6-piridin-4-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

- 5 O mesmo procedimento do exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4-cloro-1-metil-6-piridin-4-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-Amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R =$
10 9,18 min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 504$; TLC*: $R_f = 0,47$.

Exemplo 43: N-[4-Cloro-3-[1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

- N-[4-Cloro-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida (80 mg, 0,185 mmol), hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina (Aldrich) (32 mg, 0,185 mol) e carbonato de cézio (213 mg, 0,65 mmol) são aquecidos em N,N-dimetilformamida no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e arrefecida com água. O produto é extraído com etil acetato e é purificado por cromatografia de coluna automatizada. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R =$
15 etil)-dietilamina (Aldrich) (32 mg, 0,185 mol) e carbonato de cézio (213 mg, 0,65 mmol) são aquecidos em N,N-dimetilformamida no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e arrefecida com água. O produto é extraído com etil acetato e é purificado por cromatografia de coluna automatizada. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R =$
20 8,76 min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 532$; TLC*: $R_f = 0,27$.

Etapa 43.1: N-[4-Cloro-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

- 4-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (300 mg, 1,94 mmol) e N-(3-Amino-4-cloro-fenil)-3-trifluorometil-benzamida (458 mg, 1,5 mmol) são aquecidos em *tert*-butanol no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e o solvente é removido sob pressão reduzida. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R =$
25 8,65 min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 433$; TLC*: $R_f = 0,10$.

- 30 Exemplo 44: 4-Cloro-3-[1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

4-Cloro-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-

trifluorometil-benzamida (80 mg, 0,185 mmol), hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina (Aldrich) (32 mg, 0,185 mol) e carbonato de césio (213 mg, 0,65 mmol) são aquecidos em N,N-dimetilformamida no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e arrefecida com água. O produto é extraído com etil acetato e é purificado por cromatografia de coluna automatizada. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,98 min; MS-ES+: (M+H)+ = 532; TLC*: R_f = 0,28.

Etapa 44.1: 4-Cloro-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

4-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (300 mg, 1,94 mmol) e 3-Amino-4-cloro-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida (458 mg, 1,5 mmol) são aquecidos em tert.-butanol no forno de microondas a 150° C por 20 minutos. A reação é resfriada e o solvente é removido sob pressão reduzida. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,84 min; MS-ES+: (M+H)+ = 433; TLC*: R_f = 0,14.

Exemplo 45: N-[4-Metil-3-(1-metil-6-pirazin-2-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapas 1.5 a 1.1 é usado, exceto que na etapa 1.5 hidrocloreto de metilidrazina é usado ao invés de hidrocloreto de 4-bromofenilidrazina e na etapa 1.3 ao invés de ácido formamida pirazina-2-carboxílico (Aldrich) é aquecido em ácido polifosfórico (PPA) a 180° C por 2 horas e a reação é então arrefecida com água e o precipitado formado lavado e isolado por filtração.

De acordo com o exemplo 1 etapa 1.1, 4-cloro-1-metil-6-pirazin-2-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina assim obtido e N-(3-Amino-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em tert.-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 9,68 min; MS-ES+: (M+H)+ = 505; TLC*: R_f = 0,37.

Exemplo 46: 4-Metil-3-(1-metil-6-pirazin-2-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4-cloro-1-metil-6-pirazin-2-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-Amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,95$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 505$; TLC*: $R_f = 0,44$.

Exemplo 47: N-{3-[1-(4-Hidroxi-phenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

N-{3-[1-(4-Metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida (exemplo 4) foi desmetilado usando.....

O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,51$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 505$; TLC**: $R_f = 0,16$.

Exemplo 48: N-{3-[1-(2-Hidroxi-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 28 é usado, mas 2-brometanol (Fluka) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,71$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 457$; TLC**: $R_f = 0,18$.

Exemplo 49: 3-[1-(2-Hidroxi-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 35 é usado, mas 2-brometanol (Fluka) é usado ao invés de hidrobrometo de (2-bromo-etil)-dietilamina. O produto é purificado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,75$ min; MS-ES+: $(M+H)^+ = 457$; TLC***: $R_f = 0,29$.

Exemplo 50: N-[4-Metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é

usado, exceto que 4-cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-Amino-4-metil-fenil)-4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido
 5 como um sólido branco. HPLC: t_R = 7,55 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 539$; TLC^{**}: $R_f = 0,09$.

Exemplo 51: etil éster de ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é
 10 usado, exceto que etil éster de ácido 4-cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico e 3-Amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert.*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,52$ min.; MS-ES:
 15 $(M+H)^+ = 499$.

O material de partida é preparado como segue:

Etapa 51.1: etil éster de ácido 4-Cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico

Etil éster de ácido 1-Metil-4-oxo-4,5-diidro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-
 20 carboxílico (0,3 g, 1,35 mmol) é suspenso em oxicloreto de fósforo (3,0 ml). A mistura de reação é submetida a refluxo por três horas. Fosforoxicloreto em excesso é evaporado sob pressão reduzida e o produto obtido é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é diretamente usado na próxima etapa.

25 Etapa 51.2: etil éster de ácido 1-Metil-4-oxo-4,5-diidro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico

Etil éster de ácido 1-Metil-4-oxo-1,4-diidro-pirazolo[3,4-d][1,3]oxazina-6-carboxílico (6,52 g, 29,2 mmol), acetato de amônio (2,48 g, 32,1 mmol) (Merck) e ácido acético (0,88g, 14,6 mmol) (Fluka) são aquecido
 30 a refluxo em 100 ml de etanol por três horas. A mistura é derramada em água gelada e o precipitado formado é isolado por filtração e seco na bomba de alto vácuo, resultando no composto título. HPLC: $t_R = 6,47$ min; MS-ES⁺:

(M+H)⁺ = 223.

Etapa 51.3: etil éster de ácido 1-Metil-4-oxo-1,4-diidro-pirazolo[3,4-d][1,3]oxazina-6-carboxílico

Ácido 5-Amino-1-metil-1H-pirazol-4-carboxílico (5,0 g, 35,4 mmol) é dissolvido em 25 ml de piridina seca e resfriado a 0°C. Etiloxalilcloreto (8,1 ml, 72,6 mmol) é adicionado em gotas e a reação é agitada em temperatura ambiente por 1 hora. A reação é arrefecida com gelo e água e o precipitado formado é isolado por filtração. O sólido branco é re-cristalizado a partir de 2-propanol. O produto bruto é diretamente usado na próxima etapa. HPLC: t_R = 7,12 min; MS-ES⁺: (M+H)⁺ = 224.

Etapa 51.4: ácido 5-Amino-1-metil-1H-pirazol-4-carboxílico

Etil éster de ácido 5-Amino-1-metil-1H-pirazol-4-carboxílico (16,4 g, 97 mmol) and 97 ml 2 M de solução aquosa de NaOH (194 mmol) são submetidos a refluxo em 100 ml de etanol por 5 horas. O pH é ajustado para pH 4-5 e o precipitado formado é isolado por filtração e seco na bomba de alto vácuo, resultando no composto título. HPLC: t_R = 4,65 min; MS-ES⁺: (M+H)⁺ = 142.

Etapa 51.5: etil éster de ácido 5-Amino-1-metil-1H-pirazol-4-carboxílico

A uma solução de metilidrazina (7,6 ml, 142 mmol) (Aldrich) em etanol é adicionado trietilamina em gotas (20 ml, 142 mmol). A solução é resfriada a 0° C e etóxi metileno malononitrila etil éster (24,0 g, 142 mmol) (Fluka) é adicionado em pequenas partes e a reação é agitada em temperatura ambiente por 18 horas. O etanol é removido sob pressão reduzida e o sólido obtido é lavado com dietil éter e é seco em bomba de alto vácuo, resultando no composto título. HPLC: t_R = 6,87 min; MS-ES⁺: (M+H)⁺ = 170.

Exemplo 52: ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico amida

Etil éster de ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico (50 mg, 0,1 mmol) (exemplo 51) é aquecido no forno de microondas com um excesso de NH₃ em metanol a 100° C por 15 minutos. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O

composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 9,70 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 470$.

Exemplo 53: ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico metilamida

5 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 52 é usado, exceto que metilamina em água (40% sol.) é usada. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 10,05 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 484$.

10 Exemplo 54: 4-Metil-3-[1-metil-6-(4-metil-piperazina-1-carbonil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 52 é usado, exceto que N-metil-piperazina (Fluka) é usada. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,56 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 553$; TLC*: $R_f = 0,26$.

Exemplo 55: ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico (2-dimetilamino-etil)-amida

20 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 52 é usado, exceto que N,N-dimetil-etano-1,2-diamina (Fluka) é usada. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,74 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 541$; TLC*: $R_f = 0,09$.

25 Exemplo 56: ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico (2-pirrolidin-1-il-etil)-amida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 52 é usado, exceto que 2-pirrolidin-1-il-etilamina (Fluka) é usada. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,90 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 567$; TLC*: $R_f = 0,08$.

Exemplo 57: 4-Metil-3-[1-metil-6-(morfolina-4-carbonil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 52 é usado, exceto que morfolina (Fluka) é usada. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco na bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 9,68 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 540$; TLC*: $R_f = 0,35$.

Exemplo 58: N-[4-Metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-2-trifluorometil-isonicotinamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-2-trifluorometil-isonicotinamida são usados em *tert*.-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,25 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 428$; TLC*: $R_f = 0,31$.

Exemplo 59: 3-[1-(2-Dietilamino-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

3-[6-Cloro-1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida (65 mg, 0,12 mmol), ácido piridina borônico (17,6 mg, 0,14 mmol), 1,1'-diclorometano de bi(difenilfosfino)ferroceno-diclorpaládio(II) (4,9 mg, 0,006 mmol, ABCR), 238 µl 2M de solução aquosa de carbonato de sódio em 3 ml de tolueno e 0,3 ml de etanol são aquecidos a 150° C por uma hora no forno de microondas. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,48 min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 589$; TLC*: $R_f = 0,52$.

O material de partida é preparado como segue:

Etapa 59.1: 3-[6-Cloro-1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

3-(6-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida (300 mg, 0,67 mmol), 2-dietilamino-etanol (165 mg, 1,41 mmol) e trifenilfosfina (264 mg, 1,01 mmol) são dissolvidos em THF

e resfriados a 0° C. DEAD (40% em tolueno) é adicionado lentamente e a reação é aquecida à temperatura ambiente. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo, resultando no composto título. HPLC: t_R = 9,55 min.; MS-ES: (M+H)⁺ = 547; TLC[‡]: R_f = 0,58.

Etapa 59.2: 3-(6-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, mas 4,6-dicloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e 3-amino-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida são usados em *tert*.-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 9,99 min; MS-ES⁺: (M+H)⁺ = 447; TLC^{*}: R_f = 0,41.

Etapa 59.3: 4,6-Dicloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

4,6-Diidroxipirazolo[3,4-d]pirimidina (12,4 g, 81,5 mmol), N,N-dimetilanilina (30 ml) e fosforoxicloreto (POCl₃, 80 ml, Fluka) são aquecidos a refluxo por duas horas. A reação foi derramada em gelo e o produto é extraído com éter. O solvente é removido sob pressão reduzida, resultando no composto título. HPLC: t_R = 8,34 min.; MS-ES: (M+H)⁺ = 190; TLC[†]: R_f = 0,55.

Exemplo 60: 3-[1-(2-Dietilamino-etil)-6-(6-metóxi-piridin-3-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 59 é usado, exceto que ácido 2-metóxi-5-piridina borônico é usado. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 10,04 min.; MS-ES: (M+H)⁺ = 619.

Exemplo 61: 4-Metil-3-[1-(2-morfolin-4-il-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 59 é usado, exceto que na etapa 59.1 4-(2-hidroxietil)morpholina é usada ao invés de 2-dietilamino-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automa-

tizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,41 min. ; MS-ES: (M+H)⁺ = 603.

Exemplo 62: 4-Metil-3-{1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

5 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 59 é usado, exceto que na etapa 59.1 1-(2-hidroxietil)-4-metil-piperazina é usada ao invés de 2-dietilamino-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,28 min.; MS-ES: (M+H)⁺ = 616.

10 Exemplo 63: 3-[1-(2-Dimetilamino-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 59 é usado, exceto que na etapa 59.1 2-dimetilamino-etanol é usado ao invés de 2-dietilamino-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,35 min.; MS-ES: (M+H)⁺ = 561.

Exemplo 64: 4-Metil-3-{1-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

20 O mesmo procedimento do descrito no exemplo 59 é usado, exceto que na etapa 59.1 3-(4-Metil-piperazin-1-il)-propan-1-ol é usado ao invés de 2-dietilamino-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 8,07 min.; MS-ES: (M+H)⁺ = 630.

25 Exemplo 65: 3-[1-(2-Dimetilamino-etil)-6-(6-metóxi-piridin-3-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 60 é usado, exceto que na etapa 59.1 2-dimetilamino-etanol é usado ao invés de 2-dietilamino-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: t_R = 9,80 min. ; MS-ES: (M+H)⁺ = 591.

Exemplo 66: 3-{6-(6-Metóxi-piridin-3-il)-1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 60 é usado, exceto que na etapa 59.1 1-(2-hidroxietil)-4-metil-piperazina é usada ao invés de 2-dietilamino-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,45$ min. ; MS-ES: $(M+H)^+ = 646$.

Exemplo 67: 4-flúor-N-[4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 1 etapa 1.1 é usado, exceto que 4-Cloro-1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina e N-(3-amino-4-metil-fenil)-4-flúor-3-trifluorometil-benzamida são usadas em *tert*-butanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 9,09$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 445$; TLC*: $R_f = 0,37$.

Exemplo 68: 3-[6-Cloro-1-(2-hidroxy-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

3-(6-Cloro-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida (ver etapa 59.2) (100 mg, 0,2 mol), 2-brometanol (16,6 μ l, 0,2 mmol, Fluka) e carbonato de potássio (312 mg, 2,2 mmol) são aquecidos a refluxo por 18 horas. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,11$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 491$; TLC*: $R_f = 0,38$.

Exemplo 69: 3-[6-Cloro-1-(3-hidroxi-propil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 68 é usado, exceto que 3-brom-1-propanol é usado ao invés de 2-brom-etanol. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 10,19$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 505$; TLC*: $R_f = 0,28$.

Exemplo 70: 3-[1-(2-Hidroxi-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida

O mesmo procedimento do descrito no exemplo 59 é usado, ex-

ceto que 3-[6-Cloro-1-(2-hidroxi-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida (exemplo 68) é usado. O produto é isolado por cromatografia de coluna automatizada e é seco em bomba de alto vácuo. O composto título é obtido como um sólido branco. HPLC: $t_R = 8,89$ min.; MS-ES: $(M+H)^+ = 534$; TLC*: $R_f = 0,27$.

Exemplo 71: Cápsulas Moles

5000 cápsulas de gelatina mole, cada uma compreendendo como ingrediente ativo 0,05 g de qualquer um dos compostos de fórmula I mencionados em qualquer um dos Exemplos anteriores, são preparadas como segue:

Composição

Ingrediente Ativo	250 g
Lauroglicol	2 litros

Processo de Preparação: O ingrediente ativo pulverizado é suspenso em Lauroglicol* (propileno glicol laurato, Gattefossé S.A., Saint Priest, França) e triturado em um pulverizador a úmido para produzir um tamanho de partícula de aproximadamente 1 a 3 μm . 0,419 g de partes da mistura são então introduzidas em cápsulas de gelatina mole usando uma máquina de preenchimento de cápsula.

Exemplo 72: Tabletes compreendendo compostos de fórmula I

Tabletes, compreendendo como ingrediente ativo, 100 mg de qualquer um dos compostos de fórmula I em qualquer um dos Exemplos anteriores são preparados com a seguinte composição, seguindo procedimentos padrão:

Composição

Ingrediente ativo	100 mg
Lactose cristalina	240 mg
Avicel	80 mg
PVPPXL	20 mg
Aerosil	2 mg
Estearato de magnésio	5 mg
	447 mg

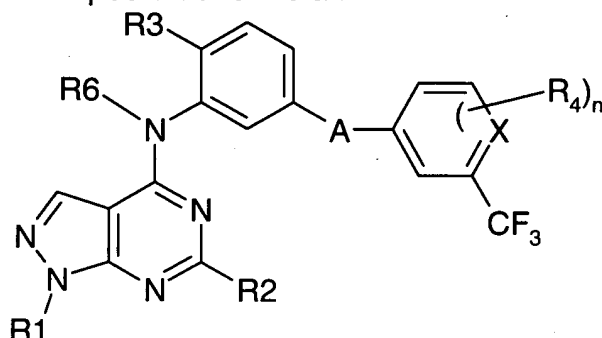
Fabricação: O ingrediente ativo é misturado com os materiais carreadores e comprimido por meio de uma máquina de tabletagem (Korsch EKO, diâmetro de estampa 10 mm).

Avicel® é celulose microcristalina (FMC, Filadélfia, USA).

- 5 PVPPXL é polivinilpolipirrolidona, reticulado (BASF, Alemanha). Aerosil® é dióxido de silício (Degussa, Alemanha).

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula I



(I),

onde

R1 é hidrogênio, alquila não substituída ou substituída ou arila não substituída ou substituída;

R2 é hidrogênio, halo, arila não substituída ou substituída, cicloalquila não substituída ou substituída, alquila não substituída ou substituída, carbonila substituída ou heterociclila não substituída ou substituída;

R3 é hidrogênio, halo, C₁-C₄ alquila, C₁-C₄ alcóxi ou ciano, cada R4, independentemente de quaisquer outros presentes, é halo, especialmente fluoro, metila, metóxi, ou C₁₋₄alquilpiperazinC₁₋₄alquila;

A é C(=O)-N(R5) ou N(R5)-C(=O), onde

R5 é hidrogênio ou alquila não substituída ou substituída;

R6 é hidrogênio ou alquila não substituída ou substituída;

X é CH ou N, e

n é 0 a 2;

na forma livre ou na forma de sal.

2. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, onde:

R1 é hidrogênio, C₁-C₇-alquila não substituída ou substituída, por exemplo, metila, etila ou propila, que pode ser linear ou ramificada uma ou mais vezes e que é não substituída ou substituída por um ou mais, preferencialmente até três, substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste de heterociclila não substituída ou substituída como descrito abaixo para R2, especialmente pirrolidino, piperidino, piperidino substituído por amino ou N-mono- ou N,N-di-[C₁-C₇-alquila, fenila e/ou fenil-

C₁-C₇-alquil)-amino, não substituído ou N- piperidinil substituído com C₁-C₇-
 alquila ligada via um átomo de carbono em anel, tal como 1-isopropil-piperi-
 din-4-il, piperazino, C₁-C₇-alquilpiperazino, tal como 4-(metil, etil ou isopro-
 pil)-piperazino, morfolino ou tiomorfolino; cycloalquila não substituída ou
 5 substituída como descrita abaixo para R₂; arila não substituída ou substituí-
 da como definido abaixo, especialmente fenila or naftila; C₂-C₇-alquenila, C₂-
 C₇-alquinila, hidróxi, C₁-C₇-alcóxi, C₁-C₇-alcóxi- C₁-C₇-alcóxi, (C₁-C₇-alcóxi)-
 C₁-C₇-alcóxi- C₁-C₇-alcóxi, fenóxi, naftilóxi, fenil- ou naftil- C₁-C₇-alcóxi, tal
 como benzilóxi; amino-C₁-C₇-alcóxi, C₁-C₇-alcanoiloxi, benzoiloxi, naftoiloxi,
 10 nitro, ciano, carboxi, C₁-C₇-alcóxi carbonila, por exemplo, metóxi carbonila,
 n-propóxi carbonila, iso-propóxi carbonila ou tert-butoxicarbonila; fenil- ou
 naftil- C₁-C₇-alcóxicarbonila, tal como benziloxicarbonila; C₁-C₇-alcanoila,
 benzoila, naftoila, carbamoila, N-mono- ou N,N-di-carbamoila substituída
 onde os substituintes são seleccionados dentre C₁-C₇-alquila e hidróxi- C₁-C₇-
 15 alquila; amidino, guanidino, ureido, mercapto, C₁-C₇-alquiltio, fenil- ou naftil-
 tio, fenil- ou naftil- C₁-C₇-alquiltio, C₁-C₇-alquil-feniltio, C₁-C₇-alquil-naftiltio,
 halogen- C₁-C₇-alquilmercapto, C₁-C₇-alquilsulfinil, fenil- ou naftil-sulfinil, fe-
 nil- ou naftil- C₁-C₇-alquilsulfinil, C₁-C₇-alquil-fenilsulfinil, C₁-C₇-alquil-
 naftilsulfinil, sulfo, C₁-C₇-alcanosulfonyl, fenil- ou naftil-sulfonyl, fenil- ou naftil-
 20 C₁-C₇-alquilsulfonyl, C₁-C₇-alquilfenilsulfonyl, halogen- C₁-C₇-alquilsulfonyl, tal
 como trifluorometanosulfonyl; sulfonamido, benzosulfonamido, amino, N-
 mono- ou N,N-di-[C₁-C₇-alquil, fenil e/ou fenil- C₁-C₇-alquil)-amino, tal como
 N,N-dimetilamino, N,N-dietilamino, 3-[N-(N,N-dimetilamino)-propilamino, 2-
 [N-(N,N-dimetilamino)-etilamino ou N-(N,N-dimetilamino)-metilamino; onde
 25 cada fenil or naftil – também em fenóxi or naftóxi – mencionado acima como
 substituinte ou parte de um substituinte de C₁-C₂₀-alquila substituída é ele
 mesmo não substituído ou substituído por um ou mais, por exemplo, até três,
 preferencialmente 1 ou 2 substituintes independentemente seleccionados
 dentre halo, especialmente fluoro, cloro, bromo ou iodo, halo-I C₁-C₇-alquila,
 30 tal como trifluorometila, hidroxil, alcóxi inferior, amino, N-mono- ou N,N-di-(
 C₁-C₇-alquil, fenil, naftil, fenil- C₁-C₇-alquil e/ou naftil- C₁-C₇-alquil)-amino,
 nitro, carbóxi, C₁-C₇-alcóxicarbonil carbamoila, ciano e/ou sulfamoyl;

R2 é hidrogênio, halo, arila não substituída ou substituída como definida para arila não substituída ou substituída R1, cicloalquila não substituída ou substituída que é grupo hidrocarboneto mono- ou bicíclico saturado com 3 a 16, mais preferencialmente 3 a 9 átomos de carbono em anel, por exemplo, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclohexila, cicloheptila ou ciclooctila, e é substituída por um ou mais, preferencialmente um a três substituintes independentemente selecionados a partir daqueles descritos para a arila substituída sob R1 ou é não substituída; C₁-C₂₀-alquila não substituída ou substituída independentemente selecionada a partir das porções caindo sob C₁-C₂₀-alquila R1 não substituída ou substituída, heterociclila não substituída ou substituída, que é um radical heterociclila que é insaturado, saturado ou parcialmente saturado e é preferencialmente um anel monocíclico, bicíclico ou tricíclico; e tem 3 a 24, mais preferencialmente 4 a 16, mais preferencialmente 4 a 10 átomos de anel; onde um ou mais, preferencialmente um a quatro, especialmente um a dois átomos de carbono de anel são substituídos por um heteroátomo selecionado a partir do grupo consistindo de nitrogênio, oxigênio e enxofre, o anel de ligação preferencialmente tendo 4 a 12, especialmente 5 a 7 átomos em anel; radical heterocíclico que é não substituído ou substituído por um ou mais, especialmente 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste dos substituintes definidos acima sob arila substituída; onde heterociclila é especialmente um radical heterociclila selecionado a partir do grupo que consiste de oxiranila, azirínila, aziridinila, 1,2-oxatíolanila, tienila, furila, tetrahydrofurila, piranila, tiopiranila, tiantrenila, isobenzofuranila, benzofuranila, cromenila, 2H-pirrolila, pirrolila, pirrolinila, pirrolidinila, imidazolila, imidazolidinila, benzimidazolila, pirazolila, pirazinila, pirazolidinila, tiazolila, isotiazolila, ditiazolila, oxazolila, isoxazolila, piridila, pirazinila, pirimidinila, piperidila, piperazinila, piridazinila, morfolinila, tiomorfolinila, (S-oxo ou S,S-dioxo)-tiomorfolinila, indolizinila, isoindolila, 3H-indolila, indolila, benzimidazolila, cumarila, indazolila, triazolila, tetrazolila, purinila, 4H-quinolizinila, isoquinolila, quinolila, tetrahydroquinolila, tetrahydroisoquinolila, decahydroquinolila, octahydroisoquinolila, benzofuranila, dibenzofuranila, benzotiofenila, dibenzotiofenila,

- ftalazinila, naftiridinila, quinoxalila, quinazolinila, quinazolinila, cinolinila, pteridinila, carbazolila, beta-carbolinila, fenantridinila, acridinila, perimidinila, fenantrolinila, furazanila, fenazinila, fenotiazinila, fenoxazinila, cromanila, isocromanila e cromanila, cada um desses radicais sendo não substituído ou substituído por um a dois radicais selecionados a partir do grupo que consiste de C₁-C₇-alquila, especialmente metila ou tert-butila, C₁-C₇-alcóxi, especialmente metóxi, e halo, especialmente bromo ou cloro; ou carbonila substituída;
- 5 R3 é hidrogênio, halo, ou C₁-C₄ alquila;
- 10 cada R4, independentemente de quaisquer outros presentes, é halo, especialmente fluoro, metila, metóxi, ou C₁₋₄alquilpiperazinC₁₋₄alquila;
- A é C(=O)-N(R5) ou N(R5)-C(=O), onde
- R5 é hidrogênio ou C₁-C₂₀-alquila não substituída ou substituída independentemente selecionada a partir das porções caindo sob C₁-C₂₀-alquila não substituída ou substituída em R1;
- 15 R6 é hidrogênio ou C₁-C₄-alquila não substituída ou substituída independentemente selecionada a partir das porções caindo sob C₁-C₂₀-alquila não substituída ou substituída em R1;;
- X é CH ou N; e
- 20 n é 0 a 2.
3. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, onde:
- R1 é H, C₁-C₇-alquil, amino-C₁-C₇-alquil, N-mono- ou N,N-di-(C₁-C₇-alquil, fenil e/ou fenil-C₁-C₇-alquil)-amino-C₁-C₇-alquila, pirrolidino-C₁-C₇-alquila, piperidino-C₁-C₇-alquila, 1-(C₁-C₇-alquil-piperidin-4-il)-C₁-C₇-alquila, 4-[N-mono- ou N,N-di-(C₁-C₇-alquil, fenil e/ou fenil-C₁-C₇-alquil)-amino]-piperidino, piperazino-C₁-C₇-alquila, 4-C₁-C₇-alquilpiperazino-C₁-C₇-alquila, morfolino-C₁-C₇-alquila, tiomorfolino-C₁-C₇-alquila, ou fenila que é não substituída ou substituída por halo, hidroxil, C₁-C₇-alcóxi, nitro, amino, N-mono-, N,N-di- ou N,N,N-tri-(C₁-C₇-alquil, fenil e/ou fenil-C₁-C₇-alquil)-amino, pirrolidino, piperidino, piperidino substituído por amino ou N-mono- ou N,N-di-[C₁-C₇-alquil, fenil e/ou fenil-C₁-C₇-alquil)-amino, piperidinil substituído por N-
- 25
- 30

C₁-C₇-alquil ou não substituído ligado via um átomo de carbono de anel, piperazino, C₁-C₇-alquimpiperazino, tal como 4-(metil, etil ou isopropil)-piperazino, morfolino ou tiomorfolino;

5 R2 é hidrogênio, halogênio, piridila, C₁-7-alcóxi-piridila, piraziny, 1-(C₁-C₇-alquil)-piperidin-4-ila, ou carbonila substituída;

R3 é hidrogênio, cloro, ou C₁-C₄-alquila;

R4 é metila, metóxi ou fluoro, ou C₁-C₄-alquimpiperazinil C₁-C₄-alquila;

A é C(=O)-N(R5) ou N(R5)-C(=O);

10 R5 é hidrogênio, C₁-C₇-alquila, fenil-C₁-C₇-alquila ou naftil-C₁-C₇-alquila;

R6 é hidrogênio, C₁-C₇-alquila, fenil-C₁-C₇-alquila ou naftil-C₁-C₇-alquila;

X é CH or N; e

15 n é 0 a 2.

4. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, onde:

R1 é metila, 2-(N,N-dimetilamino)-etila, 2-(N,N-dietilamino)-etila, 3-(4-metilpiperazin-1-il)-propila, 2-(4-metilpiperazin-1-il)-etila, 2-(piperidin-1-il)-etila, 2-(pirrolidin-1-il)-etila, 4-metóxfenil, 4-nitrofenila, 4-aminofenila, 4-(trimetilamônio)-fenila, 4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenila, 4-(4-dietilamino-piperidin-1-il)-fenila ou -4-morfolinofenila;

20

R2 é hidrogênio, piridin-3-ila ou 1-metilpiperidin-4-ila;

R3 é hidrogênio, cloro ou metila;

25 R4 é 4-metóxi, 3- ou 4-fluoro;

A é C(=O)-NH ou NH-C(=O);

R6 é hidrogênio;

X é CH; e

n é 0 ou 1.

30 5. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, selecionado a partir do grupo que consiste de:

N-{4-metil-3-[1-(4-morfolin-4-il-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-

- fenil}-3-trifluorometil-benzamida,
 N-(4-metil-3-{1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-fenil)-3-trifluorometil-benzamida,
 N-(3-{1-[4-(4-dietilamino-piperidin-1-il)-fenil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino}-4-metil-fenil)-3-trifluorometil-benzamida,
 5 4-metóxi-N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida,
 4-flúor-N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida,
 10 3-flúor-N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-5-trifluorometil-benzamida,
 N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida,
 N-{4-metil-3-[1-(4-nitro-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-trifluorometil-benzamida,
 15 Acilato de trimetil-(4-{4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-benzoilamino)-fenilamino]-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-fenil)-amônio,
 3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 20 3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-benzamida,
 3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-cloro-3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 25 4-metóxi-N-[4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-benzamida,
 30 4-metóxi-N-[4-metil-3-(1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 N-{4-metil-3-[1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-

- ilamino]-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 4-metóxi-N-{4-metil-3-[1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 N-(4-metóxi-3-trifluorometil-fenil)-4-metil-3-[1-metil-6-(1-metil-piperidin-4-il)-
 5 1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-benzamida,
 N-{3-[1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil]-
 3-trifluorometil-benzamida,
 N-{4-metil-3-[1-(2-piperidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-
 fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 10 N-{4-metil-3-[1-(2-pirrolidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-
 fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 N-{3-[1-(2-dimetilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-
 fenil]-3-trifluorometil-benzamida,
 4-metil-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-
 15 benzamida,
 3-[1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-
 trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-metil-3-{1-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-
 ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 20 4-metil-3-{1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-
 ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-metil-3-[1-(2-piperidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-
 trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-metil-3-[1-(2-pirrolidin-1-il-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-
 25 trifluorometil-fenil)-benzamida,
 3-[1-(2-dimetilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-
 trifluorometil-fenil)-benzamida, e
 N-{3-[1-(4-metoxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil]-
 2-trifluorometil-isonicotinamida,
 30 N-[4-Metil-3-(1-metil-6-piridin-4-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-
 3-trifluorometil-benzamida,
 4-Metil-3-(1-metil-6-piridin-4-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-

- trifluorometil-fenil)-benzamida,
 N-{4-Cloro-3-[1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-
 fenil}-3-trifluorometil-benzamida,
 4-Cloro-3-[1-(2-dietilamino-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-
 5 trifluorometil-fenil)-benzamida,
 N-[4-Metil-3-(1-metil-6-pirazin-2-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-
 3-trifluorometil-benzamida,
 4-Metil-3-(1-metil-6-pirazin-2-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-
 trifluorometil-fenil)-benzamida,
 10 N-{3-[1-(4-hidróxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-
 trifluorometil-benzamida,
 N-{3-[1-(2-hidróxi-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-
 trifluorometil-benzamida,
 3-[1-(2-hidróxi-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-(3-
 15 trifluorometil-fenil)-benzamida,
 N-[4-Metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-4-(4-metil-
 piperazin-1-ilmetil)-3-trifluorometil-benzamida,
 etil éster de ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-
 fenilamino]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico,
 20 ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-
 pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico amida,
 ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-
 pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico metilamida,
 4-Metil-3-[1-metil-6-(4-metil-piperazina-1-carbonil)-1H-pirazolo[3,4-
 25 d]pirimidin-4-ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-
 pirazolo[3,4-d]pirimidina-6-carboxílico (2-dimetilamino-etil)-amida,
 ácido 1-Metil-4-[2-metil-5-(3-trifluorometil-fenilcarbamoil)-fenilamino]-1H-
 pirazolo[3,4-d]pirimidine-6-carboxílico (2-pirrolidin-1-il-etil)-amida
 30 4-Metil-3-[1-metil-6-(morfolina-4-carbonil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-
 ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 N-[4-Metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-2-

- trifluorometil-isonicotinamida,
 3-[1-(2-Dietilamino-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-
 metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 3-[1-(2-Dietilamino-etil)-6-(6-metóxi-piridin-3-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-
 5 ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-Metil-3-[1-(2-morfolin-4-il-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-
 ilamino]-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-Metil-3-{1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-
 d]pirimidin-4-ilamino}-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 10 3-[1-(2-Dimetilamino-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-
 4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-Metil-3-{1-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-
 d]pirimidin-4-ilamino}-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 3-[1-(2-Dimetilamino-etil)-6-(6-metóxi-piridin-3-il)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-
 15 4-ilamino]-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 3-{6-(6-Metóxi-piridin-3-il)-1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-1H-pirazolo[3,4-
 d]pirimidin-4-ilamino}-4-metil-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 4-flúor-N-[4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-
 trifluorometil-benzamida,
 20 3-[6-Cloro-1-(2-hidróxi-etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-N-
 (3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 3-[6-Cloro-1-(3-hidróxi-propil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-
 N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida e
 3-[1-(2-hidróxi-etil)-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-
 25 N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,
 em cada caso na forma livre ou na forma de sal.

6. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, se-
 lecionado a partir do grupo de compostos que consiste de:

- N-{3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-
 30 trifluorometil-benzamida,
 N-{4-cloro-3-[1-(4-metóxi-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-fenil}-3-
 trifluorometil-benzamida,

N-{3-[1-(4-amino-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino]-4-metil-fenil}-3-trifluorometil-benzamida,

N-[4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,

5 4-metil-3-(1-metil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,

N-[4-metil-3-(1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,

10 4-metil-3-(1-metil-6-piridin-3-il-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-N-(3-trifluorometil-fenil)-benzamida,

N-[4-metil-3-(1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil]-3-trifluorometil-benzamida,

N-(4-metil-3-{1-[3-(4-metil-piperazin-1-il)-propil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil}-3-trifluorometil-benzamida, e

15 N-(4-metil-3-{1-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etil]-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ilamino)-fenil}-3-trifluorometil-benzamida,

em cada caso na forma livre ou na forma de sal.

7. Preparação farmacêutica compreendendo um composto como definido na reivindicação 1 de fórmula I, na forma livre ou em forma de sal
20 farmaceuticamente aceitável, e um carreador farmaceuticamente aceitável.

8. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, na forma livre ou na forma de sal farmaceuticamente aceitável para uso no tratamento diagnóstico ou terapêutico do corpo animal ou humano.

9. Composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, na
25 forma livre ou na forma de sal farmaceuticamente aceitável para uso no tratamento de uma doença responsiva à modulação por proteína quinase.

10. Uso de um composto de fórmula I, de acordo com a reivindicação 1, na forma livre ou na forma de sal farmaceuticamente aceitável no tratamento de uma doença responsiva à modulação por proteína quinase ou
30 para a fabricação de uma preparação farmacêutica útil no tratamento de uma doença responsiva à modulação por proteína quinase.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 10, onde a doença res-

ponsiva à modulação por proteína quinase é uma ou mais doenças selecionadas a partir do grupo que consiste de doenças, que respondem à inibição de uma ou mais proteínas tirosina quinases selecionadas dentre quinase abl, especialmente quinase v-abl ou c-abl, quinases da família das quinases src, especialmente quinase c-src, b-raf (V599E) e/ou especialmente quinase receptora RET ou quinase receptora de Efrina, ou formas mutadas dessas.

12. Uso, de acordo com a reivindicação 10 ou reivindicação 11, onde a doença tratada é uma ou mais doenças selecionadas a partir do grupo que consiste de:

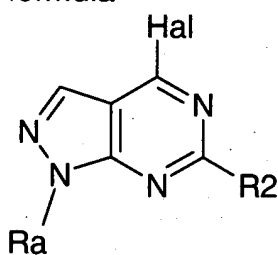
- 10 uma doença proliferativa, por exemplo, leucemia, especialmente leucemia mielogênica crônica (LMC) ou ALL, hiperplasia, fibrose, tal como cirrose do fígado, angiogênese, psoríase, aterosclerose, especialmente aterosclerose arterial ou pós-transplantacional, proliferação do músculo liso nos vasos sangüíneos, tal como estenose ou restenose seguindo angioplastia, doenças
- 15 de tumor ou câncer, especialmente doença de tumor ou câncer especialmente benigno ou especialmente maligno, mais preferencialmente tumores sólidos, por exemplo, carcinoma do cérebro, rins, fígado, glândula adrenal, bexiga, seios, estômago, ovários, cólo, reto, próstata, pâncreas, pulmão, cérvix, vagina, endométrio, tireóide, sarcoma, glioblastomas, múltiplos mielomas ou câncer gastrointestinal, adenoma colorretal, melanoma, ou um tumor
- 20 no pescoço e cabeça, por exemplo, carcinoma escamoso do pescoço e cabeça, doenças proliferativas em células mesangiais, mesotérioma pleural maligno, linfoma, mieloma múltiplo, neoplasias, especialmente de caráter epitelial, por exemplo, no caso de carcinoma mamário; uma hiperproliferação epidérmica (além de câncer), especialmente psoríase; hiperplasia na próstata; sarcoma de Kaposi, trombose, escleroderma; uma doença do sistema imunológico; uma doença do sistema nervoso central ou periférico onde a transmissão de sinal por pelo menos uma proteína (especialmente
- 25 tirosina) quinase, especialmente selecionada dentre aquelas proteínas tirosina quinases mencionadas como preferenciais, é envolvida, retinopatias, tal
- 30 como retinopatia diabética, glaucoma neovascular ou degeneração macular, obesidade, hemangioblastoma, hemangioma, nefropatia diabética; nefroes-

clerose maligna; doenças inflamatórias, tal como doenças inflamatórias reumatóides ou reumáticas, especialmente artrite, tal como artrite reumatóide, outras desordens inflamatórias crônicas, tal como asma crônica, endometriose, doença de Crohn; doença de Hodgkin; glomerulonefrite; doença inflamatória de intestino; síndromes micro-angiopáticas trombóticas; rejeições de transplante, glomerulopatia; lesões no tecido nervoso; ferida livre de cicatrizes, manchas da idade, dermatite de contato; restenose, por exemplo, restenose induzida por stent; e condições, doenças ou desordens responsivas à modulação por proteína quinase, tal como quinase receptora Eph, onde o estímulo ou a promoção de regeneração neural (regeneração neuronal; neuroregeneração), tal como regeneração de axônio, ou a inibição ou a reversão de degeneração neural (degeneração neuronal; neurodegeneração) é desejada, por exemplo, lesão na medula espinhal, condições hipóxicas, lesão traumática no cérebro, infarto, derrame, esclerose múltipla ou outras condições, doenças ou desordens neurodegenerativas.

13. Método para o tratamento de uma doença responsiva à modulação, especialmente inibição, por proteína quinase, especialmente uma ou mais doenças de acordo com a reivindicação 12, compreendendo administrar uma quantidade efetiva de um composto de fórmula I como definido na reivindicação 1, na forma livre ou na forma de sal farmacologicamente aceitável, a um animal ou humano em necessidade de tal tratamento.

14. Processo para a fabricação de um composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 1, na forma livre ou na forma de sal, compreendendo:

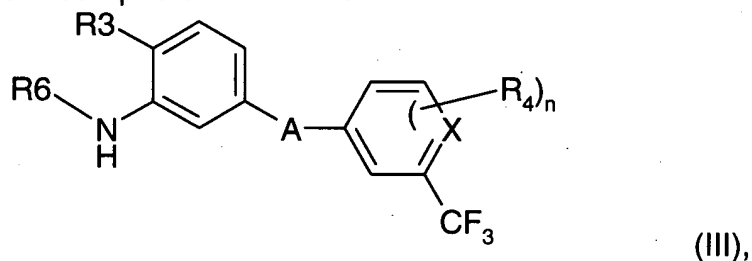
25 reagir um composto de fórmula



(II),

onde Ra é R1 como definido para a fórmula I, ou é um grupo de proteção, Hal é halo, especialmente bromo ou cloro, e R2 é como definido para a fórmula I.

mula I, com um composto de fórmula



onde A, R3, R4, R6 e n são como definido para a fórmula I,

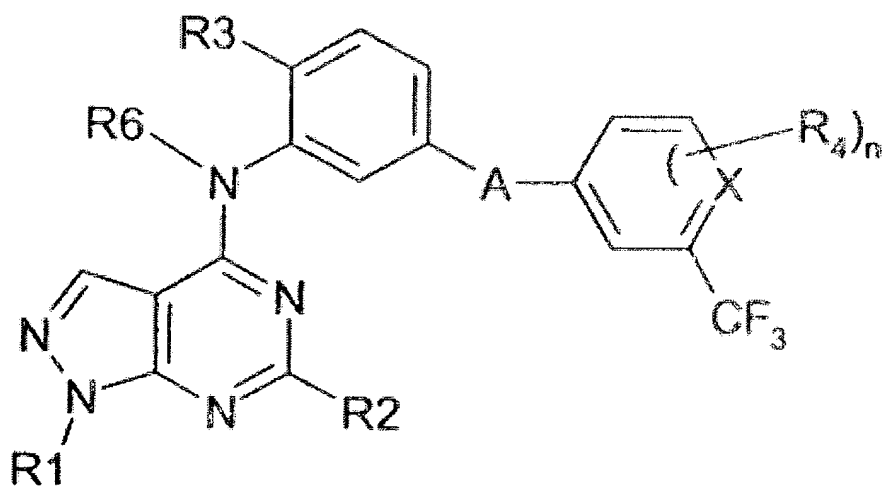
remover qualquer grupo de proteção presente,

e, se desejado, transformar um composto de fórmula I em um composto dife-

- 5 rente da fórmula I, transformar um sal de um composto de fórmula I no com-
posto livre de fórmula I ou um sal diferente, transformar um composto livre
de fórmula I em um sal desse, e/ou separar uma mistura de isômeros de um
composto de fórmula I nos isômeros individuais.

Pt 06 19272-6

(I)



RESUMO

Patente de Invenção: "3-(AMINO SUBSTITUÍDO)-PIRAZOLO[3,4-d]PYRIMIDINAS COMO INIBIDORES DE QUINASE EPHB E VEGFR2".

5 A invenção refere-se a novas pirazolo[3,4-d]pirimidinas da fórmula na qual todas as variáveis são como definidas na especificação, na forma livre ou na forma de sal, às suas preparações, aos seus usos como medicamentos e a medicamentos compreendendo-as.